

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему**

«Антифунгальна активність ендоситних бактерій, асоційованих з судинними  
рослинами Антарктики»

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

Виконала: студентка групи МгБТ-23

Крайнова Ю.С.

Науковий керівник: к.т.н., доц. Юнгін О.С.

Рецензент: к.т.н., доц. Волошина І.М.

Київ 2024

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет	<u>хімічних та біофармацевтичних технологій</u>
Кафедра	<u>біотехнології, шкіри та хутра</u>
Рівень вищої освіти	<u>другий (магістерський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія високомолекулярних сполук</u>

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри БШХ

\_\_\_\_\_ Олена МОКРОУСОВА

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2024 р.

**ЗАВДАННЯ  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ  
Крайновій Юлії Сергіївні**

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Антифунгальна активність ендоефітних бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики**

науковий керівник роботи Юнгін Ольга Сергіївна, к.т.н., доц.

затверджені наказом КНУТД від «03» вересня 2024 року № 188-уч.

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо дослідження антифунгальної активності ендоефітних бактерій; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.

3. Зміст кваліфікаційної роботи: вступ; огляд літератури; об'єкт, мета та методи дослідження; експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

4. Дата видачі завдання 03.09.2024 р.

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Огляд літератури		
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження		
4	Розділ 3 Експериментальна частина		
5	Висновки		
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)		
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)		
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студентка \_\_\_\_\_ Юлія КРАЙНОВА

Науковий керівник \_\_\_\_\_ Ольга ЮНГІН

## АНОТАЦІЯ

**Крайнова Ю.С. Антифунгальна активність ендоефітних бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики – Рукопис.**

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2024 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено дослідженню ендоефітних бактерій, що були ізольовані з природних систем, їх взаємодії з рослиною та антифунгальні властивості.

У роботі представлено ізольовані штами ендоефітних бактерій та експериментальні дані що підтверджують їх антифунгальну активність на фітопатогенні гриби.

*Ключові слова: ендоефітні бактерії, антифунгальна активність, фітопатогени.*

## ABSTRACT

**Krainova Y.S. Antifungal activity of endophytic bacteria associated with vascular plants of Antarctica – Manuscript.**

Qualification work in specialty 162 “Biotechnology and bioengineering”. – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2024.

The qualification work is devoted to the study of endophytic bacteria that were isolated from natural systems, their interaction with the plant and antifungal properties.

The work presents isolated strains of endophytic bacteria and experimental data confirming their antifungal activity on phytopathogenic fungi.

*Keywords: endophytic bacteria, antifungal activity, phytopathogens.*

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП .....</b>	<b>9</b>
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....</b>	<b>12</b>
1.1 Ендofітні бактерії та їх вплив на адаптацію рослин до біотичних факторів стресу. ....	12
1.2 Загальні поняття про ендofітні бактерії, їх роль в навколишньому середовищі. ....	12
1.3 Механізми антифунгальної активності ендofітних бактерій .....	14
1.3.2 Індукція системної стійкості .....	15
1.3.3 Конкуренція за поживні речовини .....	16
1.3.4 Паразитизм .....	16
1.4 Приклади фітопатогенних грибів .....	17
1.4.1 <i>Nigrospora oryzae</i> .....	17
1.4.2 <i>Fusarium solani</i> .....	17
1.4.3 <i>Alternaria alternata</i> .....	18
1.4.4 <i>Nectria sp.</i> .....	18
1.4.5 <i>Botrytis cinerea</i> .....	18
1.4.6 <i>Bipolaris sorokiniana</i> .....	19
1.4.7 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	20
1.4.8 <i>Rhizoctonia solani</i> .....	20
1.5 Методи дослідження антифунгальної активності .....	21
1.5.1 Дослідження <i>in vivo</i> .....	21
1.5.2 Дослідження <i>in vitro</i> .....	22
1.5.3 Переваги та недоліки методів дослідження антифунгальної активності	23
1.6 Застосування ендofітних бактерій з антифунгальною активністю .....	24
1.7 Економічне значення ендofітних бактерій .....	24

Висновки до розділу 1 .....	25
<b>РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....</b>	<b>27</b>
2.1 Досліджувані мікроорганізми .....	27
2.2 Поживне середовище, що використовували для культивування бактерій	27
2.3 Підготовка препарату метаболітів бактерій.....	27
2.3 Фарбування за Грамом .....	28
2.4 Фітопатогенні мікроміцети, що використовували для дослідження .....	28
2.5 Підготовка культур грибів для дослідження .....	28
2.6 Метод дискової дифузії в агарі.....	29
2.7 Здатність синтезувати індол-3-оцтову кислоту (ІОК). .....	29
2.8 Аналіз краплинного колапсу .....	29
2.9 Синтез аміаку.....	29
2.10 Статистичний аналіз.....	30
Висновки до розділу 2.....	30
<b>РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....</b>	<b>31</b>
3.1 Опис та характеристика бактеріальних ізолятів .....	31
3.1.1 <i>Siminovitchia terrae</i> .....	31
3.1.2 <i>Pseudomonas salomonii</i> .....	32
3.1.3 <i>Pseudomonas yamanorum</i> .....	32
3.1.4 <i>Psychrobacter arcticus</i> .....	33
3.1.5 <i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> .....	35
3.1.6 <i>Hafnia psychrotolerans</i> .....	36
3.1.7 <i>Pseudarthrobacter sp.</i> .....	36
3.1.8 <i>Brachybacterium sp.</i> .....	36
3.1.9 <i>Kocuria salsicia</i> .....	38
3.2 Антифунгальна активність.....	39
3.3 Про-фунгальна активність .....	43

Висновки до розділу 3.....	47
<b>ВИСНОВКИ .....</b>	<b>48</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>49</b>
<b>ДОДАТКИ .....</b>	<b>60</b>



## ВСТУП

Останнім часом у світі спостерігається значний інтерес до мінімізації шкоди від хімічних пестицидів в сільськогосподарській галузі. Перспективним напрямом є вивчення властивостей ендоефітних бактерій. Серед їх різноманіття, особливо значущими є їх антифунгальні властивості. Такі бактерії можуть боротися з різними грибовими інфекціями, які є одними з найбільших загроз для сільськогосподарських культур. Грибові захворювання, такі як борошниста роса, фітофтороз, або коренева гниль, можуть спричинити серйозні збитки врожаю і знижувати якість продукції. Традиційне лікування таких хвороб за допомогою хімічних фунгіцидів має свої недоліки: це не тільки витратно і шкідливо для навколишнього середовища, але й може призводити до розвитку стійкості патогенів до препаратів. В цьому контексті ендоефітні бактерії, які здатні виробляти різні біологічно активні речовини (антибіотики, ензими, токсини), що пригнічують ріст грибків, набувають особливої важливості.

**Актуальність дослідження.** Використання ендоефітних бактерій із антифунгальними властивостями є однією з найперспективніших і найбільш екологічно чистих альтернатив традиційним методам боротьби з грибовими захворюваннями. Такі бактерії можуть бути використані в майбутньому для розробки нових біопрепаратів, що забезпечать високий рівень захисту рослин, знижуючи ризики для здоров'я людей і навколишнього середовища. Тому вивчення і впровадження цих бактерій є важливим кроком на шляху до сталого розвитку сільського господарства.

**Метою** дослідження є вивчення та оцінка мікроорганізмів що мають антифунгальні властивості щодо виділених фітопатогенів.

**Завдання дослідження** полягає в проведенні скринінгу різних мікроорганізмів на їх здатність виявляти протигрибову активність, визначенні оптимальних умов для їх культивування та оцінці їх впливу на ріст та розвиток рослин та фітопатогенів.

**Наукова новизна** досліджень антифунгальної активності ендоефітних бактерій полягає в виявленні потенціалу мікроорганізмів, які природньо мешкають

всередині рослин, для боротьби з патогенними грибами. Це відкриття розширює горизонти використання природних біологічних агентів у сільському господарстві та медицині. Дослідження показало, що деякі ендofітні бактерії мають здатність синтезувати антигрибкові сполуки, що може стати основою для розробки нових екологічно чистих засобів боротьби з грибковими інфекціями.

**Практичне значення** полягає в розробці нових, ефективних і екологічно чистих методів боротьби з патогенними грибами. Виявлення ендofітних бактерій з антифунгальною активністю відкриває нові можливості для створення біологічних пестицидів, що не несуть шкоди навколишньому середовищу, зменшують використання хімічних фунгіцидів та сприяють розвитку сталого сільського господарства.

**Об'єктом дослідження** є культури ендofітних бактерій, що асоційовані з судинними рослинами Антарктики.

**Предметом дослідження** є вивчення взаємодії вказаних бактерій та мікроскопічних грибів.

**Методи дослідження**, що використані в роботі – культиваційні, біохімічні, фізико-хімічні та методи статистичної обробки.

**Апробацію наукових результатів** здійснено на міжнародній науковій конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (25-26 квітня 2024 року, Харків, Україна).

**Публікації.** Результати роботи опубліковані в матеріалах міжнародної конференції, що внесені до наукометричної бази *Scopus*.

Бібліографія опублікованих робіт. Iungin O., Prekrasna-Kviatkovska Ye., Kalinichenko O., Savchuk Y., Krainova Y., Sidorenko M., Mickevičius S. Antifungal activity of endophytic bacteria associated with Antarctic vascular plants. Proceedings of the 10th International Conference Advanced Materials and Systems, October 30th - 31st, 2024. Bucharest, Romania. P. 00-00. (ДОДАТОК А)

Reznik D., Krainova Y., Kalinichenko O., Iungin O. Screening indole-3-acetic acid (IAA) producers among endophytes of vascular plants. Матеріали Міжнародної наукової конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та

природокористування», 25-26 квітня 2024 р., Україна, Харків, ДБТУ. С. 102.  
**(ДОДАТОК Б)**

*Структура і обсяг.* Основна частина дипломної магістерської науково-дослідницької роботи викладена на 50 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 77 найменувань публікацій вітчизняних та зарубіжних дослідників.

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### **1.1 Ендофітні бактерії та їх вплив на адаптацію рослин до біотичних факторів стресу.**

Вважається, що ендофітні бактерії, які населяють тканини рослин, відіграють вирішальну роль у адаптації хазяїна до біотичних стресів і несприятливих умов навколишнього середовища [1]. В останні роки інтерес до ендосферних мікробів експоненціально зріс [2]. Глибше розуміння біології бактеріальних ендофітних об'єднань та їхніх тісних зв'язків із генетичною мережею рослин проклали шлях для поглиблення знань про мікробний вплив на реакцію рослин на стрес, толерантність та адаптацію [3]. Дослідники визнали, що ретельне вивчення взаємодії між ендофітами та їх рослинами-господарями може стати ключем до розробки багатофакторних стратегій контролю для найпоширеніших факторів стресу, що впливають на рослини, особливо в несприятливих умовах. Цей новий підхід також забезпечує кращу перспективу для вивчення потенціалу пов'язаного з ендофітами та їх біологічною активністю, такою як біоконтроль, біоремедіація та виробництво метаболітів [4].

Ендофітні бактерії виробляють різноманітні метаболіти, які можуть принести користь рослинам-господарям у стимулюванні росту та контролі хвороб [5]. Було описано багато різних способів дії, щоб пояснити, яким чином ендофітні бактерії підвищують здатність рослин протистояти біотичним факторам [6]. У деяких випадках вони можуть конкурувати за поживні речовини з патогенами в колонізованих тканинах, виділяти молекули антибіотиків і антимікробні пептиди або навіть викликати захисні реакції рослин і індуквану системну резистентність (ISR) [7].

### **1.2 Загальні поняття про ендофітні бактерії, їх роль в навколишньому середовищі.**

Ендофітні бактерії - це мікроорганізми, які живуть всередині тканин рослин, на відміну від екзофітних бактерій, які знаходяться на поверхні рослин. Ці бактерії можуть існувати в будь-якій частині рослини, включаючи коріння, стебла, листя,

квіти та насіння. Вони взаємодіють з рослиною у взаємовигідному симбіозі, користуючись живленням і житлом, яке надає їм рослина, а відтак, виконуючи ряд корисних функцій для свого господаря [9].

Найбільш поширене визначення ендоефітів дане Дж. Холлманом та співавторами в 1997 році в статті “Bacterial endophytes in agricultural crops” - “...ендоефіти це ті бактерії, які можна виділити з поверхнево дезінфікованої рослинної тканини або витягти зсередини рослини, і які не завдають видимої шкоди рослині.” [10]. Це визначення було дійсним для культивованих видів у більшості лабораторій світу протягом останніх 2 десятиліть. Однак, через підозрювану відсутність повного усунення нуклеїнових кислот після дезінфекції поверхонь рослин, це визначення менш доцільне для некультивованих видів після впровадження методів молекулярного виявлення в дослідження ендоефітів [11].

За дослідженням індійських науковців Neerja Rana, Akanksha Rathore, Arti Ghabru і Shivani Chauhan статті “Endophytes: Role and applications in sustainable agriculture” - описано роль ендоефітних бактерій - “Ендоефіти відіграють надважливу роль в рості рослин за допомогою різноманітних механізмів. Їх ефективність може бути змінена залежно від різних факторів, наприклад: вид рослин, сорт, умови середовища зростання та від штаму бактерій залучених до їх росту. Також досліджено, що ендоефіти мають прямий та непрямий вплив на ріст рослин. Прямий вплив може відбуватися, коли бактерії отримують необхідні їм поживні речовини з навколишнього середовища, такі як калій, азот, фосфор і залізо, та роблять їх доступними для рослини. Окрім того, певні ендоефітні бактерії мають змогу регулювати ріст рослини, виробляючи або регулюючи гормони, які виробляються в цій рослині, котрі беруть участь в різних етапах її росту та розвитку. Непрямим впливом вважається процес коли ендоефітні бактерії виробляють деякі речовини та антибіотики які можуть пригнічувати, або повністю зупиняти ріст патогенних бактерій та грибів в середині рослини. Для прикладу, *Rhizobacterium*, ці бактерії здатні стимулювати ріст рослин, підвищувати проникність поживних речовин в середину рослин. Але, важливим моментом є те, що активність може змінюватися залежно від факторів навколишнього середовища, сорту рослини та штаму бактерії.

Тому необхідні подальші дослідження для оптимізації використання ендоефітних бактерій для сталого ведення сільського господарства в різних видах рослин і середовищах” [12].

Також відмічається важлива роль ендоефітних бактерій з засоленістю місцевості. Ендоефітні бактерії дуже корисні для покращення солостійкості рослин. Повідомлялося, що види бактерій, що належать до родів *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Pantoea* та *Streptomyces*, значно зменшують вплив солоності.

Під впливом солоності бактеріальні ендоефіти, пов’язані з видами рослин *Solanum lycopersicum*, *Cicer arietinum*, *Triticum aestivum*, *Oryza sativa*, *Hybrid* [13].

### **1.3 Механізми антифунгальної активності ендоефітних бактерій**

Ендоефіти мають антифунгальні властивості, що дає їм змогу боротися з патогенними грибами, які впливають на ріст та розвиток рослин. Ця активність дуже важлива для захисту рослин від збудників захворювань, які можуть спричинити їх хворобу та зниження врожайності для сільського господарства.

#### **1.3.1 Виробництво антибіотиків.**

Антибіотики, що виробляються ендоефітними бактеріями пригнічують або припиняють ріст широкого спектру збудників хвороб рослин, а також тих грибів, бактерій та вірусів які здатні впливати на організм людини. [14].

Антибіотики групи Екоміцинів виробляються *Pseudomonas viridiflava*. *P. Viridiflava*, є представниками групи рослинних флуоресцентних бактерій. Зазвичай вони асоціюються з листям багатьох видів трав і розташовані на тканинах і всередині них. Екоміцини представляють сімейство нових ліпопептидів. Вони активні щодо таких патогенних для людини грибів, як *Cryptococcus neoformans* і *C. Albicans* [14].

Інша група протигрибкових сполук — це псевдоміцини, що виробляються псевдомонадами, які пов’язані з рослинами. Псевдоміцини представляють сімейство ліпопептидів, які активні проти різноманітних патогенних для рослин і людини грибів. Деякі з організмів-мішеней включають *C. albicans*, *C. neoformans* і різноманітні патогенні гриби, включаючи *Ceratocystis ulmi* (збудник голландської

хвороби в'язи) і *Mycosphaerella fijiensis* (збудник хвороби Чорної Сігатоки бананів). Ключовою частиною псевдоміцинів є циклічний нонапептид. Кінцева карбоксильна група l-хлортреоніну замикає макроциклічне кільце на ОН-групі N-кінцевого серину. Різноманітність цього сімейства сполук досягається завдяки N-ацетилюванню однією з ряду жирних кислот, включаючи 3,4-дигідроксидеканоат або 3-гідрокситетрадеканоат та інші. Псевдоміцини містять декілька нетипових амінокислот, включаючи l-хлортреонін, l-гідроксиаспарагінову кислоту та d- та l-діаміномасляну кислоти. Молекули потенційно можуть викристовуватись в медицині, особливо після того, як структурна модифікація успішно усунула токсичність для ссавців. Хоча псевдоміцини також ефективні проти ряду аскоміцетних грибів, їх також розглядають для використання в сільському господарстві [15].

Антибіотики широкого спектру дії продукуються *Streptomyces sp.* Вони можуть мати різну біологічну активність. Вони мають велику активність проти грампозитивних бактерій, наприклад *Bacillus anthracis*, та *Mycobacterium tuberculosis*, що не піддаються лікуванню за допомогою інших лікарських засобів. Але одним з найбільш вражаючих активностей в спектрі дії цих антибіотиків є активність проти малярійного плазмодія, що є збудником небезпечної хвороби – малярії. Виділення ендofітного стрептоміцета *Streptomyces sp.*, представляє важливу підказку в відкритті одного з перших прикладів рослин, що містять актиноміцетів, які є основним світовим джерелом антибіотиків. Однак у минулому практично всі вони, які використовуються для сучасного виробництва антибіотиків, були виділені з ґрунтів. Зараз більше 30 з них доступні як ендofіти, і багато з них мають антибіотичну активність. Ендofітні актиноміцети зараз тестуються та розглядаються для використання в боротьбі з хворобами рослин [16].

### 1.3.2 Індукція системної стійкості

Колонізація рослинних тканин корисними бактеріями може призвести до стійкості рослин, яка називається індукованою системною стійкістю.

У рослин які виявляють індукцію системної стійкості за участю бактерій, спостерігається ряд молекулярних та клітинних оборонних реакцій, таких як

стимуляція сигнальних шляхів, залежних від етилену/ясмінової кислоти, відкладення каллозу, збільшення накопичення реактивних форм кисню, покращення деяких генів оборони, які кодують білки, пов'язані з реакцією на патогени, накопичення фітоалексинів та регуляція забору поліамінів.

Фітоалексини - це низькомолекулярні речовини, що виробляються у відповідь на контакт з інфекцією, або продуктами метаболізму патогенних мікроорганізмів.

У вищих рослин одним із ключових механізмів захисту є індукція білків, пов'язаних з патогенезом, у відповідь на патоген [17].

### **1.3.3 Конкуренція за поживні речовини**

Конкуренція за поживні речовини між ендofітами та іншими бактеріями або грибами є одним з основних способів їх взаємодії між собою. Це здатність негативно впливати, пригнічувати ріст і розмноження один одного [18].

Конкуренція за поживні речовини може бути прямого механізму дії, тобто, ендofіти можуть конкурувати з іншими бактеріями або грибами, напряду за доступ до поживних. Також вона може бути у вигляді антагонізму. Це означає, що ендofітні бактерії можуть продукувати сполуки, які будуть пригнічувати ріст фітопатогенів, і таким чином вони отримують доступ до поживних речовин [18].

Переваги конкуренції за поживні речовини – вона екологічно безпечна, внаслідок зниження потреби в хімічних фунгіцидах для боротьби з фітопатогенами. Також конкуренція за поживні речовини є достатньо ефективним методом боротьби зі збудниками хвороб, внаслідок широкого спектру їх дії. Цей метод широко використовується в сільському господарстві [18].

### **1.3.4 Паразитизм**

Велика кількість ендofітних бактерій має симбіотичні зв'язки з рослинами. Вони використовують їх поживні речовини не тільки для власного розвитку, а й вигідної взаємодії. Проте деякі ендofіти можуть навпаки паразитичні властивості. Декілька прикладів паразитизму:

1. Деякі штами ендofітних бактерій можуть викликати захворювання рослин, наприклад гниття, що призведе до їх висихання або гибелі рослин.



2. Ендofіти можуть конкурувати за ресурси не тільки з бактеріями, або грибами, а й з рослинами, надмірно забираючи в них поживні речовини, які необхідні для росту рослини. Наслідком цього може бути пригнічення росту, або загибель рослини [19].

## **1.4 Приклади фітопатогенних грибів**

### **1.4.1 *Nigrospora oryzae***

*Nigrospora* це небезпечний збудник грибкової інфекції, яка вражає кукурудзу, рис, та ін. Заражені культури стають непридатними до споживання та посіву, зерно пліснявіє, і погано сходить після посіву [20]. Внаслідок зараження, паростки не отримують достатньо енергії і гинуть в ґрунті. Захворювання зустрічається в південних регіонах України [21].

Інфекція може проявляється і розвивається до збирання врожаю. Перші симптоми хвороби проявляються на качанах та стеблах. У місцях зараження колір стебла змінюється і стає сірувато-коричневим. Поступово заражені тканини розм'якають, а серцевина стрижня стає пухкою. Біля основи стрижня можна побачити багато скупчень чорних спор. Потім вони стають помітними на зернівці в нижній частині качана [22].

Спори *Nigrospora oryzae* можуть поширюватися вітром та є джерелом нового інфікування. Їх проростання відбувається тільки після періоду спокою. У місцях первинної концентрації паразит може зберігати життєздатність впродовж року та заражати наступні посіви наступного сезону, але в ґрунті грибок швидко пригнічується іншими мікроорганізмами та гине [23].

### **1.4.2 *Fusarium solani***

*Fusarium solani* – це вид нитчастих грибів, що спричиняють ґрунтову цвіль. В людей може викликати грибковий кератит, що є дуже небезпечним оскільки може привести до сліпоти [24].

Широко поширений грибок, що часто виділяється з ґрунту і як фітопатоген. Найважливіший фітопатоген, що викликає гниль бульб картоплі, плодів томату, зернівки злаків [25].

*Fusarium solani* загрожує розвитку сільськогосподарської діяльності, тому що спричиняє некроз коренів та загибелі деяких видів рослин. [26].

#### **1.4.3 *Alternaria alternata***

*Alternaria alternata* — це грибок, який спричиняє плямистість листя, гнилі та опіки на багатьох частинах рослин та інші захворювання. Це умовно-патогенний мікроорганізм для більш ніж 380 видів рослин-господарів [27].

Він може інфікувати тільки деякі види рослин. Основним признаком зараження є виразки на стеблі. *Alternaria alternata* міститься в насінні та саджанцях і часто поширюється спорами. При сильному зараженні ураження збільшуються і зливаються, викликаючи опіки листя [28]. На додаток до некротичних листків і черешків, рослини мають сильну дефоліацію зі значними втратами врожаю, коли це відбувається перед цвітінням. Плоди помідорів також можуть бути інфіковані, утворюючи коричневі виразки, що робить їх непридатними для вживання [29].

#### **1.4.4 *Nectria sp.***

Рід *Nectria* — рід аскоміцетових грибів. Найчастіше вони зустрічаються як сапрофіти на гнилій деревині, але деякі види можуть також зустрічатися як паразити на деревах, особливо фруктових деревах (наприклад, яблуні ) та ряді інших листяних дерев. Деякі види є значними шкідниками, які спричиняють такі хвороби, як яблуневий рак та коралова плямистість у садах [30].

Він повсюдно поширений у прохолодній помірній Європі та Північній Америці та, здається, є інтродукованим видом у Новій Зеландії та Австралії . Поява в Новій Зеландії була вперше ідентифікована в 1996 році в Отаго та Саутленді, хоча вважається, що вона існує з 1980-х років [31]. У Північній Америці інфекції *Nectria* мали економічно важливий вплив на лісове господарство та лісову продукцію, включаючи осику, червоний дуб, клен, бук, тополю та березу. Види *Nectria* також зустрічаються в теплішому кліматі, включаючи групи островів, такі як Гаваї [32].

#### **1.4.5 *Botrytis cinerea***

Гриб живе у ґрунті та на рослинних залишках у вигляді міцелію, деякі форми утворюють зимуючі склероції. Анаморфна стадія покриває субстрат густим сірим або коричневим нальотом, що складається з гіф та розгалужених, деревоподібних

конідіоносців, що дають безбарвні або слабо димчасті конідії. Ця форма дуже стійка до зовнішніх впливів та забезпечує тривале збереження живого гриба у несприятливих умовах, зазвичай на 2-3 роки [33].

Викликає численні захворювання рослин - кагатна гниль коренеплодів, сіра гниль суниці, захворювання винограду, пасльонових, цибулі, цитрусових та багатьох інших рослин. Часто вражає боби, льон, гладіолуси, тепличні культури, горох, салат [34]. Економічні збитки від ураження сірою гниллю особливо великі для суниці, гороху, при зберіганні багатьох коренеплодів і капусти. Як і багато інших цвілевих грибів, *Botrytis cinerea* може викликати захворювання людей. Наприклад, встановлено, що його розвиток на винограді іноді призводить до захворювання легень - рідкісної форми алергічної респіраторної реакції у схильних осіб [35].

#### **1.4.6 *Bipolaris sorokiniana***

*B. sorokiniana* є збудником широкого спектру захворювань злакових. Патоген може інфікувати корені, листки та стебла. Двома найпоширенішими хворобами, спричиненими *B. sorokiniana*, є плямистість і звичайна коренева гниль, переважно на посівах пшениці та ячменю [36].

*Bipolaris sorokiniana* є серйозним патогеном не тільки тому, що він призводить до значних втрат урожаю, але також тому, що він може атакувати більшість органів пшениці, включаючи коріння, область крони, стебла, листя та зерна. Це означає, що стратегії управління мають бути зосереджені не лише на обмеженні присутності грибка в надземних частинах рослин, а й на інокуляції *B. sorokiniana*, присутній у ґрунті [37]. Крім того, важливо розробити інтегровану програму боротьби з хворобами *B. sorokiniana* з використанням культурних практик, біологічного контролю та хімічних фунгіцидів. Оскільки протягом останніх років пошуку агентів біоконтролю приділялося більше уваги, важливо знайти антагоністичні штами, які можуть доповнювати культурні та хімічні практики в цій галузі. У пошуках нових джерел стійкості слід розглядати пошук менш сприйнятливих культиварів до всіх хвороб, викликаних *B. sorokiniana*, замість того, щоб зосереджуватися на одній хворобі [38].

#### **1.4.7 *Sclerotinia sclerotiorum***

*Sclerotinia sclerotiorum* це фітопатоген, який є збудником білої плісняви. *S. sclerotiorum* також відома як бавовняна гниль, водяниста м'яка гниль, гниль стебла, коронкова гниль і гниль квітів. Ключовою характеристикою цього збудника є його здатність утворювати чорні спочиваючі структури, відомі як склероції, і білі нечіткі нарости міцелію на рослині, яку він заражає. Ці склероції дають початок плодovому тілу, яке виробляє спори в мішечку, тому гриби цього класу називаються мішечковими. Цей збудник може зустрічатися на багатьох континентах і має широкий спектр рослин [39].

Соняшники є звичайними господарями білої плісняви. Він також може іноді вражати деревні декоративні рослини, як правило, на молодих тканинах. Біла цвіль може вражати своїх господарів на будь-якій стадії росту, включаючи розсаду, зрілі рослини та зібрану продукцію. Зазвичай його можна знайти на тканинах з високим вмістом води та в безпосередній близькості до ґрунту. Одним із перших помічених симптомів є явна ділянка білого, пухнастого росту міцелію. Зазвичай цьому передують ушкодження від блідо- до темно-коричневого кольору на стеблі біля ґрунту. Потім міцелій покриває цю некротичну ділянку. Після ураження ксилеми інші симптоми виникають вище в рослині. Це може включати хлороз, в'янення, опадання листя та швидку смерть. На плодах початкові темні ураження виникають на тканині, яка контактує з ґрунтом. Далі білий грибний міцелій покриває плід і він розпадається. Це може статися, коли фрукти знаходяться в полі або під час зберігання.

Склеротиніозна гниль стебла спричиняє значні втрати врожаю в помірному кліматі, особливо під час прохолодних і вологих періодів вегетації [39].

#### **1.4.8 *Rhizoctonia solani***

*Rhizoctonia solani* є поширеним ґрунтовим фітопатогеном. Цей збудник може викликати деякі симптоми, такі як коренева гниль, рак стебла, опіки оболонки або опіки листя на різних рослинах-господарях, і часто призводять до серйозних економічних збитків. Він переважно розвивається в теплі та сирості, а спалахи захворюваності виникають зазвичай влітку. Проте прояви наявності збудника

можуть не проявлятися до кінця літа, тому часто про хворий врожай можна дізнатися на наступний рік після посадки.

Для того щоб запобігти хворобі потрібно використовувати здорові насіннєві бульби, протруювати їх від збудників, садити в оптимальні строки та вирощувати стійкі до збудників сорти [40].

## **1.5 Методи дослідження антифунгальної активності**

### **1.5.1 Дослідження *in vivo***

За допомогою досліджень *in vivo* можна дослідити, наскільки висока антифунгальна активність в цілому організмі. Переваги цього методу полягають у достатньо точній оцінці ефективності та токсичності. Він дозволяє вивчити фармакокінетику, тобто весь шлях тестової речовини починаючи від всмоктування до виділення організмом.

Поширені методи дослідження:

1. Зараження тварин: Тварин заражають грибковими патогенами, дають тестову речовину та спостерігають за їх станом, виживанням та динамікою прогресування грибкової інфекції

2. Моделі на імунодефіцитних тваринах: Імунодефіцитні тварини більш сприйнятливі до грибкових інфекцій. Це дозволяє моделювати важкі грибкові інфекції. Використовують мишей, щурів, кроликів, морських свинок.

3. Моделі на комах: Деякі комахи, наприклад плодові мушки, легко заражаються грибковими патогенами. Дозволяють швидко та ефективно дослідити антифунгальну активність. Для дослідження використовують *Drosophila melanogaster* (плодова мушка), *Galleria mellonella* (воскова міль).

4. Експланти тканин: Фрагменти тканин тварин заражають грибковими патогенами, після чого їм дають тестову речовину. Спостерігають за ростом грибка.

5. Очні інфекції: Досліджують грибкові інфекції очей у тварин. Це дозволяє дослідити місцеву антифунгальну дію. Для цього використовують кроликів, морських свинок [41].

Згідно статті - Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots (L. Cao , Z. Qiu, J. You, H. Tan, S. Zhou) ендоефітні штами *Streptomyces* були виділені за допомогою методів поверхневої стерилізації та ідентифіковані за морфологічними характеристиками. Протигрибкову активність *in vivo* вимірювали загибеллю розсади в заражених ґрунтах. В результаті 21% ізолятів ендоефітних стрептоміцетів виробляли антибактеріальні метаболіти, а 41% виробляли протигрибкові метаболіти в середовищі S. 65% найбільш часто ізольованих штамів пригнічували ріст *Rhizoctonia solani* за допомогою антибіозу, але лише 32% виробляли метаболіти, активні проти *R. solani* в середовищі S. Стимулювання росту та підвищена стійкість до хвороб саджанців, інокульованих *Streptomyces sp.* штаму S30 спостерігалися в розсаді томатів, але не в розсаді огірків [4].

### 1.5.2 Дослідження *in vitro*

Методи дослідження антифунгальної активності *in vitro* використовуються для оцінки здатності речовин (наприклад, антибіотиків, природних сполук тощо) до інгібування росту грибів в умовах, що моделюють умови в лабораторії. Найпоширеніші методи дослідження:

#### 1. Дифузійний тест на агарі (Disk diffusion method):

Випробувана речовина (наприклад, екстракт, препарат) наноситься на агарну пластину, на якій вже знаходиться грибова культура. Після інкубації вимірюється зона інгібіції навколо зразка, що свідчить про антифунгальну активність речовини.

#### 2. Метод мікротитрових пластинок (MIC - Minimum Inhibitory Concentration):

Різні концентрації випробуваної речовини додаються до мікротитрових пластинок з ростовим середовищем та грибовою культурою. Мінімальна інгібуюча концентрація (MIC) визначається як найнижча концентрація речовини, при якій спостерігається відсутність видимого росту грибів.

#### 3. Метод кількісної оцінки грибового росту:

Дослідження відбувається за допомогою спектрофотометрії для вимірювання оптичної щільності культури грибів у присутності різних концентрацій

випробуваної речовини. Залежно від методу, вимірюється абсорбція при певній довжині хвилі, що може бути корельованою з кількістю живих клітин грибів.

#### 4. Методи визначення механізму дії:

Включають в себе вивчення впливу випробуваних речовин на різні біохімічні та фізіологічні процеси у клітинах грибів, такі як синтез клітинної стінки, реплікація ДНК тощо [42].

### **1.5.3 Переваги та недоліки методів дослідження антифунгальної активності**

Переваги методів *in vitro*:

1. Можна досліджувати велику кількість зразків за короткий проміжок часу;
2. Не потребує великої території, тому що всі дослідження проводяться в лабораторних умовах в контрольованому середовищі; [43]

Недоліки:

Через роботу в штучних умовах, дані *in vitro* можуть відрізнятися від даних, які могли б бути в звичайному середовищі. Також антифунгальна активність може бути неточною по відношенню до реальних умов існування, тому часто потрібне підтвердження дослідження методом *in vivo* [43].

Переваги методів *in vivo*:

1. Всі дослідження проводяться в реальних умовах на живих організмах, тому це може дати більш точний результат про ефективність досліджуваних препаратів;
2. Метод *in vivo* дає змогу дослідити вплив препарату на цілий організм.

Недоліки:

1. Дослідження *in vivo* можуть займати багато часу, що не дає змогу швидко дослідити велику кількість зразків, на відміну від методу *in vitro*;
2. Так як методи *in vivo* передбачають використання лабораторних тварин, це може викликати обурення серед людей;
3. Результати досліджень *in vivo* на тваринах може не повністю співпадати з бажаною реакцією людини на досліджуваний препарат [44].

## **1.6 Застосування ендofітних бактерій з антифунгальною активністю**

Біоконтроль захворювань рослин, викликаних фітопатогенами є дуже перспективним напрямком в розвитку сільського господарства. Ендofіти можуть бути сильними агентами в боротьбі з патогенними бактеріями або грибами.

Розробка нових антифунгальних препаратів є одним з перспективних напрямків у боротьбі з грибковими захворюваннями. Ендofітні бактерії, які колонізують внутрішні тканини рослин, часто мають унікальні властивості та здатні виробляти біологічно активні сполуки, що виявляють антифунгальну активність. Переваги та підходи до розробки антифунгальних препаратів на основі ендofітних бактерій:

1. Ендofітні бактерії можуть бути джерелом нових протигрибкових або антибактеріальних препаратів, які можна ідентифікувати за допомогою досліджень та скринінгів;
2. Застосування генної інженерії може бути використано для покращення виробництва цільових речовин в ендofітних бактеріях, що дає змогу підвищити протигрибкову активність;
3. Взаємодія між ендofітними бактеріями та рослиною може стимулювати вироблення антифунгальних сполук, або підвищити їх ефективність;
4. Ендofітні бактерії, які виявлені в навколишньому середовищі, зазвичай стабільні та нетоксичні, що дає змогу залучити їх до розробки нових біопрепаратів;
5. Ендofіти, в залежності від виду та штаму, можуть бути ефективні проти рідних видів грибів та бактерій, що дозволяє виробляти великий спектр антимікробних та антимікотичних препаратів; [45].

## **1.7 Економічне значення ендofітних бактерій**

Ендofітні бактерії можуть бути успішно використані в сільському господарстві та інших галузях, за рахунок їх здатності до боротьби з патогенними мікроорганізмами.

Зі сторони екології, використання ендofітів значно краще для навколишнього середовища, аніж використання пестицидів, тому що останні мають негативний



вплив на довкілля. Також ендоефіти можуть колонізуватися в тканинах рослини, та забезпечувати тривалий захист цієї рослини від фітопатогенів, що також може приводити до зменшення використання хімічних пестицидів. Ендоефітні бактерії взаємодіють з рослинами на біологічному рівні, тому набагато менший ризик розвитку резистентності до бактерій, аніж у пестицидів.

Існує багато можливостей у розвитку нових технологій у сільському господарстві та медицині. Напрямки їх розвитку:

1. Ендоефіти використовують для боротьби з фітопатогенами в сільському господарстві. Їх використовують для знищення шкідників, такі як гриби, патогенні бактерії, деякі види комах. Використання ендоефітних бактерій значно зменшує застосування хімічних отрут, та допомагає зберегти якість ґрунту для подальшої родючості;

2. Деякі ендоефітні бактерії можуть затримувати атмосферний азот в ґрунті, який потрібен їм для росту, що зменшує використання добрив з вмістом азоту;

3. Також ці бактерії можуть бути залучені до процесів біоремедіації, тобто до розкладання речовин, які забруднюють навколишнє середовище;

4. Велике значення ендоефіти мають для фармацевтики та медицини, виробляючи активні інгредієнти для розробки та створення нових лікарських засобів, такі як антибіотики, протигрибкові препарати, тощо;

Всі ці напрямки значно розширюють наші знання про можливість застосування ендоефітів в розвитку біотехнологій, та створення нових засобів в різних галузях [46].

### **Висновки до розділу 1**

Підбиваючи підсумки огляду літератури можна зазначити, що ендоефітні бактерії відіграють велику роль в захисті рослин від фітопатогенів. Дослідження показують, що ендоефіти мають здатність продукувати біологічно активні речовини, зокрема антибіотики, що активно пригнічують ріст патогенних грибів, бактерій тощо.

Розглянули механізми антифунгальної активності такі, як виробництво антибіотиків, індукція системної стійкості, конкуренція за поживні речовини, паразитизм.

Ендofітні бактерії застосовуються для боротьби з грибковими захворюваннями рослин, але їх користь полягає не лише в підвищенні врожайності, а також у зменшенні використання синтетичних пестицидів, що в свою чергу позитивно впливає на екологію.

Отже, подальші дослідження у цій галузі можуть сприяти створенню нових, ефективних та екологічно чистих технологій для контролю хвороб рослин, що є критично важливим для забезпечення продовольчої безпеки та збереження навколишнього середовища.

## РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Об'єкт дослідження** – штами ендofітних бактерій, асоційовані з судинними рослинами Антарктики.

**Мета** – дослідження антифунгальної активності ендofітних бактерій, ізольованих зі зразків рослин.

### 2.1 Досліджувані мікроорганізми

Для цього дослідження були використані 12 бактеріальних культур, що були виділені зі зразків *Deschampsia antarctica* та *Colobanthus quitensis*.

### 2.2 Поживне середовище, що використовували для культивування бактерій

В ході дослідження використовували просте середовище – поживний агар.

Наважку сухого поживного агару розвели в дистильованій воді, та кип'ятили до повного розчинення агару. Далі профільтрували, помістили в автоклав та автоклаували протягом 15 хв. при температурі 121°C. Після автоклаування охолодили поживне середовище до 45-50°C та розлили в стерильні чашки Петрі товщиною шару 4-6 мм. Рівень рН = 7,3 ± 0,2. Посів бактерій на поживний агар проводили методом виснажуючого штриха.

### 2.3 Підготовка препарату метаболітів бактерій

Нічні бактеріальні культури (живильний бульйон, 25°C) використовували для посіву 100 мл стерильного середовища в колбі Ерленмейера на 250 мл. Їх інкубували протягом 3 днів у шейкері-інкубаторі, встановленому на 140 об/хв при 25 °С. Бактеріальні культури потім центрифугували протягом 15 хвилин зі швидкістю 10000 об/хв при кімнатній температурі. Супернатанти стерилізували фільтрацією з використанням 0,22 мкм і додавали до розтопленого агарового середовища, що досягло 20% (мас./об.). 5-денний міцелій попередньо вирощеної культури грибів помістили в середину підготовленої чашки Петрі стерильною голкою. Результати представлені у відсотках росту грибів за контрольними зразками з грибами, вирощеними на звичайних середовищах.

### **2.3 Фарбування за Грамом**

Для визначення типу клітинної стінки у бактерій застосовували метод складного фарбування за Грамом. Мікробну суспензію нанесли на предметне скло в невеликій кількості і розподілили рівномірно тонким шаром. Підсушили на повітрі, після чого зафіксували мазок фізичним методом – 3-4 рази провели над полум'ям спиртівки. Зафіксований мазок накрили фільтрувальним папером та нанесли розчин генціанвіолету. Через 2 хв. зняли фільтрувальний папір та промили мазок дистильованою водою. Далі нанесли розчин Люголя та витримали 2 хв. Мазок промили дистильованою водою, потім занурили в 96% розчин етанолу та витримали 30 сек. Наступним етапом нанесли водний розчин фуксину на 1 хв., змили дистильованою водою та висушили на повітрі. Далі на мазок нанесли краплю імерсійної олії та проводили мікроскопію при збільшенні  $\times 90$ .

### **2.4 Фітопатогенні мікроміцети, що використовували для дослідження**

Для дослідження антифунгальної активності використовували культури грибів: *Nigrospora oryzae* 15966, *Fusarium solani* 50718, *Nectria inventa* 3041, *Botrytis cinerea* 16884, *Sclerotinia sclerotium* 16883, *Rhizoctonia solani* 16036.

### **2.5 Підготовка культур грибів для дослідження**

Для культивування грибів використовували поживне середовище Сабуро.

Наважку сухого середовища Сабуро розчинили в дистильованій воді та кип'ятили до повного розчинення компонентів, потім профільтрували. Розлили в

стерильні пробірки та автоклали протягом 15 хв. при температурі 121°C. Розлили в стерильні чашки Петрі по 20-30 мл та охолодили. Міцелій досліджуваних грибів нанесли на середовище та інкубували протягом 7 днів при температурі 28°C.

### **2.6 Метод дискової дифузії в агарі**

Для цього методу використовували попередньо підготовані культури грибів та бактерій. П'ятиденний міцелій вирощеної культури грибів помістили по центру поживного середовища в чашці Петрі за допомогою стерильної голки. Навколо нього інокулювали готові культури бактерій на однаковій відстані. Інкубували в термостаті при температурі 25°C протягом 5 днів. Після інкубації оцінили результати дослідження.

### **2.7 Здатність синтезувати індол-3-оцтову кислоту (ІОК).**

Бактеріальні ізоляти для виробництва ІОК висівали в поживний бульйон з додаванням 0,2% (мас./об.) L-триптофану та інкубували при 26 °C протягом 3 днів. Рідкі культури центрифугували при 4000 об/хв протягом 10 хв, після чого супернатант збирали у свіжу стерильну пробірку. Для виявлення продукції ІОК 1 мл супернатанту змішували з 2 мл реактиву Сальковського та інкубували в темряві 30 хв. На утворення ІОК вказувала зміна кольору суміші на рожевий. Оптичну густину отриманого пігменту зчитували при 535 нм за допомогою спектрофотометра UV-Vis (Ulab, Китай). У якості стандарту використовували індол-3-оцтову кислоту, яка є комерційно доступною.

### **2.8 Аналіз краплинного колапсу**

Для оцінки виробництва біоповірно-активних речовин (БАР) було проведено аналіз краплинного колапсу згідно [47] з використанням гідрофобної плівки Parafilm. Зниження поверхневого натягу та згортання краплі (що складається з 10 мкл аліквот бактеріальної нічної культури) вказує на наявність біосурфактантів.

### **2.9 Синтез аміаку**

Оцінку виробництва аміаку проводили шляхом інокуляції бактеріальних культур протягом ночі в 10 мл стерильної пептонної води та інкубації при 26 °C протягом 48 годин і 140 об/хв на платформі для струшування. Після інкубації до

кожної культури додавали 0,5 мл реактиву Несслера. Розвиток легкого жовтого до коричневого кольору був індикатором виробництва аміаку.

### **2.10 Статистичний аналіз**

Всі дослідження виконувалися в трьох повторюваностях, а кількісні результати, представлені за допомогою стовпчастих діаграм з медіаною та стандартним відхиленням (SD), зі статистично значущою різницею за  $p < 0,05$ .

### **Висновки до розділу 2**

Було розглянуто здатність ендоефітних бактерій впливати на ріст грибів, а також здатність продукувати індол-3-оцтову кислоту та аміак. Для цього дослідження ми використовували культури бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики. Для виділення чистих культур бактерій було використано поживний агар, для вивчення клітинної стінки та поділення на Грам-позитивні, та Грам-негативні бактерії використовували метод фарбування за Грамом з подальшою мікроскопією. Культури грибів інокулювали на поживне середовище Сабуро, та використовували їх для подальшого дослідження.

Дослідження проводили методом дискової дифузії в агарі, що дало нам змогу оцінити антифунгальну активність досліджуваних нами ендоефітів.

## РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 3.1 Опис та характеристика бактеріальних ізолятів

В дослідженні ми перевіряли антифунгальні властивості 12 штамів ендofітних бактерій, що були ізольовані зі зразків рослин *D. antarctica* та *C. quitensis* в ході 25 Української антарктичної експедиції.

#### 3.1.1 *Siminovitchia terrae*

Це рід грампозитивних паличкоподібних бактерій, родини *Bacillaceae*. Клітини являють собою прямі, аеробні, рухливі грампозитивні палички (ширина 0,8–1,1 мкм, довжина 2,4–3,0 мкм). У злегка роздутих спорангіях утворюються овальні центральні або субтермінальні ендоспори. Каталазо- та оксидазопозитивний. Колонії на середовищі поживний агар непрозорі, від білого до кремового кольору, підняті з цілими краями та гладкими поверхнями. Анаеробний ріст слабкий. Зростає від рН 6 до рН 8 (оптимальний рН 7). Здатний рости в присутності до 7 % (w/v) NaCl. Росте від 15 до 45 °С (оптимальна температура 30 °С). Продукція желатинази, казеїнази, амілаз, β-галактозидази, індолу, фенілаланіндезамінази, уреаз, аргініндегідролази та H<sub>2</sub>S негативна. Вироблення ацетоїну негативне. Гідроліз ескуліну негативний. Засвоєння малату та фенілацетату є позитивним, а засвоєння глюкози, l-арабінози, манози, маніту, N-ацетилглюкозаміну, мальтози, глюконату, капрату, адипату та цитрату – негативним. У тестах API ID32GN засвоюються малонат, ацетат, l-аланін, l-гістидин і l-пролін. l-рамноза, N-ацетил-глюкозамін, d-рибоза, інозит, сахароза, мальтоза, маніт, глюкоза, саліцин, мелібіоза, l-фукоза, d-сорбіт, l-арабіноза, ітаконат, суберат, капрат, валерат, цитрат, dl-лактат, 2-кето-глюконат, 5-кето-глюконат, 3-гідрокси-бензоат, 4-гідрокси-бензоат, 3-гідрокси-бутират і l-серин не засвоюються. Пропіонат і глікоген засвоюються слабо. Крім β-галактозидази виробляються кисла фосфатаза, лужна фосфатаза, лейцин-ариламідаза, хемотрипсин і фосфогідролаза. Виробництво естерази, естераз-ліпази, ліпази, цистин-ариламідази, валін-ариламідази, трипсину, глюкуронідази, N-ацетилглюкозамінідази, α-глюкозидази, β-глюкозидази, α-галактозидази, β-

галактозидази,  $\alpha$ -фукозидази та  $\alpha$ -маннозидази є негативний. Єдиним виявленим хіноном є МК-7, а в пептидоглікані виявлена мезо-діамінопімелова кислота. Ліпідний профіль складається з дифосфатидилгліцерину, фосфатидилгліцерину, фосфатидилетаноламіну, одного неідентифікованого амінофосфоліпиду, одного неідентифікованого фосфоліпиду, одного неідентифікованого гліколіпиду та одного неідентифікованого ліпиду [48].

### **3.1.2 *Pseudomonas salomonii***

Грамнегативні, аеробні, рухливі, неспороутворюючі палички. Утворює типові біло-кремові круглі гладкі колонії діаметром 3–4 мм. Флуоресцентний пігмент виробляється на середовищі Кінга. Реакції оксидази, аргініндигідролази, продукції левану та желатинази позитивні. Відновлення нітратів і гідроліз ескуліну негативні. Зростання спостерігається на D-ксилозі, D-глюкозі, трегалозі, ліксозі, малонаті, DL-гліцераті, D-малаті, L-ізолейцину, L-валіні, L-тирозині, L-орнітині, L-аргініні,  $\beta$ -аланіні, п-амінобензоату, саркозину, етаноламіну, діамінобутирату. Не було асиміляції L-рамнози, арбутину, ескуліну, мелібіози, рафінози, бутирату, ізовалерату, DL-2-амінобутирату, L- метіонін. Вміст GC ДНК типового штаму CFBR 2022T становить  $60\pm 2\%$  мол. Реакція гіперчутливості на листя тютюну позитивна відразу після ізоляції та негативна після багаторазового пересіву [49].

### **3.1.3 *Pseudomonas yamanorum***

Грамнегативні, аеробні, прямі палички ( $0,40\text{--}0,45\times 1,3\text{--}1,8$  мкм), зустрічаються поодинокі та парами, не утворюють спор і рухаються двома полярними джгутиками. Після 48 годин інкубації при  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  на агарі LB колонії мають діаметр  $1,5\text{--}2,5$  мм, зеленуваті та слизові з нерівними краями. Зростання відбувається при  $4\text{--}35\text{ }^{\circ}\text{C}$  з оптимумальною температурою  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  і при рН  $4,0\text{--}9,5$ . Здатний рости в присутності  $0\text{--}6\%$  (w/v) NaCl. Зростання спостерігається на поживному агарі, що містить  $1\%$  (мас./об.) 2,3,5-трифенілтетразолію хлориду, з колоніями злегка червоного або рожевого кольору. Зелені флуоресцентні пігменти отримують на середовищах А і В Кінга. Позитивний щодо активності каталази, оксидази, аргініндигідролази, желатинази, трибутиринестерази, лейцинариламідози, піролідонілариламідози, валінариламідози, трипсину, лужної фосфатази, кислій



фосфатази та нафтол-AS-VI-фосфогідролази, але негативний щодо активності лізиндекарбоксілази, орнітиндекарбоксілаза, триптофандезаміназа, уреаза,  $\alpha$ - і  $\beta$ -глюкозидаза,  $\alpha$ - і  $\beta$ -галактозидаза,  $\beta$ -глюкуронідаза, *N*-ацетил- $\beta$ -глюкозамінідаза,  $\alpha$ -маннозидаза,  $\alpha$ -фукозидаза, естераза (C4), естераза ліпаза (C8), ліпаза (C14), цистин-ариламідазу та  $\alpha$ -хімотрипсин. Не ферментує глюкозу. Негативний тест Фогеса-Проскауера, утворення індолу та сірководню, гідроліз гіпурової кислоти та крохмалю, відновлення нітратів та денітрифікацію. Кислота виробляється з *d*- і *l*-арабінози, *d*-рибози, *d*-ксилози, *d*-галактози, *d*-глюкози, *d*-фруктози, *d*-маннози, *l*-рамнози, мелібіози, трегалози, *d*-ліксози, *d*- і *l*-фукоза, генціобіоза, *N*-ацетил-*d*-глюкозамін, глюконат калію, калій 2-кетоглюконат, гліцерин, еритритол, ксиліт, інозит, *d*-адонітол, *d*- і *l*-арабіт і *d*-сорбіт. Не утворюються кислоти з амігдаліну, арбутину, цитрату заліза ескуліну, саліцину, інуліну, крохмалю, глікогену, *l*-ксилози, *l*-сорбози, целобіози, мальтози, лактози, сахарози, мелецитози, рафінози, туранози, *d*-тагатози, дульцитолу, *d*-маніт, метил  $\beta$ -*d*-ксилопіранозид, метил  $\alpha$ -*d*-маннопіранозид, метил  $\alpha$ -*d*-глюкопіранозид і 5-кетоглюконат калію. Використовує гліцерин, адонітол, ксиліт, інозит, *d*-сорбіт, *d*-галактозу, *d*-ксилозу, *d*-глюкозу, *l*-арабінозу, *d*-маннозу, *N*-ацетил-*d*-глюкозамін, 2-кетоглюконат кальцію, глюконат, малат, цитрат і капрінова, адипінова і фенілоцтова кислоти як єдині джерела вуглецю, але не *d*-маніт, мальтоза, целобіоза, лактоза, сахароза, мелецитоза, рафіноза або метил  $\alpha$ -*d*-глюкопіранозид. Чутливість до антибіотиків амікацину, азитроміцину, азтреонаму, цефепіму, цефоперазону/сульбактаму, ципрофлоксацину, гентаміцину, іміпенему, левофлоксацину, меропенему, міноцикліну, піперациліну, піперациліну/тазобактаму та рифампіцину, але стійка до ампіциліну/сульбактаму, цефалотин, цефотаксим, цефуроксим, цефтазидим, хлорамфенікол, кліндаміцин, колістин, еритроміцин, оксацилін, пеніцилін, тейкопланін, триметоприм/сульфаметоксазол (котримоксазол) і ванкоміцин [50].

#### **3.1.4 *Psychrobacter arcticus***

Клітини є грамнегативними, нерухомими, непігментованими, неспороутворюючими коккобактеріями, 0,5–0,8 мкм завширшки та 0,7–1,3 мкм

завдовжки. Колонії на агарі LB кремового кольору, круглі, опуклі, гладкі та непрозорі з суцільними краями. Зростання відбувається при 0–8 % (мас./об.) NaCl (оптимально 2–4 %) і при 4–34 °C (оптимально 25–29 °C). Клітини позитивні на кислу фосфатазу, лужну фосфатазу, каталазу, естеразу (C4), естеразу-ліпазу (C8), лейцин-ариламідазу, нафтол-AS-VI-фосфогідролазу та оксидазу. Клітини слабо позитивні в тесті Фогеса-Проскауера. Негативний щодо відновлення нітратів до нітритів, утворення  $H_2S$ , утворення індолу, уреазі, ліпази (C14), аргініндигідролази, лізиндекарбоксілази, орнітиндекарбоксілази, цистеїнариламаідази, валінариламаідази, триптофандезамінази, трипсину,  $\alpha$ -хімотрипсину,  $\alpha$ -фукозидаза,  $\alpha$ -галактозидаза,  $\beta$ -галактозидаза,  $\beta$ -глюкуронідаза,  $\alpha$ -глюкозидаза,  $\beta$ -глюкозидаза, N-ацетил- $\beta$ -глюкозамінідаза та  $\alpha$ -маннозидаза, а також гідроліз казеїну та желатину. Позитивний до утворення гліцил-L-глутамінової кислоти, L-глутамінової кислоти,  $\beta$ -гідроксимасляної кислоти, бурштинової кислоти, монометилового ефіру бурштинової кислоти, глікогену,  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти,  $\alpha$ -кетовалеріанової кислоти,  $\gamma$ -аміномасляної кислоти, метиловий ефір піровиноградної кислоти, D-аланін, L-аланін, L-аргінін, L-аспарагінова кислота, L-лейцин, гліцил-L-пролін і L-серин. Негативний щодо використання N-ацетил-D-глюкозаміну, N-ацетил- $\beta$ -D-маннозаміну, N-ацетил-D-галактозаміну, N-ацетил-нейрамінової кислоти, L-арабінози, целобіози, декстрину, D-фукози, L-фукоза, D-фруктоза, D-галактоза, генціобіоза, D-глюкоза,  $\alpha$ -лактоза, D-яблучна кислота, L-яблучна кислота, мальтоза, мелібіоза, 3-метилглюкоза, метил  $\beta$ -D-глюкозид, D-манноза, рафіноза, D-рамноза, D-саліцин, стахіоза, сахароза, трегалоза, тураноза, N-ацетилглюкозамін, інозин, D-арабіт, D-маніт, міо-інозитол, D-сорбіт, гліцерин, D-фруктозо-6-фосфат, D-глюкоза 6-фосфат, пектин, D-галактуронова кислота, L-галактонова кислота, D-глюконова кислота, D-глюкуронова кислота, глюкуронамід, слизова кислота, хінна кислота, D-сахарна кислота, глюконат калію, тринатрій цитрат, оцтова кислота, ацетооцтова кислота, адипінова кислота, бромьантарна кислота, капрінова кислота, лимонна кислота, мурашина кислота,  $\alpha$ -гідроксимасляна кислота,  $\alpha$ -кетомасляна кислота, метиловий ефір D-молочної кислоти, L-молочна кислота, метилпіруват,

фенілоцтова кислота, пропіонова кислота, d -аспарагінова кислота, l -гістидин, l -піроглутамінова кислота і d -серин. Чутливий до азтреонаму, фузидової кислоти, гуанідину HCl, лінкоміцину, хлориду літію, міноцикліну, налідиксової кислоти, ніапруфу 4, телуриту калію, рифаміцину SV, тетразолієвого фіолетового, тетразолієвого синього, тролеандоміцину та ванкоміцину. Основним ізопреноїдом хіноном є Q-8. Основними полярними ліпідами є фосфатидилгліцерин, фосфатидилетаноламін і дифосфатидилгліцерин [51].

### **3.1.5 *Arthrobacter psychrochitiniphilus***

Окремі клітини демонструють чіткий паличкоядерний цикл. Клітини грампозитивні, аеробні, каталазопозитивні та оксидазонегативні з рухомими паличками. Спори або капсули не видно. Колонії в середовищі LB при 20 °C жовті, круглі та опуклі. Зростання відбувається при 0–25 °C, оптимальна температура росту близько 20 °C. Добре росте при вмісті NaCl від 0 % до 3 %. Оптимальний ріст відбувається при рН 6–8. Твін 80, крохмаль, целюлоза, лактоза і хітин гідролізуються. Желатин, лецитин і сечовина не гідролізуються. Нітрат знижується, а виробництво NH<sub>3</sub> позитивне. Продукція індолу негативна. Чутливий до ампіциліну, хлорамфеніколу, канаміцину, стрептоміцину та тетрацикліну. Ріст відбувається на лактозі або хітині як єдиному джерелі вуглецю. Біологічні тести показують, що для дихання використовуються такі сполуки: декстрин, Твін 40, Твін 80, N -ацетил- d -глюкозамін, l -арабіноза, d -арабіт, целобіоза, d -фруктоза, d -галактоза, d- глюкоза, α - d -лактоза, лактулоза, мальтоза, мальтотріоза, d -маніт , d -манноза, d -мелезитоza, мелібіоза, метил β - d -галактозид, d -психоза, d -рибоза, d -сорбіт, сахароза, d -тагатоza , трегалоza, тураноза, ксиліт, d -ксилоза, оцтова кислота, α- гідроксимасляна кислота, α -кетовалеріанова кислота, метиловий ефір d -молочної кислоти, l -молочна кислота, l- яблучна кислота, метиловий ефір піровиноградної кислоти, монометиловий ефір бурштинової кислоти , пропіонова кислота, піровиноградна кислота, янтарна кислота, бурштинова кислота, N -ацетил- l- глутамінова кислота, d -аланін, l -аланілгліцин, l -аспарагін, l -глутамінова кислота, гліцил- l -глутамінова кислота, l -серин, путресцин, 2,3-бутандіол, гліцерин, аденозин, інозин, тимідин, уридин, аденозин 5'-монофосфат, тимідин 5'-

монофосфат, уридин 5'-монофосфат, d -глюкоза 6-фосфат і dl -  $\alpha$  -гліцерин фосфат [52].

### **3.1.6 *Hafnia psychrotolerans***

Клітини — аеробні, непігментовані, грамнегативні, рухливі, перитрихально джгутикові палички (шириною 0,8–1,2 мкм, довжиною 1,8–2,4 мкм). Білі, круглі, гладкі, опуклі та непрозорі колонії утворюються на агарі R2A після інкубації при 20 °C протягом 2–3 днів. Росте при 0–40 °C (оптимально при 15 °C) на агарі R2A, при рН 4–11 (оптимально при рН 7) і з 0–8 % NaCl (оптимально за відсутності NaCl). Тести API негативні на лізиндекарбоксілазу, триптофандекарбоксілазу та орнітиндекарбоксілазу. Негативний для виробництва індолу, H<sub>2</sub>S, аргініндигідролази та уреаз, деградації желатину та утилізації цитрату. Позитивний на реакцію Фогеса–Проскауера та гідроліз ескуліну. Позитивний на  $\beta$ -галактозидазу, лужну фосфатазу, лейцинариламідазу та кислу фосфатазу. Утворює кислоту з d -глюкози, сахарози та d -маніту, але не з інозиту, l -арабінози, d -сорбіту, l -рамнози, амігдаліну чи мелібіози [53].

### **3.1.7 *Pseudarthrobacter sp.***

Клітини аеробні, фарбуються за Грамом і мають паличкоподібну форму (0,7–0,9 × 2,0–5,1 мкм) з активністю каталази, але не мають оксидазної активності. Клітинний ріст на середовищі R2A спостерігається при 4–28 °C (оптимум, 13 °C) і рН 5,0–11,0 (оптимум, рН 7,0) з 0–6,0 % (w/v) NaCl (оптимум, 0 %). Клітини не гідролізують крохмаль, знежирене молоко або Твін 60. Проте целюлоза слабо гідролізується. Виявлено відновлення нітратів до нітритів. Виявлено сильну активність лейцинариламідози, кислої фосфатази, нафтол-AS-VI-фосфогідролази,  $\beta$ -галактозидази та  $\alpha$ - та  $\beta$ -глюкозидази, тоді як активність естеразиліпази (C8), валінариламідози,  $\alpha$ -галактозидази та  $\beta$ -глюкуронідази є слабкою, і немає активності лужної фосфатази, естерази (C4), ліпази (C14), кристин-ариламідози, трипсину,  $\alpha$ -хімотрипсину, N-ацетил- $\beta$ -глюкозамінідази,  $\alpha$ -манозидази або  $\alpha$ -фукозидази [54].

### **3.1.8 *Brachybacterium sp.***

Клітини аеробні, грампозитивні, мають кокоподібну форму і мають діаметр 0,7–1,5 мкм. Субстратний міцелій та повітряний міцелій не спостерігаються, дифузійні пігменти не виробляються на жодному досліджуваному середовищі. Колонії на TSA круглі, гладкі та цілі, яскраво-жовтого кольору. Добре росте на агарі ISP 3, агарі ISP 4, TSA, поживному агарі, агарі LB і агарі R2A, а на агарі ISP 2 росте погано. Зростання відбувається при 4–37 °C (оптимум, 30 °C), рН 5,0–11,0 (оптимум, рН 8,0) і з концентрацією NaCl 0–15 % (w/v) (оптимум, 1–3 %). Відсутність росту при 42 °C. Відсутність росту при рН 4,0 і рН 12,0. Клітини позитивні за активністю каталази, тестом метилового червоного та гідролізом Твіну 40, казеїну, желатину. Продукція H<sub>2</sub>S, активність оксидази та гідроліз Твіну 20, Твіну 80, крохмалю негативні. N -ацетил- β -глюкозамінідаза, кисла фосфатаза, лужна фосфатаза, цистин-ариламідаса, естераза (C4), естераза-ліпаза (C8), β -галактозидаза, α -глюкозидаза, β -глюкозидаза, β -глюкуронідаза, лейцинариламідаса, α -маннозидаза присутні нафтол-AS-VI-фосфогідролаза та валін-ариламідаса, але відсутні α -хімотрипсин, α -фукозидаза, α -галактозидаза, ліпаза (C14) і трипсин. Утворює кислоту з ескуліну, d -арабінози, l -арабінози, d -арабітолу, гліцерину, сахарози та туранози, слабо утворює кислоту з целобіози, еритриту, d -фруктози, d -глюкози, інозиту, d -ксилози, мальтози, d- маноза, мелізитоza і l -рамноза. Позитивний на засвоєння N -ацетил- d -глюкозаміну, l -арабінози, d -глюкози, мальтози, d -маніту (слабко), d -маннози, глюконату калію (слабко), негативний на адипат, капринову кислоту, яблучну кислоту, фенілацетат і тринатрій цитрат. Позитивний щодо окислення оцтової кислоти, ацетооцтової кислоти, N -ацетил- d -галактозаміну, N -ацетил- d -глюкозаміну, N -ацетил- β - d -маннозаміну, N -ацетилнейрамінової кислоти, d -арабітолу, d -аланіну, γ -аміномасляна кислота (слабко), l -аргінін, d -аспарагінова кислота, l -аспарагінова кислота, бромьантарна кислота (слабко), целобіоза, лимонна кислота (слабко), декстрин, мурашина кислота, d -фруктоза, d -фукоза, d -фруктозо-6-фосфат, d -лактон галактонової кислоти, d -галактоза, галактуронова кислота, желатин, гентіобіоза, d -глюконова кислота, α - d -глюкоза, d -глюкозо-6-фосфат, глюкуронамід (слабко), d -глюкуронова кислота, l -глутамінова кислота, гліцерин,

гліцил -1 -пролін, l -гістидин,  $\alpha$  -гідроксималяна кислота (слабко),  $\beta$  -гідрокси- d,l-маляна кислота (слабко), p -гідроксибенілоцтова кислота (слабко), інозин,  $\alpha$  -кето-маляна кислота (слабо),  $\alpha$  -кето-глутарова кислота, лактоза, d -метил молочної кислоти складний ефір, l- молочно кислота, d- яблучна кислота, l- яблучна кислота (слабо), d -маніт, d -манноза, мальтоза, мелібіоза, 3-метил- d -глюкоза, метил-  $\beta$  - d -глюкозид, метилпіруват, слизова кислота, міоінозит, пропіонова кислота, l- піроглутамінова кислота, пектин, хінна кислота, рафіноза, l -рамноза, d -сахарна кислота, саліцин, l -серин, d -сорбіт, стахіоза, сахароза, трегалоза, тураноза та Твін 40, але негативний для l -фукози та d -серину. Клітини чутливі до гуанідину HCl, лінкоміцину, фузидової кислоти, міноцикліну, ніапруфу 4, рифаміцину SV, тетразолієвого синього, тролеандоміцину та ванкоміцину; переносить азтреонам, хлорид літію, налідиксову кислоту, телурит калію, бромат натрію, бутират натрію, 1% лактат натрію та тетразолієвий фіолетовий. Пептидоглікан клітинної стінки містить мезо- діамінопімелінову кислоту як діагностичну діамінокислоту. Полярні ліпіди включають дифосфатидилгліцерин, фосфатидилгліцерин, неідентифікований фосфоліпід і неідентифікований ліпід [55].

### **3.1.9 *Kocuria salsicia***

Колонії лимонно-жовтого кольору, непрозорі, округлі з суцільними краями. Клітини грампозитивні, нерухомі, мають кокоподібну форму, діаметром 1–1,5 мкм. Клітини каталазопозитивні та оксидазонегативні. Росте від 15 до 37 °C (оптимум, 30–37 °C), за pH 6–9 (оптимум, pH 7–8) і в присутності 0–4 % (w/v) NaCl (оптимум, 0– 2 %). Клітини позитивні на лужну фосфатазу, естеразу-ліпазу C8 і нафтол-AS-VI-фосфогідролазу, але негативні на естеразу C4, ліпазу C14, лейцинариламідазу, валінариламідазу, цистинариламідазу, трипсин,  $\alpha$  -хімотрипсин, кислу фосфатазу,  $\alpha$  -галактозидазу,  $\beta$  активності -галактозидази,  $\beta$  -глюкуронідази,  $\alpha$  -глюкозидази,  $\beta$  -глюкозидази, N -ацетил-  $\beta$  -глюкозамінідази,  $\alpha$  -манозидази та  $\alpha$  -фукозидази. Відновлює нітрати до нітритів. Індол не виробляється. Крохмаль, сечовина і желатин (слабка реакція) гідролізуються, але не казеїн, Твін 20, 40, 60 і 80 або ескулін. Негативний щодо активності p- нітрофеніл-  $\beta$  - d -галактопіранозиду, ферментації d -глюкози та l -аргініндігідролази. Позитивний для засвоєння d -

глюкози, d -манози, мальтози, глюконату калію, адипінової кислоти, l- яблучної кислоти, тринатрійцитрату та фенілоцтової кислоти та негативний для засвоєння l -арабінози, d -маніту, N -ацетилглюкозаміну та капринової кислоти [56].

### 3.2 Антифунгальна активність

Середовище існування судинних рослин і рослинних угруповань, які вони створюють, значною мірою визначається екстремальними екологічними умовами Антарктичного континенту, які включають низькі температури, високий рівень УФ-випромінювання та низьку доступність води. Ці суворі умови, ймовірно, сприяють вибору ендofітних бактерій, які пристосовані до виробництва широкого спектру біоактивних вторинних метаболітів, у тому числі з протигрибковими властивостями. Середня температура в Антарктиці становить близько  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , тому бактерії культивувалися при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  і  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , щоб імітувати умови навколишнього середовища. Однак попередні дослідження показали здатність ізольованих ендofітних штамів (таблиця 3.1) рости в широкому діапазоні температур, що свідчить про їх унікальне походження та наявність проміжного хазяїна, такого як ссавці або птахи.

Таблиця 3.1

#### Ендofітні бактерії, пов'язані з антарктичними судинними рослинами

Номер штаму	Назва виду	Рослина-господар	Місце ізоляції	Координати	Діапазон температур культивування, $^{\circ}\text{C}$
9.1	<i>Siminovitchia terrae</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Лахіл	$-65.553580^{\circ}$ , $-64.394883^{\circ}$	15-42
10.1	<i>Pseudomonas salomonii</i>	<i>C. quitensis</i>	о. Лахіл	$-65.553580^{\circ}$ , $-64.394883^{\circ}$	15-42
10.4	<i>Psychrobacter arcticus</i>	<i>C. quitensis</i>	о. Лахіл	$-65.553580^{\circ}$ , $-64.394883^{\circ}$	4-37
15.6	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Ронж	$-64.683430^{\circ}$ , $-62.644170^{\circ}$	15-30

16.7	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Ронж	–64.683430°, –62.644170°	15-30
23.2	<i>Agreia sp.</i>	<i>D.antarctica</i>	Пік Сантос, протока Грема	–64.405750°, –61.547410°	15-30
24.3	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>D.antarctica</i>	Пік Сантос, протока Грема	–64.405750°, –61.547410°	4-37
24.4	<i>Pseudomonas yamanorum</i>	<i>D.antarctica</i>	Пік Сантос, протока Грема	–64.405750°, –61.547410°	15-42
25.2	<i>Hafnia psychrotolerans</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Галіндес, Аргентинські острови	–65.244807°, –64.255709°	4-37
26.2	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Галіндес, Аргентинські острови	–65.244807°, –64.255709°	4-42
26.6	<i>Lysinibacillus macroides</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Галіндес, Аргентинські острови	–65.244807°, –64.255709°	4-30
26.7	<i>Pseudoarthrobacter sp.</i>	<i>D.antarctica</i>	о. Галіндес, Аргентинські острови	–65.244807°, –64.255709°	4-42



39.12	<i>Brachy bacterium</i> <i>sp.</i>	<i>C. quitensis</i>	о. Лаготелле рі	-67.88486°, -67.38765°	4-42
39.4	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>C. quitensis</i>	о. Лаготелле рі	-67.88486°, -67.38765°	4-37
40.1	<i>Kocuria salsicia</i>	<i>D. antarctica</i>	о. Лаготелле рі	-67.88486°, -67.38765°	15-42

Половина досліджених ізолятів (10.4, 24.3, 25.2, 26.2, 26.4, 39.4, 39.12) виявили здатність до психрофільного росту. Проте більшість ізолятів демонстрували активний ріст біомаси при 37°C і 42°C, що могло бути доказом існування проміжного хазяїна, такого як ссавець і/або птах.

Серед виділених штамів бактерій третина – *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 15.6, *Pseudomonas yamanorum* 24.4, *Hafnia psychrotolerans* 25.2 та два *Pseudomonas sp.* ізоляти 24.3 та 39.4 – виявили протигрибкову активність щодо фітопатогенних грибів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

## Протигрибкова активність ендоефітних бактерій

Назва виду грибів	Пригнічення росту грибів, %				
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> 15.6	<i>Pseudomonas yamanorum</i> 24.4	<i>Hafnia psychrotolerans</i> 25.2	<i>Pseudomonas sp.</i> 24.3	<i>Pseudomonas sp.</i> 39.4
<i>Nigrospora oryzae</i> 15966	11.13 ± 1.73	–	18.3 ± 1.90	–	–

<i>Fusarium solani</i> 50718	33.00 ± 8.00	20.33 ± 1.15	–	72.65 ± 0.54	69.73 ± 3.65
<i>Nectria inventa</i> 3041	–	5.10 ± 0.21	21.8 5 ± 2.03	–	–
<i>Botrytis cinerea</i> 16884	18.28 ± 1.58	–	18.9 0 ± 1.90	–	–
<i>Sclerotinia sclerotium</i> 16883	21.61 ± 2.13	11.43 ± 0.57	–	22.35 ± 16.31	17.90 ± 25.31
<i>Rhizoctonia solani</i> 16036	5.96 ± 0.16	3.37 ± 0.2	20.0 8 ± 0.21	26.88 ± 12.30	–

Примітка: «–», відсутнє пригнічення росту грибів.

Цікаво, що серед двох виділених штамів *Arthrobacter psychrochitiniphilus* лише один виявив протигрибкову активність. Крім того, саме цей ізолят був ефективним майже проти всіх видів фітопатогенних грибів, які використовувалися в цьому дослідженні.

Ці грибові патогени є кращими в якості тестових організмів для аналізу антагоністичного протистояння через їх широкий діапазон господарів, плідний ріст і здатність спричиняти значні економічні втрати в різних культурах [57]. Протигрибкова активність ендofітних бактерій пояснюється різноманітністю механізмів, включаючи виробництво антимікробних сполук, індукцію захисних механізмів рослин-господарів і конкуренцію за ресурси [58]. Одним із основних механізмів протигрибкової активності ендofітних бактерій є синтез вторинних

метаболітів, таких як фенольні сполуки, алкалоїди та терпеноїди, які можуть пригнічувати ріст і розвиток патогенних грибів [59]. Ці біологічно активні речовини можуть порушувати клітинні мембрани грибків, перешкоджати ферментативним процесам і перешкоджати синтезу основних клітинних компонентів, тим самим ефективно контролюючи грибкові інфекції [60]. Крім того, ендofітні бактерії можуть стимулювати вроджену імунну систему рослини-господаря, запускаючи виробництво захисних сполук і активацію сигнальних шляхів, які підвищують стійкість рослини до грибкових патогенів. Колонізуючи внутрішні тканини рослин, ендofітні бактерії також можуть витіснити патогенні гриби за необхідні поживні речовини та простір, тим самим обмежуючи їхню здатність заносити інфекції [61]. Триваючі дослідження продовжують розкривати різноманітні механізми, задіяні ендofітними бактеріями в їх протигрибковій діяльності, підкреслюючи їхній потенціал як багатообіцяючого джерела нових антимікробних агентів і біопестицидів для сталого сільського господарства та здоров'я людей [62].

### **3.3 Про-фунгальна активність**

Хоча ендofітні бактерії часто вважаються корисними для здоров'я рослин, вони можуть ненавмисно стимулювати ріст патогенних для рослин грибів за певних умов. Цей, здавалося б, парадоксальний ефект можна пояснити кількома факторами, включаючи вивільнення поживних речовин і непрямі взаємодії. Окрім протигрибкової активності досліджуваних бактерій, було помічено також стимулюючий ріст бактеріальних метаболітів вплив на біомасу грибів (рис. 1).

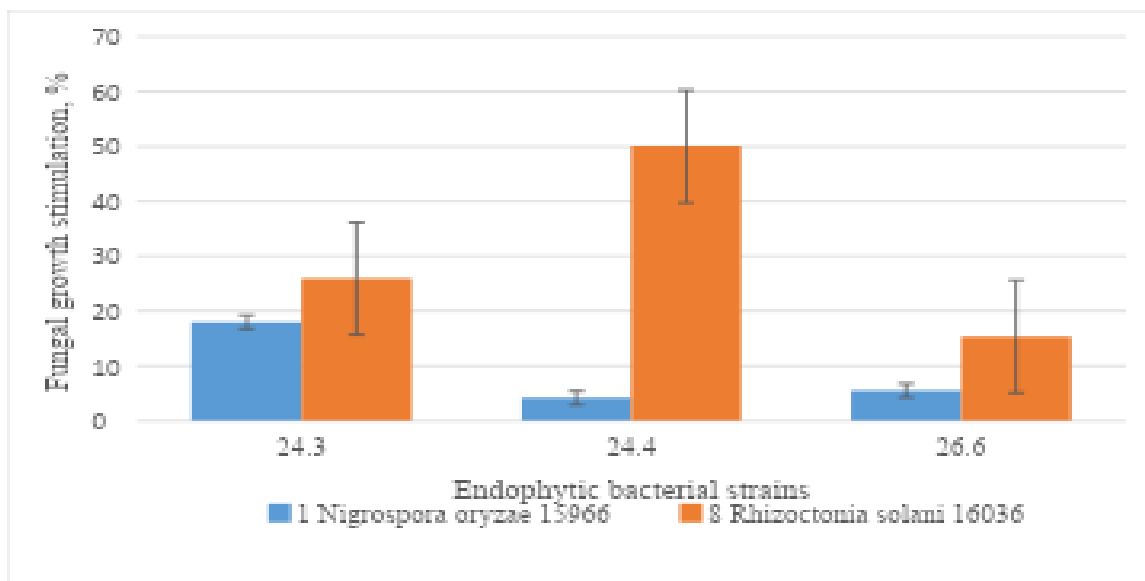


Рисунок 1. Стимулююча активність ендофітних бактерій на рослинно-патогенних грибах (стимуляція росту грибів представлена у відсотках для контролю площі росту грибів).

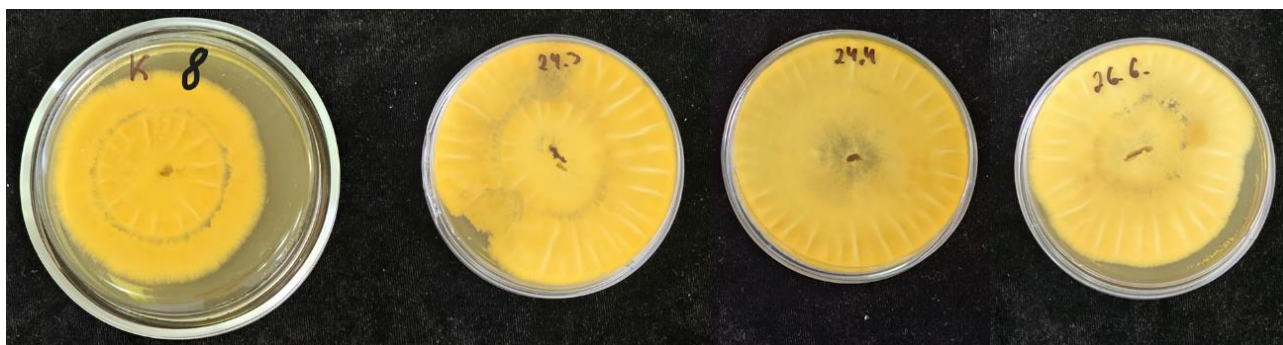


Рисунок 2. Стимуляція росту *Rhizoctonia solani* 16036 антарктичними ендофітними бактеріями.

Незважаючи на ефект стимулювання росту грибів, ці 3 штами ендофітних бактерій також продемонстрували активність стимулювання росту рослин. Зокрема, *Lysinibacillus macrolides* 26.6 і *Pseudomonas sp.* 24,3 були позитивними у виробництві аміаку. Біосурфактанти - це поверхнево-активні сполуки, що виробляються мікроорганізмами, які покращують адаптацію мікробів у ризосфері, сприяючи утворенню біоплівки на коренях рослин і покращуючи рухливість бактерій. Важливо, що біосурфактанти вважаються ефективними протигрибковими засобами проти патогенних грибів, включаючи *Fusarium spp.* та *Aspergillus spp.*

[63]. Крім того, *Lysinibacillus macrolides* 26.6 також був здатний синтезувати індол-3-оцтову кислоту. *Lysinibacillus* sp. добре відомий своєю ентомопатогенною активністю та, як повідомляється, має потенціал біоконтролю проти широкого спектру патогенів рослин, включаючи *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* і *Alternaria alternate* [64]. Проте протигрибкова активність у різних дослідженнях у групі бактерій залежала від виду та штаму через можливу присутність та експресію широкого спектру генів, відповідальних за бактерії що стимулюють ріст рослин та біоконтроль у кожному конкретному випадку.

Ендофітні бактерії, що мешкають в рослинах Антарктичного регіону мають різноманітний вплив на своїх господарів. Однією з основних властивостей є пристосування до суворих умов Антарктики, такі як наднизькі температури та обмежений доступ до води, забезпечуючи їх поживними речовинами, або покращуючи здатність утримувати воду [65].

Ендофітні мікроорганізми можуть пригнічувати ріст грибкових або бактеріальних патогенів різними механізмами, включаючи продукцію антимікробних речовин, літичних ферментів або сидерофорів. Ці механізми подібні до добре вивчених механізмів, які використовують ризосферні бактерії. Деякі бактерії виробляють ферменти (хітинази, целулази,  $\beta$ -1,3-глюканази, протеази або ліпази), які можуть лізувати частину клітинних стінок багатьох патогенних грибів. Для бактерій, що стимулюють ріст рослин, які синтезують один або декілька з цих ферментів, було виявлено біоконтрольну активність щодо ряду патогенних грибів, наприклад, проти грибів *Botrytis cinerea*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia solani* [66].

Мікроорганізми з потенціалом стимулювання росту рослин перепрограмувають ріст пов'язаного з ними хазяїна, таким чином впливаючи на фізіологію та фітогормональні сигнали під час патогенних атак [67]. Ендофіти можуть обмежувати проникнення патогенів у рослини через прямі та непрямі механізми. Прямий механізм описує конкуренцію між ендофітами та фітопатогенами, у якій ендофіти обмежують ріст патогенів, наприклад, через секрецію інгібіторних метаболітів. У непрямих механізмах ендофіти стимулюють

імунну систему рослини або підвищують стійкість рослини до фітопатогенів за допомогою регуляції захисних генів [68]. Серед бактерій більшість ендоефітних штамів видів *Bacillus* і *Pseudomonas* виявили свій протигрибковий потенціал щодо важливих для сільського господарства патогенів рослин. Повідомлялося, що вони пригнічують ріст грибових патогенів через секрецію антибіотиків і сидерофорів, а також викликають системну стійкість рослини [69]. У PGP та діяльності з біоконтролю стратегії формування біоплівки та визначення кворуму можуть бути успішними для протигрибкового захисту рослин. Наприклад, у дослідженні [70] було показано ендоефітний біоконтрольний штам *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* PB-St2 містив гени біосинтезу ацил-гомосерин-лактону (AHL) *phzI*, *csaI* та *aunI*, залучені до чіткого виробництва AHL, що могло відігравати роль у біоконтрольній активності. Подібним чином ендоефітна *Pseudomonas putida*, модифікована протигрибковим геном *phz*, була здатна зменшити популяцію грибів на ґрунтах пшеничного поля [71]. Крім того, було показано, що види *Pseudomonas* виробляють 2,4-діацетилфлороглюцінол, пеназин-1-карбонову кислоту, піолеутирин, піролітрін або ціаністий водень, які пригнічують ріст фітопатогенних грибів [72]. *B. gladioli* MB39, виділений і отриманий із зразків в Антарктиці, продемонстрував потужну протигрибкову активність проти *Penicillium digitatum* і *Macrophomina phaseolina*, а також зменшив ріст міцелію та вплинув на морфологію клітин [73]. Багато ендоефітних бактерій формують специфічні симбіотичні взаємодії з рослинами, хоча обидва партнери пристосовують свій метаболізм до симбіотичних умов і можуть впливати на біохімічні властивості партнера. Це може призвести до сприяння росту рослин або грибів у нормальних і особливо суворих умовах [66]. Дослідження [74] виявило широке поширення в скелях різних антарктичних островів таких родів грибів, як *Cladophialophora*, *Cladosporium* і *Penicillium*. Різні типи гірських порід можуть утримувати різноманітні консорціуми грибів, які філогенетично найближчі до мутуалістичних, розкладаючих і паразитичних видів, що свідчить про наявність складної мікробної мережі, яка також може включати ендоефітні бактерії. Нещодавні дослідження біорізноманіття та екологічної взаємодії мікробних спільнот в Антарктичному регіоні показали

інтригуючі ідеї в трикутнику рослини-бактерії-гриби. Наприклад, у дослідженні [75] було виявлено біорізноманітну бактеріальну спільноту кореневої системи *D. antarctica*, з кореневою ендосферою, колонізованою відомим патогеном рослин *Clavibacter michiganensis*, а також значною кількістю бактерій родини Polyangiaceae членів, більшість з яких веде хижацький спосіб життя і виділяє антимікробні вторинні метаболіти. Крім того, дослідження [76] показало, що види антарктичних трав містили безліч штамів грибів з різними корисними для рослин властивостями, особливо з сильними хітинолітичними здібностями, які можуть бути вирішальними в боротьбі з фітопатогенними грибами, нематодами та комахами. Цікаво, що метабаркодовий аналіз хвороби «казкового кільця» антрактичних мохів [77] підтвердив наявність і чисельність ряду патогенних для рослин грибів. Спільнота грибів показала високі індекси різноманітності, багатства та домінування, які збільшувалися від здорових через інфіковані до мертвих зразків моху. Проте протилежна тенденція спостерігалася з ендofітними бактеріями, пов'язаними з цими мохами. Ендofітно-патогенні взаємодії в Антрактичному регіоні можуть бути змінені через зміну умов навколишнього середовища, включаючи температуру, доступність води, вітер, вміст поживних речовин, статус господаря тощо.

Порівнюючи результати попередніх досліджень ми прийшли до висновку про потребу в подальших дослідженнях антифунгальної активності ендofітів для стабілізації результатів та забезпечення оптимального використання методів боротьби з фітопатогенами в сільському господарстві.

### **Висновки до розділу 3**

Було описано штами досліджуваних мікроорганізмів, та проведено дослідження щодо їх здатність виявляти антифунгальну активність до вибраних видів грибів.

Половина ізолятів виявили здатність до психрофільного росту. *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 15.6, *Pseudomonas yamanorum* 24.4, *Hafnia psychrotolerans* 25.2 та два *Pseudomonas sp.* ізоляти 24.3 та 39.4 – виявили протигрибкову активність

щодо фітопатогенних грибів. Незважаючи на велику здатність до антифунгальної активності, штами *Pseudomonas sp.* 24.3, *Pseudomonas yamanorum* 24.4, *Lysinibacillus macroides* 26.6 виявили також грибкову активність, тобто стимулювання росту гриба *Rhizoctonia solani*. Крім того *Lysinibacillus macrolides* 26.6 і *Pseudomonas sp.* 24,3 були позитивними у виробництві аміаку, та індол-3-оцтової кислоти.

Даний експеримент показав великий потенціал у розвитку біотехнологій, а саме використання бактеріальних ендоситів для боротьби з фітопатогенними грибами.

## ВИСНОВКИ



1. Проведено огляд літературних джерел для глибокого вивчення поняття про ендоефітні бактерії, механізми антифунгальної активності та методів досліджень.

2. Було описано виділені штами ендоефітних бактерій, які мають антифунгальні властивості. До них належать *Siminovitchia terrae*, *Pseudomonas salomonii*, *Psychrobacter arcticus*, *Arthrobacter psychrochitiniphilus*, *Arthrobacter psychrochitiniphilus*, *Agreia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas yamanorum*, *Hafnia psychrotolerans*, *Pseudoarthrobacter sp.*, *Brachybacterium sp.*, *Kocuria salsicia*.

3. Досліджено здатність обраних мікроорганізмів виявляти антифунгальну активність. Виявлено, що деякі штами мають великий потенціал подальшому вивченні протигрибкових властивостей. Окрім протигрибкової активності, деякі штами виявляють здатність у сприянні росту грибів.

4. Порівняння результатів досліджень з результатами попередників показало необхідність у подальшому проведенні подібних досліджень, для впровадження використання бактеріальних ендоефітів для боротьби з фітопатогенами в сільському господарстві, що може значно зменшити використання хімічних пестицидів, що в свою чергу позитивно вплине на екологію.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Compant S., Cambon M.S., Vasher K., Mitter B., Samad A., Sestic A. (2021). The world of the plant endosphere – the life of bacteria in plants. *Environ. microbiol.* 23, 1812–1829. URL: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15240>. (date of access: 20.04.2024).
2. Morelli, M., Bahar, O., Papadopoulou, K. K., Hopkins, D. L., Obradovic, A. (2020). The role of endophytes in plant health and pathogen protection. *Front. Plant Sci.* 11. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01312>. (date of access: 20.04.2024).
3. Tamosyune I., Baniulis D., Stanis V. (2017). The role of endophytic bacteria in stress tolerance of agricultural plants: microbial diversity and molecular mechanisms. *Probiot. Agroecosis.* , 1–29. URL: [https://doi.org/10.1007/978-981-10-4059-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4059-7_1). (date of access: 20.04.2024).
4. Pirttilä, A. M., Mohammad Parast Tabas, H., Baruah, N., Koskimäki, J. J. (2021). Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: how to identify and develop new potent microbial strains and traits. *Microorganisms* 9 (4), 817. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040817>. (date of access: 20.04.2024).
5. Compant, S., Breider, G., Muzammil, S., Sestic, A., Lebrihi, A., Mathieu, F. (2013). Using beneficial bacteria and their secondary metabolites to control grapevine diseases. *BioControl* 58, 435–455. URL: <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9479-6>. (date of access: 20.04.2024).
6. Ab Rahman, SFS, Singh, E., Pieterse, CM, Schenk, PM (2018). New strategies for microbial biocontrol of plant pathogens. *Plant Sci.* 267, 102–111. URL: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>. (date of access: 20.04.2024).
7. Dini-Andreote, F. (2020). Endophytes: a second layer of plant defense. *Trends Plant Sci.* 25, 319–322. doi: 10.1016/j.tplants.2020.01.007. (date of access: 20.04.2024).
8. Culturable Bacterial Endophytes Associated With Shrubs Growing Along the Draw-Down Zone of Lake Bogoria, Kenya: Assessment of Antifungal Potential Against *Fusarium solani* and Induction of Bean Root Rot Protection / P. M. Mutungi et al. *Frontiers in Plant Science.* 2022. Vol. 12. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.796847> (date of access: 20.04.2024).

9. Kozyrovskaya N. O. Interaction of endophytic bacteria with the plant on cellular and molecular level. *Biopolymers and Cell*. 1998. Vol. 14, no. 6. P. 488–499. URL: <https://doi.org/10.7124/bc.0004f0> (date of access: 20.04.2024).
10. Bacterial endophytes in agricultural crops / J. Hallmann et al. *Canadian Journal of Microbiology*. 1997. Vol. 43, no. 10. P. 895–914. URL: <https://doi.org/10.1139/m97-131> (date of access: 20.04.2024).
11. Analysis of endophytic bacterial communities of potato by plating and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rDNA based PCR fragments / P. Garbeva et al. *Microbial Ecology*. 2001. Vol. 41, no. 4. P. 369–383. URL: <https://doi.org/10.1007/s002480000096> (date of access: 20.04.2024).
12. Endophytes: Role and applications in sustainable agriculture / N. Rana et al. *The Pharma Innovation*. 2023. Vol. 12, no. 3. P. 139–151. URL: <https://doi.org/10.22271/tpi.2023.v12.i3b.19528> (date of access: 23.04.2024).
13. Role of endophytic bacteria in salinity stress amelioration by physiological and molecular mechanisms of defense: A comprehensive review / B. Ali et al. *South African Journal of Botany*. 2022. Vol. 151. P. 33–46. URL: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.09.036> (date of access: 23.04.2024).
14. Baltz R.H., Davies J.E., Demain A.L. (Eds.) *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*.
15. Bhore S., Christina A., Christopher V. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview. *Pharmacognosy Reviews*. 2013. Vol. 7, no. 1. P. 11. URL: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112833> (date of access: 23.04.2024).
16. Pseudomycins, a family of novel peptides from *Pseudomonas syringae* possessing broad-spectrum antifungal activity. / L. Harrison et al. *Journal of General Microbiology*. 1991. Vol. 137, no. 12. P. 2857–2865. URL: <https://doi.org/10.1099/00221287-137-12-2857> (date of access: 23.04.2024).
17. Munumbicins E-4 and E-5: novel broad-spectrum antibiotics from *Streptomyces* NRRL 3052 / U. F. Castillo et al. *FEMS Microbiology Letters*. 2006. Vol. 255, no. 2. P. 296–300. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2005.00080.x> (date of access: 24.04.2024).

18. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia* / U. Castillo et al. *FEMS Microbiology Letters*. 2003. Vol. 224, no. 2. P. 183–190. URL: [https://doi.org/10.1016/s0378-1097\(03\)00426-9](https://doi.org/10.1016/s0378-1097(03)00426-9) (date of access: 24.04.2024).
19. Cristiane dos Santos, Mario Ciaffi. Pathogenesis-Related Proteins (PRs) with Enzyme Activity Activating Plant Defense Responses. *Plants (Basel)*. 2023 Jun; 12(11): 2226.
20. Plant-Growth Endophytic Bacteria Improve Nutrient Use Efficiency and Modulate Foliar N-Metabolites in Sugarcane Seedling / M. A. P. Cipriano et al. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, no. 3. P. 479. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030479> (date of access: 24.04.2024).
21. Beneficial Relationships Between Endophytic Bacteria and Medicinal Plants / W. Wu et al. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 12. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646146> (date of access: 24.04.2024).
22. Tokmakova L., Shevchenko L. Antagonistic activity of cellulolytic bacteria – destroyers of organic matter against phytopathogenic micromycetes. *Visnyk agrarnoi nauky*. 2023. Vol. 101, no. 6. P. 18–24. URL: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202306-02> (date of access: 24.04.2024).
23. Antagonistic Potential of Fluorescent *Pseudomonads* Colonizing Wheat Heads Against Mycotoxin Producing *Alternaria* and *Fusaria* / T. Müller et al. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02124> (date of access: 24.04.2024).
24. Janisiewicz W. J., Korsten L. Biological control of post harvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology*. 2002. Vol. 40, no. 1. P. 411–441. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158> (date of access: 24.04.2024).
25. *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites / K. Alam et al. *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053> (date of access: 24.04.2024).
26. Kim Y. J., Kim J.-h., Rho J.-Y. Antifungal Activities of *Streptomyces blastmyceticus* Strain 12-6 Against Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology*. 2019. Vol. 47,

no. 3. P. 329–334. URL: <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1635425> (date of access: 24.04.2024).

27. Tangchang Xu, Zhiqiang Song, Yage Hou, Sisi Liu, Xinpeng Li, Qingrong Yang, Shaohua Wu (2022). Secondary metabolites of the genus *Nigrospora* from terrestrial and marine habitats: chemical diversity and biological activity. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X22001320> (date of access: 24.04.2024).

28. L. Golosna. Maize seed diseases (2019). URL: <https://propozitsiya.com/ua/hvoroby-nasinnya-kukurudzy> (date of access: 24.04.2024).

29. L. M. Liu, K. H. Zhao, Y. Zhao, Y. L. Zhang, Q. Fu, and S. W. Huang. *Nigrospora oryzae* causing panicle branch rot on *Oryza sativa* (2021). URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2423-PDN> (date of access: 24.04.2024).

30. Mohammed Hamza Abass, Najlaa H Mohammed. Morphological, molecular and pathological study of *Nigrospora oryzae* and *Nigrospora sphaerica*, date palm leaf spot fungi (2014). (date of access: 24.04.2024).

31. Olalekan Olanrewaju Bakare, Arun Gokul, Muhali Olaide Jimoh, Ashwil Kleinl, Marshall Keyster. Discovery of in silico biomarkers for accurate and sensitive detection of *Fusarium solani* (2022). URL: <https://doi.org/10.3389/fbinf.2022.972529> (date of access: 24.04.2024).

32. M. Zaccardelli, S. Vitale, L. Luongo, M. Merighi, L. Corazza. Morphological and molecular characterization of *Fusarium solani* isolates (2008). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2008.01403.x> (date of access: 24.04.2024).

33. Mara DeMers. *Alternaria alternata* as an endophyte and pathogen (2022) . URL: <https://doi.org/10.1099/mic.0.001153> (date of access: 24.04.2024).

34. Takashi Tsuge, Yoshiaki Harimoto, Kazuya Akimitsu, Kouhei Ohtani, Motoichiro Kodama, Yasunori Akagi, Mayumi Egusa, Mikihiro Yamamoto, Hiroshi Otani. Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata* (2013). URL: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00350.x>

35. Hirooka, Y.; Rossman, A.Y.; Chaverri, P. Morphological and phylogenetic review of the *Nectria cinnabarina* species complex (2011). URL: <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.02> (date of access: 24.04.2024).
36. K. S. Sazonova, Y. I. Savchuk. Antifungal activity of volatile metabolites of *Trichoderma* spp. strains against phytopathogens *Alternaria alternata* and *Nectria inventa* (2023). Pp. 77 – 79. (date of access: 24.04.2024).
37. Leon-Ttacca, B., Yactayo-Yataco, R., Astete-Farfán, A., Mattos-Calderón, L., & Arestegui-Cantoral, J. Antibiosis and mycoparasitism of endophytic fungi on the blueberry gray mold pathogen *Botrytis cinerea* (2022). URL: <https://doi.org/10.51372/bioagro343.1> (date of access: 24.04.2024).
38. Abdoul Razack Sare, M. Haissam Jijakli, Sebastien Massart. Microbial ecology to support integrative enhancement of biocontrol agents for postharvest disease management (2021). URL: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111572> (date of access: 24.04.2024).
39. Abdullah M. Al-Sadi. *Bipolaris sorokiniana* - wheat diseases caused by black spot, common root rot and leaf spot: a review (2021). URL: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.584899> (date of access: 24.04.2024).
40. Gui-Yang Zhu, Xin-Chi Shi, Su-Yan Wang, Bo Wang, Pedro Laborda. Antifungal mechanism and efficacy of kojic acid for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean (2022). URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.845698> (date of access: 24.04.2024).
41. Keijer, J. Initial stages of the infection process of *Rhizoctonia Solani* (1996). URL: [https://doi.org/10.1007/978-94-017-2901-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2901-7_13) (date of access: 24.04.2024).
42. Miao J. Trigger of immune deficiency lead to fungal infection in animal. *Theoretical and Natural Science*. 2023. Vol. 21, no. 1. P. 98–102. URL: <https://doi.org/10.54254/2753-8818/21/20230837> (date of access: 24.04.2024).
43. L Cao, Z Qiu, J You, H Tan, S Zhou. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Lett Appl Microbiol* .2004;39(5):425-30. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01606.x> (date of access: 15.06.2024)

44. Mounyr Balouiri, Moulay Sadiki, and Saad Koraichi Ibsouda. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016 Apr; 6(2): 71–79. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005> (date of access: 15.06.2024)
45. Oana-Alina Boiu-Sicuia, Radu Cristian Toma, Camelia Filofteia Diguță and other. In Vitro Evaluation of Some Endophytic Bacillus to Potentially Inhibit Grape and Grapevine Fungal Pathogens. *Plants* 2023, 12(13), 2553. (date of access: 15.06.2024)
46. Muhammad Ayaz, Cai-Hong Li, Qurban Ali and other. Bacterial and Fungal Biocontrol Agents for Plant Disease Protection: Journey from Lab to Field, Current Status, Challenges, and Global Perspectives. *Molecules* 2023, 28(18), 6735; URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28186735> (date of access: 30.06.2024)
47. Thavasi, R., Sharma, S., & Jayalakshmi, S. (2011). Evaluation of screening methods for the isolation of biosurfactant producing marine bacteria. *J Pet Environ Biotechnol S*, 1(2), 1-7. URL: <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7463.S1-001> (date of access: 30.06.2024)
48. Alexandra Díez-Méndez, Raúl Rivas, Pedro F Mateos, Eustoquio Martínez-Molina, Primitivo Julio Santín, Juan Antonio Sánchez-Rodríguez and Encarna Velázquez. (2017). *Bacillus terrae* sp. nov. isolated from *Cistus ladanifer* rhizosphere soil. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001742> (date of access: 30.06.2024)
49. Louis Gardan, Patrizia Bella, Jean-Marie Meyer, Richard Christen, Philippe Rott, Wafa Achouak and Régine Samson. (2002). *Pseudomonas salomonii* sp. nov., pathogenic on garlic, and *Pseudomonas palleroniana* sp. nov., isolated from rice. URL: <https://doi.org/10.1099/00207713-52-6-2065> (date of access: 30.06.2024)
50. Víctor Gonzalo Arnau, Leandro Arturo Sánchez and Osvaldo Daniel Delgado. (2015). *Pseudomonas yamanorum* sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from a subantarctic environment. URL: <https://doi.org/10.1099/ijms.0.065201-0> (date of access: 30.06.2024)
51. Yin-Xin Zeng, Yong Yu, Yang Liu, Hui-Rong Li. (2016). *Psychrobacter arcticus* sp. nov., isolated from the ice core of an Arctic glacier. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000939> (date of access: 05.07.2024)

52. Fengping Wang, Yingbao Gai, Mingxia Chen and Xiang Xiao. (2009). *Arthrobacter psychrochitiniphilus* sp. nov., a psychrotrophic bacterium isolated from Antarctica. URL: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.008912-0> (date of access: 05.07.2024)
53. Zhengquan Gu<sup>1</sup>, Yongqin Liu<sup>1</sup>, Liang Shen<sup>1</sup>, Xiaobo Liu<sup>1</sup>, Na Xiao<sup>1</sup>, Nianzhi Jiao<sup>2</sup>, Hongcan Liu<sup>3</sup>, Yuguang Zhou<sup>3</sup> and Shuhong Zhang<sup>4</sup>. (2015). *Hafnia psychrotolerans* sp. nov., isolated from lake water. URL: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000049> (date of access: 05.07.2024)
54. Yoonjae Shin<sup>1</sup>, Byoung-Hee Lee<sup>2</sup>, Ki-Eun Lee<sup>2</sup> and Woojun Park<sup>1</sup>ORCID icon. (2020). *Pseudarthrobacter psychrotolerans* sp. nov., a cold-adapted bacterium isolated from Antarctic soil. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004505> (date of access: 05.07.2024)
55. Li Tuo, Xiao-Rui Yan, Fei-Na Li, Yu-Xin Bao, Hui-Chang Shi, Hong-Ying Li<sup>1</sup> and Cheng-Hang Sun. (2018). *Brachybacterium endophyticum* sp. nov., a novel endophytic actinobacterium isolated from bark of *Scutellaria baicalensis* Georgi. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003032> (date of access: 05.07.2024)
56. Ji-Hyun Yun<sup>1</sup>, Seong Woon Roh<sup>1,2</sup>, Mi-Ja Jung<sup>1</sup>, Min-Soo Kim<sup>1,2</sup>, Eun-Jin Park<sup>1</sup>, Kee-Sun Shin<sup>2</sup>, Young-Do Nam<sup>1</sup> and Jin-Woo Bae. (2011). *Kocuria salsicia* sp. nov., isolated from salt-fermented seafood. URL: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.021469-0> (date of access: 01.08.2024)
57. Kushwaha, P., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K., & Tiwari, R. K. (2020). Plant growth promoting and antifungal activity in endophytic *Bacillus* strains from pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 229-241 URL: <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00172-5> (date of access: 01.08.2024)
58. Zhang, J., Zhu, Y., Si, J., and Wu, L. (2022, January 1). Metabolites of medicine food homology-derived endophytic fungi and their activities. *Elsevier BV*, 5, 1882-1896. URL: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.006> (date of access: 01.08.2024)
59. Midhun, S J., and Mathew, J. (2021, January 1). Pharmacological Applications of Bioactive Secondary Metabolites from Endophytes. *Springer Nature*, 71-89. URL: [https://doi.org/10.1007/978-981-15-9371-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-15-9371-0_5) (date of access: 08.08.2024)



60. Chadha, N., Mishra, M., Prasad, R., and Varma, A. (2014, July 12). Root Endophytic Fungi: Research Update, 5(2), 135-135. URL: <https://doi.org/10.5296/jbls.v5i2.5960> (date of access: 08.08.2024)
61. Fadiji, A E., and Babalola, O O. (2020, May 15). Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers Media*, 8. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467> (date of access: 01.09.2024)
62. Deshmukh, S K., Gupta, M., Prakash, V., and Saxena, S. (2018, June 25). Endophytic Fungi: A Source of Potential Antifungal Compounds. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 4(3), 77-77. URL: <https://doi.org/10.3390/jof4030077> (date of access: 05.09.2024)
63. Styczynski, M., Bieganski, G., Decewicz, P., Rewerski, B., Debiec-Andrzejewska, K., & Dziewit, L. (2022). Application of psychrotolerant Antarctic bacteria and their metabolites as efficient plant growth promoting agents. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 772891. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.772891> (date of access: 06.09.2024)
64. Ahsan, N., & Shimizu, M. (2021). Lysinibacillus species: their potential as effective bioremediation, biostimulant, and biocontrol agents. *Reviews in Agricultural Science*, 9, 103-116. URL: [https://doi.org/10.7831/ras.9.0\\_103](https://doi.org/10.7831/ras.9.0_103) (date of access: 06.09.2024)
65. Mengistu, A. A. (2020). Endophytes: colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 6927219 URL: <https://doi.org/10.1155/2020/6927219> (date of access: 06.09.2024)
66. Petra Lovecká, Gabriela Kroneislová, Zuzana Novotná, Jana Röderová, Kateřina Demnerová. (2023). Plant Growth-Promoting Endophytic Bacteria Isolated from *Miscanthus giganteus* and Their Antifungal Activity. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112710> (date of access: 09.09.2024)
67. Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asaf, S., & Lee, I. J. (2017). Plant growth-promoting endophytic bacteria versus pathogenic infections: an example of *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in

tomato. *PeerJ*, 5, e3107. URL: <https://doi.org/10.7717/peerj.3107> (date of access: 09.09.2024)

68. Munoz Torres, P., Cárdenas, S., Arismendi Macuer, M., Huanacuni, N., Huanca-Mamani, W., Cifuentes, D., & Sepulveda Chavera, G. F. (2021). The endophytic *Pseudomonas* sp. S57 for plant-growth promotion and the biocontrol of phytopathogenic fungi and nematodes. *Plants*, 10(8), 1531. URL: <https://doi.org/10.3390/plants10081531> (date of access: 09.09.2024)

69. Meliah, S., Sulistiyani, T. R., Lisdiyanti, P., Kanti, A., Sudiana, I., & Kobayashi, M. (2021). Antifungal activity of endophytic bacteria associated with sweet sorghum (*Sorghum bicolor*). *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences*, 53(1). URL: <https://doi.org/10.5614/j.math.fund.sci.2021.53.1.2> (date of access: 20.09.2024)

70. Bauer J. S., Hauck N., Christof L., Mehnaz S., Gust B., and Gross H., The systemic investigation of the quorum sensing system of the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* PB-St2 unveils aurl to Be a biosynthetic origin for 3-oxo-homoserine lactones, *Plos One*. (2016) 11, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167002>, [2-s2.0-84997673962](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167002) (date of access: 20.09.2024)

71. Glandorf, D. C., Verheggen, P., Jansen, T., Jorritsma, J. W., Smit, E., Leeftang, P., ... & van Loon, L. C. (2001). Effect of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r on the fungal rhizosphere microflora of field-grown wheat. *Applied and environmental microbiology*, 67(8), 3371-3378. URL: <https://doi.org/10.1128/aem.67.8.3371-3378.2001> (date of access: 20.09.2024)

72. Sokołowski, W., Marek-Kozaczuk, M., Sosnowski, P., Sajnaga, E., Jach, M. E., & Karaś, M. A. (2024). Profiling Metabolites with Antifungal Activities from Endophytic Plant-Beneficial Strains of *Pseudomonas chlororaphis* Isolated from *Chamaecytisus albus* (Hack.) *Rothm. Molecules*, 29(18), 4370. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules29184370> (date of access: 20.09.2024)

73. Meng, X. J., Medison, R. G., Cao, S., Wang, L. Q., Cheng, S., Tan, L. T., ... & Zhou, Y. (2023). Isolation, identification, and biocontrol mechanisms of endophytic *Burkholderia vietnamiensis* C12 from *Ficus tikoua* Bur against *Rhizoctonia*

*solani. Biological Control*, 178, 105132. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105132> (date of access: 20.09.2024)

74. Alves, I. M., Gonçalves, V. N., Oliveira, F. S., Schaefer, C. E., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2019). The diversity, distribution, and pathogenic potential of cultivable fungi present in rocks from the South Shetlands archipelago, Maritime Antarctica. *Extremophiles*, 23, 327-336. URL: <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01086-8> (date of access: 20.09.2024)

75. Znój, A.; Grzesiak, J.; Gawor, J.; Gromadka, R.; Chwedorzewska, K.J. Highly specialized bacterial communities within three distinct rhizocompartments of Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica* Desv.). *Polar Biol.* **2022**, 45, 833–844 URL: <https://doi.org/10.1007/s00300-022-03027-2> (date of access: 20.09.2024)




76. Piłsyk, S., Perlińska-Lenart, U., Janik, A., Skalmowska, P., Znój, A., Gawor, J., ... & Kruszewska, J. S. (2024). Native and Alien Antarctic Grasses as a Habitat for Fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8475. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms25158475> (date of access: 20.09.2024)

77. Rosa, L. H., da Costa Coelho, L., Pinto, O. H. B., Carvalho-Silva, M., Convey, P., Rosa, C. A., & Câmara, P. E. (2021). Ecological succession of fungal and bacterial communities in Antarctic mosses affected by a fairy ring disease. *Extremophiles*, 25, 471-481 URL: <https://doi.org/10.1007/s00792-021-01240-1> (date of access: 20.09.2024)

## ДОДАТКИ

## Додаток А

**ORGANIZED BY:**  
NATIONAL RESEARCH & DEVELOPMENT  
INSTITUTE FOR TEXTILES  
AND LEATHER (INCDTP) - DIVISION  
LEATHER AND FOOTWEAR  
RESEARCH INSTITUTE (ICPI)

# ICAMS 2024

## ADVANCED MATERIALS AND SYSTEMS

Proceedings of the 10th International Conference

October 30th - 31st, 2024  
Bucharest, ROMANIA



### ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC BACTERIA ASSOCIATED WITH ANTARCTIC VASCULAR PLANTS

OLGA IUNGIN <sup>1,4</sup>, YEVHENIIA PREKRASNA-KVIATKOVSKA <sup>2</sup>, OLEKSANDR  
KALINICHENKO<sup>1</sup>, YAROSLAV SAVCHUK<sup>3</sup>, YULIIA KRAINOVA<sup>1</sup>, MARINA  
SIDORENKO<sup>4</sup>, SAULIUS MICKEVIČIUS<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Kyiv National University of Technologies and Design, 2 Mala Shivanovska, Kyiv 01011, Ukraine,  
olgaungin@gmail.com

<sup>2</sup> State Institution National Antarctic Scientific Center, Kyiv, Ukraine, Tarasa Shevchenko Blvd, 16, Kyiv, 01601,  
preckrasna@gmail.com

<sup>3</sup> Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny NAS of Ukraine, Department of physiology  
and systematics of micromycetes, St. Akademika Zabolotnogo, 154, 03143, Kyiv, Ukraine

<sup>4</sup> Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Kaunas District, Lithuania, K. Donelaičio str. 58,  
44248, Kaunas, marina.sidorenko@vdu.lt

## Додаток Б

**SCREENING INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA) PRODUCERS AMONG ENDOPHYTES  
OF VASCULAR PLANTS**

D. Reznik<sup>1</sup>, Y. Krainova<sup>2</sup>, O. Kalinichenko<sup>3</sup>, O. Iungin<sup>4</sup>

Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine

<sup>1</sup> Bachelor student, [gabnyy@gmail.com](mailto:gabnyy@gmail.com)

<sup>2</sup> Master student, [someonelike1201@gmail.com](mailto:someonelike1201@gmail.com)

<sup>3</sup> assistant, [kalinichenko742135@gmail.com](mailto:kalinichenko742135@gmail.com)

<sup>4</sup> docent, [olgaungin@gmail.com](mailto:olgaungin@gmail.com)

In the harsh environment of Antarctica, vascular plants face constant challenges like extreme cold, limited water availability, and high salinity. Endophytic bacteria residing within these plants can offer a potential lifeline through the production of indole-3-acetic acid (IAA), a plant growth hormone [1]. IAA promotes root development, nutrient uptake, and stress tolerance in plants. By enhancing these physiological processes, IAA-producing endophytes could significantly improve the survival of Antarctic vascular plants [2]. Stronger root systems allow plants to access scarce water resources more effectively in the frozen ground. Increased nutrient uptake enables plants to better cope with the limited availability of essential minerals in the saline soil. Additionally, IAA can stimulate the production of stress-protective compounds, helping plants withstand the harsh Antarctic conditions [3]. Therefore, the presence of IAA-producing endophytes could be a crucial factor in the resilience and adaptation of vascular plants in this extreme environment.

The aim of our research was to find bacterial producers of IAA among endophytes associated with vascular plants survived in harsh environments like Antarctic region.

102

---

*Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування, 2024.*

**Materials and methods.** Endophytic bacterial strains isolated from Antarctic vascular plants and sampled during the 25th Ukrainian Antarctic Expedition (January-April 2020) along the Western part of the Antarctic Peninsula was studied for synthesis of IAA by Salkowski's method using a UV-Vis spectrophotometer (Ulab, China). The concentration was calculated using a calibration curve prepared with different concentrations of analytical-grade commercially procured indole-3-acetic acid (IAA). The IAA concentration was then recalculated considering the biomass increase of each culture and normalized to values of 1.0 for OD600 nm on the spectrophotometer.

**Results.** Among 12 studied bacterial cultures only 4 strains were identified as IAA producers. Among these bacteria *Hafnia sp.* 25.2 strain was identified as superproducer of IAA resulting of 544.0±7.0 µg/mL in liquid culture. This strain has potential to be used in agrobiotechnologies for plant growth stimulation.

**Conclusions.** This research contributes to the understanding of IAA production by endophytes and their potential to promote plant growth. The identification of IAA-producing endophytes with high efficacy could lead to the development of novel biofertilizers or biocontrol agents for sustainable agriculture.

#### REFERENCES

1. Khan N.A., Rahat N., Iqbal N., Anjum N.A. // Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants. Book. 2012. VIII: 308.
2. Berg G., Egamberdieva D., Lugtenberg B., Hagemann M. // Symbioses and stress: joint ventures in biology. 2010. 17(1): 445-460.
3. Asghar I., Ahmed M., Farooq M.A., Ishtiaq M., Arshad M., Akram M., Umair A., Alrefaei A.F., Jat Baloch M.Y., Naeem A. // Frontiers in Plant Science. 2023. 14: 1232271.



Тищенко В.А., Калина В.С. ВПЛИВ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК ТА ФРУКТОВИХ НАПОВНЮВАЧІВ НА СМАКОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЙОГУРТІВ .....	100
Reznik D., Krainova Y., Kalinichenko O., Iungin O. SCREENING INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA) PRODUCERS AMONG ENDOPHYTES OF VASCULAR PLANTS .....	102
Бондаренко В.Л., Юнгін О.С. ДОСЛІДЖЕННЯ ОПТИМАЛЬНОЇ МІКРОБНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ЧЕРВОНОГО ФЛАНДРІЙСЬКОГО (ФЛАМАНДІЙСЬКОГО) ЕЛЮ ЗА ПРИСКОРЕНОЮ ТЕХНОЛОГІЄЮ.....	103