

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:

**«Скринінг мікроорганізмів-продуцентів гормоноподібних сполук,  
ізолюваних з природних екосистем»**

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія

Виконав: студент групи ББТ-20

Резнік Д.І.

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

Рецензент: к.т.н., доц. Охмат О.А.

Київ 2024

# КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри БШХ

\_\_\_\_\_ Олена МОКРОУСОВА

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## **ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ Резніка Дмитра Ігоровича**

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Скринінг мікроорганізмів-продуцентів  
гормоноподібних сполук, ізольованих з природних екосистем**

Науковий керівник роботи Юнгін Ольга Сергіївна, к.б.н., доц.

затверджені наказом КНУТД від « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ року № \_\_\_\_\_

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу;  
наукова література щодо мікроорганізмів-продуцентів фітогормонів, вплив  
фітогормонів на ріст рослин, вплив мікроорганізмів на ріст рослин.

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

4. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_

## АНОТАЦІЯ

### **Резнік Д.І. Скринінг мікроорганізмів-продуцентів гормоноподібних сполук, ізольованих з природних екосистем – Рукопис.**

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

Кваліфікаційну роботу присвячено дослідженню мікроорганізмів-продуцентів гормоноподібних сполук, що було ізольовано з природних систем, їх взаємодії з рослиною та здатності прямо або опосередковано впливати на їх ріст

У роботі представлено ізольовані штами мікроорганізмів та експериментальні дані що підтверджують їх стимулюючу дію на ріст рослини шляхом синтезу гормоноподібних сполук

*Ключові слова: мікроорганізми, БСРР, фітогормони, ІОК, синтез, ауксини, абсцизова кислота, ріст-стимулюючі, ферменти, солюбілізація.*

### **Reznik D.I. Screening of Hormone-Producing Microorganisms Isolated from Natural Ecosystems – Manuscript.**

Qualification work in the speciality 162 «Biotechnology and bioengineering». - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2024.

The qualification work is devoted to the study of microorganisms-producers of hormone-like compounds isolated from natural systems, their interaction with plants and the ability to directly or indirectly affect their growth

The paper presents isolated strains of microorganisms and experimental data confirming their stimulating effect on plant growth through the synthesis of hormone-like compounds

*Key words: microorganisms, PGPB, phytohormones, IAA, synthesis, auxins, abscisic acid, growth-stimulating, enzymes, solubilization.*

**ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК І ТЕРМІНІВ**

АБК	Абсцизова кислота
АМП	Апікальної меристеми пагона
АФБ	Антифризні білки
БСРР	Бактерії що стимулюють ріст рослин
БА	б-бензиладенін
БР	Брасиностероїди
ГБ	Гіберелін
ГК	Гіберелінова кислота
ІОК	Індоліл-3-оцтова кислота
ІПТ7	Ізопентеніл-трансфераза 7
КН	Кінетин
КПС	Капсульний полісахарид
ЛОС	Леткі органічні сполуки
ПБМ	Пагоно безмерестемний
ППС	Позаклітинний полісахарид
ПА	Поліамін
РРА	Регулятор рагування Арабідопсису
СПА	Сухий поживний агар
СК	Саліцилова кислота
СЛ	Стрінголактони
ФВА	Фактор відповіді на ауксин
ЦК	Цитокінін
WUS	WUSCHEL

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b>	<b>7</b>
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	<b>13</b>
1.1 Ріст-стимулювальні властивості мікроорганізмів	13
1.1.1 Біологічна фіксація азоту	14
1.1.2 Солюбілізація фосфатів	14
1.1.3 Солюбілізація калію	15
1.1.4 Солюбілізація цинку	16
1.1.5 Продукція фітогормонів	16
1.1.6 Виробництво сидерофорів	17
1.1.7 Роль БСРР у розвитку стресостійкості	17
1.1.8 Виробництво антибіотиків та бактеріоцинів	18
1.1.9 Виробництво ціаністого водню (ЦВ)	18
1.1.10 Механізм антиоксидантного захисту	19
1.2 Ріст-стимулювальні гормоноподібні сполуки, що синтезують мікроорганізми	19
1.2.1 Ауксини	20
1.2.2 Цитокініни	21
1.2.4 Гібереліни	22
1.2.5 Брасиностероїди	22
1.2.6 Етилен	23
1.2.7 Абсцизова кислота	23
1.2.8 Саліцилова кислота	24
1.3 Вплив ріст-стимулювальних гормоноподібних сполук мікробного походження на рослини	24
1.3.1 Ініціація зачатків листя.	24
1.3.2 Вплив фітогормонів на формування полярності листків.	25
1.3.3 Контроль подовження коренів	26
Висновки до розділу 1	27
<b>РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	<b>28</b>
2.1 Досліджувані мікроорганізми	28
2.2 Поживні середовища, що використовували протягом дослідження	28
2.3 Фарбування за Грамом	29
2.4 Визначення таксономічного положення досліджуваних штамів бактерій	29
2.5 Кількісне визначення індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК)	30
2.6 Стимуляція проростання насіння (root elongation assay)	30
Висновки до розділу 2	31
<b>РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА</b>	<b>32</b>

	6
3.1 Опис та характеристика ізолятів	32
3.1.1 <i>Pseudomonas salomonii</i>	34
3.1.2 <i>Psychrobacter arcticus</i>	36
3.1.3 <i>Rahnella laticis</i>	37
3.1.4 <i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i>	38
3.1.5 <i>Agreia sp.</i>	40
3.1.6 <i>Hafnia psychrotolerans</i>	41
3.1.7 <i>Pseudarthrobacter sp</i>	43
3.1.8 <i>Brachybacterium sp.</i>	44
3.1.9 <i>Kocuria salsicia</i>	45
3.2 Вплив бактеріальних культур на проростання насіння модельних рослин	48
3.2.1 Кількість пророслих насінин	50
3.2.2 Загальна довжина пророслих насінин	50
Висновки до розділу 3	51
<b>ВИСНОВКИ</b>	<b>53</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	<b>55</b>
<b>ДОДАТКИ</b>	<b>63</b>

## ВСТУП

У сучасному світі спостерігається значний інтерес до біологічних методів підвищення продуктивності сільськогосподарських культур. Використання мікробів як біопрепаратів відкриває нові можливості для сталого ведення сільського господарства та зменшує залежність від хімічних добрив та пестицидів.

Одним з найбільш перспективних напрямків є вивчення мікроорганізмів, здатних синтезувати фітогормони та інші корисні біологічні сполуки.

Фітогормони, такі як ауксин, цитокінін та гіберелін, є важливими регуляторами росту та розвитку рослин. Вони впливають на різні аспекти фізіології рослин, включаючи поділ клітин, розтягнення тканин, розвиток кореневої системи та адаптацію до стресових умов. Використання мікроорганізмів, що синтезують ці сполуки, може значно покращити ріст рослин, збільшити врожайність та покращити якість продукції.

Окрім синтезу рослинних гормонів, мікроорганізми відіграють важливу роль у біологічній фіксації азоту, яка є процесом перетворення атмосферного азоту у форму, доступну для рослин. Ця здатність особливо важлива для бобових культур, які вступають в симбіотичні відносини з азотфіксуючими бактеріями, які забезпечують рослини необхідним азотом і підвищують родючість ґрунту.

Іншою важливою функцією мікроорганізмів є розчинення фосфатів, калію і цинку. Багато мікроорганізмів здатні перетворювати нерозчинні форми цих елементів у розчинні, роблячи їх доступними для рослин. Це сприяє оптимальному живленню рослин, підвищує стійкість до хвороб і несприятливих умов. Крім того, мікроорганізми можуть синтезувати ціаністий водень, який діє як біологічний пестицид і захищає рослини від шкідників. Виробництво легких органічних сполук також важливо, оскільки ці сполуки можуть стимулювати ріст рослин і покращувати їх загальну фізіологічну активність.

Вироблення мікроорганізмами літичних ферментів сприяє руйнуванню клітинних стінок патогенних мікроорганізмів і забезпечує захист рослин від хвороб. Ці ферменти здатні розщеплювати складні органічні речовини в ґрунті і перетворювати їх в більш просту форму, яка легко засвоюється рослинами. Таким

чином, мікроорганізми, здатні синтезувати фітогормони та інші корисні біологічні сполуки, мають великий потенціал для використання в сільському господарстві. Вони допомагають збільшити врожайність, поліпшити якість продукції, захистити рослини від стресів і хвороб і знизити негативний вплив на навколишнє середовище.

### **Актуальність дослідження**

Сучасне сільське господарство в значній мірі засноване на використанні хімічних добрив і пестицидів, які допомагають підвищити врожайність, якість врожаю, а також захищають врожай від негативного впливу біотичних факторів навколишнього середовища, наприклад трав'яних тварин а також від комах. Однак зростаюча стурбованість негативним впливом таких речовин на навколишнє середовище, в першу чергу на ґрунти та здоров'я людини спонукає вчених шукати альтернативні способи підвищення продуктивності рослин, які будуть безпечнішими для здоров'я людей, а також не впливатимуть негативно на стан ґрунту. Одним з таких перспективних напрямків є використання мікроорганізмів, здатних синтезувати рослинні гормони, які є природними регуляторами росту рослин. Природні представники продуцентів фітогормонів живуть в ризосфері ґрунту і утворюють міцний симбіотичний зв'язок з рослинами, секретуючи в навколишнє середовище гормоноподібні сполуки, які вона засвоює.

Рослинні гормони відіграють важливу роль у регуляції різних фізіологічних процесів рослин, включаючи ріст, розвиток, стійкість до стресових умов та хвороб. Мікроорганізми, здатні синтезувати ці сполуки і можуть знайти своє застосування в якості біодобрив, що може збільшити біодоступність не тільки фітогормонів, але також збільшити кількість біодоступного азоту, покращувати солубілізацію фосфатів та калію, і цим самим сприяють росту екологічно чистої сільськогосподарської продукції.

**Метою** цього дослідження було виявлення та оцінка мікроорганізмів, здатних синтезувати рослинні гормони, та вивчення їх потенційного впливу на ріст та розвиток рослин.

### **Завдання дослідження**



1. Скринінг різних видів мікроорганізмів на їх здатність синтезувати важливі рослинні гормони, такі як ауксин, цитокінін і гіберелін.
2. Визначення оптимальних умов для синтезу рослинних гормонів обраними мікроорганізмами.
3. Вивчення впливу мікроорганізмів, що продукують гормони рослин, на ріст і розвиток модельних систем рослин.

### **Наукові інновації та їх практичне значення**

Запропонований підхід не тільки розширює знання про мікроорганізми, що виробляють гормони рослин, але й закладає основу для розробки нових біологічних продуктів для сільського господарства. Використання таких біопрепаратів знижує використання хімічних добрив і пестицидів, покращує екологічний стан ґрунту і підвищує стійкість рослин до несприятливих умов.

Таким чином, результати цього дослідження можуть мати істотний вплив на розробку екологічно стійких методів ведення сільського господарства, забезпечуючи при цьому високу врожайність і захист навколишнього середовища.

### **Об'єктом дослідження**

Об'єктом даного дослідження є бактеріальні культури, що асоційовані з судинними рослинами на прикладі рослин Антарктики.

### **Предмет дослідження**

Предметом даного дослідження є вивчення здатності мікроорганізмів, зокрема бактерій, виділених із зразків ґрунтів та вод Антарктиди, до синтезу фітогормонів. Фітогормони (також відомі як рослинні гормони) включають такі важливі речовини, як ауксини, цитокініни, гібереліни, етилен та абсцизова кислота. Враховуючи екстремальні умови Антарктиди, особливий інтерес становлять адаптаційні механізми бактерій, що дозволяють їм не лише виживати, але й продукувати біологічно активні сполуки, які можуть впливати на ріст і розвиток рослин.

### **Методи дослідження**

Культивування мікроорганізмів здійснювали у скляних віалах на шейкері за режиму 28°C, 160 об/хв протягом 3 діб на середовищі з триптофаном. Визначення

типу клітинної стінки проводили з використанням набору фарбування за Грамом за протоколом.

ДНК екстрагували з нічних культур бактерій, вирощених у рідкому середовищі CASO (Merk, США) за допомогою HigherPurity™ Bacterial DNA Isolation Kit (Canvaх, Іспанія) відповідно до інструкцій виробника. Продукти ПЛР-ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу на 1 % агарозному гелі, результати візуалізували в УФ-трансілюмінаторі (модель UVP GelDoc-It 310, Ultra-Violet Products Ltd., Кембридж, Великобританія). Продукти ПЛР очищали за допомогою набору GeneJet Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Baltics, Вільнюс, Литва) відповідно до інструкцій виробника.

Кількісне визначення ІОК проводили спектрофотометрично ( $\lambda=540$  нм), концентрацію перераховували за допомогою калібрувальної кривої отриманої з різними концентраціями ІОК аналітичного класу. Концентрацію ІОК перераховували з урахуванням приросту біомаси кожної культури і нормалізували за значеннями 1 для OD 600 нм на спектрофотометрі.

Стимуляцію проростання насіння проводили на насінні крес-салату (*Lepidium sativum*), насіння порпедньо стерилізували за допомогою білизни та інокулювали досліджуваними бактеріями.

Всі дослідження виконувалися щонайменше у трикратній повторюваності. Показники стандартних відхилень і т. д. обчислювалися за загальноприйнятими формулами.

### **Практичне значення**

Практичне значення даної роботи полягає у виявленні та вивченні мікроорганізмів, виділених з Антарктиди, які можуть синтезувати рослинні гормони та інші корисні біологічні сполуки. Мікроорганізми, що виживають в екстремальних умовах Антарктиди, особливо перспективні для використання в різних біотехнологічних і сільськогосподарських практиках, оскільки вони володіють власними адаптивними механізмами.

### **Апробація**

Апробацію наукових результатів здійснено на наукових конференціях: міжнародна конференція «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (25-26 квітня 2024 року, Харків, Україна).

### **Публікації**

Результати досліджень опубліковано у статті за матеріалами міжнародної конференції.

Бібліографія опублікованої роботи:

1. Reznik D., Krainova Y., Kalinichenko O., Iungin O. Screening indole-3-acetic acid (IAA) producers among endophytes of vascular plants. Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування [Електронний ресурс]: матеріали Міжнар. наук. конф., 25–26 квітня 2024 р. / Держ. біотехнол. ун-т. – Харків, 2024. – Електронні текстові дані. С.102. – Режим доступу: <http://btu.kharkov.ua/nauka/konferentsiyi/>

### **Структура і обсяг**

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг кваліфікаційної роботи складає 62 сторінки.

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Ріст-стимулювальні властивості мікроорганізмів

Бактерії, що сприяють росту рослин (БСРР), є представниками ґрунтових бактерій, які мешкають навколо або на поверхні коренів і прямо чи опосередковано беруть участь у стимулюванні росту та розвитку рослин, шляхом продукування та секреції різних регуляторних хімічних речовин у безпосередній близькості до ризосфери [1]. БСРР посилюють ріст рослин за допомогою широкого спектру механізмів, таких як: солюбілізація фосфатів, виробництво сидерофорів, біологічна фіксація азоту, виробництво 1 - аміноциклопропан - 1 - карбоксилатдезамінази (АЦК), відчуття кворуму, інгібування утворення біоплівки, виробництво фітогормонів, протигрибкова активність, виробництво летких органічних сполук (ЛОС), індукування системної резистентності, сприяння симбіозу рослин і мікробів, перешкоджання утворенню токсинів у рослині. Використання мікробних сільськогосподарських ресурсів, як біодобрих має довгу історію, починаючи з широкомасштабної ризобіальної інокуляції бобових культур на початку 20-го століття. Різні штами *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Glomus*, *Trichoderma* та багато інших були комерціалізовані і використовуються як ефективні біоінокулянти для різних культур. Використання бактерій і псевдомонад, які домінують у ґрунті, було вивчено і використано для підвищення продуктивності рослинництва.

Здоров'я ґрунту додатково покращують кореневищні бактерії, які пов'язані з корінням і беруть участь в синтезі великої кількості біомолекул [2]. Вони також впливають на рослинні залишки, в яких різні органічні сполуки піддаються розкладанню і мінералізації. Ці мінералізовані хімічні речовини досягають поверхні ґрунту і змішуються там, підвищуючи її цінність. На додаток до цього механізму, вони також синтезують різноманітні хімічні речовини, що стимулюють ріст, які в кінцевому підсумку впливають на морфологію коренів рослин. Рослина в значній мірі контролює склад мікрофлори. Крім того, ґрунтове мікробне співтовариство здійснює різні аспекти саморегуляції. Ризобактерії мають величезний потенціал для збільшення доступності поживних речовин у ґрунті. Азот необхідний для синтезу амінокислот і білків, які є найважливішими

поживними речовинами для рослин, і накопичується з атмосферного азоту за допомогою біологічних механізмів фіксації азоту в ґрунті та коренях рослин.

### 1.1.1 Біологічна фіксація азоту

Біологічна фіксація азоту - важливий процес, на який припадає приблизно дві третини азоту, що фіксується у світі. Внесок біологічної фіксації азоту (БФА) в запаси доступного для вирощування сільськогосподарських культур, має важливе значення. Симбіотична асоціація між бобовими рослинами та ризобіями є найбільш важливим фактором фіксації молекули азоту в системі сільського господарства [3]. Біологічний процес здійснюється шляхом симбіотичної або не симбіотичної взаємодії між мікроорганізмами та рослинами. *Rhizobium sp.*, *Azoarcus sp.*, *Beijerinckia sp.*, *Pantoea agglomerans* та *Klebseilla pneumonia* - це бактерії, які найчастіше використовують для біологічної фіксації азоту. Якість та покращення бульбочкоутворення можна здійснити шляхом інокуляції комбінації видів ризобактерій у ґрунт [4]. Інокуляція ризобактерій, що сприяють росту рослин (БСРР), що фіксують атмосферний азот на сільськогосподарських культурах активізує ріст, стійкість до хвороб та підтримує рівень біодоступного азоту в ґрунтах.

### 1.1.2 Солюбілізація фосфатів

Фосфор є одним з найбільш важливих поживних речовин, необхідних рослинам у достатній кількості, тобто 0,2% від сухої маси рослини, необхідні для оптимального росту. Фосфор відіграє важливу і незамінну роль в екосистемі, беручи участь у більшості аспектів енергетичного метаболізму, синтезі нуклеїнових кислот і білків, а також у регуляції різноманітних кіназ. Середній вміст фосфору у ґрунті становить приблизно 0,02-0,05% від сухої маси ґрунту, причому основними двома формами є неорганічний фосфор (Pi) та органічний фосфор (Po) [5]. Тим не менш, лише 0,1% фосфору може бути засвоєно рослинами, що робить доступний фосфор обмежувальним фактором для росту рослин. Фосфат-аніони в хімічних добривах є доступними для рослин, мають надзвичайну реакційну здатність і взаємодіючи з іонами  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Al}^{3+}$  у ґрунті, утворюють нерозчинні

комплекси фосфатних солей, однак ефективність використання рослинами фосфору в хімічних добривах становить лише 5-25%, що призводить до збагачення ґрунту неорганічним фосфором і втрати його родючості.

Експеримент з інокуляції ґрунту, проведений Шен та Лю (2019) [6], показав, що інокуляція ефективним ФРБ *Pantoea sp. (S32)* призвела до очевидного покращення доступного фосфору, як в експериментальному, так і в рекультивованому ґрунті. Експеримент з проростками рису також показав, що застосування штаму *S32* значно збільшило висоту рослин, біомасу, ріст коренів, та ріст рослин. Взяті разом, ізольований штам *S32* показав високу здатність до фосфат-розчинення, як для  $P_i$ , так і для  $P_o$ , і його меліоративний вплив на відновлення рекультивованого ґрунту забезпечує теоретичну основу для розвитку сільськогосподарських культур у рекультивованих ґрунтах шахтних полів. Солюбілізація та мінералізація фосфору фосфатсолюбілізуючими бактеріями є важливою характеристикою, яка може бути досягнута за допомогою БСРР.

Фосфаторозчинні бактерії належать до різних родів: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aneurinibacillus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Aeromonas* і *Burkholderia* [7, 8, 9]. Деякі гриби також діють як ефективні солюбілізатори фосфатів і виконують ту саму функцію, включаючи *Sclerotium*, *Penicillium*, *Aspergillus* і *Trichoderma* [10].

### 1.1.3 Солюбілізація калію

Калій - один з найважливіших макроелементів для росту рослин. Понад 90% калію існує у формі не розчинних гірських порід і силікатних мінералів, тому концентрація розчинного калію в ґрунті зазвичай дуже низька. З часом, дефіцит калію в ґрунті став основним обмеженням у рослинництві. Рослини можуть мати погано розвинене коріння, низьку насінневу продуктивність, повільний темп росту та нижчий врожай без достатньої доступності калію[1].

Були проведені дослідження щодо здатності БСРР розчиняти калійні породи або шляхом виробляючи або виділяючи органічні кислоти. Ризобактерії, що розчиняють калій, такі як *Acidithiobacillus sp.*, *Bacillus edaphicus*, *Ferroxidans sp.*,

*Bacillus mucilaginosus*, *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.* і *Paenibacillus sp.*, як повідомлялося, вивільняють недоступну кількість калію з калій вмісних мінералів у ґрунтах [11]. Таким чином, застосування калійрозчинних ризобактерій як біодобрива для покращення сільського господарства може зменшити використання агрохімікатів та підтримати екологічно чисте рослинництво.

#### **1.1.4 Солюбілізація цинку**

Цинк є важливою складовою різних ферментів, які каталізують різноманітні метаболічні реакції у рослинах. Цинк впливає на основні процеси життєдіяльності рослин, такі як: азотний обмін, фотосинтез і стійкість до біотичних та абіотичних стресів. Він також відіграє важливу роль у фотосинтезі, цілісності клітинних мембран, білковому синтезі білка, утворенні пилку, стійкості рослин до хвороб та підвищенні рівня антиоксидантних ферментів і хлорофілу в рослинних тканинах [1, 12]. Цинк є критично важливим кофактором для активності понад 300 ферментів. Крім того, цинк необхідний для синтезу фітогормонів, таких як абсцизова кислота (АБК), ауксини, гібереліни та цитокініни, а його дефіцит призводить до порушення росту рослинних клітин. Дефіцит цинку суттєво впливає на кореневу систему, включаючи слабкий розвиток коріння. Цинкосолубілізуючі ризобактерії можуть бути використані для сталого втручання з метою підвищення біодоступності Zn у ґрунті, що може бути корисним для пом'якшення наслідків втрат врожаю та недостатнього цинкового живлення. *Agrobacterium tumefaciens* та *Rhizobium sp.* були використані для їх потенційного застосування в якості біоінокулянтів для подолання недоступності цинку у ґрунтах [13].

#### **1.1.5 Продукція фітогормонів**

Фітогормони - це хімічні месенджери, які відіграють вирішальну роль у природному рості рослин і зустрічаються в низьких концентраціях. Здатність ризосферних бактерій впливати на гормональний статус рослин шляхом бактеріального продукування або метаболізму гормонів є важливим механізмом, за допомогою якого бактерії сприяють росту та розвитку рослин [1]. Ці фітогормони

формують рослину, впливаючи на ріст насіння, час цвітіння, стать квіток, старіння листя та плодів[14]. Фітогормони також впливають на рівень експресії та транскрипції генів, клітинний поділ і ріст. У клітинах-мішенях фітогормони також регулюють клітинні процеси, формування структури, вегетативний і репродуктивний розвиток та реакцію на стрес. Таким чином, всі найважливіші події, такі як формування листя, квітів, розвиток і дозрівання плодів, регулюються і визначаються гормонами [15].

### **1.1.6 Виробництво сидерофорів**

Сидерофори - це невеликі органічні молекули, що виробляються мікроорганізмами, які підвищують поглинання заліза. Дослідження сидерофорів привернули велику увагу в останні 10 років завдяки їхнім унікальним характеристикам щодо вилучення іонів заліза. *Pseudomonas sp.*, як БСРР, використовує сидерофори, вироблені іншими мікробами, присутніми в ризосфері, для задоволення своїх потреб в іонах. Зокрема, *Pseudomonas putida* використовує гетерологічні сидерофори, вироблені іншими мікроорганізмами, для підвищення рівня заліза, доступного в природному середовищі існування. Потужний сидерофор, такі як ферум-сидерофорний комплекс, відіграють важливу роль у поглинанні заліза рослинами в присутності інших металів, таких як заліза в присутності інших металів, таких як нікель і кадмій [16].

### **1.1.7 Роль БСРР у розвитку стресостійкості**

Негативний вплив на ріст, продуктивність, репродуктивну здатність або виживання рослин будь-яким зовнішнім фактором називають "стресом". Рослинні стреси можна класифікувати на абіотичні або біотичні стреси, які включають холод, посуху, сіль, важкі метали та антропогенні або інші біологічні фактори, включаючи патогени, травоядних тварин [17]. Всі рослини, як відомо, сприймають і реагують на стресові сигнали, такі як посуха, спека, засоленість, травоядні тварини та патогени. Фітогормони, такі як абсцизова кислота (АБК), етилен, жасмонова кислота, саліцилова кислота, активні форми кисню ( $H_2O_2$ ), газотрансмітери ( $H_2S$



та NO), поліаміни, фітохроми, є важливими факторами системного захисту від стресу і діють на різних рівнях у боротьбі з біотичними та абіотичними стресами [18]. Крім того, багато БСРР, що знаходяться в ризосфері, мають властивості, які впливають на ріст рослин на різних стадіях розвитку, а також допомагають рослинам у боротьбі з різними біотичними та абіотичними стресами.

### **1.1.8 Виробництво антибіотиків та бактеріоцинів**

Антагоністичні низькомолекулярні органічні сполуки, відомі як антибіотики, виробляються багатьма БСРР і є найефективнішими у пригніченні росту фітопатогенів. *Bacillus sp.* виробляє поліміксин, циркулін і колістин, які ефективні проти різних патогенних грибів. Багато ізолятів ризосферних бактерій, що продукують 2,4-діацетилфлороглюцинол (2,4-ДАПГ), показали протигрибкову активність *in vitro* проти основних грибових патогенів арахісу (*Aspergillus niger*, *A. flavus* та *Sclerotium rolfsii*) [19]. Також в дослідженні [20] розглянули деякі поширені штами БСРР, такі як *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium* та *Serratia* у біоконтролі та повідомили, що виробництво ними антибіотиків, таких як феназин-1-карбонова кислота, 2,4-діацетилхлорглюцинол, ооміцин, піолутеорин, піролнітрин, канозамін, цвіттерміцин-А та пантоцин, як одні з основних стратегій боротьби з фітопатогенами. Виробництво антибіотиків 2,4-діацетилфторглюцинолу, піролнітрину, піолутеорину, баціломіцину D, фенгіцину, ціаністого водню було продемонстровано кількома ізолятами штамів *Pseudomonas* та *Bacillus*, які діяли проти різних грибових збудників кореневої гнилі куркуми [21].

### **1.1.9 Виробництво ціаністого водню (ЦВ)**

Значна кількість вільноживучих ризосферних бактеріальних спільнот, переважно *Pseudomonas sp.* здатні генерувати ЦВ. Повідомлялося про його продукування іншими ризобактеріями, такими як *Chromobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia* та актиноміцетами. Зазвичай його отримують шляхом окислювального декарбоксілювання з попередника гліцину, яке каталізується

мембранозв'язаним флавоферментом ЦВ-синтазою. Виробництво ЦВ БСРР, такими як *Pseudomonas*, корелює з пригніченням грибкових захворювань рослин. Хоча більшість досліджень, проведених у минулому, встановили певну роль ЦВ у біоконтролі фітопатогенів, проте деякі нещодавні дослідження повідомляють про роль ЦВ у підвищенні доступності фосфатів [22].

#### **1.1.10 Механізм антиоксидантного захисту**

В дослідженні [23] було ізольовано 120 ризобактерій які були ізольовані з семи різних чайних плантацій Дарджилінгу і була показана їх пряма участь в запобіганні антиоксидантного стресу. Крім того, обробка ризобактеріями рису викликала ферментативні (аскорбатпероксидаза (АРХ), каталаза (САТ), хітиназа та фенілаланінаміакліаза (РАL)) та неферментативні (пролін та поліфеноли) реакції антиоксидантного захисту, що вказує на їх можливу роль у зменшенні навантаження активних форм кисню (АФК) і, таким чином, підготовці рослин до пом'якшення наслідків стресу.

#### **1.2 Ріст-стимулювальні гормоноподібні сполуки, що синтезують мікроорганізми**

Фітогормони відіграють важливу роль у природному зростанні рослин і є хімічними посередниками, які містяться в низьких концентраціях [24]. Здатність ризосферних бактерій впливати на гормональний статус рослин за допомогою бактеріальної продукції або гормонального метаболізму є важливим механізмом, за допомогою якого вони сприяють росту та продуктивності рослин. Ці фітогормони формують рослини, які впливають на ріст насіння, час цвітіння, стать квітки, а також на старіння листя і плодів. Вони також впливають на рівень експресії та транскрипції генів, поділ та ріст клітин. У клітинах-мішенях рослинні гормони також регулюють клітинні процеси, структурне формування, харчування та репродуктивний розвиток, а також реакцію на стрес. Таким чином, всі важливі процеси, такі як формування листя, цвітіння, розвиток і дозрівання плодів, регулюються і визначаються гормонами. Щоб зменшити негативний вплив

стресорів, викликаних несприятливими умовами навколишнього середовища, рослини намагаються регулювати рівень ендогенних рослинних гормонів. Мікроорганізми можуть безпосередньо впливати на ріст рослин, синтезуючи гормони, що стимулюють ріст, і метаболізуючи гормони, що пригнічують ріст. Хоча ця стратегія може бути успішною, мікроорганізми ризосфери також можуть виробляти або регулювати рослинні гормони *in vitro*. Таким чином, багато БСРР можуть змінювати рівень фітогормонів і, подібним чином, впливати на баланс фітогормонів і реакцію на стрес.

Відомо, що багато ризосферних бактерій виділяють гормони, що поглинаються корінням або маніпулюють гормональним балансом у рослинах для стимулювання росту та реакцій на стрес. Добре відомо, що ріст рослин частково регулюється гормональними змінами, тому це один з перспективних механізмів, що використовується БСРР для стимулювання росту рослин. Іншою важливою властивістю БСРР є гідроліз АЦК до аміаку та альфа-кетобутирату завдяки ферменту АЦК-дезамінази, який використовується, як джерело вуглецю. В останні роки основна увага приділяється механізмам, за допомогою яких АЦК-дезаміназвмісні бактерії сприяють росту рослин. Всі бактерії, здатні виробляти фермент 1-аміноциклопропан-1-карбоксилатдезаміназу, які присутні на поверхні коренів рослин (ризосферні) або всередині рослинних тканин (ендофітні), відіграють важливу роль регулюванні рівня етилену в рослинах. Насправді, ряд дезаміназ АЦК, що продукують БСРР, мають здатність знижувати рівень етилену в рослині, таким чином спричиняючи посилений ріст рослин.

### **1.2.1 Ауксини**

Ауксини стимулюють ріст рослин, стимулюючи подовження та проліферацію клітин. Транспорт ауксинів, синтезованих у меристематичних тканинах, таких як листя, верхні бруньки та квіти, є низхідним. Індоліл-3-оцтова кислота (ІОК) - єдиний гормон, який природним чином синтезується в рослинах. Однак було показано, що багато синтетичних аналогів мають подібні до ІОК ефекти. ІОК у великій кількості міститься у зростаючих кінцевих частинах таких як: кінчик

пагона, брунька, лист і кінчик кореня рослини. Після з'ясування хімічної структури ауксину було встановлено, що багато хімічних речовин, певною мірою подібних до ІОК за своєю структурою, діють на рослини як ауксини. Ауксини згруповані в чотири класи: індоли, нафталіни, фенокси, бензоли [25].

### 1.2.2 Цитокініни

На відміну від інших гормонів, що виробляються в рослинних тканинах, особливо під час поділу клітин, вони є органічними речовинами хінінової структури, які зустрічаються як у рослин, так і у тварин. Цитокініни поділяються на дві основні групи:

1. Синтетичні похідні фенілу, такі як: сечовина, тидіазурон (ТДЗ).
2. Природні похідні аденіну: кінетин (КН), 6-бензиладенін (БА).

Всі тканини з активним клітинним поділом містять достатню кількість цитокініну. Особливо в кореневій меристемі, де вони синтезуються і транспортуються через ксилему в зелену частину рослини. Це гормони, які ефективно впливають на поділ клітин і уповільнюють старіння. Ауксин сприяє утворенню коренів, а цитокінін - пагонів. Вони сприяють формуванню і розвитку органів в середовищі культивування тканин [26].

### 1.2.3 Стриголактони

Стриголактони, разом з ауксинами, у минулому столітті вважалися одними з двох найважливіших гормонів у формуванні апікального домінування, що є найважливішою гіпотезою в поясненні цього утворення [27]. Стриголактони, що виробляються в коренях, транспортуються вгору (акропетально) до верхньої частини рослини по ксилемі і пригнічують ріст бічних бруньок. Стриголактони при застосуванні до пагонів, що ростуть, скорочують довжину пагонів. Останнім часом вважається, що стриглактони є ефективними в сигнальному механізмі між генами, пов'язаними з розгалуженням (такими як *max* (більший пазушний ріст) і *dad* (зменшення апікального домінування)). Також вважається, що ауксини здійснюють інгібуючий вплив на бічні бруньки через стриглактон.

#### 1.2.4 Гібереліни

Гіберелін, як і ауксин, також є гормоном, який стимулює ріст і розвиток у низьких дозах. Гібереліни були виявлені в 1926 році японськими дослідниками в *Gibberella Fujikuroi*, що призвело до надмірного росту рису. Цю речовину виділяли і називали гібереловою кислотою (ГК). ГК - найпоширеніша форма гібереліну. В даний час відомо, що існує щонайменше 126 форм гібереліну. Вони містяться в бруньках, зародках, коренях, молодих листках, квітках, плодах і камбії рослин. Найбільш очевидним ефектом гібереліну є продовження терміну життя клітин [28]. Крім того, вони дуже ефективно усувають сонливість насіння і бруньок, усувають карликовість і необхідність в охолодженні, стимулюють партенокарпіческое і Жовтневе проростання плодів. На практиці ГК використовується в більшості столових і родзинкових сортів для зменшення кількості фруктів в гроні і збільшення розміру фруктів.

#### 1.2.5 Брасиностероїди

Брасиностероїди (БС) вперше були виділені з пилку ріпаку (*Brassica napus*) Grove et al. у 1979 році. Назва брасиностероїд, виявлений в структурі стрейоидов, походить від назви роду хрестоцвітних (*Crucifereae*) сімейства хрестоцвітних. Синтез BR в даний час не може бути повністю пояснений, але його вихідним матеріалом є мевалонова кислота. БС-це гормон, який дуже ефективно впливає на ріст рослинних організмів. БС значно збільшує довжину стебла при зовнішньому застосуванні до деяких карликових мутантних рослин, які не можуть виробляти стероїди [29]. Аналогічним чином, застосування БС до карликових бобів призводить до збільшення поділу клітин і їх подовження, а також до збільшення висоти. БС також забезпечує стійкість до сольового стресу, холоду та хвороб, запобігає випаданню плодів, підвищує врожайність, стимулює проростання та ріст коренів тощо.

### **1.2.6 Етилен**

На відміну від інших гормонів, етилен - газоподібна органічна молекула при кімнатній температурі. Він відомий як гормон дозрівання і має фізіологічну дію на рослини навіть у дуже низьких концентраціях. Етилен є важливим гормоном садових рослин і дуже ефективно впливає на смак, колір, текстуру та структуру продукту. Етилен може синтезуватися з усіх органів в залежності від стадії розвитку рослини [30]. Але при стресі він синтезується в основному з зрілих і старих тканин. Листя і квіти містять найбільшу кількість етилену, який синтезується до того, як листя в'януть і опадають. Газ етилен використовується для дозрівання та пожовтіння фруктів, таких як банани, цитрусові, груші, помідори, дині та ананаси. жовтня жовтня, крім того, етилен може порушувати стан спокою, скидати листя і плоди, сприяти цвітінню, сприяти утворенню додаткових коренів, сприяти утворенню жіночих квіток у однодомних рослин і зменшувати їх зростання за рахунок зменшення абсорбції рослин.

### **1.2.7 Абсцизова кислота**

На протипагу природним речовинам, які стимулюють ріст, існують також інгібуючі природні речовини, що рухають ріст у зворотному напрямку, найважливішою з них є абсцизова кислота (АБК). АБК є природним антагоністом ауксину, гіберелінів та цитокінінів, відомих як стимулятори росту. АБК присутня у всіх органах рослин, але найбільше її міститься в зеленому листі і синтезується в цитоплазмі клітин мезофілу. Оскільки в коренях немає хлоропластів, АБК не синтезується в цих частинах [31]. Вважається, що АБК спричиняє перехід до стану спокою, оскільки знаходиться у великих кількостях у бруньках та насінні у стані спокою. Вона також діє як інгібітор спокою органів запасання, таких як насіння, бруньки та бульби. Синтетичне виробництво АБК є дорогим і непрактичним у використанні через його нестабільність під дією УФ-світла.

### **1.2.8 Саліцилова кислота**

Саліцилову кислоту (СК) протягом століть отримували з добре відомої верби. Нещодавні дослідження показали, що СК дуже ефективно впливає на ріст і розвиток рослин. СК міститься у всіх органах рослини і транспортується до різних органів через флоему. Роль СК на цвітіння була показана на прикладі впливу водорозчинного аспірину на зрізані квіти, що подовжувало життя вази [32]. СК блокувала синтез етилену в яблуках, збільшувала урожайність бобів, покращувала укорінення та прискорювала фотосинтез. Одними з найефективніших способів застосування СК є забезпечення стійкості до несприятливих умов, таких як посуха, засолення, високі та низькі температури, вплив важких металів та морозний стрес.

### **1.3 Вплив ріст-стимулювальних гормоноподібних сполук мікробного походження на рослини**

Фітогормони регулюють ряд життєвих процесів всередині рослинної клітини, насамперед їх диференціацію, морфо- та органогенез, що напряду забезпечує ріст та розвиток рослини. Ранній розвиток листя можна поділити на три стадії:

1. Ініціація зачатків листя.
2. Встановлення полярності листків.

#### **1.3.1 Ініціація зачатків листя.**

Ауксини, ЦК (цитокініни), ГІ (гібереліни), БС (брасиностероїди), та СК (саліцилова кислота) приймають участь в самій ранній стадії ініціації розвитку зачатків листя. KNOX це ключовий фактор, який регулює ініціаці розвитку листових зачатків. Гени KNOX кодують гомеодомен-вмісні транскрипційні фактори, необхідні для підтримання меристеми та правильного патерну ініціації органів [33]. KNOX позитивно регулює біосинтез цитокінінів, що запускає клітинну проліферацію індукуванням експресії ферменту ізопентеніл трансферази 7 (ІПТ7) зберігаючи при цьому не диференційований стан клітин у апікальній меристеми пагона (АМП). Однак, накопичення високих рівнів ауксину в апікальній

меристемі пагона пригнічує активність KNOX, що призводить до диференціації АМП у листовий зачаток і пригнічує біосинтез цитокінінів.

Саліцилова кислота також підсилює сигналізацію ауксинів. Крім того, існують докази того, що брасиностероїдо-індукована експресія генів, включає синергічну дію гіберелінів, що узгоджується з роллю брасиностероїдів у стимулюванні клітинного поділу і їх подовження. На противагу цьому, брасиностероїди і жасмонати мають протилежні ефекти на розвиток листків, оскільки жасмонати можуть інгібувати ініціацію зачатків листків.

KNOX є ключовим геном, що бере участь в ініціації зачатків листків. У центральній зоні АМП арабідопсису, PPA7 (регулятор рагування Арабідопсису 7) та PPA15 (регулятор рагування Арабідопсису 15) діють, як вузли інтеграції ауксинового та цитокінінового сигнальних шляхів.

WUSCHEL (WUS) діє після KNOX та PPA. WUS - гомеодоменний фактор транскрипції, необхідний для підтримки ніші стовбурових клітин в АМП, диференціації бічних зачатків, тотипотентності рослинних клітин та інших різноманітних клітинних процесів [34]. Взаємодія ПБМ посилює зв'язування WUS з промотором КЛАВАТА3 (КЛВ3), таким чином індукуючі експресію КЛВ3. КЛВ3 - це пептидний сигнал, спочатку ідентифікований при аналізі клв-мутантів у модельній рослині *Arabidopsis thaliana*, як регулятор гомеостазу меристеми та кількості квіткових органів [35].

### **1.3.2 Вплив фітогормонів на формування полярності листків.**

Зачатки листків, які щойно з'являються, швидко із симетричної паличкоподібної структури перетворюються на лопатеподібну структуру з двома асиметричними сторонами. Встановлення полярності є важливим процесом, який впливає на морфологію листка. Фактично, кожен новий листок встановлює три осі полярності під час розвитку: вісь від основи до верхівки, ближню дистальну вісь і серединну вісь. Хоча багато зусиль було зосереджено на розумінні встановлення полярності листка, мало хто з дослідників вивчав роль фітогормонів у цьому процесі. Кілька недавніх досліджень задокументували транспорт ауксину з проксимального кінця



зачатку листка (тобто сторони листка, найближчої до стебла) до САМ на ранніх стадіях розвитку листка, що призводить до зниження локальної концентрації ауксину, яка сприяє встановленню полярності листка. Фактор відповіді на ауксин (ФВА) - транскрипційний активатор, що бере участь у сигналізації ауксину, виступає як активатор транскрипції відповідного гену. Тоді як ФВА3 і ФВА4 діють переважно, як транскрипційні репресори.

Ауксин, цитокініни та гібереліни прямо чи опосередковано регулюють експресію KNOX, що є критично важливим для формування базальної осі листка. Стрінголактони і цитокініни мають антагоністичний вплив на ріст бруньок і можуть сходитися на спільній мішені, тобто на транскрипційному факторі БРАНЧЕТ1 (БРЧ1). БРЧ1 кодує ключовий фактор транскрипції, що інгібує ріст бруньок. Стрінголактони підвищують експресію БРЧ1, тоді як цитокініни пригнічують його експресію [36].

### **1.3.3 Контроль подовження коренів**

Ще одним з основних механізмів впливу мікроорганізмів на ріст рослин є їх здатність до контролю росту та розгалуження коренів. Нещодавні дослідження показали, що OsWOX4, пов'язаний із WUS транскрипційний фактор (WOX), відіграє ключову роль у подовженні первинного кореня рису. Зниження його експресії за допомогою РНК інтерференції призводить до значного збільшення довжини первинного кореня, тоді як його надекспресія значно зменшує цей процес. Зміни в розмірі зони меристеми та довжині епідермальних клітин також підтверджують роль OsWOX4 у регуляції росту кореня. Крім того, він впливає на накопичення вільного ІОК та експресію генів, відповідальних за біосинтез і транспорт ауксину. Ці результати підкреслюють його важливість у формуванні архітектури кореневої системи рису шляхом регулювання транспорту ауксину [37].

## **Висновки до розділу 1**

Було розглянуто ріст-стимулювальні властивості мікроорганізмів, зокрема бактерій, які сприяють росту рослин і мешкають у ризосфері. БСРР сприяють росту

рослин через ряд різних механізмів, такі як: солубілізація фосфатів, виробництво сидерофорів, біологічна фіксація азоту, виробництво 1-аміноциклопропан-1-карбоксилатдезамінази (АЦК), виробництво фітогормонів, летких органічних сполук (ЛОС), а також протигрибкову активність.

Основними гормоноподібними сполуками, що синтезуються мікроорганізмами, є ауксини, цитокініни, гібереліни, етилен, абсцизова кислота, саліцилова кислота та брасиностероїди. Ці речовини відіграють ключову роль у регуляції росту та розвитку рослин, стимулюючи процеси проростання, формування кореневої системи, розгалуження коренів, розвиток стебел і листків.

Окрім цього, мікроорганізми мають здатність до синтезу ціанистого водню, що сприяє пригніченню фітопатогенів та підвищенню доступності фосфатів. Також вони приймають участь у механізмах антиоксидантного захисту рослин, запобігаючи антиоксидантному стресу в них.

Таким чином, мікроорганізми, що мешкають у ризосфері і які було ізольовано з Антарктиди, мають великий потенціал для використання в сільському господарстві завдяки їх здатності синтезувати різні біологічно активні сполуки, які сприяють росту та розвитку рослин навіть в екстремальних умовах.

Також було розглянуто механізми які використовують БСРР для стимулювання росту рослин, зокрема: ініціація зачатків листя, вплив фітогормонів на формування полярності листків, а також яким чином фітогормони контролюють ріст та розвиток кореня.

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

**Об'єкт дослідження** – бактеріальні культури, що асоційовані з судинними рослинами на прикладі рослин Антарктики.

**Мета** – виявити та оцінити мікроорганізми, здатні синтезувати рослинні гормони, та вивчення їх потенційного впливу на ріст та розвиток рослин.

### 2.1 Досліджувані мікроорганізми

В роботі досліджували 20 культур, виділені з *D.antarctica* та *C.quitensis*, що були відібрані під час 25 Української антарктичної експедиції (січень-квітень 2020 р.) вздовж Західної частини Антарктичного півострова.

Культури вирощували на агаризованому середовищі NA (Nutrient Agar, HiMedia, Ltd.) методом виснажуючого штриха для отримання ізольованих колоній з метою перевірки чистоти культур. Всі дослідження проводили з використанням попередньо підготовлених добових культур.

Добові культури отримували в закритих мікрокосмах на рідкому розведеному середовищі 1/5 NB (Nutrient Broth, HiMedia, Ltd.), режим шейкеру 26 °C, 160 об/хв.

### 2.2 Поживні середовища, що використовували протягом дослідження

Для підтримки ізолятів використовували багаті середовища: сухий поживний агар (СПА - ), Nutrient Agar (HiMedia, Ltd.) та поживний бульйон (Nutrient Broth, HiMedia Ltd.) з додаванням триптофану, такого складу, г/л: пептичний перевар тваринної тканини - 5,00; м'ясний екстракт - 1,50; дріжджовий екстракт - 1,50; натрію хлорид - 5,00. До агаризованого середовища додавали агар-агар у кількості 15,00 г/л. Кінцеве значення рН (при 25°C)  $7,4 \pm 0,2$ . Готове середовище стерилізували автоклавуванням при 1,1 атм (121°C) протягом 15 хв.

### 2.3 Фарбування за Грамом

Визначення типу клітинної стінки проводили з використанням набору фарбування за Грамом за протоколом. Готували мазки з добових культур,

фіксували термічно над полум'ям пальника, наносили розчин кристалічного фіолетового і витримували 2-3 хв. Далі наносили розчин Люголя, витримували 2-3 хв і змивали спочатку водою, а потім проводили деколоризацію розчином етанолу. Контрастували клітини розчином фуксину. Знову промивали водою, висушували зразки та роздивлялися в полі зору оптичного мікроскопу на збільшенні  $\times 90$  з використанням імерсійної олії.

#### **2.4 Визначення таксономічного положення досліджуваних штамів бактерій**

ДНК екстрагували з нічних культур бактерій, вирощених у рідкому середовищі CASO (Merk, США) за допомогою HigherPurity™ Bacterial DNA Isolation Kit (Canvaх, Іспанія) відповідно до інструкцій виробника. Перед екстракцією клітини бактерій промивали буфером PBS і осаджували центрифугуванням. Гени 16S рРНК ампліфікували в ДНК бактеріальних культур набір 27F (5'- 94 AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) /1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT). Продукти ПЛР-ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу на 1 % агарозному гелі, а потім візуалізували в УФ-трансільюмінаторі (модель UVP GelDoc-It 310, Ultra-Violet Products Ltd., Кембридж, Великобританія). Продукти ПЛР очищали за допомогою набору GeneJet Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Baltics, Вільнюс, Литва) відповідно до інструкцій виробника та відправляли до служби секвенування (Macrogen, Нідерланди). Послідовності порівнювали з аналогічними, а їх результати опублікували в GenBank за допомогою BLAST у базі даних NCBI (Національний центр біотехнологічної інформації) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Було виявлено, що деякі бактеріальні послідовності мають відсоток гомології  $< 97\%$  з найближчими гомологами або мають схожість одночасно для кількох гомологів, що унеможливило ідентифікацію бактерій до видового рівня.

## 2.5 Кількісне визначення індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК)

Відібрані штами були використані для визначення їхньої здатності синтезувати індол-3-оцтову кислоту. Ізоляти були оцінені на предмет їхнього потенціалу продукувати бактеріальну індол-3-оцтову кислоту у присутності триптофану.

Культивування мікроорганізмів здійснювали у скляних віалах на шейкері за режиму 28°C, 160 об/хв протягом 3 діб на середовищі з триптофаном. Далі культуральну рідину центрифугували за 4000 об/хв, відбирали 1 мл супернатанта і переносили в чисті пробірки. До супернатанта додавали 2 мл реактива Салковскі та інкубували протягом 25 хв у темному місці. Зміна кольору суміші на рожевий була ознакою наявності ІОК. Кількісне визначення проводили спектрофотометрично ( $\lambda=540$  нм), концентрацію перераховували за допомогою калібрувальної кривої отриманої з різними концентраціями ІОК аналітичного класу. Далі концентрацію ІОК перераховували з урахуванням приросту біомаси кожної культури і нормалізували за значеннями 1 для OD 600 нм на спектрофотометрі.

## 2.6 Стимуляція проростання насіння (root elongation assay)

Здорове, неушкоджене насіння крес-салату (*Lepidium sativum*) стерилізували протягом 5 хвилин у 10% розчині гіпохлориту натрію (білизни), промивали стерильною дистильованою водою для видалення залишків гіпохлориту і переносили в попередньо підготовлені суспензії клітин бактерій. Для цього культури вирощували в середовищі NB 2 доби (25°C, 140 об/хв). Далі культури центрифугували (10 хв, 4000 об/хв), супернатант зливали, а клітини двічі відмивали у стерильному фізіологічному розчині. Простерилізоване насіння занурювали в суспензію клітин на 15 хв та переносили на стерильний фільтрувальний папір в чашках Петрі, що був змочений розчином з MgCl<sub>2</sub>. Як контроль використовували насіння, замочене в стерильному фізіологічному розчині без клітин. Далі насіння витримували в термостаті за 25°C протягом 7 днів. Перевірку проростання насіння контролювали кожного дня, а на 7-ий день вимірювали довжину проростків в мм.

Статистична обробка результатів. Всі дослідження виконувалися щонайменше у трикратній повторюваності. Показники стандартних відхилень і т. д. обчислювалися за загальноприйнятими формулами.

## **Висновки до розділу 2**

Було розглянуто методи дослідження мікроорганізмів, виділених з Антарктики, на здатність синтезувати фітогормони. В ході дослідження були використані бактеріальні культури, асоційовані з судинними рослинами Антарктики, а також проаналізовані їх взаємодії з рослинами.

Було досліджено 20 бактеріальних культур, виділених з рослин *D. antarctica* та *C. quitensis*, що були зібрані під час 25 Української антарктичної експедиції. Для вирощування бактерій використовували агаризоване середовище NA (Nutrient Agar). Використано метод фарбування за Грамом для попередньої класифікації бактерій на грампозитивні та грамнегативні. Після попереднього відбору були визначені види бактерій, які мають потенціал до синтезу фітогормонів, а також проведено їх детальну характеристику. Також була застосована методика кількісного визначення ІОК для підтвердження здатності мікроорганізмів синтезувати цей важливий фітогормон.

## РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 3.1 Опис та характеристика ізолятів

Ендофітні бактерії, попередньо виділені з внутрішньої частини *D. antarctica* та *C. quitensis* були перевірені на здатність синтезувати індоліл-3-оцтову кислоту, що є рослинним гормоном класу ауксинів. В роботі використовували 20 бактеріальних культур, що було виділено з різних екоотопів Антарктичного регіону. Видову приналежність бактеріальних культур, морфологічні особливості та джерело виділення представлено в Таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Видова приналежність, морфологічні особливості та джерело виділення культур**

№	Таксономічна приналежність	Морфологія колоній	Морфологія клітин	Джерело виділення
9.1	<i>Siminovitchia terrae</i>	білі, оксамитова поверхня	Палички, Гр <sup>+</sup>	Коріння <i>D. antarctica</i> , о. Лахіл
10.1	<i>Pseudomonas salomonii</i>	Світло- бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр <sup>-</sup>	<i>C. quitensis</i> , о. Лахіл
10.4	<i>Psychrobacter arcticus</i>	Рожево- бежеві, непрозорі	Палички, Гр <sup>-</sup>	<i>C. quitensis</i> , о. Лахіл
13.2	<i>Pseudomonas sp.</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр <sup>-</sup>	Коріння <i>D. antarctica</i> , о. Ронж
13.5	<i>Rahnella laticis</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр <sup>-</sup>	Коріння <i>D. antarctica</i> , о. Ронж
15.6	<i>Arthrobacter</i>	Яскраво-	Палички, Гр <sup>+</sup>	Листя

	<i>psychrochitiniphilus</i>	жовті, щільні		<i>D.antarctica</i> , о. Ронж
15.7	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Напівпрозорі	Палички, Гр-	<i>C. quitensis</i> , о.Лаготелієрі
16.7	<i>Arthrobacter</i> <i>psychrochitiniphilus</i>	блідо-жовті, напівпрозорі	Палички, Гр+	Листя <i>D.antarctica</i> , о. Ронж
23.2	<i>Agreia sp.</i>	Бежеві		
24.1	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр-	Листя <i>D.antarctica</i> , Грахам
24.3	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Жовті, напівпрозорі	Палички, Гр-	Листя <i>D.antarctica</i> , Грахам
24.4	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Напівпрозорі	Палички, Гр-	Листя <i>D.antarctica</i> , Грахам
25.2	<i>Hafnia</i> <i>psychrotolerans</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр-	Коріння <i>D.antarctica</i> , Галіндез
26.2	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр-	Листя <i>D.antarctica</i> , Галіндез
26.7	<i>Pseudarthrobacter</i> <i>sp.</i>	Молочні, опуклі	Палички, Гр+	Листя <i>D.antarctica</i> , Галіндез
39.4	<i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Бежеві, напівпрозорі	Палички, Гр-	<i>C. quitensis</i> , о.Лаготелієрі
39.7	<i>Pseudomonas</i>	Жовті, опуклі	Палички, Гр-	<i>C. quitensis</i> ,



	<i>sp.</i>			о.Лаготелієрі
39.1 2	<i>Brachybacteriu</i> <i>m sp.</i>	Жовті, пласкі	Палички, Гр <sup>+</sup>	<i>C. quitensis</i> , о.Лаготелієрі
40.1	<i>Kocuria salsicia</i>	Білі, опуклі	Коки, Гр <sup>+</sup>	Листя <i>D. antarctica</i> , о.Лаготелієрі

Серед досліджуваних культур більшість належала до порядку *Pseudomonadales* (включно з *Pseudomonas sp.*, *Hafnia sp.*, *Rahnella sp.*, *Psychrobacter sp.*) та, відповідно, мала Грам-негативну клітинну стінку. До Грам-позитивних належали всього 6 культур. Більшість досліджень показали, що мікроорганізми, які продукують синтезують ІОК, є грам-негативними. Тож пошук продуцентів ІОК серед представлених культур був обґрунтованим.

### 3.1.1 *Pseudomonas salomonii*

*Pseudomonas salomonii* є грамнегативною, аеробною бактерією, яка належить до родини *Pseudomonadaceae*. Ця бактерія характеризується значною метаболічною різноманітністю, що дозволяє їй виживати та процвітати в різних екологічних нішах, включаючи ґрунти та водні середовища. *Pseudomonas salomonii* є паличкоподібною бактерією з рухливістю, яка забезпечується одним або кількома полярними джгутіками. Ця бактерія не формує спор і зазвичай росте при температурі від 4 до 42 °С, з оптимумом біля 30-37 °С. Вона є оксидативно позитивною, що вказує на її здатність використовувати кисень як кінцевий акцептор електронів у дихальному ланцюзі [38].

*Pseudomonas salomonii* демонструє широкий спектр метаболічних можливостей. Вона здатна асимілювати різні органічні сполуки, зокрема:

1. Вуглеводи: глюкоза, фруктоза, маніт, мальтоза, ксилоза та арабіноза.
2. Органічні кислоти: оцтова кислота, лимонна кислота, молочна кислота, малонова кислота.
3. Амінокислоти: глутамат, аспарат.

*Pseudomonas salomonii* продукує різноманітні ферменти, що дозволяє їй ефективно розкладати і перетворювати різні субстрати. Деякі з ключових ферментів включають:

1. Каталаза: розкладає пероксид водню на воду та кисень, захищаючи клітини від оксидативного стресу.
2. Оксидази: беруть участь у процесах дихання.
3. Протеази: розщеплюють білки до амінокислот.
4. Ліпази: розкладають ліпіди до гліцеролу та жирних кислот.
5. Деамінази: знімають аміногрупи з амінокислот, що дозволяє використовувати їх у енергетичному обміні.

*Pseudomonas salomonii* має потенційне значення у біотехнологіях та екологічних дослідженнях. Її здатність розкладати різні забруднювачі, такі як нафтові вуглеводні, робить її перспективною для використання у біоремедіації забруднених ґрунтів та вод.

За даними у 2010-х роках спорадична хвороба часнику на Хоккайдо і Кагаві, Японія, викликала побуріння і в'янення листя, колапс надземних частин і знебарвлення оболонки цибулин і зубчиків, що відповідає опису хвороби весняної гнилі. Однак типової гнилі листків гвоздики, що лежать на зберіганні, не виявлено. З уражених тканин були виділені бактерії, які утворювали блідо-жовті колонії, і було доведено, що вони патогенні для часнику після інокуляції та реізоляції ізолятів. Грамнегативні аеробні палички з однією або двома полярними фагелами були ідентифіковані як *Pseudomonas salomonii* на основі біохімічних і фізіологічних характеристик, ПЛР-аналізу, філогенетичного аналізу та MALDI-TOF MS-аналізу. Наскільки нам відомо, це дослідження є першим повідомленням про *P. salomonii* в Японії. *P. salomonii* був вперше описаний у Франції, як збудник хвороби часнику "кафе о ляїт", яку можна розглядати як "різновид весняної гнилі, що не викликає гниття "листя при зберіганні". Тому ми розглядаємо хворобу, спричинену *P. salomonii* на Хоккайдо і Кагаві, як "хворобу весняної гнилі" [38]. В даного представника також наявний фермент аргіназа, продуцент має оксидазну активність. Цей вид засвоює основні види цукрів такі як: глюкоза, манноза, манітол

та арабінозу, Н-ацетил-глюкозамін, деканову кислоту, яблочную кислоту.

### 3.1.2 *Psychrobacter arcticus*

*Psychrobacter arcticus* є грамнегативною, неферментативною, психрофільною бактерією, відомою своєю здатністю виживати і розмножуватися в умовах екстремально низьких температур. Цей організм був ізольований з арктичного ґрунту і є одним із небагатьох відомих мікроорганізмів, здатних до метаболізму в умовах постійного холоду.

*Psychrobacter arcticus* є грамнегативною кокоподібною бактерією, яка не утворює спор. Вона не рухлива і має окисно-каталітичний метаболізм. Клітини бактерії мають кокоїдну форму, діаметром близько 0.5-1.0 мікрметрів.

Цей мікроорганізм виявляє оптимальне зростання при температурі близько 4°C, хоча здатен розмножуватися при температурі від -10°C до 20°C. *Psychrobacter arcticus* адаптований до низьких температур завдяки наявності специфічних білків, які підтримують стабільність його клітинних структур і ферментів у холодних умовах.

*Psychrobacter arcticus* продукує кілька ферментів, що функціонують за низьких температур:

1. Каталаза - фермент, який розкладає перекис водню на воду і кисень.
2. Супероксиддисмутаза - фермент, що перетворює супероксид-радикали на менш токсичні молекули, захищаючи клітини від оксидативного стресу.
3. Протеази та пептидази - ці ферменти беруть участь у деградації білків, адаптовані для роботи при низьких температурах.
4. Ліпази - ферменти, що розщеплюють ліпіди, також адаптовані до роботи в холодних умовах.

Адаптації до низьких температур:

1. Підвищений вміст ненасичених жирних кислот у мембранах, що забезпечує гнучкість і функціональність клітинної мембрани при низьких температурах.
2. Холодоактивовані білки - спеціальні білки, що допомагають запобігати денатурації інших білків і ферментів у холодних умовах.

3. Антифризні білки (АФБ) - ці білки запобігають утворенню льоду всередині клітин.

Також відомо, що о-ланцюг ЛПС *Pseudomonas aeruginosa* O7 та O9 та *Shigella boydii* типу 7, на сьогоднішній день наявність цього цукру повідомляється для декількох O-антигенів, капсульних та позаклітинних полісахаридів [39]. Переважно від патогенних грамнегативних бактерій, що вказує на його потенційну роль у взаємодії між хазяїном і бактеріями [40]. Наскільки нам відомо, це перший випадок, коли цей незвичайний цукор був знайдений, як компонент капсульного полісахариду (КПС) з адаптованого до холоду мікроорганізму. Наше відкриття свідчить про важливу роль, яку відіграють капсульні полісахариди та полісахариди середнього вивільнення відіграють у механізмах адаптації *Psychrobacter arcticus* до холоду, спонукало нас до пошуку нових полісахаридних молекул. На відміну від знахідок для КПС та ППС, ізольованих від *Colwellia psychrerythraea* 34H, аналізи теплового гістерезису не виявили активності для *P. arcticus* КПС. Відсутність активності можна пояснити відсутністю амінокислот, що прикрашають активні молекули, та відсутністю галактозних цукрів, що може негативно впливати на активність РЛПА (рекристалізація льоду інгібуюча активність). Крім того, у КПС з *P. arcticus* може виконувати захисну функцію, оскільки вона піддається більшим температурним коливанням, ніж мікроорганізми, що існують у морському льоді [41].

### 3.1.3 *Rahnella laticis*

*Rahnella* рід екологічно пов'язаних видів родини *Yersiniaceae* [42]. Протягом багатьох років *Rahnella aquatilis* була єдиним достовірно описаним видом у роді *Rahnella* [43], хоча було запропоновано два генотипи, що містять штами, які не можна було фенотипічно відрізнити від *R. aquatilis*. *R. aquatilis* вже давно визнана справді повсюдною бактерією, яка була виділена з різних джерел, як екологічних, так і клінічних. Рід *Rahnella* експоненціально розширився за останні роки з описом шести нових видів з різних екологічних ніш і виділенням двох геномних видів до рівня достовірно описаних видів.

*Rahnella laticis* належить до сімейства ентеробактерій, класу гаммапротеобактерій. Ця бактерія, вперше виділена з лактозної рідини (звідси її назва), представляє інтерес завдяки своїм метаболічним властивостям і здатності засвоювати різні органічні субстрати. *Rahnella laticis*-паличкоподібна бактерія, що володіє грамнегативною рухливістю. Її культивують на стандартних поживних середовищах, таких як живильний агар, утворює вона гладкі колонії опалового кольору при температурі 30°C. *R. laticis* проявляє високу ферментативну активність. Як джерело вуглецю та енергії він може використовувати широкий спектр вуглеводів, включаючи: глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маніт та сорбіт. *R. laticis* також метаболізує органічні кислоти, такі як лимонна, бурштинова. У цього представника виявлено широкий спектр ферментів, які беруть участь у різних метаболічних процесах: оксидоредуктаза каталаза, супероксиддисмутаза), гідролази (ліпаза, протеаза, амілаза), дегідрогеназа (лактатдегідрогеназа). Ці ферменти дозволяють їм адаптуватися до різних умов навколишнього середовища та ефективно засвоювати різні субстрати. *Rahnella laticis* рідко асоціюється з інфекційними захворюваннями, може бути частиною мікрофлори людини. Взаємодія з іншими мікроорганізмами, а також здатність до конкурентної колонізації поверхні і навколишнього середовища дали вченим можливість використовувати їх в якості пробіотики і в якості антагоністів. *Rahnella laticis* є перспективним об'єктом для подальших досліджень у галузі мікробіології та біотехнології. Широкий спектр її метаболічних функцій, ферментативна активність і екологічна пластичність роблять її перспективною для різних галузей промисловості і природоохоронних застосувань.

#### **3.1.4 *Arthrobacter psychrochitiniphilus***

Рід *Arthrobacter*, що належить до родини *Micrococcaceae*, був відкритий у 1947 році Конном і Дімміком [44]. Представники цього роду зазвичай описують, як грампозитивні облігатні аероби з типовим паличкоподібними формами. Однак вони можуть суттєво відрізнятися за своїми фенотиповими та хемотаксономічними характеристиками, такими як морфологічні особливості,

полярність ліпідних профілів, дихальні хінонові системи та пептидоглікановий склад [45].

Цікаво, що велика кількість артробактерій пристосовані до низьких температур і походять з холодних регіонів, таких як гірські льодовики або антарктичні ґрунти [46]. Завдяки цьому вони можуть слугувати джерелом холодоактивних ферментів, які є економічно привабливими для багатьох біотехнологічних застосувань

*A. psychrochitiniphilus* є грам-позитивною, рухливою паличкоподібною бактерією, яка може утворювати кокоподібні клітини під час певних стадій росту. Вона відзначається здатністю адаптуватися до низьких температур і росте при температурному діапазоні від  $-2^{\circ}\text{C}$  до  $25^{\circ}\text{C}$ , з оптимальною температурою близько  $10-15^{\circ}\text{C}$ .

*A. psychrochitiniphilus* володіє широким спектром метаболічних можливостей, що дозволяє їй виживати в екстремальних умовах: глюкоза, ксилоза, рибоза, лактоза, галактоза та маноза. Цей вид здатний до асиміляції різних органічних кислот та спиртів, що дозволяє йому ефективно використовувати наявні ресурси в холодних середовищах [47]

*Arthrobacter psychrochitiniphilus* демонструє значну ферментативну активність, включаючи наступні ферменти:

1. Психрофільні ферменти: адаптовані до функціонування при низьких температурах, такі як холодоактивні амілази та протеази.
2. Дегідрогенази: зокрема, лактатдегідрогеназа, що бере участь у розщепленні молочної кислоти.
3. Оксидоредуктази: каталаза та супероксиддисмутаза, які захищають клітини від оксидативного стресу.
4. Гідролази: хітинази та целюлази, що розкладають полісахариди, зокрема хітин.

*A. psychrochitiniphilus* займає важливе місце в холодних екосистемах, де він сприяє біодеградації органічних речовин. Його здатність розкласти хітин, важливий компонент клітинних стінок грибів і зовнішніх скелетів комах, робить його цінним для біоремедіації холодних середовищ та утилізації біовідходів [48]

Геном *A. psychrochitiniphilus* містить гени, які забезпечують його здатність до життя в екстремально холодних умовах. Це включає гени, відповідальні за синтез психрофільних ферментів, захист клітинних структур від замерзання та регуляцію метаболічних процесів при низьких температурах. Секвенування геному дозволяє ідентифікувати ці гени та досліджувати їх функціональну роль.

### 3.1.5 *Agreia sp.*

Рід *Agreia* належить до родини *Microbacteriaceae*, порядку *Micrococcales*, класу *Actinobacteria*. Ці бактерії були вперше описані відносно недавно і представлені декількома видами, включаючи *Agreia bicolorata* та *Agreia pratensis*. Вони ізольовані з різних середовищ, таких як ґрунти та рослинні матеріали. Представники роду *Agreia* є грам-позитивними, аеробними, нерухливими, паличкоподібними бактеріями. Вони утворюють характерні колонії на живильних середовищах, часто з пігментацією, наприклад, жовтуваті або кремові. Ці бактерії ростуть при температурному діапазоні від 10°C до 30°C [49]

*Agreia sp.* демонструють здатність до асиміляції різноманітних вуглеводів, що дозволяє їм виживати в різних екологічних умовах. Серед вуглеводів, які вони здатні асимілювати, відзначаються: глюкоза, ксилоза, рибоза, лактоза, галактоза та маноза. Ці бактерії також можуть використовувати органічні кислоти та спирти як джерела вуглецю. *Agreia sp.* мають широкий спектр ферментів, які забезпечують їх метаболічну гнучкість:

1. Гідролази: включаючи целюлази та хітинази, які дозволяють розкласти складні полісахариди.
2. Естерази: що розщеплюють ефіри до спиртів і кислот.
3. Дегідрогенази: такі як глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, важливі для метаболізму вуглеводів.
4. Ліпази: розщеплюють жири та ліпіди.
5. Оксидоредуктази: такі як каталаза, що захищає клітини від оксидативного стресу.

*Agreia sp.* можуть вступати в симбіотичні або асоціативні взаємодії з рослинами, сприяючи росту рослин через мінералізацію органічних речовин та виділення корисних метаболітів [50]. Вони також можуть взаємодіяти з іншими мікроорганізмами, утворюючи мікробні спільноти, що сприяють здоров'ю ґрунту.

### 3.1.6 *Hafnia psychrotolerans*

*Hafnia psychrotolerans* належить до родини *Enterobacteriaceae*, порядку *Enterobacterales*, класу *Gamma*proteobacteria. Цей вид був ідентифікований порівняно недавно і відзначається своєю здатністю рости при низьких температурах, що відображено в його назві.

*Hafnia psychrotolerans* є грам-негативною, рухливою паличкоподібною бактерією. Вона характеризується здатністю рости при температурному діапазоні від 0°C до 37°C, з оптимальним ростом при 25°C. На живильному агарі утворює гладкі, опалові колонії, часто з характерним запахом [51]

*Hafnia psychrotolerans* здатна використовувати широкий спектр вуглеводів та органічних речовин як джерела вуглецю та енергії, включаючи: глюкоза, ксилоза, рибоза, лактоза, галактоза та маноза.

*Hafnia psychrotolerans* демонструє значну ферментативну активність, включаючи наступні ферменти:

1. Бета-галактозидаза: відповідальна за розщеплення лактози на глюкозу та галактозу.
2. Протеази: розщеплюють білки до пептидів та амінокислот.
3. Ліпази: розщеплюють ліпіди на гліцерин та жирні кислоти.
4. Амілази: каталізують гідроліз крохмалю до мальтози та глюкози.
5. Уреаза: розкладає сечовину на аміак та вуглекислий газ.

Також ці бакетрії характеризуються синтезом ферменту під назвою L-метіоназа. L-метіоназа є внутрішньоклітинним ферментом у бактерій, позаклітинним ферментом у грибів і відсутній у ссавців. Штами бактерій, що продукують L-метіоназу, можна виділити за допомогою 5,5'-дитіо-біс-(2-нітробензойної кислоти) як скринінгового барвника. L-метіонін відіграє важливу роль у пухлинних



клітинах. Ці клітини стають залежними від метіоніну і врешті-решт піддаються апоптозу через обмеження метіоніну в них. L-метіонін також відіграє незамінну роль в активації та інактивації генів через гіперметилування або гіпометилування. Мембранні транспортери, такі як GLUT1, та іонні канали, такі як  $\text{Na}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  і  $\text{Cl}^{-}$ , стають надмірно експресованими. Крім того,  $\alpha$ -субодиниця АТФ-синтази відіграє певну роль у рості та розвитку ракових клітин, забезпечуючи їм підвищені потреби в поживних речовинах. В даний час селенометіонін також використовується як проліки в терапії раку разом з ферментом метіоназою, який перетворює проліки в активні токсичні хімічні речовини, що спричиняють загибель ракових клітин/тканин. Зовсім недавно в терапії раку почали використовувати злиті білки, що складаються з L-метіонази, з'єднаної з аннексином-V. Перевагою злиття білків є те, що вони мають специфічність лише до ракових клітин і не завдають шкоди нормальним клітинам [52]

*Hafnia psychrotolerans* можна знайти в різних екологічних нішах, включаючи холодні водні середовища та харчові продукти. Її здатність до адаптації при низьких температурах та асиміляції різних субстратів робить її перспективною для використання у харчовій промисловості, зокрема у ферментаційних процесах та біоконсервації продуктів.

*Hafnia psychrotolerans* може бути частиною мікробіоти тварин та людини, часто знаходячись у шлунково-кишковому тракті. Вона рідко асоціюється з патогенезом, хоча в деяких випадках може викликати опортуністичні інфекції, особливо у осіб з ослабленим імунітетом.

Геном *Hafnia psychrotolerans* містить гени, що забезпечують її здатність до життя при низьких температурах та регулюють метаболічні процеси в умовах холодного стресу. Генетичний аналіз виявляє наявність генів, відповідальних за синтез холодоактивних ферментів, механізми регуляції клітинної осмотичної рівноваги та адаптацію до оксидативного стресу [53]

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

Рід *Pseudarthrobacter* належить до родини Micrococccaceae, порядку

Actinomycetales, класу Actinobacteria. Він був виділений з роду *Arthrobacter* після перегляду філогенетичних відносин на основі аналізу 16S рРНК і ряду інших молекулярно-біологічних методів.

Представники роду *Pseudarthrobacter* є грам-позитивними, нерухливими або слабо рухливими паличкоподібними бактеріями, які можуть утворювати кокоподібні клітини в залежності від стадії росту. Вони є аеробними, каталаза-позитивними та оксидаза-негативними. Колонії, що утворюються на живильних середовищах, зазвичай гладкі, непрозорі, круглі та можуть мати різні кольори в залежності від виду.

*Pseudarthrobacter* демонструє широкий спектр метаболічних можливостей, що дозволяє йому використовувати різні джерела вуглецю та енергії. Ці бактерії можуть асимілювати такі вуглеводи: глюкоза, сахароза, мальтоза, лактоза, манітол, сорбітол та ксилоза [54]

Рід *Pseudarthrobacter* має широкий спектр ферментів, що забезпечують його метаболічну гнучкість:

1. Оксидоредуктази: каталаза, супероксиддисмутаза, що захищають клітини від оксидативного стресу.
2. Гідролази: амілази, протеази, ліпази, целюлази, що розкладають складні органічні молекули на простіші компоненти.
3. Дегідрогенази: лактатдегідрогеназа, малатдегідрогеназа, які беруть участь у циклі трикарбонових кислот і гліколізі.

*Pseudarthrobacter* знайдений в різних середовищах, включаючи ґрунт, воду, рослинні поверхні та навіть екстремальні екосистеми. Вони відіграють важливу роль у кругообігу органічних речовин, зокрема в біодеградації складних органічних сполук. Завдяки своїм ферментативним властивостям, ці бактерії мають значний біотехнологічний потенціал для використання у виробництві ферментів, біоремедіації забруднених середовищ, зокрема нафтовими вуглеводнями, та в сільському господарстві як біодобрива або біоконтрольні агенти.

*Pseudarthrobacter* може утворювати симбіотичні або антагоністичні відносини з іншими мікроорганізмами та рослинами. Вони здатні до конкуренції за поживні

речовини і можуть індукувати стійкість рослин до патогенів через продукцію антибіотичних сполук або індукцію системної резистентності.

Також дослідження [55] показали, що антарктичні ґрунти, отримані зі станції "Велика стіна", містять бактерії, здатні розкладати фенантрафен за низьких температур. Збагачені консорціями, отримані з цих ґрунтів, продемонстрували високу ефективність біодеградації фенантрени в широкому діапазоні температур і за різних рівнів доступності води.

Ефективна деградація фенантрени в холодних умовах заслуговує на увагу, особливо з огляду на проблеми пов'язані з біоремедіацією в полярних регіонах. Крім того, екологічна адаптивність консорціуму підвищує його потенційну застосовність у різноманітних антарктичних біотопах з різними екологічними умовами.

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

Бактерії роду *Brachybacterium* належать до родини *Dermabacteraceae*, порядку *Actinomycetales*. Вперше описані в 1988 році, ці бактерії є грам-позитивними, аеробними, непатогенними для людини мікроорганізмами. Клітини мають кокоподібну форму, що змінюється до паличкоподібної в процесі старіння. Розміри клітин варіюються від 0.5 до 1.5 мікрметрів у діаметрі.

*Brachybacterium* вирізняються жовтою пігментацією колоній. Вони можуть рости при температурі від 4 до 45°C, з оптимумом біля 25-30°C. Ці бактерії мають ферментативну активність, що дозволяє їм розкладати різні органічні субстрати [56]

До ферментів, присутніх у представників цього роду, належать каталаза та оксидаза. Вони також можуть синтезувати протеази, ліпази, амілази та інші гідролітичні ферменти, що дозволяють їм асимілювати різноманітні поживні речовини. *Brachybacterium* здатні асимілювати різні вуглеводні, включаючи: глюкозу, фруктозу, манозу, лактозу, мальтозу, ксилозу, сахарозу та рибозу. Окрім вуглеводів, деякі види можуть використовувати органічні кислоти та спирти як джерела вуглецю та енергії.

Метаболіти, що виробляються штамми *Brachy bacterium*, ізольованими з морського середовища, виявляють різноманітні функції, що становлять біотехнологічний інтерес у медичній та промисловій сферах, як показано нижче. Штам *Brachy bacterium*, виділений з азійського морського окуня (*Lates calcarifer*), показав продукцію екзополісахариду, що проявляє антимікробну активність проти грамозитивних та грамнегативних бактерій [57]. Більше того, штам *Brachy bacterium* YS-3, виділений з морської води в Кореї, продемонстрував, продемонстрував високу альгіцидну активність проти *Alexandrium catenella*, який, як відомо, утворює шкідливі цвітіння водоростей. Крім того, біосурфактантні властивості були виявлені у штаму *Brachy bacterium paraconglomeratum* MSA21T, виділеному з морської губки [58], а біоремедіація важких металів, таких як марганець, була описана в роботі *Brachy bacterium* sp. штам Mn32, спочатку виділений з марганцевих конкрецій у глибоководних районах Тихого океану [59]. Різноманітність метаболітів, що продукуються штамми *Brachy bacterium*, підкреслює важливість океану як резервуару бактеріальних сполук, що становлять біотехнологічний інтерес і дослідження нових штамів є надзвичайно важливим.

### 3.1.9 *Kocuria salsicia*

*Kocuria salsicia* належить до роду *Kocuria*, який є частиною родини *Micrococcaceae*. Це грамозитивні, коагулазонегативні бактерії, що не утворюють спор і є нерухомими. Клітини мають кулясту форму (коки) і зазвичай розташовуються в парах, тетрадах або нерідко в коротких ланцюжках.

*K. salsicia* була виділена з зразків м'ясної продукції, особливо сиров'ялених ковбас. Це вказує на її здатність до виживання та адаптації в умовах високої солоності та інших стресових факторів, характерних для таких середовищ [60].

*K. salsicia* проявляє широкий спектр ферментативної активності, що включає виробництво наступних ферментів:

1. Каталаза: позитивна реакція, що свідчить про наявність каталази, ферменту, який розкладає пероксид водню на воду та кисень.
2. Уреаза: *K. salsicia* здатна гідролізувати сечовину до аміаку та вуглекислого

газу, що підтверджується позитивною реакцією на уреазний тест.

3. Дезаміназа: ця бактерія також продукує дезамінази, які беруть участь у знятті аміногрупи з амінокислот, що важливо для метаболізму азоту.

*Kocuria salsicia* характеризується здатністю асимілювати різні вуглеводні. До основних вуглеводів, які вона здатна метаболізувати, належать: глюкоза, лактоза, манітол.

*K. salsicia* є оксидазонегативною, але позитивною на нітратредуктазу, що свідчить про її здатність до редукції нітратів до нітритів. Вона не здатна до виробництва індолу з триптофану, що підтверджується негативною реакцією на тест з індолом.

Виділення *Kocuria salsicia* з м'ясної продукції, зокрема ковбас, вказує на її можливу роль в дозріванні та розвитку органолептичних властивостей цих продуктів. Її здатність до виживання в солоному середовищі та асиміляції різних вуглеводів може бути корисною для біотехнологічних процесів у харчовій промисловості.

Попередні дослідження вказують на те, що *K. salsicia* може бути резистентною до деяких антибіотиків, включаючи пеніцилін і метицилін, що потребує додаткових досліджень для оцінки її ролі як потенційного патогена [61].

Було показано, що досліджувані штами здатні синтезувати ІОК в різних концентраціях (Табл. 3.2).

Таблиця 3.2

### Здатність синтезувати ІОК ендofітними бактеріями

№ штаму	Концентрація ІОК, мкг/мл	OD600, од.опт.густ	Концентрація ІОК при нормалізації OD600, мкг/мл
15.6	40±5	1,12	35,7±3
15.7	145±4	0,15	966,70±12

25.2	680±12	1,25	544±7
26.7	60±5	1,33	46,1±2
39.4	124±5	0,34	365,85±8
40.1	40±5	1,88	21,3±2

Дані Таблиці 3.2 демонструють значну варіабельність у здатності різних ендofітних бактеріальних штамів синтезувати ІОК. Найбільш перспективними для практичного застосування є штами 15.7, 25.2 та 39.4, які демонструють найвищі рівні продукції ІОК, як абсолютної, так і нормалізованої до густини культури. Висока концентрація ІОК, що синтезується цими бактеріями, вказує на їх значний потенціал для використання в сільському господарстві як біостимуляторів росту рослин. Подальші дослідження можуть бути зосереджені на вивченні механізмів дії цих штамів, а також на визначенні оптимальних умов їх застосування для стимуляції проростання та росту різних культур.

Результати показують, що різні штами ендofітних бактерій продукують ІОК в різних концентраціях. Найвищу концентрацію ІОК ( $680 \pm 12$  мкг/мл) синтезував штам 25.2, також високу активність показав штам 15.7, який синтезував ІОК на рівні  $145 \pm 4$ , тоді як штами 15.6 і 40.1 продукували ІОК на рівні  $40 \pm 5$  мкг/мл. Важливо зазначити, що концентрація ІОК при нормалізації до оптичної густини (OD600) також відрізняється між штамми. Наприклад, штам 25.2 має нормалізовану концентрацію ІОК  $544 \pm 7$  мкг/мл, що свідчить про його високу активність навіть після врахування густини культури.

Штам 15.6: Виявив здатність до синтезу ІОК на рівні  $40 \pm 5$  мкг/мл при OD600 = 1.12, що дає нормалізовану концентрацію  $357 \pm 3$  мкг/мл. Це свідчить про помірну активність в умовах експерименту.

Штам 15.7: Демонструє високу активність, продукуючи  $145 \pm 4$  мкг/мл ІОК при OD600 = 0.15, що дає дуже високу нормалізовану концентрацію  $96670 \pm 12$  мкг/мл.

Це вказує на значну ефективність у виробництві ІОК, що може мати важливі практичні застосування.

Штам 25.2: Відзначається як найбільш активний у виробництві ІОК з концентрацією  $680 \pm 12$  мкг/мл при  $OD_{600} = 1.25$ . Його нормалізована концентрація ІОК становить  $544 \pm 7$  мкг/мл, що підкреслює його потенціал як потужного стимулятора росту рослин.

Штам 26.7: Має середню активність з виробництвом ІОК на рівні  $60 \pm 5$  мкг/мл при  $OD_{600} = 1.33$  і нормалізованою концентрацією  $461 \pm 2$  мкг/мл.

Штам 39.4: Продукує  $124 \pm 5$  мкг/мл ІОК при  $OD_{600} = 0.34$ , що дає нормалізовану концентрацію  $36585 \pm 8$  мкг/мл. Це також свідчить про його високу ефективність у синтезі ІОК.

Штам 40.1: Має найнижчий рівень продукції ІОК ( $40 \pm 5$  мкг/мл) при  $OD_{600} = 1.88$ , що дає нормалізовану концентрацію  $213 \pm 2$  мкг/мл.

### **3.2 Вплив бактеріальних культур на проростання насіння модельних рослин**

Ріст-стимулювальні бактерії-продуценти ІОК відіграють фундаментальну роль у регуляції росту та розвитку рослин. Проростання насіння – це критичний етап у життєвому циклі рослини, який знаменує собою початок її надземного розвитку. ІОК відіграє ключову роль у цьому процесі, стимулюючи декілька важливих етапів, таких як розрив насінневої оболонки, активація ферментів, ріст коренів та стебла. В цих процесах ІОК сприяє розм'якшенню та розриву насінневої оболонки, дозволяючи зародку пробитися назовні, а також стимулює вироблення та активність ферментів, які розщеплюють запасні поживні речовини в насінні, забезпечуючи енергію та будівельні блоки для росту зародка. Крім того, ауксини відіграють важливу роль у розвитку кореневої системи, стимулюючи ріст та розгалуження коренів, що забезпечує рослину водою та мінеральними поживними речовинами, а також стимулює подовження та випрямлення стебла, що дозволяє рослині досягти сонячного світла.

Вплив ІОК на проростання насіння може варіюватися залежно від виду рослини,

умов навколишнього середовища та концентрації ІОК. Дослідження показали, що екзогенне застосування ІОК може значно стимулювати проростання насіння в деяких рослинах, а також покращити ріст та розвиток молодих рослин.

Цікавою особливістю праймування насіння рослин клітинами бактерій-суперпродуцентів ІОК може бути супресія проростання насіння замість стимуляції через надмірний синтезу ауксинів.

Таблиця 3.3

**Вплив праймування клітинами ріст-стимулювальних бактерій на проростання насіння**

№ штаму	Кількість пророслих насінин, %		Загальна довжина пророслих насінин, мм	
	1	2	1	2
9.1	50	40	12±6,16	3,5±3,67
10.1	30	45	7,5±3,05	9,0±3,78
10.4	35	45	6,5±1,92	8,0±2,07
15.6	55	30	8,0±2,19	9,0±3,11
16.7	30	40	9,5±2,39	9,5±3,81
23.2	40	30	10,0±2,70	7,5±3,36
24.4	35	20	9,5±3,76	3,0±3,69
25.2	15	25	6,0±1,15	4,0±1,14
26.2	0	0	-	-
26.7	0	20	-	3,0±1,91
40.1	25	60	3,0±3,28	10,0±1,64
Контр оль	30	25	8±5,12	3±0,83

Примітка: 1, 2 – повторюваності експерименту в чашках Петрі. Загальна кількість насінин в кожній чашці складала 20 шт (10×2 повторюваності).

Дані таблиці 3.3 демонструють значний потенціал використання ріст-стимулювальних бактерій для покращення проростання та початкового росту



насіння. Вплив різних штамів варіюється, що підкреслює необхідність у подальших дослідженнях для визначення найбільш ефективних бактеріальних культур. Найбільш перспективними з точки зору підвищення як кількості проростання, так і довжини проростків є штами 16.7, 23.2, та 40.1. Однак, необхідно враховувати можливі коливання між повторюваностями та досліджувати додаткові фактори, які можуть впливати на ефективність праймування.

### **3.2.1 Кількість пророслих насінин**

Загалом, штами бактерій демонструють значний вплив на кількість пророслих насінин, яка коливається від 0% до 60% у різних експериментальних групах. Максимальна кількість пророслих насінин (60%) спостерігається у групі, праймованій штамом 40.1 у другому повторі. Деякі штами, такі як 26.2 та 26.7, показали низькі або нульові значення проростання, що свідчить про їх неефективність або навіть негативний вплив на цей процес.

### **3.2.2 Загальна довжина пророслих насінин**

Довжина пророслих насінин варіюється значно, з найнижчими показниками для контролю (3.083 мм) і найвищими для штаму 40.1 (100 мм у другому повторі). Більшість штамів показують покращення росту порівняно з контролем, що свідчить про позитивний вплив ріст-стимулювальних бактерій. Наприклад, штами 16.7, 23.2, і 40.1 демонструють значне збільшення довжини пророслих насінин у порівнянні з контролем, що свідчить про їх високу ефективність у стимуляції росту.

Деякі штами показують значні коливання між повторюваностями, що може свідчити про нестабільність ефекту або вплив зовнішніх факторів. Наприклад, штаму 40.1 у повторі 1 показав 25% проростання, тоді як у другому повторі цей показник становив 60%. Подібні коливання спостерігаються і в інших штамів, що підкреслює необхідність додаткових досліджень для стабілізації результатів. Штами 16.7 і 23.2 демонстрували стабільно високі показники як у кількості пророслих насінин, так і в їх довжині, що робить їх перспективними кандидатами для подальшого вивчення і застосування в агротехнологіях. Штам 10.1 також

показав значне збільшення довжини пророслих насінин, хоча і з меншими показниками проростання.

### Висновки до розділу 3

Описані та охарактеризовані кілька штамів мікроорганізмів, включаючи *Pseudomonas salomonii*, *Psychrobacter arcticus*, *Rahnella laticis*, *Arthrobacter psychrochitiniphilus*, *Agreia sp.*, *Hafnia psychrotolerans*, *Pseudarthrobacter*, *Brachy bacterium sp.*, та *Kocuria salsicia*. Ізоляти були піддані тестуванню на здатність до синтезу індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), а також на їх вплив на проростання насіння.

Виявлено значну варіабельність у здатності різних штамів синтезувати ІОК. Найбільш перспективними для практичного застосування виявилися штами 15.7, 25.2 та 39.4, які демонстрували найвищі рівні продукції ІОК.

Штами 16.7 і 23.2 показали стабільно високі показники як у кількості пророслих насінин, так і в їх довжині, що робить їх перспективними кандидатами для подальшого вивчення і застосування в агротехнологіях.

Штам 10.1 також продемонстрував значне збільшення довжини пророслих насінин, хоча і з меншими показниками проростання.

Деякі штами показали значні коливання між повторюваностями експерименту, що може свідчити про нестабільність ефекту або вплив зовнішніх факторів. Це підкреслює необхідність додаткових досліджень для стабілізації результатів.

Дані експерименту свідчать про високий потенціал використання ріст-стимулювальних бактерій для покращення проростання та початкового росту рослин. Штами 16.7, 23.2 та 40.1 демонструють значне збільшення довжини пророслих насінин у порівнянні з контролем. Висока концентрація ІОК, що синтезується найбільш перспективними штамми, вказує на їх значний потенціал для використання в сільському господарстві як біостимуляторів росту рослин.

Показано, що деякі ізоляти мікроорганізмів з Антарктиди мають високий потенціал для використання в якості біостимуляторів у сільському господарстві. Подальші дослідження можуть бути зосереджені на вивченні механізмів дії цих

штамів та визначенні оптимальних умов їх застосування для стимуляції проростання та росту різних культур.

## ВИСНОВКИ

1. Було проведено скринінг мікроорганізмів, виділених з антарктичних зразків ґрунту, ідентифіковано кілька видів, які мають потенціал до синтезу фітогормонів. До них належать *Pseudomonas salomonii*, *Psychrobacter arcticus*, *Rahnella laticis*, *Arthrobacter psychrochitiniphilus*, *Agreia* sp., *Hafnia psychrotolerans*, *Pseudarthrobacter* та *Brachybacterium* sp..

2. Досліджено здатність відібраних мікроорганізмів до синтезу ІОК. Виявлено, що деякі ізоляти мають високий потенціал до синтезу ауксинів, що позитивно впливає на ріст і розвиток рослин.

3. Проведено експериментальні дослідження впливу мікроорганізмів на проростання насіння модельних рослин. Виявлено, що обрані штами значно підвищують кількість пророслих насінин, збільшують їх загальну довжину та покращують ріст.

4. Окрім здатності до синтезу фітогормонів, дослідження висвітлюють важливі агрономічні властивості цих штамів, такі як біологічна фіксація азоту, солубілізація фосфатів, калію та цинку, а також виробництво антибіотиків та літичних ферментів, що сприяють захисту рослин від патогенів.

5. Подальші дослідження можуть бути зосереджені на вивченні механізмів дії цих штамів та визначенні оптимальних умов їх застосування для стимуляції проростання та росту різних культур. Особлива увага має бути приділена стабілізації результатів та мінімізації впливу зовнішніх факторів на ефективність мікроорганізмів.

6. Виявлено коливання між повторюваностями експериментів, що може свідчити про нестабільність ефекту або вплив зовнішніх факторів. Це підкреслює необхідність додаткових досліджень для стабілізації результатів та забезпечення надійності використання мікроорганізмів як біостимуляторів у сільському господарстві.

7. Рекомендується впровадження перспективних штамів мікроорганізмів у сільськогосподарську практику як біостимуляторів росту рослин, що може значно

підвищити врожайність та покращити якість продукції. Також необхідно продовжити дослідження в напрямку оптимізації умов використання цих мікроорганізмів для досягнення максимальної ефективності.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome / D. S. Lundberg et al. *Nature*. 2012. Vol. 488, no. 7409. P. 86–90. URL: <https://doi.org/10.1038/nature11237> (date of access: 06.06.2024).
2. Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on corn growth under drought stress / Y. Lin et al. *Communications in soil science and plant analysis*. 2019. Vol. 51, no. 2. P. 250–264. URL: <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1705329> (date of access: 06.06.2024).
3. Biofertiliser production for agronomic application and evaluation of its symbiotic effectiveness in soybeans / A. Z. Htwe et al. *Agronomy*. 2019. Vol. 9, no. 4. P. 162. URL: <https://doi.org/10.3390/agronomy9040162> (date of access: 06.06.2024)
4. Enhancement of soybean nodulation by seed treatment with non-thermal plasmas / M. C. Pérez-Pizá et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61913-3> (date of access: 06.06.2024).
5. Effective solubilization of rock phosphate by a phosphate-tolerant bacterium *Serratia* sp. / S. Guo et al. *Geomicrobiology journal*. 2021. Vol. 38, no. 7. P. 561–569. URL: <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.1903623> (date of access: 06.06.2024).
6. Chen Q., Liu S. Identification and characterization of the phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea* sp. S32 in reclamation soil in Shanxi, China. *Frontiers in microbiology*. 2019. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02171> (date of access: 06.06.2024).
7. Enhanced biodegradation of atrazine by *Arthrobacter* sp. DNS10 during co-culture with a phosphorus solubilizing bacterium: *Enterobacter* sp. P1 / Z. Jiang et al. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2019. Vol. 172. P. 159–166. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.070> (date of access: 06.06.2024).
8. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture / M. Billah et al. *Geomicrobiology journal*. 2019. Vol. 36, no. 10. P.

904–916. URL: <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043> (date of access: 06.06.2024).

9. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses / G. Kudoyarova et al. *Frontiers in plant science*. 2019. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01368> (date of access: 06.06.2024).

10. Zhao L., Zhang Y.-q. Effects of phosphate solubilization and phytohormone production of *Trichoderma asperellum* Q1 on promoting cucumber growth under salt stress. *Journal of integrative agriculture*. 2015. Vol. 14, no. 8. P. 1588–1597. URL: [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(14\)60966-7](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(14)60966-7) (date of access: 06.06.2024).

11. Halotolerant potassium solubilizing plant growth promoting rhizobacteria may improve potassium availability under saline conditions / M. Ashfaq et al. *Environmental monitoring and assessment*. 2020. Vol. 192, no. 11. URL: <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08655-x> (date of access: 06.06.2024).

12. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture / M. Billah et al. *Geomicrobiology journal*. 2019. Vol. 36, no. 10. P. 904–916. URL: <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043> (date of access: 06.06.2024).

13. Promotion of growth and metal accumulation of alfalfa by coinoculation with *Sinorhizobium* and *Agrobacterium* under copper and zinc stress / L. Jian et al. *PeerJ*. 2019. Vol. 7. P. e6875. URL: <https://doi.org/10.7717/peerj.6875> (date of access: 06.06.2024).

14. Gill A., Patranabis S. Phytohormones as potential anticancer agents. *International journal for research in applied sciences and biotechnology*. 2021. Vol. 8, no. 3. URL: <https://doi.org/10.31033/ijrasb.8.3.7> (date of access: 06.06.2024).

15. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses / G. Kudoyarova et al. *Frontiers*

*in plant science*. 2019. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01368> (date of access: 06.06.2024).

16. Ferreira M. J., Silva H., Cunha A. Siderophore-Producing rhizobacteria as a promising tool for empowering plants to cope with iron limitation in saline soils: a review. *Pedosphere*. 2019. Vol. 29, no. 4. P. 409–420. URL: [https://doi.org/10.1016/s1002-0160\(19\)60810-6](https://doi.org/10.1016/s1002-0160(19)60810-6) (date of access: 06.06.2024).

17. Unraveling diverse survival strategies of microorganisms to vanadium stress in aquatic environments / S. Wang et al. *Water research*. 2022. Vol. 221. P. 118813. URL: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118813> (date of access: 06.06.2024).

18. Imran Q. M., Yun B.-W. Pathogen-induced defense strategies in plants. *Journal of crop science and biotechnology*. 2020. Vol. 23, no. 2. P. 97–105. URL: <https://doi.org/10.1007/s12892-019-0352-0> (date of access: 06.06.2024).

19. Characterization of the bacteriocins and the PrtR regulator in a plant-associated *Pseudomonas* strain / M. Fernandez et al. *Journal of biotechnology*. 2020. Vol. 307. P. 182–192. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.11.003> (date of access: 06.06.2024).

20. Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC- deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress / Amna et al. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2019. Vol. 183. P. 109466. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109466> (date of access: 06.06.2024).

21. Biocontrol efficiency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric / C. Chenniappan et al. *Biological control*. 2019. Vol. 129. P. 55–64. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.002> (date of access: 06.06.2024).

22. Biocontrol potential of *Pseudomonas azotoformans*, *Serratia marcescens* and *Trichoderma virens* against *Fusarium* wilt of *Dalbergia sissoo* / S. Banerjee et al. *Forest pathology*. 2020. Vol. 50, no. 2. P. e12581. URL: <https://doi.org/10.1111/efp.12581> (date of access: 06.06.2024).



23. Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India / C. Bhattacharyya et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72439-z> (date of access: 06.06.2024).

24. Roles of phytohormones and their signaling pathways in leaf development and stress responses / B. Zhao et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2021. Vol. 69, no. 12. P. 3566–3584. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07908> (date of access: 06.06.2024).

25. Gomes G. L. B., Scortecci K. C. Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant biology*. 2021. URL: <https://doi.org/10.1111/plb.13303> (date of access: 06.06.2024).

26. Auxins and cytokinins in plant development ... and interactions with other phytohormones 2014 / R. Vaňková et al. *Journal of plant growth regulation*. 2014. Vol. 33, no. 3. P. 709–714. URL: <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9449-6> (date of access: 06.06.2024).

27. Bürger M., Chory J. The many models of strigolactone signaling. *Trends in plant science*. 2020. Vol. 25, no. 4. P. 395–405. URL: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.12.009> (date of access: 06.06.2024).

28. The effect of growth regulating substances giberelin on the growth of cucumber (*cucumis sativus*) / W. Iskandaria et al. *Jurnal biologi tropis*. 2023. Vol. 23, no. 1. P. 269–272. URL: <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i1.4603> (date of access: 06.06.2024).

29. The effects of brassinosteroids on nitrogen utilization in rice / W. Yang et al. *Agronomy*. 2024. Vol. 14, no. 3. P. 604. URL: <https://doi.org/10.3390/agronomy14030604> (date of access: 06.06.2024).

30. Binder B. M. Ethylene signaling in plants. *Journal of biological chemistry*. 2020. Vol. 295, no. 22. P. 7710–7725. URL: <https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.010854> (date of access: 06.06.2024).

31. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants / K. Chen et al. *Journal of integrative plant biology*. 2020. Vol. 62, no. 1. P. 25–54. URL: <https://doi.org/10.1111/jipb.12899> (date of access: 06.06.2024).
32. Lefevre H., Bauters L., Gheysen G. Salicylic acid biosynthesis in plants. *Frontiers in plant science*. 2020. Vol. 11. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00338> (date of access: 06.06.2024).
33. In vitro plant regeneration in conifers: the role of WOX and KNOX gene families / N. Bueno et al. *Genes*. 2021. Vol. 12, no. 3. P. 438. URL: <https://doi.org/10.3390/genes12030438> (date of access: 06.06.2024).
34. Jha P., Ochatt S. J., Kumar V. WUSCHEL: a master regulator in plant growth signaling. *Plant cell reports*. 2020. Vol. 39, no. 4. P. 431–444. URL: <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02511-5> (date of access: 06.06.2024).
35. Hirakawa Y. CLAVATA3, a plant peptide controlling stem cell fate in the meristem. *Peptides*. 2021. Vol. 142. P. 170579. URL: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170579> (date of access: 06.06.2024).
36. BRANCHED1: a key hub of shoot branching / M. Wang et al. *Frontiers in plant science*. 2019. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00076> (date of access: 06.06.2024).
37. The WUSCHEL-related homeobox transcription factor OsWOX4 controls the primary root elongation by activating OsAUX1 in rice / R. Chen et al. *Plant science*. 2020. Vol. 298. P. 110575. URL: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110575> (date of access: 06.06.2024).
38. *Pseudomonas salomonii*, another causal agent of garlic spring rot in Japan / H. Sawada et al. *Journal of general plant pathology*. 2020. Vol. 86, no. 3. P. 180–192. URL: <https://doi.org/10.1007/s10327-020-00909-3> (date of access: 06.06.2024).
39. The O-antigen of *Plesiomonas shigelloides* serotype O36 containing pseudaminic acid / M. Kaszowska et al. *Carbohydrate research*. 2016. Vol. 434. P. 1–5. URL: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2016.07.007> (date of access: 06.06.2024).

40. Zunk M., Kiefel M. J. The occurrence and biological significance of the  $\alpha$ -keto-sugars pseudaminic acid and legionaminic acid within pathogenic bacteria. *RSC Adv.* 2014. T. 4, № 7. С. 3413–3421. URL: <https://doi.org/10.1039/c3ra44924f> (дата звернення: 06.06.2024).

41. Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater / C. Caruso et al. *Antarctic science.* 2019. Vol. 31, no. 2. P. 69–79. URL: <https://doi.org/10.1017/s0954102018000482> (date of access: 06.06.2024).

42. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘enterobacteriales’: proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families enterobacteriaceae, erwiniaceae fam. nov., pectobacteriaceae fam. nov., yersiniaceae fam. nov., hafniaceae fam. nov., morganellaceae fam. nov., and budviciaceae fam. nov. / M. Adeolu et al. *International journal of systematic and evolutionary microbiology.* 2016. Vol. 66, no. 12. P. 5575–5599. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485> (date of access: 06.06.2024).

43. *Jejubacter calystegiae* gen. nov., sp. nov., moderately halophilic, a new member of the family Enterobacteriaceae, isolated from beach morning glory / L. Jiang et al. *Journal of microbiology.* 2020. Vol. 58, no. 5. P. 357–366. URL: <https://doi.org/10.1007/s12275-020-9294-1> (date of access: 06.06.2024).

44. Conn H. J., Dimmick I. Soil bacteria similar in morphology to mycobacterium and corynebacterium1. *Journal of bacteriology.* 1947. Vol. 54, no. 3. P. 291–303. URL: <https://doi.org/10.1128/jb.54.3.291-303.1947> (date of access: 06.06.2024).

45. *Arthrobacter polaris* sp. nov., a new cold-adapted member of the family Micrococcaceae isolated from Antarctic fellfield soil / P. Vodickova et al. *International journal of systematic and evolutionary microbiology.* 2022. Vol. 72, no. 10. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005541> (date of access: 06.06.2024).

46. Biochemical and phylogenetic analyses of psychrophilic isolates belonging to the arthrobacter subgroup and description of *arthrobacter psychrolactophilus*, sp. nov. / J. Loveland-Curtze et al. *Archives of microbiology.* 1999. Vol. 171, no.

6. P. 355–363. URL: <https://doi.org/10.1007/s002030050722> (date of access: 06.06.2024).

47. *Arthrobacter paludis* sp. nov., isolated from a marsh / Q. Zhang et al. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2018. Vol. 68, no. 1. P. 47–51. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002426> (date of access: 06.06.2024).

48. *Arthrobacter paludis* sp. nov., isolated from a marsh / Q. Zhang et al. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2018. Vol. 68, no. 1. P. 47–51. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002426> (date of access: 06.06.2024).

49. *Lasiodiplodia mitidjana* sp. nov. and other Botryosphaeriaceae species causing branch canker and dieback of *Citrus sinensis* in Algeria / A. Berraf-Tebbal et al. *Plos one*. 2020. Vol. 15, no. 5. P. e0232448. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232448> (date of access: 06.06.2024).

50. Purification and characterization of cycloisomaltotetraose-forming glucanotransferases from *Agreia* sp. D1110 and microbacterium *trichothecenolyticum* D2006 / A. Fujita et al. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2021. Vol. 85, no. 3. P. 600–610. URL: <https://doi.org/10.1093/bbb/zbaa093> (date of access: 06.06.2024).

51. Alshehri W. A. Bacterium *Hafnia alvei* secretes l-methioninase enzyme: optimization of the enzyme secretion conditions. *Saudi journal of biological sciences*. 2020. Vol. 27, no. 5. P. 1222–1227. URL: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.02.008> (date of access: 06.06.2024).

52. Sharma B., Singh S., Kanwar S. S. L-Methionase: a therapeutic enzyme to treat malignancies. *BioMed research international*. 2014. Vol. 2014. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.1155/2014/506287> (date of access: 06.06.2024).

53. Alshehri W. A. Bacterium *Hafnia alvei* secretes l-methioninase enzyme: optimization of the enzyme secretion conditions. *Saudi journal of biological sciences*. 2020. Vol. 27, no. 5. P. 1222–1227. URL: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.02.008> (date of access: 06.06.2024).

54. *Pseudomonas* and *Pseudarthrobacter* are the key players in synergistic phenanthrene biodegradation at low temperatures / K. Naloka et al. *Scientific reports*. 2024. Vol. 14, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62829-y> (date of access: 06.06.2024).

55. Sources and composition of chemical pollution in Maritime Antarctica (King George Island), part 1: Sediment and water analysis for PAH sources evaluation in the vicinity of Arctowski station / J. Potapowicz et al. *Chemosphere*. 2022. Vol. 288. P. 132637. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132637> (date of access: 06.06.2024).

56. *Brachybacterium atlanticum* sp. nov., a novel marine bacterium isolated from the Atlantic Ocean / I. de Castro et al. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2023. Vol. 73, no. 8. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005959> (date of access: 06.06.2024).

57. Kim Y. S., Son H.-J., Jeong S.-Y. Isolation of an algicide from a marine bacterium and its effects against the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* and other harmful algal bloom species. *Journal of microbiology*. 2015. Vol. 53, no. 8. P. 511–517. URL: <https://doi.org/10.1007/s12275-015-5303-1> (date of access: 06.06.2024).

58. Production of glycolipid biosurfactant from sponge-associated marine actinobacterium *brachybacterium paraconglomeratum* MSA21 / G. S. Kiran et al. *Journal of surfactants and detergents*. 2014. Vol. 17, no. 3. P. 531–542. URL: <https://doi.org/10.1007/s11743-014-1564-7> (date of access: 06.06.2024).

59. Removal of multi-heavy metals using biogenic manganese oxides generated by a deep-sea sedimentary bacterium – *brachybacterium* sp. strain mn32 / W. Wang et al. *Microbiology*. 2009. Vol. 155, no. 6. P. 1989–1996. URL: <https://doi.org/10.1099/mic.0.024141-0> (date of access: 06.06.2024).

60. Drug sensitivity and clinical impact of members of the genus *Kocuria* / V. Savini et al. *Journal of medical microbiology*. 2010. Vol. 59, no. 12. P. 1395–1402. URL: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.021709-0> (date of access: 06.06.2024).

61. Youn H.-Y., Seo K.-H. Isolation and characterization of halophilic *Kocuria* *salsicia* strains from cheese brine. *Food science of animal resources*. 2022. Vol. 42, no. 2. P. 252–265. URL: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2022.e1> (date of access: 06.06.2024).

## ДОДАТКИ



**Кіка Л.С., Саблій Л.А. ВПЛИВ АНТИБІОТИКІВ НА НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ .... 99**

**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**