

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Шевчук Надія Володимирівна

УДК 579.64:579.852.1:577.21:631.452

ДИСЕРТАЦІЯ

**ФІЗІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ І ВПЛИВ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ НА
СИМБІОЗ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* – *GLYCINE MAX***

091 – Біологія та біохімія

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Шевчук Н.В.

Науковий керівник: Іутинська Галина Олександрівна, докторка біологічних наук,
професорка, членкиня-кореспондентка НАН України



Київ – 2026

АНОТАЦІЯ

Шевчук Н.В. Фізіологічна активність і вплив ендоефітних бактерій на симбіоз *Bradyrhizobium japonicum* – *Glycine max.* – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія». – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, 2026 р.

Дисертаційну роботу присвячено дослідженню фізіологічних та функціональних властивостей нових ендоефітних штамів, виділених з поверхнево стерилізованих бульбочок сої.

Пов'язані з рослинами мікроорганізми, зокрема, ризосферні та ендоефітні бактерії, здатні колонізувати фітосферу, синтезувати метаболіти, які стимулюють ріст культурних рослин, сприяють підвищенню їх стресостійкості та продуктивності. У зв'язку з цим зростає інтерес до бактерій-ендоефітів, їх ролі у формуванні ефективних рослинно-мікробних систем із наданням їм додаткових адаптивних функцій і стабільності. Надзвичайно актуальним є створення новітніх біопрепаратів на основі ендоефітних бактерій з підвищеними стресопротекторними властивостями і екологічною пластичністю для сталого розвитку рослинництва. Ендоефітні бактерії мають стійкі мутуалістичні взаємовідносини з рослинами, проте їх дія у комплексі з ризобіальними бактеріями мало досліджена.

Наукова новизна роботи полягає у вивченні властивостей нововиділених ендоефітних штамів та встановленні їх впливу на симбіотичну систему «ризобіальні бактерії – соя». Показано, що досліджувані ендоефітні бактерії були стійкими до більшості сучасних фунгіцидних та інсектицидних препаратів, за застосування їх у дозах, рекомендованих виробником. Це робить можливим сумісне використання даних пестицидів з ендоефітними та ризобіальними бактеріями за умов масового поширення шкідників та фітопатогенів.

Досліджувані ендоефітні штами *Bacillus* sp. 4, *Bacillus* sp. 5 та *Pseudomonas* sp. 6 були здатними рости за впливу супраоптимальних температур

у діапазоні 20°C - 42°C, що свідчить про їх стійкість до температурних коливань за використання як інокулянтів у різних кліматичних зонах.

У експериментах *in vivo* та *ex vivo* було виявлено значний біоконтролюючий потенціал ендofітних штамів проти як бактеріальних, так і грибних фітопатогенів. Штами *Ochrobactrum* sp. 2 та *Paenibacillus* sp. 3 інгібували ріст патогенів бобових культур – *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1066 та УКМ В-1065, а *Bacillus* sp. 5 – *X. axonopodis* pv. *glycines* УКМ В-1162. Найсильніші антагоністичні властивості проти *X. vesicatoria* 7790 проявили штами *Ochrobactrum* sp. 2 та *Pseudomonas* sp. 6, а проти *X. cucurbitae* УКМ В-1063 – *Paenibacillus* sp. 3. Ріст *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ – збудника раку томатів або хвороб томатів найефективніше пригнічував *Ochrobactrum* sp. 2. Отже, незважаючи на те, що досліджувані штами були виділені із бульбочок сої, вони проявляли антагонізм до патогенів як бобових, так і овочевих культур, що підкреслює їх потенціал як агентів біоконтролю для різних агрокультур.

Окрім цього, ендofітні штами проявляли антагонізм і до патогенних мікроміцетів, інгібуючи проростання спор та спричиняючи зміни у морфології їх міцелію. Найвищу інгібуючу активність щодо *Alternaria alternata* 150721 проявили супернатанти штамів *Bacillus* sp. 4 та *Pseudomonas* sp. 6, а щодо *Fusarium oxysporum* 080721 – *Ochrobactrum* sp. 2 та *Paenibacillus* sp. 3.

У дослідженнях *ex vivo* була підтверджена ефективність ендofітних бактерій проти фітопатогенних мікроміцетів. Застосування ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння за штучного зараження фітопатогенами *A. alternata* 150721 та *F. oxysporum* 080721 сприяло значному зменшенню площ ураження листкових пластин. У той же час, додаткове обприскування вегетуючих рослин супернатантами ендofітів забезпечило захисний ефект проти мікозів на рівні 81,2% - 95,9%.

Одним із поширених механізмів бактеріального біоконтролю є синтез сидерофорів. У наших дослідженнях було підтверджено, що усі ендofітні штами продукували сидерофори гідроксаматного типу, а штами *Paenibacillus* sp. 3 ,

Bacillus sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 синтезували також і катехолатні типи. За кількісного визначення продукції сидерофорів ендоефітними штамами було встановлено, що найактивнішими продуцентами були *Paenibacillus* sp. 1 (75,9%), *Bacillus* sp. 4 (57,7%) та *Pseudomonas* sp. 6 (78,3%).

За комплексом морфологічних ознак, фізіолого-біохімічних властивостей, результатами повногеномного секвенування та філогенетичного аналізу активні ендоефітні ізоляти *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 було ідентифіковано як *Bacillus velezensis* IMB B-8134 та B-8135 та задепоновано у DDBJ/ENA/GenBank за номерами GCA_051550635.1 та GCA_052976605.1 відповідно. Анотація геномів даних штамів та аналіз біосинтетичних генних кластерів продемонстрували значний біотехнологічний потенціал. Було виявлено гени, відповідальні за синтез антибіотичних сполук (бацилізину, макролактину, бацилаєну, фенгіцину, дифіцидину) та сидерофорів (бацилібактину). Відсутність закодованих генів токсинів та суперантигенів свідчить про їх непатогенність. Це було підтверджено у дослідях *in vivo* (токсиколого-гігієнічний висновок додається). Обидва штами були чутливими до більшості протестованих антибіотичних сполук (аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів, глікопептидів, тетрациклінів, цефалоспоринів, амфеніколів, та карбапенемів), що дозволяє їх використання як інокулянтів у сільському господарстві без ризиків поширення генів антибіотикорезистентності у екосистемах.

У польових дослідженнях виявлено значний адаптогенний вплив ендоефітно-ризобіальної інокуляції на рослини сої в умовах посухи. Показано, що комплексна передпосівна інокуляція насіння сої сприяла адаптації рослин до несприятливих умов шляхом активування ферментативних та неферментативних механізмів антиоксидантного захисту. Було відмічено підвищення каталазної активності на 52,2% порівняно з контролем, що свідчить про активацію ферментативного шляху нейтралізації надлишку пероксиду водню (H_2O_2). Одночасно спостерігали, що антирадикальна активність екстрактів коренів та листя інокульованих рослин сої була нижчою, ніж у контролі на 10,0% та 39,06% відповідно, що зумовлено зниженням оксидативного стресу. Окрім цього, ендоефітно-ризобіальна інокуляція

сприяла покращенню водного режиму рослин сої, а саме підвищувала водозабезпечення та водоутримуючу здатність рослин. Важливо зазначити, що описані ефекти зберігалися і у рослин сої другого покоління, вирощених з насіння, інокульованого минулого року. Такий феномен розглядається як прояв біопраймінгу, який, ймовірно, включає вертикальну передачу ендوفітів наступному поколінню рослин з насінням.

У польових дослідях, проведених у посушливих умовах Південного Степу України на зрошуваних землях, було відзначено позитивний вплив комплексної ендوفітно-ризобіальної інокуляції насіння сої на ризосферну мікробіоту та агрохімічний склад ґрунтів, що сприяло підвищенню стійкості та продуктивності рослин сої. Застосування інокуляції активізувало розвиток мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп у ризосферному ґрунті сої. Було відмічено збільшення чисельності амоніфікувальних (у 2,7 рази), амілолітичних (у 2,2 рази), фосфатмобілізувальних (у 3,1 рази), педотрофних (на 20,9%), оліготрофних (2,3 рази) та нітрогенфіксувальних (на 42,2%) мікроорганізмів порівняно з контрольним варіантом без інокуляції. Вміст поживних елементів ґрунту також зростав за використання інокуляції. Так, збільшенню вмісту мінерального нітрогену та обмінного калію сприяло застосування інокуляції Ризобіном^{K+} *B. velezensis* IMB B-8135, а найбільший вміст рухомого фосфору було відмічено у варіантах Ризобін^{K+} *B. velezensis* IMB B-8135 та Ризобін^{K+} *Pseudomonas* sp. 6. Підвищення показників польової схожості, виживання та густоти стояння рослин, покращення структури урожаю забезпечили стабільне зростання урожайності, приріст склав 19,4-40,4%, порівняно з необробленим контролем.

Практичне значення отриманих результатів: На підставі результатів досліджень стресостійкості, біоконтролюючих, адаптогенних, фітостимулювальних властивостей ендوفітних штамів та їх позитивного впливу на соєво-ризобіальний симбіоз розроблено практичні рекомендації щодо застосування комплексної ендوفітно-ризобіальної інокуляції насіння сої, які опубліковані в «Удосконалена енергоощадна технологія вирощування сої в

умовах зрошення Південного Степу України: науково-методичні рекомендації». Ефективність ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння сої підтверджено актами впровадження науково-технічної розробки у Херсонській та Одеській областях (Додаток В). Активні ендofітні штами *Bacillus velezensis* IMB В-8134 та IMB В-8135 поповнили колекцію мікроорганізмів депозитарію Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, а їх повні геномні послідовності задепоновано у базі GenBank.

Ключові слова: ендofіти, ризобії, соя, стійкість до пестицидів, антагоністична активність, біоконтроль, сидерофори, ідентифікація, філогенія, біопраймування, антиоксидантна активність, водний режим, родючість ґрунту, урожайність.

ABSTRACT

Shevchuk N.V. Physiological activity and influence of endophytic bacteria on the *Bradyrhizobium japonicum*–*Glycine max* symbiosis. – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

The thesis for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 “Biology and Biochemistry”. – D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine, Kyiv, 2026.

This thesis is devoted to the study of the physiological and functional properties of newly isolated strains isolated from surface-sterilized soybean nodules.

Plant-associated microorganisms, particularly rhizosphere and endophytic bacteria, are capable of colonizing the phytosphere, synthesizing metabolites that stimulate the growth of cultivated plants, and enhancing their stress tolerance and productivity. In this regard, there is growing interest in endophytic bacteria and their role in forming effective plant-microbial systems, endowing them with additional adaptive functions and stability. The development of novel bioformulations based on endophytic bacteria with enhanced stress-protective properties and ecological plasticity is of critical importance for the sustainable development of crop production. Endophytic bacteria maintain stable mutualistic relationships with plants; however, their interaction with rhizobial bacteria has been poorly investigated.

The scientific novelty of this work consists in studying the properties of newly isolated endophytic strains and determining their effect on the “rhizobial bacteria–soybean” symbiotic system. It has been shown that the studied endophytic bacteria were resistant to most modern fungicides and insecticides when applied at the doses recommended by the manufacturer. This allows for the combined use of these pesticides with endophytic and rhizobial bacteria under conditions of widespread pest and phytopathogen infestation.

The endophytic strains *Bacillus* sp. 4, *Bacillus* sp. 5, and *Pseudomonas* sp. 6 studied were capable of growing under suboptimal temperatures ranging from 20°C to

42°C, indicating their resistance to temperature fluctuations when used as inoculants in various climatic zones.

In vivo and *ex vivo* experiments revealed significant biocontrol potential of endophytic strains against both bacterial and fungal plant pathogens. Strains *Ochrobactrum* sp. 2 and *Paenibacillus* sp. 3 inhibited the growth of legume pathogens – *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* UCM B-1066 and UCM B-1065 – while *Bacillus* sp. 5 inhibited *X. axonopodis* pv. *glycines* UCM B-1162. The strongest antagonistic properties against *X. vesicatoria* 7790 were exhibited by strains *Ochrobactrum* sp. 2 and *Pseudomonas* sp. 6, and against *X. cucurbitae* UCM B-1063 – by *Paenibacillus* sp. 3. The growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂, which infects tomato plants, was most effectively inhibited by *Ochrobactrum* sp. 2. Thus, despite the fact that the studied strains were isolated from soybean nodules, they exhibited antagonism toward pathogens of both legume and vegetable crops, highlighting their potential for use as biocontrol agents for various agricultural crops. In addition, the endophytic strains exhibited antagonism toward pathogenic microfungi, inhibiting spore germination and causing changes in the morphology of their mycelium. The supernatants of *Bacillus* sp. 4 and *Pseudomonas* sp. 6 exhibited the highest inhibitory activity against *A. alternata* 150721, while the supernatants of *Ochrobactrum* sp. 2 and *Paenibacillus* sp. 3 were the most effective against *F. oxysporum* 080721.

Ex vivo studies have confirmed the efficiency of endophytic bacteria against phytopathogenic fungi. The endophytic-rhizobial seed inoculation following artificial infection with the phytopathogens *A. alternata* and *F. oxysporum* contributed to a significant reduction in the area of leaf damage. At the same time, additional spraying of growing plants with endophyte supernatants provided a protective effect against fungal diseases ranging from 81.2% to 95.9%.

One of the common mechanisms of bacterial biocontrol is the synthesis of siderophores. Our studies confirmed that all endophytic isolates were capable of producing hydroxamate-type siderophores, while the strains *Paenibacillus* sp. 3, *Bacillus* sp. 4, and *Bacillus* sp. 5 were capable of synthesizing both hydroxamate- and catecholate-type siderophores. Quantitative determination of siderophore production by

endophytic isolates revealed that *Paenibacillus* sp.1 (75,9%), *Bacillus* sp. 4 (57,7%) and *Pseudomonas* sp.6 (78,3%) were the most active producers.

Based on a complex of morphological characteristics, physiological and biochemical properties, whole-genome sequencing results, and phylogenetic analysis, the active endophytic isolates *Bacillus* sp. 4 and *Bacillus* sp. 5 were identified as *Bacillus velezensis* IMV B-8134 and IMV B-8135 and deposited in DDBJ/ENA/GenBank under the accession numbers GCA_051550635.1 and GCA_052976605.1, respectively. Genome annotation of the strains and analysis of biosynthetic gene clusters demonstrated significant biotechnological potential. Genes responsible for the synthesis of antibiotic compounds (bacilysin, macrolactin, bacillaene, fengycin, difficidin) and siderophores (bacillibactin) have been identified. The absence of encoded toxins and superantigens indicated that they are nonpathogenic. This was confirmed in *in vivo* experiments (toxicological and hygienic conclusion attached). Both strains exhibited sensitivity to most of the tested antibiotic compounds (aminoglycosides, fluoroquinolones, macrolides, glycopeptides, tetracyclines, cephalosporins, amphenicols, and carbapenems), allowing their use as inoculants in agriculture without the risk of spreading antibiotic resistance genes in ecosystems.

Field studies have demonstrated a significant adaptogenic effect of endophyte-rhizobial inoculation on soybean plants under drought conditions. It was shown that complex pre-sowing inoculation facilitated plant adaptation to adverse conditions by activating enzymatic and non-enzymatic mechanisms of antioxidant defense. It was observed, that catalase activity increased by 52.2% compared to the control, indicating the activation of the enzymatic pathway for neutralizing excess hydrogen peroxide (H₂O₂). At the same time, the antiradical activity of root and leaf extracts from inoculated soybean plants was 10.0% and 39.06% lower than in the control, respectively, due to a reduction in oxidative stress. In addition, endophyte-rhizobial inoculation improved the water regime of soybean plants, specifically increasing water supply and water-holding capacity. It is important to note that the described effects persisted in second-generation soybean plants grown from seeds inoculated the previous

year, indicating the likely vertical transmission of endophytes to the next generation of plants.

In field experiments conducted under arid conditions in the Southern Steppe of Ukraine on irrigated lands, a positive effect of complex endophytic-rhizobial inoculation of soybean seeds on the rhizosphere microbiota and the agrochemical composition of the soil was observed, which contributed to increased resistance and productivity of soybean plants. The application of inoculation stimulated the number of microorganisms belonging to the main ecological-functional groups in the soybean rhizosphere soil. An increase was observed in ammonifying (2.7-fold), amylolytic (2.2-fold), phosphate-mobilizing (3.1-fold), pedotrophic (20.9%), oligotrophic (2.3-fold), and nitrogen-fixing (by 42.2%) microorganisms compared to the control variant without inoculation. The content of soil nutrients also increased with the use of inoculation. Thus, the application of inoculation with Ryzobin^K + *B. velezensis* IMV B-8135 contributed to an increase in the content of mineral nitrogen and exchangeable potassium, and the highest content of available phosphorus was observed in the variants with Ryzobin^K + *B. velezensis* IMV B-8135 and Ryzobin^K + *Pseudomonas* sp. 6. Improved field germination, survival, and plant density, as well as the positive effect of endophytic-rhizobial inoculation on crop structure, ensured a stable increase in yield, with a gain of 19.4–40.4% compared to the untreated control.

Practical significance of the results obtained: Based on the results of studies on the stress tolerance, biocontrol, adaptogenic, and phytostimulatory properties of endophytic strains and their positive effect on the soybean-rhizobial symbiosis, practical recommendations have been developed for the use of a complex endophytic -rhizobial inoculation of soybean seeds, which are published in “Advanced Energy-Efficient Technology for Soybean Cultivation under Irrigation Conditions in the Southern Steppe of Ukraine: Scientific and Methodological Recommendations”. The efficiency of endophyte-rhizobial inoculation of soybean seeds has been confirmed by reports on the implementation of scientific and technical developments in the Kherson and Odesa regions (Appendix B). The active endophytic strains *B. velezensis* IMV B-8134 and B-8135 have been deposited in the Depository at the D. K. Zabolotny Institute of

Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine, and their complete genomic sequences have been deposited in the GenBank database.

Keywords: endophytes, rhizobia, soybean, pesticide resistance, antagonistic activity, biocontrol, siderophores, identification, phylogeny, biopriming, antioxidant activity, water regime, soil productivity, yield.

СПИСОК ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

(*– особистий внесок здобувача)

Статті:

1. Tytova, L., Dubynska, O., **Shevchuk, N.**, & Iutynska, G. (2026). Enhancing soybean adaptive potential and productivity with endophyte-rhizobial inoculation. *Biological Systems: Theory and Innovation*, 17(2), pp. 92-105. <https://doi.org/10.31548/biologiya/2.2026.92> (*експериментально досліджено чисельність мікроорганізмів агрономічно корисних еколого-функціональних груп у ризосферному мікробіоценозі сої за застосування передпосівної ендofітно-ризобіальної інокуляції за умов зрошення, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
2. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V. (2026). Identification of new *Bacillus velezensis* endophytic strains – probiotic agents for soybean symbiotic systems development. *The European Journal of Technical and Natural Sciences*, 2, pp. 3-7. <https://doi.org/10.29013/EJTNS-26-2-3-7> (*експериментально визначено біохімічні властивості досліджуваних штамів, проведено порівняння геномів обох штамів з типовим штамом *B. velezensis*, виконано аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
3. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Sergiienko, V.G., Iutynska, G.O. (2025). Phytoprotective potential of soybean endophytic microsymbionts. *Microbiological journal*, 87 (6) pp. 27-40. <https://doi.org/10.15407/microbiolj87.06.027>. (*експериментально досліджено антагоністичні властивості та здатність ендofітів синтезувати сидерофори, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
4. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O., Sergiienko, V.G., Katrii, V.B. (2025). Influence of rhizobia and endophytic bacteria on adaptation and productivity of *Glycine max* (L.) Merr. under hyperthermia and drought conditions.

<https://doi.org/10.15407/microbiolj87.05.012> (*експериментально визначено антиоксидантну активність етанольних екстрактів листя і коренів сої та параметри водного режиму рослин сої залежно від передпосівної обробки насіння ендоефітними та бульбочковими бактеріями, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)

5. Голобородько, С., Іутинська, Г., Титова, Л., Дубинська, О., **Шевчук, Н.** (2024). Агрокліматичні фактори та продуктивність різних за скоростиглістю сортів сої за ендоефітно-ризобіальної інокуляції в умовах неполивного землеробства південного степу України. *Біологічні системи: теорія та інновації*, 15 (1), pp. 5-11. [http://dx.doi.org/10.31548/biologiya15\(1\).2024.001](http://dx.doi.org/10.31548/biologiya15(1).2024.001) (*експериментально досліджено чисельність мікроорганізмів агрономічно корисних еколого-функціональних груп у ризосферному мікробіоценозі сої за застосування передпосівної ендоефітно-ризобіальної інокуляції в умовах неполивного землеробства Південного Степу України, проаналізовано та оформлено результати дослідження).

Тези:

1. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O. Genotypic and phenotypic characteristics of endophytic *Bacillus* strains with phytoprotective activity. 6th Scientific Conference "Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology", 25-26 November, 2025, Kyiv, Ukraine, P. 35. (форма участі – очна)
2. Іутинська, Г.О., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.**, Дубинська, О.Д. Застосування мікробних препаратів для підвищення резистентності рослин до кліматичних змін. Міжнародна науково-практична конференція «Кліматичні зміни та сталий розвиток сільського господарства», 19 вересня 2025 року, Одеса, Україна, С.145-148. (форма участі – заочна)
3. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O., Sergiienko, V.G., Goloborodko, S.P., Dubynska, O.D. The effect of endophytic bacteria on adaptive potential and

- productivity of *Bradyrhizobium japonicum*-*Glycine max* (L.) Merr. symbiosis under adverse agroclimatic factors. XVI з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (ТМУ), 2-6 червня 2025 р., Тернопіль, Україна, Р. 142. (форма участі – заочна)
4. **Shevchuk, N.**, Tytova, L., Fomenko, S., Bilyavska, L. Stress-protective activity of endophytic bacteria and their influence on the adaptive potential of soybean. V Scientific Conference of Young Researchers "Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology", 19-20 November, 2024, Kyiv, Ukraine, P. 32. (форма участі – очна)
 5. Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.**, Дубинська, О.Д., Голобородько, С.П., Іутинська, Г.О., Павліченко, Ю.М., Білявська, Л.О. Застосування ендоефітних бактерій у сучасних агробіотехнологіях. Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2024: матер. VIII Міжнародної науково-практичної конф., присвяченої 95-річчю від дня народження відомого вченого-мікробіолога, фізіолога рослин та популяризатора науки, проф. К.М. Векірчика, 18 – 19 квітня 2024 р., Тернопіль, Україна, С. 296-300. (форма участі – заочна)
 6. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Sergienko, V.G., Fomenko, S.V., Bilyavska, L.O. Endophytes and their potential in biotic stresses management and crop productivity. «Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in war and post-war period», 15-16 листопада 2023 р., Київ, Україна, С. 221-223. (форма участі – очна)
 7. Сергієнко, В.Г., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.** Бактеріальні прератати в системах захисту сої від хвороб. Міжнародна науково-практична конференція «Інновації у сучасному агропромисловому виробництві», 21-22 вересня 2023 р., Одеса, Україна, С. 190-194. (форма участі – заочна)
 8. **Шевчук, Н.В.**, Титова, Л.В., Сергійчук, Н.М., Білявська, Л.О. Вплив ендоефітно-ризобіальної інокуляції на біорізноманітність мікробіому ризосфери сої. XIX Всеукраїнська науково-практична конференція

студентів і молодих вчених, 24 червня 2022 р., Київ, Україна, С.278-279.
(форма участі – заочна)

Монографії, розділ у монографії, методичні рекомендації

1. Вожегова, Р. А., Голобородько, С. П., Дубинська, О. Д., Іутинська, Г. О., Титова, Л. В., **Шевчук, Н. В.**, Заєць, С. О., Юзюк, С. М. Наукові основи підвищення ефективності бобово-ризобіального симбіозу рослинами сої на зрошуваних землях Південного Степу України : монографія / Р. А. Вожегова, С. П. Голобородько, О. Д. Дубинська, Г. О. Іутинська, Л. В. Титова, Н. В. Шевчук, С. О. Заєць, С. М. Юзюк; Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства Національної академії аграрних наук України. – Одеса : Олді+, 2025. – 158 с. ISBN 978-617-8559-72-4
2. Вожегова, Р.А., Голобородько, С.П., Дубинська, О.Д., Іутинська, Г.О., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.** Удосконалена енергоощадна технологія вирощування сої в умовах зрошення Південного Степу України: науково-методичні рекомендації / Вожегова Р.А., Голобородько С.П., Дубинська О.Д., Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В.; 2024. 34 с.
3. Титова, Л.В., Іутинська, Г.О., Голобородько, С.П., Дубинська, О.Д., Леонова, Н.О., **Шевчук, Н.В.**, Білявська, Л.О., Сергієнко, В.Г. Біотехнологічні основи сталого розвитку агроєкосистем і відновлення порушених ґрунтів. В кн.: “Мікробні біотехнології в сільськогосподарському виробництві”, Ніжин: Вид. Лисенко М.М., 2024. С. 93 – 125.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень.....	20
ВСТУП.....	22
Список використаних джерел до вступу.....	30
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
1.1 МІКРОБНІ УГРУПОВАННЯ РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ.....	31
1.1.1 Загальна характеристика ризосферних мікробних ценозів та їх взаємодій з рослинами.....	31
1.1.2 Вплив корневих ексудатів рослин на ризосферні мікробні угруповання.....	33
1.2 БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНІ СИМБІОТИЧНІ СИСТЕМИ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИН.....	34
1.3 СИМБІОЗ ЕНДОФІТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ З РОСЛИНОЮ.....	38
1.3.1. Характеристика ендofітних бактерій та їх вплив на рослини	38
1.3.2. Шляхи проникнення ендofітних бактерій в рослину.....	43
1.4 РИЗОБІЇ ТА БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОФІТИ БОБОВИХ КУЛЬТУР ЯК ПЕРСПЕКТИВНА ОСНОВА ЕКОЛОГІЧНО БЕЗПЕЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА.....	46
Список використаних джерел до розділу 1.....	52
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	62
2.1 Мікроорганізми і матеріали, використані у роботі.....	62
2.2 Методи культивування бактерій.....	63
2.3 Визначення стійкості ендofітів до зовнішніх факторів.....	64
2.3.1 Визначення чутливості ендofітів і ризобій до фунгіцидів та інсектицидів.....	64
2.3.2 Визначення здатності ендofітів до росту за впливу різних температур.....	66
2.4 Дослідження антагоністичних і біоконтролюючих властивостей ендofітних бактерій щодо фітопатогенних мікроорганізмів.....	67

2.4.1. Визначення антагоністичної активності ендofітних бактерій щодо збудників бактеріозів.....	67
2.4.2 Визначення антифунгальної активності ендofітних бактерій в лабораторних умовах	67
2.4.3 Встановлення біоконтролюючого потенціалу ендofітів за штучного зараження у лабораторно-вегетатійних дослідах.....	68
2.4.4 Визначення здатності ендofітів синтезувати сидерофори.....	69
2.5 Морфологічна, фізіолого-біохімічна та геномна характеристика ендofітних бактерій.....	71
2.5.1 Дослідження антибіотикорезистентності ендofітних штамів.....	72
2.6 Визначення впливу ендofітно-ризобіальної інокуляції на фізіолого-біохімічні показники рослин сої.....	73
2.6.1. Оцінка рівню антиоксидантної активності рослин сої.....	73
2.6.2. Визначення параметрів водного режиму рослин сої.....	74
2.7 Агрометеорологічні умови та схема польового досліду із застосуванням комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції.....	75
2.8 Методи статистичного аналізу результатів.....	80
Список використаних джерел до розділу 2.....	81
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	86
РОЗДІЛ 3 СТІЙКІСТЬ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ ДО АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ.....	86
3.1 Чутливість ендofітних та ризобіальних штамів до фунгіцидів та інсектицидів	86
3.2 Вплив температури культивування на ріст ендofітних бактерій.....	90
Список використаних джерел до розділу 3.....	92
РОЗДІЛ 4 АНТАГОНІСТИЧНІ І БІОКОНТРОЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ ЩОДО ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ.....	93
4.1 Антагоністична активність ендofітних бактерій щодо збудників бактеріозів.....	93

4.2 Антифунгальна активність ендofітних бактерій.....	95
4.3 Біоконтролюючий потенціал ендofітів за штучного зараження рослин у лабораторно-вегетаційних дослідях.....	98
4.4 Здатність ендofітів до синтезу сидерофорів.....	106
Список використаних джерел до розділу 4.....	110
РОЗДІЛ 5 ВСТАНОВЛЕННЯ ТАКСОНОМІЧНОЇ ПРИНАЛЕЖНОСТІ ЕНДОФІТНИХ ШТАМІВ.....	113
5.1 Морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості ізолятів <i>Bacillus</i> sp. 4 та <i>Bacillus</i> sp. 5.....	113
5.2 Антибіотикорезистентність ендofітних штамів.....	115
5.3 Порівняльний геномний аналіз <i>Bacillus</i> sp. 4 та <i>Bacillus</i> sp. 5 із референсним штамом <i>B. velezensis</i> FZB42.....	117
5.4 Філогенетичний аналіз.....	119
5.5 Анотація геному та аналіз біосинтетичних генних кластерів.....	121
Список використаних джерел до розділу 5.....	134
РОЗДІЛ 6 ВПЛИВ ЕНДОФІТНО-РИЗОБІАЛЬНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСЛИН СОЇ.....	140
6.1. Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на рівень антиоксидантної активності рослин сої	141
6.2. Параметри водного режиму рослин сої.....	146
Список використаних джерел до розділу 6.....	151
РОЗДІЛ 7 ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ КОМПЛЕКСІВ НА ОСНОВІ РИЗОБІЙ ТА ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ.....	155
7.1 Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на чисельність мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп ризосфери сої.....	155
7.2 Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на вміст макроелементів ґрунту.....	160

7.3 Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на формування врожайності сої.....	162
Список використаних джерел до розділу 7.....	168
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	170
Список використаних джерел до розділу узагальнення результатів дослідження.....	181
ВИСНОВКИ.....	188
ДОДАТКИ.....	190

Перелік умовних позначень

- АБК – агенти біологічного контролю
- АРА – антирадикальна активність
- АСГ – абсолютно сухий ґрунт
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АФК – активні форми кисню
- АЦК-деаміназа – 1-аміноциклопропан-1-карбоксилат дезаміназа
- БФН – біологічна фіксація нітрогену
- ІЗР – Інститут захисту рослин
- ІМВ – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного
- ІОК – Індолілоцтова кислота
- кл./нас. – клітин на насінину
- КУО – колоніє утворюючі одиниці
- УКМ – Українська колекція мікроорганізмів
- ANI – average nucleotide identity (середня нуклеотидна ідентичність)
- BGC – біосинтетичний генний кластер
- DPPH· – 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил радикал)
- EC50 – Half maximal effective concentration (напівмаксимальна ефективна концентрація)
- N₂ – нітроген
- NH₄ – іонна форма аміаку
- NRB – non-rhizobial bacteria (неризобіальні бактерії)
- NRP-metallophore – non-ribosomal peptide metallophore (нерибосомний пептидний металофор)
- NRPS – non-ribosomal peptide synthetase (нерибосомна пептидна синтетаза)
- PGPR – Plant growth-promoting rhizobacteria (ризобактерії, що сприяють росту рослин)

RiPP-like – ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides
(рибосомно синтезовані та посттрансляційно модифіковані пептиди)

SM – succinate medium (сукцинатне середовище)

T3PKS – type III polyketide synthase (полікетидсинтаза III типу)

transAT-PKS – trans-acyltransferase polyketide synthase (транс-ацилтрансферазна полікетидсинтаза)

ВСТУП

Актуальність теми. Взаємодія мікроорганізмів і рослин постійно привертає увагу дослідників, як з точки зору пізнання фундаментальних питань взаємовідносин біологічних об'єктів різних рівнів організації, так і виходячи з перспектив практичного використання окремих представників фітобіому для підвищення продуктивності важливих агрокультур, які мають вирішальне значення для забезпечення продовольчої безпеки населення.

В Україні ці питання набувають особливо важливого значення у зв'язку з погіршенням екологічного стану орних земель за мілітарного впливу та глобальними кліматичними змінами.

Хоча численні абіотичні стрес-фактори, зокрема такі як температура, кількість опадів і доступність поживних речовин, а також біотичні (шкідники та патогени) впливають на стійкість і продуктивність рослин, взаємодія з мікроорганізмами може слугувати важливим джерелом підвищення їх здоров'я та продуктивності [4]. Бактеріальні ендofіти (як ризобіальні, так і неризобіальні) вважаються критично важливими для росту та стійкості бобової рослини-господаря [5].

Неризобіальні ендofіти є активними колонізаторами внутрішніх тканин рослин і здатні впливати на функціонування рослинно-мікробних систем, зокрема на формування та структуру ризосферних угруповань [2]. У бульбочках бобових рослин поряд із ризобіями часто виявляють неризобіальні бактеріальні популяції, що свідчить про складні взаємодії між різними групами мікроорганізмів у межах симбіотичного комплексу [3]. Хоча такі бактерії не здатні самотійно індукувати утворення бульбочок, вони характеризуються широким спектром корисних для рослин властивостей, зокрема синтезом біологічно активних сполук та участю в регуляції фізіологічних процесів рослин. Особливо перспективним є використання ендofітних бактерій у консорціумах із ризобіями, оскільки така взаємодія може сприяти посиленню формування бульбочок, підвищенню

ефективності азотфіксації та стійкості рослин до абіотичних стресових чинників [1].

У дослідженнях ендofітних бактерій багато питань залишаються мало вивченими. Зокрема не визначено, представники яких таксонів ендofітних бактерій співіснують в бульбочках бобових разом з ризобіями, які генетичні детермінанти зумовлюють функціональну активність окремих штамів. Відсутні чіткі дані щодо особливостей біологічної активності штамів, виділених з однієї екониші. Не окреслено вплив ендofітів та їх взаємодії з ризобіями на адаптацію і продуктивність бобових культур (зокрема, сої) в умовах кліматичних змін. Потребує конкретизації прояв фітозахисних і стресопротекторних властивостей окремих штамів. Всі ці дослідження матимуть важливе значення для окреслення перспектив практичного застосування ендofітно-ризобіальних інокулянтів.

Отже, актуальним є вивчення фізіологічних та функціональних властивостей нових неризобіальних ендofітних штамів, встановлення впливу ендofітно-ризобіальних консорціумів на фітопартнера та їх ролі у формуванні ефективних рослинно-мікробних систем із наданням їм додаткових адаптивних функцій і стабільності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження виконано у відповідності до плану науково-дослідних робіт Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України в межах бюджетних тематик відділу загальної і ґрунтової мікробіології: «Функціональний потенціал ґрунтового мікробіому агроценозів і техногенних екотопів», 2020-2024 рр. № держреєстрації 0120U000220 і «Екосистемні функції мікробіома ґрунту у відновлюваних агрофітоценозах», 2025-2029 рр., № держреєстрації 0125U000938.

Мета роботи – вивчити фізіологічні характеристики і таксономічне положення виділених з бульбочок сої нових штамів ендofітних бактерій, їхні біоконтролюючі і стресопротекторні властивості та вплив на симбіотичну систему *B.japonicum* – *Glycine max*.

Для досягнення мети дослідження були поставлені наступні завдання:

- визначити стресостійкість ендоефітних бактерій до сучасних пестицидів та різних температур культивування;
- оцінити антагоністичні і біоконтролюючі властивості ендоефітних бактерій сої щодо фітопатогенних мікроорганізмів в лабораторних умовах та за штучного зараження в лабораторно-вегетаційних експериментах;
- визначити таксономічне положення ендоефітних бацил за морфолого-культуральними, біохімічними, фізіологічними і генетичними ознаками;
- визначити вплив ендоефітно-ризобіальної інокуляції на рівень антиоксидантної активності та водний режим рослин сої;
- встановити вплив передпосівної інокуляції насіння ендоефітними та бульбочковими бактеріями на формування ризосферного мікробіоценозу, стійкість та продуктивність сої за дії стресових погодно-кліматичних факторів.

Об'єкт дослідження – біологічні властивості та участь у функціонуванні симбіотичної системи *B. japonicum* – *Glycine max* нових штамів ендоефітних бактерій.

Предмет дослідження – фізіолого-біохімічні характеристики ендоефітних штамів, їх антагоністична активність, стресопротекторний та стимулювальний впливи на рослини сої за посушливих умов.

Методи дослідження. Робота виконана на основі застосування таких методів: мікробіологічних (культивування мікроорганізмів для отримання мікробних препаратів, дослідження проростання спор фітопатогенних мікроміцетів методом світлової мікроскопії, вивчення антагоністичної активності ендоефітів щодо фітопатогенних бактерій методом агарових блоків, визначення кількості мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп у ризосферному ґрунті), біохімічних (визначення сидерофорсинтезуючої, каталазної та антирадикальної активностей, фізіолого-біохімічних властивостей штамів), лабораторно-вегетаційні (дослідження впливу ендоефітів на стійкість сої до фітопатогенів за штучного зараження), фізіологічні (визначення водного режиму рослин), генетичні та біоінформатичні (ідентифікація штамів на основі даних

повногеномного секвенування, філогенетичний аналіз, анотація геномів і визначення біосинтетичного потенціалу штамів), польові (вирощування рослин сої, визначення їх стійкості до захворювань за природного інфекційного фону і продуктивності), агрономічні (оцінка урожайності) та статистичні (визначення достовірності розбіжностей).

Наукова новизна роботи полягає в отриманні нових даних щодо фізіологічних, функціональних і молекулярно-генетичних властивостей виділених ендofітів з бульбочок сої. За результатами повногеномного секвенування ідентифіковано біоактивні штами *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 та виявлено біосинтетичні генні кластери, пов'язані з біосинтезом вторинних метаболітів.

Встановлено, що біозахисна дія ідентифікованих штамів зумовлена їх антагоністичною активністю щодо фітопатогенів, а також продукцією сидерофорів. Отримано нові дані щодо стимулювальної дії ендofітів, пов'язаної з активуванням ферментативних і неферментативних шляхів антиоксидантного захисту та поліпшенням водного режиму рослин в умовах посухи і високих температур. Вперше виявлено ефект біопраймінгу, що свідчить про користь можливості їх вертикальної передачі наступним поколінням.

Результати. Визначено чутливість штамів до сучасних фунгіцидів та інсектицидів. Хімічні пестициди у рекомендованих виробниками дозах не інгібували ріст досліджуваних ендofітних та бульбочкових бактерій, що дозволяє застосовувати інокулянти на їх основі в інтегрованих схемах захисту рослин. Ендofітні штами проявили здатність рости за впливу супраоптимальних температур, що свідчить про їх термопластичність та вказує на перспективність їх використання як інокулянтів за умов температурних коливань.

Ендofіти, виділені з бульбочок сої проявляли антагоністичні властивості щодо збудників бактеріозів бобових та овочевих культур. Патогени бобових культур виявилися найбільш чутливими до штамів *Ochrobactrum* sp. 2, *Raenibacillus* sp. 3 та *Bacillus* sp. 5. Встановлено біоконтролюючу активність нових штамів ендofітних бактерій проти фітопатогенних мікроміцетів *A. alternata*

150721 і *F. oxysporum* 080721. Найактивніше інгібування проростання спор *A. alternata* 150721 встановлено за дії *Bacillus* sp. 4, ефективність якого становила 50%, та *Ochrobactrum* sp. 2 – 49,1%. Проти *F. oxysporum* 080721 високу ефективність забезпечили штами *Ochrobactrum* sp. 2 (84,5%), *Pseudomonas* sp. 6 (61,3%) та *Paenibacillus* sp. 3 (51,2%). У лабораторно-вегетаційних дослідках зі штучним зараженням найвищий захисний ефект проти *P. savastanoi* pv. *glycinea* УКМ В-1150, *A. alternata* 150721 та *F. oxysporum* 080721 спостерігали за передпосівної обробки насіння комплексом Ризобін^К+*Bacillus* sp. 4, досліджуваний показник становив 55,6%, 49,5% та 28,3% відповідно.

За результатами морфолого-культуральних, фізіолого-біохімічних, хемотаксономічних властивостей, філогенетичного аналізу та повногеномного секвенування, активні ендofітні штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 ідентифіковано як *Bacillus velezensis* IMB В-8134 та *B. velezensis* IMB В-8135 і депоновано у депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Їх геноми задепоновано в GenBank під номерами GCA_051550635.1 та GCA_052976605.1 відповідно. Аналіз закодованих BGCs виявив кластери відповідальні за синтез бацилізину, макролактинів, бацिलाєну, дифіцидину, фенгіцину та бацилібактину.

Виявлено здатність до збереження корисного впливу нових ендofітних штамів на рослини наступного покоління, що, ймовірно пов'язано зі здатністю ендofітів поширюватися «вертикально», тобто передаватися наступним поколінням через насіння, що можна розглядати як варіант біопраймінгу. Показано, що передпосівна комплексна ендofітно-ризобіальна інокуляція індукувала зміни у функціонуванні антиоксидантної системи *Glycine max* (L.) Merr, активуючи ферментативні та неферментативні механізми антиоксидантного захисту рослин. Виявлено, що комплексна ендofітно-ризобіальна інокуляція поліпшувала водний режим сої на ранніх стадіях онтогенезу, в результаті чого рослини були краще забезпечені водою і набули здатності втрачати її менше, що безпосередньо впливало на стійкість та продуктивність рослин. Рослини, отримані з біопраймованих насінин, зберегли високі показники антирадикальної активності

та водозабезпечення, що свідчить про передачу корисних адаптивних функцій ендofітів наступному поколінню рослин.

В умовах зрошення Південного Степу України встановлено суттєвий стимулювальний вплив комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції на чисельність мікроорганізмів, які беруть участь у трансформації нітрогену, фосфору та гумусових сполук у ризосфері сої сорту Діона. Так, найбільша кількість оліготрофних та нітрогенфіксувальних мікроорганізмів була виявлена за інокуляції насіння комплексом Ризобін^K+*B. velezensis* IMB B-8134. Найбільше амоніфікувальних, амілолітичних та оліготрофних мікроорганізмів у ризосфері сої сорту Святогор спостерігали за інокуляції насіння Ризобіном^K+*Pseudomonas* sp. 6. Найбільшій кількості педотрофів у ризосфері сої обох досліджуваних сортів сприяла обробка насіння Ризобіном^K+*B. velezensis* IMB B-8135.

Використання розроблених комплексних інокулянтів на основі ендofітних штамів *B. velezensis* IMB B-8134, *B. velezensis* IMB B-8135, *Pseudomonas* sp. 6 сприяло підвищенню урожайності сої ультраскоростиглого сорту Діона на 37,9%, а середньостиглого сорту Святогор – на 40,4% за культивування в умовах зрошення Південного Степу України (Херсонська обл., темно-каштанові середньосуглинкові ґрунти).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено методичні рекомендації з використання комплексної передпосівної ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння сої для забезпечення стійкості рослин до біотичних та абіотичних стресів, покращення якості насіння та підвищення продуктивності. Ідентифіковано та депоновано у депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України ефективні штами ендofітних бацил IMB B-8134 та IMB B-8135.

Особистий внесок здобувача. Усі теоретичні та практичні результати досліджень, що виносяться на захист, отримані автором самостійно. Пошук та аналіз джерел літератури для розкриття теми дисертаційного дослідження, виконані дисертанткою і відображені в публікаціях та в дисертації. Матеріали, опубліковані у співавторстві, мають пропорційний внесок здобувача. Права

співавторів не порушено. У друкованих працях, опублікованих у співавторстві, автору дисертації належать – 4 статті.

Планування основних напрямків роботи, концепції, обговорення результатів і структури дисертаційної роботи здійснено із науковою керівницею – докторкою біологічних наук, професоркою, членкинею-кореспонденткою НАН України Іутинською Г.О., за що автор висловлює щирю вдячність.

Встановлення функціональних властивостей ендofітних штамів проводили разом з к.б.н. Титовою Л.В.; дослідження антагоністичної активності – з канд. с.-г. наук Інституту захисту рослин НААН України Сергієнко В.Г.; польові досліді на півдні України проводили разом з доктором с.-г. наук, професором Голобородько С.П. та докторкою філософії Дубинською О.Д. (Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України). Усі вони є співавторами відповідних публікацій і автор висловлює їм вдячність за консультативну і практичну допомогу.

Апробація результатів дисертації. Основні теоретичні положення та практичні результати досліджень були обговорені на міжнародних наукових конференціях: «Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in war and post-war period» (Kyiv, 2023) і вітчизняних: «Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology» (Kyiv, 2024), «Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology» (Kyiv, 2025).

Публікації. Результати дисертаційних досліджень опубліковані у 16 публікаціях. Серед них – 2 статті, що індексуються міжнародною базою даних SCOPUS (у вітчизняному фаховому виданні), 1 стаття, що індексується міжнародною базою даних COPENICUS, 2 статті у вітчизняних фахових виданнях; науково-методичні рекомендації, монографія та розділ у монографії; 8 тез доповідей та матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, висновків і додатків. До кожного розділу оформлено список використаних джерел, загальна кількість яких налічує 233

найменувань. Зміст дисертації викладено на 209 сторінках друкованого тексту. Вона містить 16 рисунків, 20 таблиць.

Список використаних джерел до вступу

1. Ben Gaied, R., Sbissi, I., Tarhouni, M., & Brígido, C. (2024). Bacterial endophytes from Legumes native to arid environments are promising tools to improve Mesorhizobium–chickpea symbiosis under salinity. *Biology*, 13(2), 96. <https://doi.org/10.3390/biology13020096>
2. Debnath, S., Chakraborty, S., Langthasa, M., Choure, K., Agnihotri, V., Srivastava, A., ... & Pandey, P. (2023). Non-rhizobial nodule endophytes improve nodulation, change root exudation pattern and promote the growth of lentil, for prospective application in fallow soil. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1152875. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1152875>
3. Hnini, M., & Aurag, J. (2024). Prevalence, diversity and applications potential of nodules endophytic *bacteria*: a systematic review. *Frontiers in microbiology*, 15, 1386742. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1386742>
4. Marquez, I. S., Griesbaum, K., Clark, L. V., Ainsworth, E. A., Christian, N., & Heath, K. D. (2025). Dominant foliar endophytes influence soybean yield and transcriptome. *FEMS microbiology ecology*, 101(6), fiaf053. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaf053>
5. Mayhood, P., & Mirza, B. S. (2021). Soybean root nodule and rhizosphere microbiome: distribution of rhizobial and nonrhizobial endophytes. *Applied and environmental microbiology*, 87(10), e02884-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02884-20>

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 МІКРОБНІ УГРУПОВАННЯ РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ

1.1.1 Загальна характеристика ризосферних мікробних ценозів та їх взаємодій з рослинами

У природному середовищі існування рослини ділять величезний простір і трофічні ресурси з багатьма мікроорганізмами. Багата поживними речовинами коренева зона дуже сприяє ініціації позитивних взаємодій між рослинами та мікробами [73]. Ризосфера – зона, що поширюється на декілька мм від ризоплану, є найбільш значною для різноманітних взаємодій між рослинами та мікробами, що визначається корневими ексудатами, які включають низку хімічних сигналів та вуглецевих метаболітів, таких як ексудати цукрів, органічних кислот та амінокислот [63]. Мікроорганізми, що населяють ризосферу, відіграють ключову роль у здоров'ї та захисті рослин, реакції на стрес, живленні та стимулюванні росту рослин [22, 70]. Родючість ґрунту як компонента екосистеми залежить від різноманітності ґрунтових мікробних угруповань. Майже 90% важливих процесів, що відбуваються в ґрунті, пов'язані з ґрунтовими мікроорганізмами [17].

Рослини тісно взаємодіють з ґрунтовими мікроорганізмами для здійснення ряду корисних функцій, включаючи засвоєння поживних речовин, стійкість до патогенів та стресостійкість [41, 65]. Бактерії, які існують у ризосфері та можуть покращувати розвиток рослин, називають PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria). Вони можуть вільно жити в природі або в симбіотичних асоціаціях з рослинами, або як ендofітні бактерії в тканинах господаря [17, 32].

PGPR досліджуються з метою підвищення здатності рослин краще рости в мінливих біотичних і абіотичних умовах навколишнього середовища [33]. PGPR активують ріст і продуктивність рослин прямо чи опосередковано за допомогою кількох механізмів, включаючи синтез фітогормонів, сидерофорів і органічних кислот, біологічну фіксацію нітрогену та солюбілізацію фосфату, розкладання органічних матеріалів для кращого поглинання, а також підвищення стійкості

рослин до абіотичного стресу через зниження рівня етилену в організмі господаря за допомогою активності 1-аміноциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) дезамінази. [32, 34, 63]. Деякі з PGPR забезпечують толерантність рослин до біотичного стресу, блокуючи колонізацію ризосфери патогенними та паразитичними організмами [34]. Прямими механізмами пригнічення збудників є секреція антагоністичних сполук і лізис клітинних стінок патогенів. Непрямі механізми можуть включати індукцію захисних шляхів рослин, синтез стрес-білків та інших сполук, а також конкуренцію з патогенами за основні поживні речовини [34]. Наведені дані свідчать про перспективність використання цих мікроорганізмів у розробці екологічно збалансованих технологій землеробства з метою підвищення продуктивності рослин, встановлення біоконтролю за розвитком хвороб рослин, зниження хімічного навантаження на ґрунт та підвищення його родючості [6].

Серед PGPR переважають представники родів *Bacillus*, *Azospirillum*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* і *Serratia* [17, 63]. *Bacillus* spp., що колонізують корені рослин здатні прискорювати ріст багатьох сільськогосподарських культур шляхом продукування фітогормонів, наприклад індолілоцтової кислоти (ІОК), цитокініну, жасмонової кислоти, етилену, абсцизової кислоти, ауксину, ферментів (протеази) та сидерофорів. Крім того, деякі штами *Bacillus* пригнічують шкідників сільськогосподарських культур і тим самим опосередковано сприяють росту рослин [30]. Відомо, що *B. amyloliquefaciens* і *B. subtilis* є корисними для сої, оскільки вони покращують утворення бульбочок і захищають від *Rhizoctonia solani*, яка спричиняє опіки розсади [66].

Структура мікробного угруповання у ґрунті ризосфери може значною мірою відрізнятися від такої позакореневої зони, що спричиняє потенційну функціональну диференціацію [22]. Під час вирощування рослин бактеріальні угруповання змінюються в ризосфері, але мало змінюються в основній масі ґрунту. Ці дані свідчать про те, що зміна бактеріальних угруповань ризосфери більшою мірою залежить від фази росту рослин, ніж від факторів навколишнього

середовища. *Bradyrhizobium* spp. та інші PGPR, такі як *Bacillus* spp., більш численні у ризосфері, ніж поза нею [65]. Вважається, що біорізноманіття ризосферної ніші залежить від кількості ексудатів, що виділяються корінням, архітектури кореня, виду рослин або генотипу та стадії розвитку [22].

1.1.2 Вплив корневих ексудатів рослин на ризосферні мікробні угруповання

Колонізація зони коренів є початковим і критичним етапом у встановленні симбіозу між рослинами та мікробами. Цей процес включає ексудацію, взаємодії рослина-мікроб та мікроб-мікроб через хімічну сигналізацію на кожному етапі в ризосфері [60]. Коріння рослин здатні збільшувати мікробну біомасу та різноманітність, продукуючи поживні речовини, ексудати та кисень у ґрунті [23]. Коріння здійснює різні впливи: як фізичні, наприклад, за рахунок структури кореня або тепловиділення, так і хімічні, шляхом секреції широкого спектру метаболітів. Корені рослин виділяють метаболіти в ризосферу активно, використовуючи енергію АТФ і пасивно, за допомогою дифузії. Рослини виділяють як низькомолекулярні сполуки, такі як амінокислоти, цукри, фенольні сполуки, терпеноїди та ліпіди, так і високомолекулярні сполуки, такі як білки, полісахариди та нуклеїнові кислоти, залежно від стадії росту та умов навколишнього середовища. Ці метаболіти включають широкий спектр біоактивних сполук, призначених для захисту від біотичних та абіотичних стресів, а також атрактанти або репеленти інших організмів [65].

У ризосфері більшість секретованих метаболітів швидко розкладається ґрунтовими мікроорганізмами [65]. Коріння рослин живлять широкий спектр мікроорганізмів за рахунок виділення метаболітів, формуючи мікробні угруповання ризосфери [22, 52]. Коренева система рослин виділяє в ризосферу різні ексудати, клейкі речовини та інші сполуки які слугують джерелом вуглецю та енергії для мікроорганізмів, а також є сигналами хемотаксису, які спрямовують членів мікробних угруповань в кореневу зону [22, 23]. Метаболіти рослин, що екскретуються з коренів, викликають зміни в мікробних угрупованнях ризосфери та опосередковують взаємодії між рослинами та мікроорганізмами, від

симбіотичних до коменсальних та патогенних, що свідчить про важливість метаболітів рослин у ризосфері для стимулювання росту та здоров'я рослин [52]. На мікробне різноманіття впливає тип рослини, а ексудати коренів рослин є фактором, який визначає склад угруповання в ризосфері [23].

1.2 БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНІ СИМБІОТИЧНІ СИСТЕМИ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИН

Бобові (*Leguminosae* або *Fabaceae*) вважаються другою за поширенням культивованою культурою, покриваючи 14% від загальної площі оброблюваних земель у світі. Бобові є основним джерелом важливих олій, мікроелементів, рослинних білків, клітковини та мінералів як для худоби, так і для споживання людиною [56]. Бобові культури вирощуються як у чистих посівах, так і в системах проміжного вирощування [12]. Крім того, вони забезпечують агроєкосистему нітрогеном (N) завдяки своїй винятковій здатності фіксувати його з атмосфери у симбіозі з ризобіями [56]. Вони збагачують ґрунт нітрогеном, що міститься у рослинних залишках і підвищують його родючість. З екологічної та економічної точок зору бобові зменшують викиди парникових газів і витрати на виробництво завдяки зниженню потреби в мінеральних нітрогенових добривах. Крім того, їх вирощування підтримує біорізноманіття, порушує цикли розвитку шкідників у зернових сівоzmінах і покращує фізичні властивості ґрунту, зменшуючи його ущільнення завдяки глибокій кореневій системі [12].

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – це універсальна бобова культура, відома своєю економічною цінністю та унікальними нутрицевтичними і лікувальними властивостями [55]. Багатий вміст білків (40–42 %), жирів (18–22 %) і вуглеводів (30–35%) робить її корисною для виробництва продуктів харчування та кормів для тварин [28]. Останніми роками спостерігається зростаючий інтерес до вирощування сої. Поточна площа вирощування цієї рослини у світі становить 129,5 млн га, тоді як світове виробництво досягає 371,7 млн тонн [67]. Різноманітні продукти на основі сої, включаючи соєву пасту, соєве молоко, м'ясо і тофу, широко використовуються для харчування [55]. Вона містить різноманітні

біоактивні сполуки, що мають фармацевтичне та терапевтичне значення, такі як інгібітори ангіотензинперетворювальних ферментів, запасні білки, інгібітори трипсину, лектини, ліпіди та інші другорядні компоненти, ефективні проти гіпохолестеринемії, серцево-судинних захворювань та раку [62]. Хоча сою традиційно вирощують і вдосконалюють за допомогою методів класичної селекції, зростання чисельності населення та підвищення попиту на продукцію зумовлюють необхідність інтенсифікації виробництва, що супроводжується збільшенням витрат. Крім того, біотичні та абіотичні стресові чинники є суттєвими зовнішніми загрозами, які негативно впливають на продуктивність і врожайність сої [55].

Нітроген (N) є важливим компонентом численних біомолекул, включаючи білки, нуклеїнові кислоти, а також відповідає за багато процесів, що відбуваються в рослинах, таких як синтез хлорофілу або білків. Нітроген також важливий для вегетативного росту сої та накопичення біомаси. Незважаючи на наявність молекулярного N_2 в атмосфері, відновлення цього компонента до форм, які легко засвоюються організмами, є складним. За оцінками [45], в сільськогосподарських районах симбіотичні асоціації здатні покривати до 80% потреби в нітрогені. Бобові рослини здатні використовувати молекулярний нітроген, присутній в атмосфері, через процес симбіозу з бактеріями, зв'язуючи та відновлюючи його за допомогою ферменту нітрогенази [67].

Бобові культури мають перевагу в асоціації зі специфічними ґрунтовими ризобіальними бактеріями (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* та *Allorhizobium*), які можуть використовувати кореневі бульбочки для зв'язування атмосферного нітрогену у вигляді амонію (NH_4), який потім може бути включений до складу органічних компонентів, включаючи білки та нуклеїнові кислоти. При симбіотичній нітрогенфіксації перенесення біологічно фіксованого N безпосередньо від бактерій до рослини-господаря відбувається одночасно зі значним перенесенням фотосинтетично фіксованого рослинного карбону до нітрогенфіксувальних бактерій [10].

Ризобії – різноманітна група бактерій, які утворюють симбіотичні відносини з бобовими рослинами і широко вивчаються за їх здатність утворювати бульбочки і фіксувати атмосферний нітроген. Ця група складається з бактерій, що належать до класів *Proteobacteria*, переважно *Alphaproteobacteria* (наприклад, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Ensifer*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*) та *Betaproteobacteria* (наприклад, *Paraburkholderia*, *Cupriavidus*, *Trinickia*). Ризобії індукують симбіотичну реакцію бобових рослин і розвиток бульбочок, в яких відбувається процес фіксації азоту. У той же час, бобові рослини створюють середовище існування і збільшують шанси на виживання симбіотичних бактерій, забезпечуючи джерела карбону для ризобій в бульбочках [59].

Симбіотичний процес починається з розпізнавання ризобіями флавоноїдів, що виділяються рослинами (присутні в корневих екsudатах). У відповідь ризобії синтезують ліпохітоолігосахариди – так звані фактори нодуляції (Nod-фактори), які розпізнаються рослиною та активують програму органогенезу бульбочок. Згодом ризобії, присутні в ризосфері, проникають у кореневі волоски рослини через тріщини коренів, а потім мігрують і формують структуру бульбочок за допомогою інфекційних ниток. Перебуваючи всередині бульбочки, ризобії диференціюються в бактероїди – спеціалізовані симбіотичні органелоподібні форми, що підсилюють процес фіксації нітрогену. Як бактероїди, ризобії фіксують атмосферний N_2 за допомогою ферменту нітрогенази, забезпечуючи рослину-господаря NH_4 в обмін на фіксований фотосинтезом карбон [59]. Відомо, що утворення бульбочок і фіксація нітрогену також залежать від різних мікроелементів, наприклад Fe, Cu, Co, Zn, Ni і B [46]. Окрім забезпечення рослин симбіотичним азотом, ризобії продукують широкий спектр біологічно активних сполук фітостимулювальної та біозахисної дії, зокрема фітогормони (індол-3-оцтову кислоту, цитокініни, гібереліни), Nod-фактори, люміхром, рибофлавін, фермент АЦК-деаміназу (1-аміноциклопропан-1-карбоксилат дезаміназу) та інші метаболіти, які беруть участь у регуляції росту, розвитку та підвищенні продуктивності рослин [29].

Соя є господарем для азотфіксувальних бактерій *B. japonicum* і *B. elkanii* та може забезпечувати до 50% або більше своєї потреби в нітрогені за рахунок його біологічної фіксації (БФН) за умови їх наявності в ґрунті [40]. Високі дози азотного добрива гальмують розвиток корневих бульбочок і БФН. Тому при вирощуванні сої особливо важливою процедурою є інокуляція насіння бактеріями *B. japonicum*, які зв'язують вільний азот з повітря [67].

Ризобії є звичайними мешканцями ґрунту та ризосфери і, як наслідок, еволюціонували в умовах прямої конкуренції та/або синергізму з іншими мікроорганізмами ґрунту та ризосфери, включаючи ризобіальні та неризобіальні бактерії (NRB - non-rhizobial bacteria) – вільноіснуючі ризосферні та ендofітні (які існують у міжклітинному просторі всередині рослини) бактерії. Фактично, в природних умовах коріння бобових рослин і кореневі бульбочки містять широкий спектр ризосферних і ендofітних бактерій, а також ризобії. Деякі з цих бактерій можуть стимулювати утворення ризобіальних бульбочок і сприяти росту рослин як в оптимальних, так і в стресових умовах [59].

Показано, що різноманітні вільноіснуючі ризосферні та ендofітні бактерії здатні підсилювати процеси бульбочкоутворення та азотфіксації у симбіозі ризобій з бобовими рослинами, що сприяє посиленому росту таких культур. Серед NRB переважають бактерії, що належать до *Firmicutes* (*Bacillus*, *Paenibacillus*), *Proteobacteria* (*Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Pantoea*), *Actinobacteria* (*Streptomyces*, *Nocardia*), *Flavobacteria* та деякі ціанобактерії. Більше того, корисні ефекти сумісної інокуляції спостерігалися у різних бобових культурах, які формують як детерміновані (*Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*), так і індетерміновані (*Cicer arietinum*) бульбочки у симбіозі з відповідними альфа- та бета-ризобіальними партнерами (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ensifer/Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Cupriavidus*). Це свідчить про універсальність підходу коінокуляції для підвищення ефективності симбіозу бобових культур і ризобій. [59].

Дослідження взаємодії між консорціумами ризобій та NRB виявило деякі механізми, що беруть участь у їх здатності сприяти утворенню бульбочок та

фіксації нітрогену ризобіями. До них належать: пряме збільшення кількості ризобіальних популяцій у ґрунті; продукування сидерофорів, що сприяють росту ризобій в умовах обмеженого доступу заліза; прямий вплив на ріст коренів рослин і поглинання поживних речовин (тобто N, P, K), що позитивно впливає на ефективність симбіозу; активність літичних ферментів (наприклад, целюлази), які відіграють роль у колонізації ризобій; індукція біосинтезу флавоноїдів рослини, що призводить до експресії ризобіальних генів бульбочкоутворення; біосинтез рослинних гормонів, таких як ІОК (індолілоцтова кислота), цитокініни, гібереліни, які сприяють росту і розвитку рослин та регулюванню процесу нодуляції, та експресія АЦК-деамінази і модуляція рівнів етилену в рослинах, які беруть участь у регулюванні процесу бульбочкоутворення [59].

Використання комплексних мікробних інокулянтів для покращення ефективної адаптації і виживання сільськогосподарських культур може сприяти стабільній врожайності, відновленню родючості ґрунту [32]. Отже, отримання та дослідження синергетичних ефектів між ризобіями та консорціумами неризобіальних бактерій може бути ключем до розробки інокулянтів з підвищеною ефективністю та властивостями, що сприяють росту рослин [59].

1.3 СИМБІОЗ ЕНДОФІТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ З РОСЛИНОЮ

1.3.1 Характеристика ендофітних бактерій та їх вплив на рослини

Слово «ендофіти» походить від грецьких слів «ендо», що означає всередині, та «фітес» – рослини. Таким чином, цей термін описує місцезнаходження організмів і може бути визначений як організми, археї, бактерії та гриби, що безсимптомно існують в рослинах [2, 58]. Ендофітні бактерії вважаються підкласом ризосферних бактерій, які зазвичай називають PGPR. Фактично це спеціалізована група ризобактерій, які набули здатності проникати в рослину-господаря. Вони мають усі важливі риси, що відповідають PGPR. Однак, порівняно з ризобактеріями, ендофітний спосіб життя має додаткову перевагу над ризосферним. Існування всередині рослинних тканин дозволяє ендофітним бактеріям тісно контактувати з рослиною-господарем, щоб легко здійснювати

прямі корисні ефекти в обмін на отримання поживних речовин. Корисний вплив, який ендоефітні бактерії надають рослинам-господарям, зазвичай більший, ніж той, який надають ризосферні. Такий вплив може посилюватися, коли рослини зазнають стресових умов [3].

Ендоефітні мікроорганізми беруть участь у механізмах стійкості, забезпечуючи толерантність до різних стресів, таких як посуха, фітопатогени і шкідники, таким чином підвищуючи конкурентоспроможність рослини [58]. Деякі ендоефітні бактерії впливають на фізіологічні процеси рослини-господаря, синтезуючи фітогормони та регулюючи рівень етилену. Крім того, вони продукують сидерофори, що підвищують доступність заліза для рослини, та виконують функції агентів біоконтролю фітопатогенів. Антагоністична дія реалізується шляхом синтезу антибактеріальних і протигрибних сполук, індукції системної резистентності рослини-господаря, а також утворення летких органічних сполук, здатних впливати на ріст і розвиток рослин та пригнічувати патогени. Багатьом ендоефітам притаманна виражена протигрибна активність [58]. Біодеградація органічних забруднювачів і біотрансформація важких металів ендоефітами також можуть бути корисними для покращення здоров'я рослини-господаря [18].

Ендоефіти синтезують широкий спектр біоактивних вторинних метаболітів, таких як еніантини, хінони, ксантони, тетралони, цитохалазини, бензопіранони, ізокумарини, феноли, стероїди та терпеноїди. Крім продукування антибіотиків і антиоксидантів, ендоефіти також добре відомі здатністю синтезувати протипухлинні сполуки. Особливу увагу привертають окремі метаболіти з високою антибактеріальною активністю, серед яких катехін, галова кислота, гелволева кислота, а також антибіотичні сполуки оксацилін, ампіцилін і цефалексин [68]. Метаболічне профілювання ендоефітів виявило широкий спектр вторинних метаболітів, що проявляють антимікробні, протипухлинні та пестицидні властивості. До них належать різні класи біологічно активних речовин, як фенольні сполуки (зокрема флавоноїди), терпеноїди, алкалоїди, пептиди, мелатоніни та каротиноїди [13].

Ендофіти також продукують варіації вже відомих сполук, таких як рослинний гормон ІОК [68]. Продукування ІОК є однією з найважливіших ознак широкого спектру ґрунтових мікроорганізмів, які використовуються для стимулювання росту рослин. ІОК є гормоном розвитку рослин, пов'язаним із розмноженням кореневища, проліферацією рослинних клітин і тому активність біосинтезу ІОК мікроорганізмами є важливою для розвитку рослин. У всіх зареєстрованих ауксинах ІОК є найважливішим стимулятором росту для розвитку кореневої системи рослин. [32]. Завдяки синтезу безлічі метаболітів, багато з яких ще невідомі та нові, рослина-господар захищена від різноманітних екологічних стресів [68]. Окрім цього ендофіти продукують метаболіти, щоб конкурувати один з одним, а також з ризосферними мікроорганізмами [60].

Бактеріальні ендофіти, що знаходяться всередині рослин як біотрофні симбіонти, можуть бути факультативними або облігатними. Певні бактеріальні ендофіти мають здатність колонізувати тисячі різноманітних видів рослин, але деякі специфічні до певних родин рослин [58]. Хоча переважна більшість ендофітів є коменсалами, існують деякі грибні та бактеріальні ендофіти, які діють мутуалістично. Існує також класифікація мікробних ендофітів на системні та несистемні, що базується на ендофітному способі життя, оскільки ендофіти можуть мати короткострокові або довгострокові зв'язки з рослинами. Тобто, несистемні ендофіти – це ті, які є факультативними, тимчасовими, і для яких розмір популяції та видове багатство змінюються з часом залежно від характеристик господаря, таких як стадія розвитку рослини, умови навколишнього середовища та інші біотичні фактори. Зрештою, несистемні ендофіти можуть переходити від мутуалізму до паразитизму, певним чином пошкоджуючи господаря. Тоді як системні ендофіти – це мутуалісти, які тісно співіснують з рослиною-господарем, і не завдають шкоди рослинам [16]. Більшість ендофітних бактерій мають двофазний життєвий цикл, який чергується між рослинним та ґрунтовим середовищем [3]. Незважаючи на визначення, згідно з яким ендофіти є коменсалами, а не патогенами чи симбіонтами, ендофіти можуть впливати на продуктивність рослин, особливо за стресових умов [21].

Наприклад, ендofіти підвищують продуктивність рослин в умовах теплового стресу, індукуючи їх стійкість [15, 42]. Багато ендofітів можуть існувати як сапрофіти в ґрунтах [54, 64].

Структура угруповання ендofітів змінюється залежно від типу, стадії росту рослини, сезону та навколишнього середовища. Залежно від цих факторів їх щільність варіює від 10^2 до 10^9 мікроорганізмів на см^3 рослини [61]. Як правило, бактеріальні ендofіти мешкають у міжклітинних просторах рослинних тканин і рідко колонізують клітину всередині [58]. Найбільш домінуючою серед ендofітних бактерій є філа *Proteobacteria*, за якою йдуть *Actinobacteria*, *Firmicutes* та *Bacteroidetes*. Найбільш поширеними родами бактеріальних ендofітів є: *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Pantoea*, *Micrococcus*, *Acinetobacter* і *Enterobacter* [4, 32]. *Glomeromycota* є домінуючим грибним відділом, за яким слідують *Ascomycota* і *Basidiomycota* [4].

Угруповання ендofітів відрізняються не тільки у різних видів рослин, але й у тканин рослин. Наприклад, коріння містять угруповання ендofітів, які значною мірою відрізняються від угруповань стебла, листя та пагонів, причому лише деякі ендofіти здатні системно заражати рослину-хазяїна [21].

Коріння є однією з тканин, які найчастіше колонізуються ендofітними бактеріями. Згідно з методами, що базуються на культивуванні, так і незалежними від нього, кількість ендofітів у коренях виявилася значно вищою, ніж в інших тканинах однієї й тієї ж рослини. Крім того, ендofітне різноманіття коренів перевищує таке в ризосфері [16]. Загалом ендосфера коренів є метагеномно різноманітною і найчастіше у ній домінують корисні *Proteobacteria* (50%), *Actinobacteria*, *Firmicutes* та *Bacteroidetes* (10%) [14].

Мікробіом кореневих бульбочок в основному складається з ризобій та неризобіальних ендofітів – бактерій, відмінних від симбіотичних нітрогенфіксувальних ризобій, які активно колонізують коріння і мешкають у бульбочках бобових рослин [26]. Mayhood & Mirza спостерігали високу чисельність видів *Bradyrhizobium* та неризобіальних ендofітів (*Nitrobacter* та

Tardiphaga) у корневих бульбочках сої, тоді як види *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* та *Variovorax* зустрічалися з низькою частотою [44].

У листі бактеріальні ендofіти спостерігалися в міжклітинних просторах мезофілу, ксилемних тканинах і субстоматичних ділянках. Деякі бактеріальні ендofіти також колонізують квіти та насіння і, найімовірніше, передаються вертикально від материнської ендofітної спільноти до нащадків [31]. Листкові ендofіти здебільшого складаються з п'яти типів: *Proteobacteria* (90%), *Actinobacteria* (2,5%), *Plancomycetes* (1,4%), *Verrucomicrobia* та *Acidobacteria* (1,1 та 0,5%) [14]. У деревних рослин стебла характеризуються більшою різноманітністю мікробіому порівняно з іншими тканинами. Водночас у злакових найбагатшим за мікробним різноманіттям є коріння, тоді як у трав'янистих рослин міжтканинні відмінності виражені менш чітко. Відомо, що тканини, які протягом життя рослини довше або інтенсивніше контактують з інокулятом, мають вищу різноманітність мікроорганізмів упродовж усього життєвого циклу [24].

Показано також, що старі листки зазвичай містять багатші мікробні угруповання, ніж молоді, що, ймовірно, пов'язано з тривалішою експозицією інфекційних агентів і більшим часом для розвитку мікроорганізмів. Стебла й кора деревних рослин упродовж року зазнають впливу інфекційних агентів, що поширюються повітрям, водою та пилом, і характеризуються значною тривалістю існування (до того ж значна частина кори є мертвою тканиною та може зберігатися на стовбурі протягом тривалого часу). Натомість листя, навіть у вічнозелених дерев, функціонує значно коротший період. Подібна закономірність спостерігається і для багаторічних трав і злаків: їх коріння є найбільш довговічними тканинами, тоді як надземні органи часто щороку відмирають. Хоча коріння деревних рослин також може бути довговічним, воно переважно контактує з інфекційним матеріалом ґрунтового походження. Водночас стебла протягом життя взаємодіють із ширшим спектром джерел інфекції, що може зумовлювати більшу варіативність мікробних угруповань порівняно з корневими тканинами [24].

1.3.2 Шляхи проникнення ендофітних бактерій в рослину

Ендофітні мікроорганізми можуть колонізувати рослину горизонтально через навколишнє середовище, вертикально від батьків до нащадків або змішаними способами. Більшість бактеріальних ендофітів, передаються горизонтально [20].

Ґрунт вважається домінуючим середовищем, з якого походять бактеріальні ендофіти, а шлях «від ґрунту до кореня» є найкраще вивченим горизонтальним шляхом передачі. Ґрунтові бактерії можуть колонізувати внутрішню частину рослини і стати ендофітами на ранніх стадіях онтогенезу рослини через середовище проростання, яке називається спермосфера, або на пізніших стадіях – проникаючи з ризосфери в корінь саджанців і дорослих рослин [20]. Спермосфера є важливим джерелом ендофітних бактерій, оскільки під час проростання насіння вони проникають у його внутрішні тканини та колонізують молоді корінці проростків. Бактерії потрапляють через проросткову щілину до крохмалистого ендосперму, звідки заселяють корінець і колеоптіль, після чого системно поширюються по рослині та можуть знову проникати в насіння, забезпечуючи ймовірну вертикальну передачу наступному поколінню [58].

Іншим варіантом горизонтальної передачі ендофітів є колонізація рослин через філосферу – надземну поверхню рослини. Вона слугує альтернативним, хоча й менш вивченим шляхом проникнення бактерій, що потрапляють із дощовою водою, біоаерозолями, пилом та іншими атмосферними частинками. Крім того, рослиноїдні комахи, запилювачі та інші членистоногі можуть слугувати переносниками ендофітних бактерій [20].

Прикріплення або адгезія бактеріальних клітин до поверхні рослини вважається першим етапом процесу колонізації. Бактерії, що знаходяться поблизу коренів рослини рухаються у напрямку до коренів, використовуючи хемотаксичну афінність до кореневих ексудатів [31]. Рухливість, індукована хемотаксисом, що призводить до колонізації коренів, є одним з найважливіших механізмів, що визначають ендофітний потенціал ґрунтових бактерій [48]. Далі відбувається прикріплення до поверхні кореня (ризоплану). Екзополісахариди,

синтезовані бактеріальними клітинами, можуть сприяти їх прикріпленню до поверхні коренів на ранніх стадіях ендofітної колонізації [31]. Після того, як бактеріальні ендofіти закріпилися в ризосфері та ризоплані, вони проникають всередину кореня рослини і колонізують його, утворюючи субпопуляції в кількості від 10^5 до 10^7 КУО/г свіжої маси [3]. Бактерії не колонізують кореневу систему рослини-господаря рівномірно. Ця неоднорідна колонізація кореня рослини бактеріями є результатом факторів, що контролюють процес колонізації коренів: характер корневих ексудатів, рухливість, кворум-сенсинг, швидкість росту бактерій, мінімізацію конкуренції шляхом вироблення антагоністичних речовин та ефективне засвоєння поживних речовин [3].

Наступний крок на шляху колонізації полягає у проникненні бактерій в корінь і перетворення на ендofіти. Це відбувається або шляхом пасивного проникнення через отвори в коренях, де з'являються кореневі волоски або бічні корені, а також продихи, рани та гідатоди в пагонах або місця проникнення патогенів; або шляхом активного проникнення за допомогою ферментів, що руйнують клітинну стінку, таких як целюлази, ксиланази, пектинази та ендоглюканази [31, 48].

Як тільки ендofіти потрапляють всередину рослини, вони можуть системно розповсюджуватися і в кінцевому підсумку досягати квітів, плодів і насіння [48]. У природних умовах вони можуть утворювати популяції щільністю 10^3 – 10^4 КУО/г сухої маси в стеблах і листі [3]. Деякі ендofіти використовують кореневу ксилему своїх хазяїв, щоб дістатися до їх меристем, де їм допомагають рух їх джгутиків і транспіраційний потік рослини, тоді як інші заселяють багаті поживними речовинами внутрішньоклітинні простори, синтезуючи для цього ферменти, що руйнують клітинні стінки [48].

Ключовою характеристикою ендofітів насіння є їх здатність до вертикальної передачі. Насіннево-асоційовані ендofіти – як бактеріальні, так і грибні – позитивно впливають на насіння, зокрема сприяють його проростанню в ґрунті [20]. Бактеріальні ендofіти можуть заселяти різні структури насіння, включаючи зародок [31]. Завдяки вертикальній передачі від материнської рослини

до наступних поколінь вони забезпечують збереження та подальшу колонізацію рослин-нащадків [48].

Насіння представляє собою унікальну нішу для мікробіоти, яка має різні адаптації для успішної колонізації [71]. Ендофіти, які постійно передаються з покоління в покоління, повинні мати шлях від насіння до репродуктивних органів, або через ксилемні судини, або через апікальну меристему пагона, яка в подальшому диференціюється в репродуктивні органи [20].

Наявність бактерій у насінні не означає, що вони походять від батьківської рослини, і не всі бактерії, що мешкають у насінні, обов'язково колонізують проростки. Бактерії можуть колонізувати насіння горизонтально із зовнішнього середовища через квіти, плоди або шляхом розповсюдження насіння через ґрунт або середовище проростання. Інший можливий шлях проходить через апікальну меристему пагона, яка складається з недиференційованих клітин, що дають початок усім постембріональним надземним органам. Тканини, що походять від апікальних меристем, включають і репродуктивні органи рослини, а отже, і насіння, що розвивається, може набувати бактерій, що мешкають у меристемі [20].

Під час дозрівання насіння умови в його тканинах змінюються, що впливає на склад ендофітної мікробіоти. Накопичення крохмалю та втрата води зумовлюють виживання бактерій, стійких до високого осмотичного тиску, зокрема тих, що здатні утворювати ендоспори. Ендофіти насіння часто характеризуються амілазною активністю, здатністю використовувати фітат як джерело фосфору, а також проявляють активність АСС-дезамінази (1-аміноциклопропан-1-карбоксилат дезаміназа) й антибіоз. Таким чином, дозрівання насіння відбирає мікроорганізми за їх фенотиповими ознаками та впливає на різноманіття бактеріальних родів, принаймні серед культивованих форм [69].

Бактеріальні популяції можуть сприяти розвитку рослини-господаря. Залежно від місцевих умов і завдяки метаболічному різноманіттю можна покращити ефективність корисного застосування бактерій, таким чином

стимулюючи загальну стійкість господаря та забезпечуючи йому конкурентні переваги порівняно з іншими рослинами, тим самим впливаючи на функціонування всієї екосистеми [58].

1.4 РИЗОБІЇ ТА БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОФІТИ БОБОВИХ КУЛЬТУР ЯК ПЕРСПЕКТИВНА ОСНОВА ЕКОЛОГІЧНО БЕЗПЕЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА

Продовольча безпека є однією з найсерйозніших проблем для зростаючого населення планети. За оцінками [19], до 2050 року населення планети може досягти 9,7 мільярдів, а отже, виникне потреба в підвищенні більш ніж на 50% існуючої продуктивності сільського господарства [50]. Крім того, скорочення природних ресурсів, таких як сільськогосподарські угіддя, вирубка лісів, зміна кліматичних умов та втрата сільськогосподарської продуктивності внаслідок атак патогенів рослин створюють додатковий тиск на забезпечення доступності продовольства [36, 38]. Рослини піддаються різним біотичним та абіотичним стресам, які негативно впливають на їх ріст та виживання. Приблизно 15-30% від загального обсягу сільськогосподарського виробництва втрачається щороку через хвороби рослин [37].

Хвороби рослин обмежують урожайність сільськогосподарських культур у всьому світі [43]. Велика кількість втрат врожаю відбувається щороку як на стадіях до, так і після збору врожаю через зараження патогенами, починаючи від віроїдів і вірусів і закінчуючи прокаріотичними бактеріями, еукаріотичними грибами та нематодами [53]. Багато грибних збудників хвороб рослин продукують мікотоксини, які прямо чи опосередковано загрожують здоров'ю людей і тварин [8].

Щоб пом'якшити проблеми, пов'язані з хворобами рослин, значна частина населення покладається на хімічні пестициди, але їх постійне і невибіркове використання негативно впливає на стан родючості ґрунту, місцеву мікробіоту, якість продуктів харчування [38]. Незважаючи на те, що ці методи забезпечують негайний захист, вони зрештою призводять до стійкості та біоаккумуляції

шкідливих хімікатів у системах сільськогосподарських культур [53]. Забруднення ґрунту та водних екосистем, розвиток резистентності патогенів до пестицидів стали серйозними проблемами сучасного землеробства [37]. Тому, для пом'якшення проблем кліматичного, хімічного і біотичного стресів, використання мікробних штамів стало стійким, екологічним і нетоксичним підходом [37]. Поширена практика використання хімічних добрив для отримання максимального врожаю має негативний вплив на ріст і розвиток рослин. Для вирішення таких проблем існує альтернативний підхід – використання корисної мікробіоти, PGPR [51].

Серед цих альтернатив важливе місце займає біологічний контроль (біоконтроль). Термін "біоконтроль" використовується не тільки для обмеження хвороб рослин, але й для зберігання урожаю [63]. Штами мікроорганізмів з антагоністичними властивостями розглядаються як нетоксичні і генетично стабільні агенти біоконтролю, які демонструють ефективність проти широкого спектру фітопатогенів, навіть у низьких концентраціях [39]. Крім того, додатковою перевагою біоконтролюючих мікроорганізмів є їхня здатність стимулювати ріст рослин. Протягом останніх двох десятиліть різні види мікробів, включаючи бактерії, гриби та дріжджі, були охарактеризовані та використані в різних частинах світу як агенти біоконтролю (АБК) [36]. В даний час ендوفіти вважаються одними з найбільш придатних АБК завдяки кращому потенціалу колонізації та акліматизації. Однак дуже обмежену кількість ендوفітів використовують в комерційних цілях як АБК [39].

Ендوفітні мікроорганізми застосовують прямі й непрямі механізми контролю фітопатогенів. До основних стратегій належать секреція антимікробних і летких сполук, синтез сидерофорів, конкуренція за поживні речовини та простір, а також індукція системної резистентності. Крім того, застосування АБК модулює місцеві мікробні угруповання і сприяє підвищенню продуктивності сільськогосподарських культур [7].

Пригнічення патогенів через конкуренцію за поживні речовини пов'язане, зокрема, із секрецією сидерофорів, які хелатують залізо та знижують його

доступність для фітопатогенів. Окремі бактерії інгібують їхній ріст завдяки виділенню антибіотиків, токсинів, біосурфактантів і ферментів, що руйнують клітинну стінку, а також специфічних метаболітів, здатних індукувати системну резистентність рослин [49, 63]. Ендофітам часто властиві синтез протигрибних сполук і гідролітичних ферментів, продукція сидерофорів та механізми кворум-сенсингу, що сприяють їхній протигрибній активності [6].

Одним із ключових механізмів біоконтролю є секреція ферментів, що руйнують клітинну стінку мікроорганізмів-мішеней. Біоконтролюючі штами продукують β -1,3-глюканазу, хітиназу, целюлазу та протеазу, які безпосередньо інгібують ріст гіф грибних патогенів. Зокрема, хітиназа та β -1,3-глюканаза лізують хітин – нерозчинний лінійний полімер β -1,4-N-ацетилглюкозаміну клітинної стінки патогенних грибів [63].

Індукована резистентність – це посилення захисної здатності рослин проти широкого спектра шкідників і патогенів [63]. Вона супроводжується синтезом активних форм кисню, фітоалексинів, фенольних сполук, білків, пов'язаних із патогенезом, а також формуванням фізичних бар'єрів, зокрема модифікацією клітинних стінок і кутикули [35]. Розрізняють індуковану системну резистентність і системну набуту резистентність. Під впливом біотичних стимулів, зокрема PGPR, що активуються специфічними молекулами-елісаторами, рослини набувають підвищеної стійкості до патогенів. До елісаторів належать полісахариди клітинної стінки, саліцилова та жасмонова кислоти, циклічні ліпопептиди, N-ацил-гомосерин-лактони, фітогормони та етилен [57, 63]. За результатами Azabou et al., ендофітний штам *B. velezensis* OEE1, виділений з коренів оливкових дерев, вирізнявся високим рівнем антагоністичної активності проти *V. dahliae* (інгібування 92%) [9].

Отже, сукупність прямих антагоністичних механізмів і здатність індукувати системну резистентність рослин зумовлюють високий потенціал ендофітних мікроорганізмів як ефективних агентів біоконтролю фітопатогенів. Використання ендофітів може забезпечити ефективні рішення для сталого підвищення

продуктивності сільського господарства і може використовуватися як доповнення або альтернатива агрохімікатам [5].

Сольовий стрес є однією з головних сільськогосподарських проблем, що знижує врожайність сільськогосподарських культур у посушливих і напівпосушливих регіонах світу. У природній системі такі абіотичні стреси як посуха та засолення діють як головне обмеження для росту, врожайності та якості культур [1, 25]. Посуха є серйозною загрозою росту рослин у багатьох частинах світу. Періоди посухи негативно впливають на численні аспекти фізіології рослин [11]. Наприклад, нестача води викликає осмотичний дисбаланс, пригнічує фотосинтез, зменшує поглинання поживних речовин і збільшує виробництво активних форм кисню (АФК) [47]. Рослини мають добре налагоджені механізми боротьби з таким стресом. Наприклад, накопичення осмолітів, які забезпечують захист клітинних органел рослин в умовах стресу. Однак за підвищених концентрацій солей цих механізмів недостатньо, щоб переносити постійний сольовий стрес. За таких умов зростає роль PGPR та ендofітних бактерій у полегшенні сольового стресу через модуляцію концентрації різних осмолітів і антиоксидантних ферментів [32, 72]. Ендofітна колонізація також може регулювати осмотичну здатність рослини шляхом зміни концентрації специфічних розчинених речовин, таких як пролін і деякі цукри в тканинах господаря, що підвищує стійкість рослини до посухи [47].

Мікроорганізми, корисні для сільського господарства, можуть безпосередньо (шляхом біологічної фіксації N_2 , підвищення доступності сполук фосфору та вироблення фітогормонів, тощо) або опосередковано (шляхом біосинтезу антимікробних сполук та індукції системної резистентності, тощо) сприяти поліпшенню врожаю. Існує велика потреба в біопрепаратах на основі мікроорганізмів, які підвищують продуктивність рослин [10].

Рослинний мікробіом значно розширює можливості адаптації рослин до мінливого середовища. Використання корисних взаємодій рослин і мікроорганізмів – це можливість оптимізації врожайності сільськогосподарських культур. Подальше розуміння системи взаємодій між рослинами та ґрунтовими

мікроорганізмами – перспективний спосіб розвитку сільського господарства за рахунок використання різноманітних переваг, що пропонуються рослинним мікробіомом [41].

У переліку сертифікованих / затверджених інокулянтів для використання в органічному виробництві на ринку України є 28 препаратів, у склад яких входять *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *B. elcanii*, *B. japonicum*, *B. lupini*, *Mezorhizobium ciceri*, *Penicillium bilaii*, *Rhizobium galegae*, *R. leguminosarum*, *R. phaseoli*, *Sinorhizobium meliloti*, *Trichoderma viride* [74], з чого можна зробити висновок, що ризобіальні та азотфіксувальні мікроорганізми викривуються як інокулянти доволі часто.

У категорії ендоефітних біопрепаратів, на ринку України наявний лише один – Блу Н (BlueN), ВП на основі *Methylobacterium symbioticum* від виробника Симборг С.Л./ТОВ «Дюпон Україна» [74], що підкреслює необхідність впровадження нових ендоефітних інокулянтів.

Ідея розробки консорціумів ризобій та корисних неризобіальних ендоефітних штамів в одному біопрепараті може бути дуже корисним підходом для стимулювання росту рослин в умовах абіотичного стресу, зокрема посухи, засолення, кислотності, перезволоження та інших стресів [26].

Отже, станом на сьогодні в Україні відсутні зареєстровані мікробні препарати, що поєднують у своєму складі ризобіальні та ендоефітні бактерії у вигляді функціональних консорціумів. У зв'язку з цим, розробка та впровадження таких препаратів є перспективним і науково обґрунтованим напрямом розвитку біотехнологій у рослинництві. Це обумовлює необхідність проведення наукових досліджень, спрямованих на створення ефективних ендоефітно-ризобіальних інокулянтів та їх подальшу адаптацію до умов сільськогосподарського виробництва України.

Таким чином, огляд існуючих літературних даних свідчить, про важливість вивчення ризосферних та неризобіальних ендоефітних мікробних угруповань, які відіграють важливу роль у стабілізації рослинних систем, забезпечуючи

комплексний захисний, стимулювальний та адаптогенний вплив, що зумовлює зростання врожайності та покращення якості зерна сої, зокрема в умовах посухи.

Незважаючи на велику увагу дослідників до вивчення фітосфери рослин багато питань потребують більш детальних досліджень. Зокрема, мало вивченими залишаються такі питання:

- представники яких таксонів прокаріотичних ендofітів можуть існувати у бульбочках сої одночасно з ризобіальними азотфіксаторами; які можливі міжвидові взаємодії між ними?
- яку функціональну активність проявляють окремі штами ендofітних бактерій, виділені з однакової еконіші?
- які фітозахисні і стресопротекторні властивості ендofітних бактерій впливають на адаптацію і продуктивність бобових рослин в умовах сучасних глобальних змін клімату?
- які перспективи практичного застосування ендofітно-ризобіальних інокулянтів для бобових культур?

Тому, наші дослідження було присвячено вивченню фізіолого-біохімічних та функціональних характеристик нових неризобіальних ендofітних ізолятів, встановленню їх впливу на мікробіоценоз ризосфери, адаптивний потенціал та продуктивність рослин сої у посушливих умовах.

Список використаних джерел до розділу 1

1. Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., Kadmiri, I. M. (2021). Nitrogen fixing azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
2. Adhikari, P., Joshi, K., & Pandey, A. (2023). Taxus associated fungal endophytes: anticancerous to other biological activities. *Fungal Biology Reviews*, 45, 100308. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2023.100308>
3. Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological research*, 221, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
4. Agrawal, S., Bhatt, A. (2023). Microbial endophytes: emerging trends and biotechnological applications. *Current Microbiology*, 80, 249. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03349-2>
5. Ahmed, A., He, P., He, Y., Singh, B. K., Wu, Y., Munir, S., & He, P. (2024). Biocontrol of plant pathogens in omics era—with special focus on endophytic bacilli, *Critical Reviews in Biotechnology*, 44(4):562-580. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2183379>
6. Aipova, R., Abdykadyrova, A.B., Kurmanbayev, A.A. (2020). Biological products in organic agriculture. *Plant biotechnology and breeding*, 2(4):36–41. <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-4-o4>
7. Anand, U., Pal, T., Yadav, N., Singh, V.K., Tripathi, V., Choudhary, K.K., Shukla, A.K., Sunita, K., Kumar, A., Bontempi, E. et al. (2023). Current scenario and future prospects of endophytic microbes: Promising candidates for abiotic and biotic stress management for agricultural and environmental sustainability. *Microbial Ecology*, 1–32. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02190-1>
8. Awuchi, C.G., Ondari, E.N., Ogbonna, C.U., Upadhyay, A.K., Baran, K., Okpala, C.O.R., Korzeniowska, M., Guine, R.P.F. (2021). Mycotoxins affecting animals,

- foods, humans, and plants: Types, occurrence, toxicities, action mechanisms, prevention, and detoxification strategies-A revisit. *Foods*, 10, 1279. <https://doi.org/10.3390/foods10061279>
9. Azabou, M.C., Gharbi, Y., Medhioub, I., Ennouri, K., Barham, H., Tounsi, S., & Triki, M.A. (2020). The endophytic strain *Bacillus velezensis* OEE1: An efficient biocontrol agent against *Verticillium* wilt of olive and a potential plant growth promoting bacteria. *Biological Control*, 142, 104168. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104168>
 10. Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Zeroual, Y., & Dhiba, D. (2018). Soil microbial resources for improving fertilizers efficiency in an integrated plant nutrient management system. *Frontiers in microbiology*, 9, 1606. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01606>
 11. Batool, A., Akram, N.A., Cheng, Z.G., Lv, G.C., Ashraf, M., Afzal, M., Xiong, J.L., Wang, J.Y., Xiong, Y.C. (2019). Physiological and biochemical responses of two spring wheat genotypes to non-hydraulic root-to-shoot signalling of partial and full root-zone drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139:11–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.001>
 12. Belachew, K. Y., Haarala, J. A., Schauman, C., & Stoddard, F. L. (2026). Challenges and opportunities in protein crop production: Finnish farmers' perspectives on legumes and oilseeds. *European Journal of Agronomy*, 175, <https://doi.org/10.1016/j.eja.2026.128010>
 13. Caruso, D.J., Palombo, E.A., Moulton, S.E., Zaferanloo, B. (2022). Exploring the promise of endophytic fungi: a review of novel antimicrobial compounds. *Microorganisms*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101990>
 14. Chaudhary, P., Agri, U., Chaudhary, A., Kumar, A., & Kumar, G. (2022). Endophytes and their potential in biotic stress management and crop production. *Frontiers in microbiology*, 13, 933017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933017>
 15. Cosme, M., Lu, J., Erb, M., Stout, M.J., Franken, P., Wurst, S. (2016). A fungal endophyte helps plants to tolerate root herbivory through changes in gibberellin

- and jasmonate signaling. *New Phytologist*, 211:1065–1076.
<https://doi.org/10.1111/nph.13957>
- 16.del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Santoyo, G. (2021). Plant-microbial endophytes interactions: scrutinizing their beneficial mechanisms from genomic explorations. *Current Plant Biology*, 25, 100189.
<https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100189>
 - 17.Fauziah, F., Setiawati, M.R., Pranoto, E., Susilowati, D.N., Rachmiati, Y. (2019). Effect of indigenous microbes on growth and blister blight disease of tea plant. *Journal of Plant Protection Research*, 59(4):529–534.
<https://doi.org/10.24425/jppr.2019.131264>
 - 18.Firdous, J., Lathif, N.A., Mona, R., Muhamad, N. (2019). Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review. *Indian Journal of Agricultural Research*, 53(1):1–7. <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-366>
 - 19.Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). *The future of food and agriculture: Alternative pathways to 2050*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 - 20.Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., & Shay, J. E. (2017). Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*, 5(4), 70.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms5040070>
 - 21.Geisen, S., Kostenko, O., Cnossen, M. C., Ten Hooven, F. C., Vreš, B., & van Der Putten, W. H. (2017). Seed and root endophytic fungi in a range expanding and a related plant species. *Frontiers in microbiology*, 8, 1645.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01645>
 - 22.Goss-Souza, D., Mendes, L.W., Borges, C.D., Rodrigues, J.L.M., Tsai, S.M. (2019). Amazon forest-to-agriculture conversion alters rhizosphere microbiome composition while functions are kept. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(3):1–13.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiz009>
 - 23.Guo, M., Gong, Z., Miao, R., Su, D., Li, X., Jia, C., Zhuang, J. (2017). The influence of root exudates of maize and soybean on polycyclic aromatic

- hydrocarbons degradation and soil bacterial community structure. *Ecological Engineering*, 99:22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.018>
24. Harrison, J. G., & Griffin, E. A. (2020). The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? *Environmental microbiology*, 22(6), 2107–2123. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14968>
 25. Hassan, T. U., Bano, A., & Naz, I. (2017). Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field. *International journal of phytoremediation*, 19(6), 522-529. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1267696>
 26. Hassen, A. I., Muema, E. K., Diale, M. O., Mpai, T., & Bopape, F. L. (2025). Non-rhizobial endophytes (NREs) of the nodule microbiome have synergistic roles in beneficial tripartite plant–microbe interactions. *Microorganisms*, 13(3), 518. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030518>
 27. He, H., Li, Y., Zhang, L., Ding, Z., & Shi, G. (2023). Understanding and application of *Bacillus* nitrogen regulation: A synthetic biology perspective. *Journal of Advanced Research*, 49, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.09.003>
 28. Igiehon, N. O., Babalola, O. O., Cheseto, X., & Torto, B. (2021). Effects of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi on yield, size distribution and fatty acid of soybean seeds grown under drought stress. *Microbiological Research*, 242, 126640. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126640>
 29. Jaiswal, S. K., Mohammed, M., Ibny, F. Y., & Dakora, F. D. (2021). Rhizobia as a source of plant growth-promoting molecules: potential applications and possible operational mechanisms. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 619676. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.619676>
 30. Jamily, A.S., Koyama, Y., Win, T.A., Toyota, K., Chikamatsu, S., Shirai, T., Uesugi, T., Murakami, H., Ishida, T., Yasuhara, T. (2019). Effects of inoculation with a commercial microbial inoculant *Bacillus subtilis* C-3102 mixture on rice and barley growth and its possible mechanism in the plant growth stimulatory

- effect. *Journal of Plant Protection Research*, 59(2):193–205. <https://doi.org/10.24425/jppr.2019.129284>
31. Kandel, S. L., Joubert, P. M., & Doty, S. L. (2017). Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganisms*, 5(4), 77. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077>
 32. Karnwal A. (2019). Screening, isolation and characterization of culturable stress-tolerant bacterial endophytes associated with *Salicornia brachiata* and their effect on wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays*) growth. *Journal of Plant Protection Research*, 59(3):293–303. <https://doi.org/10.24425/jppr.2019.129747>
 33. Kaur, J., & Pandove, G. (2023). Understanding the beneficial interaction of plant growth promoting rhizobacteria and endophytic bacteria for sustainable agriculture: a bio-revolution approach. *Journal of Plant Nutrition*, 46(14), 3569–3597. <https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2206425>
 34. Khan, M S, Gao, J, Chen, X, Zhang, M, Yang, F, Du, Y, Moe, T S, Munir, I, Xue, J, Zhang, X. (2020). Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Endophytic Bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1 from *Lilium lancifolium*. *BioMed Research International*, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02294-2>
 35. Kohl, J., Kolnaar, R., Ravensberg, W.J. (2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10:1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
 36. Kumar, A. (2022). Microbial biocontrol: food security and post harvest management. *Springer: Cham, Switzerland*, 2, 1–334. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-87289-2>
 37. Kumar, A. (2022). Microbial biocontrol: sustainable agriculture and phytopathogen management. *Springer: Cham, Switzerland*, 1, 1–369. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-87512-1>
 38. Kumari, M., Qureshi, K.A., Jaremko, M., White, J.F., Singh, S.K., Sharma, V.K., Singh, K.K., Santoyo, G., Puopolo, G., Kumar, A. (2022). Deciphering the role of endophytic microbiome in postharvest diseases management of fruits:

- Opportunity areas in commercial up-scale production. *Frontiers in Plant Science* 13, 1026575. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1026575>
39. Kushwaha, P., Kashyap, P.L., Kuppusamy, P. et al. (2020). Functional characterization of endophytic bacilli from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) and their possible role in multiple stress tolerance. *Plant Biosystems*, 154(4):503-514. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1651773>
 40. Leggett, M., Diaz-Zorita, M., Koivunen, M., Bowman, R., Pesek, R., Stevenson, C., & Leister, T. (2017). Soybean response to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* in the United States and Argentina. *Agronomy journal*, 109(3), 1031-1038. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.04>
 41. Liu, F., Hewezi, T., Lebeis, S.L., Pantalone, V., Grewal, P.S., Staton, M.E. (2019). Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly. *BMC Microbiology*, 19(201):1–19. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1572-x>
 42. Martinez-Medina, A., Fernandez, I., Lok, G.B., Pozo, M.J., Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M. (2017). Shifting from priming of salicylic acid to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *New Phytologist*, 213:1363–1377. <https://doi.org/10.1111/nph.14251>
 43. Matsumoto, H., Fan, X., Wang, Y., Kusstatscher, P., Duan, J., Wu, S., Chen, S., Qiao, K., Wang, Y., Ma, B., Zhu, G., Hashidoko, Y., Berg G., Cernava, T., Wang, M. (2021). Bacterial seed endophyte shapes disease resistance in rice. *Nature Plants*, 7(1):60–72. <https://doi.org/10.1128/msphere.00765-24>
 44. Mayhood, P., & Mirza, B. S. (2021). Soybean root nodule and rhizosphere microbiome: distribution of rhizobial and nonrhizobial endophytes. *Applied and environmental microbiology*, 87(10), e02884-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02884-20>
 45. Mendoza-Suárez, M. A., Geddes, B. A., Sánchez-Cañizares, C., Ramírez-González, R. H., Kirchhelle, C., Jorin, B., & Poole, P. S. (2020). Optimizing *Rhizobium*-legume symbioses by simultaneous measurement of rhizobial

- competitiveness and N₂ fixation in nodules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(18), 9822-9831.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1921225117>
46. Mertens, M., Höss, S., Neumann, G., Afzal, J., & Reichenbecher, W. (2018). Glyphosate, a chelating agent—relevant for ecological risk assessment? *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6), 5298-5317.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-1080-1>
47. Miranda, V., Silva-Castro, G.A., Ruiz-Lozano, J.M., Fracchia, S., Garcia-Romera, I. (2023). Fungal endophytes enhance wheat and tomato drought tolerance in terms of plant growth and biochemical parameters. *Journal of Fungi*, 9(3), 384. <https://doi.org/10.3390/jof9030384>
48. Morales-Cedeno, L. R., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Loeza-Lara, P. D., Parra-Cota, F. I., de Los Santos-Villalobos, S., & Santoyo, G. (2021). Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre-and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. *Microbiological Research*, 242, 126612.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126612>
49. Mushtaq, S., Shafiq, M., Tariq, M.R., Sami, A., Nawaz-ul-Rehman, M.S., Bhatti, M.H.T., Haider, M.S., Sadiq, S., Abbas, M.T., Hussain, M., et al. (2023). Interaction between bacterial endophytes and host plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1092105. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1092105>
50. Muthu Narayanan, M., Ahmad, N., Shivanand, P., & Metali, F. (2022). The role of endophytes in combating fungal- and bacterial-induced stress in plants. *Molecules*, 27, 6549. <https://doi.org/10.3390/molecules27196549>
51. Nath, A., Sharma, A., Singh, S.K. et al. (2024). Bio prospecting of endophytes and PGPRs in artemisinin production for the socio-economic advancement. *Current Microbiology*, 81, 4. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03516-5>
52. Okutani, F., Hamamoto, S., Aoki, Y., Nakayasu, M., Nihei, N., Nishimura, T., Yazaki, K., Sugiyama, A. (2019). Rhizosphere modelling reveals spatiotemporal

- distribution of daidzein shaping soybean rhizosphere bacterial community. *Plant, Cell & Environment*, 43:1036–1046. <https://doi.org/10.1111/pce.13708>
53. Pandit, M.A., Kumar, J., Gulati, S., Bhandari, N., Mehta, P., Katyal, R., Rawat, C.D., Mishra, V., Kaur, J. (2022). Major biological control strategies for plant pathogens. *Pathogens*, 11(273):1–21. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020273>
54. Peay, K.G., Kennedy, P.G., Talbot, J.M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14:434–447. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59>
55. Ramlal, A., Rajendran, R. A., Lal, S. K., & Chigeza, G. (2026). Soybean: The path ahead. In *Soybeans* (pp. 351–363). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/9781998511730-20>
56. Raza, A., Zahra, N., Hafeez, M. B., Ahmad, M., Iqbal, S., Shaukat, K., & Ahmad, G. (2020). Nitrogen fixation of legumes: Biology and physiology. In *The plant family Fabaceae: Biology and physiological responses to environmental stresses* (pp. 43–74). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4752-2_3
57. Romana Anjum, R. A., Muneeb Afzal, M. A., Raheel Baber, R. B., Khan, M. A. J., Wasima Kanwal, W. K., Wajiha Sajid, W. S., & Asfand Raheel, A. R. (2019). Endophytes: as potential biocontrol agent-review and future prospects. *Journal of Agricultural Science*. 11. 113-125. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n4p113>
58. Samreen, T., Naveed, M., Nazir, M. Z., Asghar, H. N., Khan, M. I., Zahir, Z. A., ... & Choudhary, M. (2021). Seed associated bacterial and fungal endophytes: Diversity, life cycle, transmission, and application potential. *Applied Soil Ecology*, 168, 104191. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104191>
59. Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. D. L., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021). Plant growth stimulation by microbial consortia. *Agronomy*, 11(2), 219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
60. Sharma, G., Agarwal, S., Verma, K., Bhardwaj, R., & Mathur, V. (2023). Therapeutic compounds from medicinal plant endophytes: molecular and

- metabolic adaptations. *Journal of Applied Microbiology*, 134(4), 1xad074.
<https://doi.org/10.1093/jambio/1xad074>
- 61.Sharma, G., Guleria, R., & Mathur, V. (2020). Differences in plant metabolites and microbes associated with *Azadirachta indica* with variation in air pollution. *Environmental Pollution*, 257, 113595.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113595>
 - 62.Shea, Z., Ogando do Granja, M., Fletcher, E. B., Zheng, Y., Bewick, P., Wang, Z., Singer, W. M., & Zhang, B. (2024). A Review of Bioactive Compound Effects from Primary Legume Protein Sources in Human and Animal Health. *Current issues in molecular biology*, 46(5), 4203–4233.
<https://doi.org/10.3390/cimb46050257>
 - 63.Singh, V. K., Singh, A. K., & Kumar, A. (2017). Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *3 Biotech*, 7(4), 255.
<https://doi.org/10.1007/s13205-017-0896-1>
 - 64.Song, Z., Kennedy, P. G., Liew, F. J., & Schilling, J. S. (2017). Fungal endophytes as priority colonizers initiating wood decomposition. *Functional Ecology*, 31(2), 407-418. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12735>
 - 65.Sugiyama, A. (2019). The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond—A review. *Journal of advanced research*, 19, 67-73.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>
 - 66.Sugiyama, A., Unno, Y., Ono, U., Yoshikawa, E., Suzuki, H., Minamisawa, K., & Yazaki, K. (2017). Assessment of bacterial communities of black soybean grown in fields. *Communicative & Integrative Biology*, 10(5-6), 1–8.
<https://doi.org/10.1080/19420889.2017.1378290>
 - 67.Szpunar-Krok, E., Bobrecka-Jamro, D., Pikuła, W., & Jańczak-Pieniążek, M. (2023). Effect of nitrogen fertilization and inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* on nodulation and yielding of soybean. *Agronomy*, 13(5), 1341.
<https://doi.org/10.3390/agronomy13051341>

68. Tanvir, R., Javeed, A., & Rehman, Y. (2018). Fatty acids and their amide derivatives from endophytes: New therapeutic possibilities from a hidden source. *FEMS Microbiology letters*, 365(12), 1–7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny114>
69. Truyens, S., Weyens, N., Cuypers, A., & Vangronsveld, J. (2015). Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1), 40-50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>
70. Zhang, B., Zhang, J., Liu, Y., Shi, P., & Wei, G. (2018). Co-occurrence patterns of soybean rhizosphere microbiome at a continental scale. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 178-186. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.011>
71. Zhang, X., Ma, Y. N., Wang, X., Liao, K., He, S., Zhao, X., ... & Wei, H. L. (2022). Dynamics of rice microbiomes reveal core vertically transmitted seed endophytes. *Microbiome*, 10(1), 216. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01422-9>
72. Zhao, S., Zhou, N., Zhao, Z. Y., Zhang, K., Wu, G. H., & Tian, C. Y. (2016). Isolation of endophytic plant growth-promoting bacteria associated with the halophyte *Salicornia europaea* and evaluation of their promoting activity under salt stress. *Current Microbiology*, 73(4), 574-581. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1096-7>
73. Zhu, D., Ouyang, L., Xu, Z., & Zhang, L. (2015). Rhizobacteria of *Populus euphratica* promoting plant growth against heavy metals. *International journal of phytoremediation*, 17(10), 973-980. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.981242>
74. Галашевський С., & Гавран, І. (2024). ПЕРЕЛІК допоміжних продуктів та методів, дозволених для використання в органічному виробництві. ТОВ «Органік Стандарт», Київ, 2024 р. С. 150

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Мікроорганізми і матеріали, використані у роботі

Мікроорганізми:

У роботі були використані такі мікроорганізми:

- високоефективні штами бульбочкових бактерій сої – *B. japonicum* В-6018, В-6023 та УКМ В-6035, які були виділені з бульбочок рослин сої *Glycine max* (L.) Merr співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України Антипчук А.Ф. та Сковчинською Н.Н. [24]. На основі цих штамів було розроблено комплексний мікробний препарат Ризобін^К. Штами формують на коренях сої активний азотфіксувальний апарат та сприяють підвищенню урожаю. Дані штами відрізняються між собою за спектрами синтезованих фітогормонів [31], тому вони взаємно доповнюють один одного у комплексі і забезпечують сою необхідними фітогормонами для кращого росту і розвитку;
- ендofітні бактерії, виділені з поверхнево-стерилізованих бульбочок сої співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ: *Paenibacillus* sp. 1, *Ochrobactrum* sp. 2, *Paenibacillus* sp. 3, *Bacillus* sp. 4, *Bacillus* sp. 5, *Pseudomonas* sp. 6 [26];
- фітопатогенні мікроміцети *F. oxysporum* 080721 та *A.alternata* 150721, виділені з уражених рослин сої, використані як тест-культури з колекції лабораторії фітопатології Інституту захисту рослин НААН України;
- фітопатогенні бактерії *X. axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1065, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1066, *X. axonopodis* pv. *glycines* УКМ В-1162, *X. vesicatoria* УКМ В-1105, *X. vesicatoria* 7790, *X. cucurbitae* УКМ В-1063, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂, використані як тест-культури, та *P. savastanoi* pv. *glycinea* УКМ В-1150 використаний у лабораторно-вегетаційних дослідках були отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАН України.

Рослини сої:

У лабораторно – вегетаційних та польових дослідах були використані сорти:

- Скульптор – дуже ранній, середньоолійний сорт сої з високою стійкістю до вилягання та хвороб. Рослини швидко розвиваються на ранніх стадіях, що дозволяє швидко закрити ґрунт та ефективно протистояти бур'янам. Сорт характеризується високим вмістом протеїнів (42%), рекомендований для виготовлення соєвого молока. Районований для Полісся, Лісостепу, Степу [19].
- Танаїс – скоростиглий, середньоолійний, зерновий, посухостійкий сорт. Стійкий до ураження хворобами та шкідниками, високо стійкий до полягання, осипання, розтріскування. Має високий вміст білка (41-42%) та олії (20-21%). Районований для зони Полісся [19].
- Діона – ультраскоростиглий сорт, який характеризується коротким вегетаційним періодом, підвищеною адаптацією до несприятливих умов вирощування, а також високою стійкістю до основних хвороб. В зерні міститься 37-42% білка і 19-23% олії. Рекомендується для вирощування в Лісостепу та Поліссі [27].
- Святогор – середньостиглий, стійкий до вилягання, посухи, осипання та ураження хворобами сорт, адаптується до різноманітних ґрунтово-кліматичних умов вирощування. Вміст білка складає 39-40 %, олійність – 20,5-21,5%. Рекомендований для вирощування на зерно в зоні Полісся [27].

2.2. Методи культивування бактерій

Культивування бактерій в рідких середовищах здійснювали в колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл на качалці (220 об/хв) за температури 28-30°C впродовж 72-96 год в рідких поживних середовищах і поверхнево на агаризованих середовищах [9]:

Середовище бобове готували на гороховому відварі (до 100 г гороху додавали 1 л води і кип'ятили протягом 0,5 год), який використовували для приготування середовища через 10-12 год. Додавали на 1 л горохового відвару (г): NaCl – 1,0; сахарози – 10,0; рН 6,8-7,0.

Середовище Ісварана: на 1 л дистильованої води (г): NaCl – 0,1; $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ – 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2; $FeCl_3$ – 0,01; маніт – 10,0; глюканат кальцію – 1,5; дріжджовий екстракт – 2,0; для щільного поживного середовища також додавали 20 г агару, pH 7,0 [25].

Комплексний мікробний препарат Ризобін^К готували на основі чотирьохдобових культур окремо вирощених на середовищі Ісварана трьох штамів бульбочкових бактерій сої *B. japonicum* УКМ В-6018, УКМ В-6023 та УКМ В-6035 у фазі початку стаціонарного росту. Культури змішували у співвідношенні 1:1:1. Для вирощування бактерій-біоагентів препарату посівний матеріал вносили в кількості не менше, ніж 5% від загального об'єму середовища. Густина суспензії ризобій для інокуляції насіння становила не менше 10^9 КУО на мл біопрепарату [9]. Титр мікроорганізмів в інокулянті перевіряли методом граничних розведень суспензії з наступним висівом на агаризоване середовище Ісварана [25].

2.3. Визначення стійкості ендofітів до абіотичних факторів

2.3.1. Визначення чутливості ендofітів і ризобій до фунгіцидів та інсектицидів

У лабораторних умовах перевіряли штами ендofітів та ризобій на чутливість до сучасних фунгіцидів та інсектицидів методом лунок. Для цього рідкі дводобові культури ендofітів, вирощені на середовищі Ісварана рівномірно засівали методом суцільного покриву (газону) у чашки Петрі з агаризованим середовищем Ісварана за допомогою стерильного шпателя. У агарі за допомогою стерильного свердла з нержавіючої сталі пробивали лунки (діаметром 6 мм). Лунки заповнювали розчинами пестицидів з використанням концентрацій, рекомендованих виробниками для обробки насіння. Чашки Петрі поміщали у термостат на 48 годин за температури 28°C. Діаметри зон інгібування вимірювали в міліметрах [13].

У дослідженнях використовували:

- Вайбранс РФС (діючі речовини: 25 г/л флудиоксоніл, клас фенілпіроли, пригнічує фосфорилування глюкози в процесі клітинного дихання, порушує функції клітинних мембран; 37,5 г/л металаксил-М, клас феніламідів; 50 г/л седаксан, клас карбоксамідів, бере участь на рівні енергетичного обміну в клітинах патогенів і пригнічує метаболізм грибів, а також фермент сукцинатдегідрогенази в процесі клітинного дихання; «Syngenta», Швейцарія) – фунгіцид-протруювач, що застосовується для фунгіцидного захисту бобових;

- Максим XL (діючі речовини: 25 г/л флудиоксоніл, клас фенілпіроли, захищає насіння від інфекції в насіннєвому ложі; 10 г/л металаксил-М, клас феніламідів, надійно захищає насіння від інфекції на поверхні та всередині; «Сингента», Швейцарія) – препарат системної і контактної дії для боротьби з ґрунтовими й насіннєвими інфекціями та хворобами сходів;

- Кватрофорс (діючі речовини: 50 г/л флутриафол, блокує біосинтез ергостерину, порушуючи утворення клітинної оболонки та розвиток гіфів міцелію, що призводить до загибелі клітини патогена; 40 г/л імазаліл, пригнічує біосинтез стеринів в мембранах клітин фітопатогенів; 30 г/л металаксил-М, пригнічує синтез усіх видів РНК, що призводить до уповільнення та порушення мітозу в клітинах збудника; 20 г/л піраклостробін, інгібує дихання патогена; «Агрохімічні технології», Україна) – чотирьохкомпонентний фунгіцидний протруйник з рістстимулюючою дією;

- Сферіко (діючі речовини: 20 г/л кіралаксил, клас феніламідів, блокує ріст міцелію гриба, а також виконує дію вторинного контакту, пригнічуючи проростання зооспор; 25 г/л флудиоксоніл, клас фенілпіроли, утворює захисну оболонку навколо насіннєвого матеріалу; «ADAMA», Китай) – контактнo-системний фунгіцидний протруйник насіння сої, гороху та нуту, що забезпечує високу біологічну ефективність проти основних хвороб, що передаються через насіння та ґрунт;

- Стандак Топ (діючі речовини: 250 г/л фіпроніл, блокує гамма-аміномасляну кислоту (ГАМК), яка регулює проходження нервового імпульсу через

хлоріонні канали в мембранах нервових клітин, викликаючи порушення функції нервової системи комах; 25 г/л піраклостробін, перешкоджає мітохондріальному диханню, блокуючи перенесення електронів, та порушує обмін енергії в клітині гриба; 225 г/л тіофанат метил, пригнічує утворення ергостеролу, а також біосинтез нуклеїнових кислот у клітинах грибів; «BASF», Німеччина) – протруйник для контролю основних хвороб та шкідників сої;

- Командор Екстра (діючі речовини: 600 г/л імідаклоприд, клас хлорнікотинілів, діє на нервову систему комах, блокуючи передачу нервового імпульсу на рівні ацетилхолінового рецептора постсинаптичної мембрани, що призводить до паралічу і загибелі шкідників; «ALFA Smart Agro», Україна) – системний інсектицидний протруйник контактно-кишкової дії для обробки насіння з метою захисту рослин від широкого спектру шкідників;

- Командор Гранд (діючі речовини: 500 г/л імідаклоприд, клас хлорнікотинілів; 50 г/л альфа-циперметрин, клас піретроїдів, порушує проникність клітинних мембран та блокує натрієві канали; «ALFA Smart Agro», Україна) – двокомпонентний інсектицид контактно-системної дії для обробки насіння з метою захисту від ґрунтових та наземних шкідників;

- Тіатрин (діючі речовини: 500 г/л тіаметоксам, швидко поглинається рослиною і пересувається по ксилемі до необроблених частин рослини, впливаючи на нікотиново-ацетил-холінові рецептори нервової системи комах; 50 г/л бета-цифлутрин, діє на обмін кальцію в синапсах і натрій-калієвих каналах, порушує функцію нервової системи; «Агрохімічні технології (АХТ)», Україна) – високоефективний двокомпонентний інсектицидний протруйник контактною та системною дією з потужним репелентним ефектом для захисту насіння і сходів зернових, соняшнику, кукурудзи.

2.3.2 Визначення здатності ендofітів до росту за різних температур

Здатність ендofітних штамів рости за різних температурних умов перевіряли культивуванням 0,1 мл культуральної суспензії (титр не менше 10^9

КУО на мл) у пробірках на агаризованому середовищі Ісварана за +7°C, +17°C, +28°C, +37°C та +42°C протягом 2 діб. Для забезпечення однакової площі скошеної поверхні агару в усі пробірки вносили рівний об'єм живильного середовища – по 5 мл. Дослід проводили у трьох повторностях. Змиви з культур отримували шляхом додавання до кожної пробірки 10 мл стерильної води з подальшим вирівнюванням густини суспензій відповідно до стандарту мутності на 10 одиниць. Встановлення кількості життєздатних клітин проводили шляхом висіву граничних розведень на середовище Ісварана. Результати представляли кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО), які вирости за різних температур.

2.4. Дослідження антагоністичних та біоконтролюючих властивостей ендofітних бактерій щодо фітопатогенних мікроорганізмів

2.4.1. Визначення антагоністичної активності ендofітних бактерій щодо збудників бактеріозів

Антагоністичну активність ендofітних бактерій щодо збудників бактеріозів бобових та овочевих культур визначали в лабораторних експериментах методом агарових блоків [3]. Тест-об'єктами були штами, отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ: збудники хвороб бобових *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1066, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1065 та *X. axonopodis* pv. *glycines* УКМ В-1162, а також збудники бактеріозів овочевих культур *X. vesicatoria* УКМ В-1105, *X. vesicatoria* 7790, *X. cucurbitae* УКМ В-1063, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂.

2.4.2. Визначення антифунгальної активності ендofітних бактерій у лабораторних умовах

Антифунгальну активність ендofітних штамів визначали методом пророщування спор фітопатогенних грибів у розчинах супернатантів рідких культур ендofітів на предметних стеклах у вологій камері [5]. Тест-об'єктами були спори, отримані з 3-х тижневих культур *F. oxysporum* 080721 та *A. alternata* 150721, виділені із уражених рослин. Для дослідів використовували рідкі

культури ендоефітів, які вирощували на середовищі Ісварана протягом 2 діб, після чого центрифугували при 10000 об. 10 хв (центрифуга Eppendorf 5810 R, Німеччина) для отримання супернатантів, після чого пропускали їх через шприцеві фільтри 0.22 мкм. Відсутність клітин у супернатанті перевіряли шляхом мікроскопіювання. Спочатку кілька крапель розчинів супернатантів наносили на предметне скло мікродозатором, а потім туди ж додавали суспензію спор фітопатогенів. У контрольному варіанті на предметне скло наносили суспензії спор фітопатогенів та еквівалентну кількість стерильної води.

За допомогою камери Горяєва визначали концентрацію спор, вона становила не менше 10^5 - 10^6 спор/мл. Предметні стекла з краплями сумішей бактеріальних супернатантів і суспензій спор фітопатогенів розміщували у вологих камерах у чашках Петрі та залишали у термостаті на 20-24 год. за температури 20-22°C для проростання спор. Експеримент проводили у 6-разовій повторності. У кожній краплі підраховували кількість пророслих і непророслих спор, а також вивчали морфологію. Відсоток інгібування розраховували згідно формули Еббота:

$$I (\%) = [(G_c - G_t) / G_c] \times 100,$$

де I (%) – це інгібування проростання спор (%), G_c і G_t означають середню кількість пророслих конідій у контролі та у дослідних варіантах відповідно [5].

2.4.3. Встановлення біоконтролюючого потенціалу ендоефітів за штучного зараження у лабораторно-вегетаційних дослідях

Захисний ефект ендоефітних бактерій проти фітопатогенів сої досліджували в лабораторно-вегетаційному досліді за умов обробки насіння препаратом Ризобін^К окремо або у композиції з культуральними рідинами ендоефітних бактерій з нормою витрат 1,0 л/т. Для кожного ендоефітного штаму, дизайн експерименту включав 6 варіантів: 1 – контроль (обробка стерильною водою), 2-4 – обробка насіння ризобіально-ендоефітними композиціями, 5 і 6 – обробка насіння ризобіально-ендоефітними композиціями та обприскування вегетуючих рослин супернатантами рідких культур ендоефітів. Для дослідів було відібрано

непошкоджене каліброване насіння сої *Glycine max* (L.) Merr. сортів Танаїс та Скульптор. Інокуляційне навантаження становило $1 \cdot 10^7$ кл./нас. Після інокуляції насіння витримували протягом 1 години, потім висаджували у горщики. Роботу проводили в 2023 – 2024 рр. у вегетаційному будинку Інституту захисту рослин НААН України в пластикових горщиках ємністю 3 кг ґрунту у 6-х повтореннях (використовували 6 горщиків на варіант по 5 рослин у кожному). Рослини вирощували у темно-сірому опідзоленому ґрунті, звільненому від каміння та кореневищ, просіяному через сито. У фазі 2-3 справжніх листків проводили обприскування рослин супернатантами рідких культур ендоефітів, як передбачено схемою дослідження. Через добу після обробки у всіх дослідних варіантах та у контролі відбирали листки різних ярусів та заражали в лабораторних умовах суспензіями спор *A. alternata* 150721 і *F. oxysporum* 080721 або *P. savastanoi pv. glycinea* УКМ В-1150. Листки витримували у вологій камері протягом 5-6 діб, після чого визначали ступінь ураження листків за 6-бальною шкалою: 0 – ураження немає; 0,1 – поодинокі плями; 1 – до 10 незначних плям на листку (уражено 1-5% площі); 2 – ураження охоплює до 10% поверхні листка; 3 – ураження охоплює до 25% поверхні листка; 4 – ураження охоплює до 50% поверхні листка; 5 – сильне пошкодження, уражено до 75% поверхні; 6 – повне пошкодження, листок гниє та гине (ураження понад 75% площі листка). Після чого розраховували ступінь розвитку хвороби і захисний ефект [21].

2.4.4 Визначення здатності ендоефітів до синтезу сидерофорів

Утворення ендоефітами сидерофорів визначали якісною реакцією на хром-азурол S(CAS) блакитному агарі з гексадецилтриметиламоній бромідом (HDTMA) як кольоровим індикатором згідно з описаним методом [18].

Аналіз за допомогою хром азурол S (CAS) є універсальним методом, який виявляє сидерофори незалежно від їх структури. Позитивним результатом вважається зміна синього кольору агару, що опосередковується за рахунок комплексування іонів Fe^{3+} з комплексу Fe-CAS-гексадецилтриметиламоній бромід

хелатуючими агентами, що викликає перебудову та уможливорює вивільнення барвника CAS.

Fe^{3+} -барвник (синій) + сидерофор $\rightarrow$ Fe^{3+} -сидерофор + барвник (помаранчевий)

У традиційному тесті на агарі CAS зміна кольору від блакитного до фіолетового вказує на утворення сидерофорів типу катехолу, зміна кольору від синього до оранжевого – на утворення сидерофорів типу гідроксамату, а утворення повністю прозорої або світло-жовтої зони на синьому агарі вказує на виробництво карбоксилатних сидерофорів [7].

Приготування CAS проводили за таким методом. Послідовно в скляних колбах готували наступні розчини:

А: 0,0605 г барвника хромазуrola S у 50 мл дистильованої H_2O ;

Б: 0,0027 г 1мМ FeCl_3 х 6 H_2O у 10 мл 10 мМ HCl ;

В: 0,073 г гексадецилтриметиламоній броміду (HDTMA: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{Br})(\text{CH}_3)_3$) у 40 мл дистильованої H_2O .

Розчин А змішували з 10 мл розчину Б, після чого додавали до розчину В, постійно струшуючи. Отриманий після автоклавування при 0,5 атм протягом 30 хв розчин насиченого синього кольору додавали до 900 мл стерильного агаризованого середовища Ісварана та розливали в стерильні чашки Петрі. У центр чашки висівали 5 мкл добової культури досліджуваного штаму і залишали на 5–10 хв у боксі для підсихання крапель. Культивування проводили за температури 28 °С впродовж 5–7 діб. Як контроль використовували незасіяне середовище. Експеримент проводили у трьох повторностях. Наявність сидерофорів визначали шляхом спостереження за зміною кольору CAS-агару, що слугувало якісною оцінкою процесу хелатування заліза [10].

Для визначення типів продукованих ендофітами сидерофорів та їх кількісного визначення одноклобові культури культивували 48 год за 28 °С та 180 об/хв на рідкому беззалізному сукцинатному середовищі (succinate medium, SM) наступного складу: 4 г бурштинової кислоти, 6 г K_2HPO_4 х 3 H_2O , 3 г KH_2PO_4 , 0,2 г MgSO_4 х 7 H_2O та 1 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ на 1 л дистильованої води, pH = 7,5. Після

культивування для видалення клітин культуральну рідину центрифугували за 10000 об. 10 хв (центрифуга Eppendorf 5810 R, Німеччина), а супернатант зберігали за 4 °С для подальшого дослідження [11].

Для виявлення сидерофорів гідроксаматного типу у супернатанті проводили тетразолієвий тест: до 100 мкл супернатанту додавали щіпку 2,3,5-трифенілтетразолію хлориду ($C_{19}H_{15}ClN_4$) та 1-2 краплі 2Н NaOH. Позитивний результат супроводжується появою червоного відтінку [15].

Для виявлення сидерофорів катехолатного типу у супернатанті проводили тест Арнова: до 1 мл супернатанту додавали 1 мл 0,5М HCl, 1 мл реактиву Арнова (10 г $NaNO_2$ та 10 г $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$ у 50 мл дистильованої води) та 1 мл 1М NaOH. За наявності досліджуваного типу сидерофорів реакційна суміш змінює колір після 10-хвилинної інкубації з жовтого на червоно-рожевий [2].

Кількість синтезованих ендofітними штамми сидерофорів оцінювали за допомогою тесту CAS. До 0,5 мл розчину для тесту CAS додавали 0,5 мл супернатанта і вимірювали оптичну густину при 630 нм. Кількість сидерофорів розраховували за наступною стандартною формулою і виражали в сидерофорних одиницях (%SU):

$$\%SU (\text{сидерофорні одиниці}) = ((Ar - As) / Ar) \times 100,$$

де «Ar» — еталонна оптична густина, а «As» — оптична густина зразка при 630 нм [17].

2.5 Морфологічна, фізіолого-біохімічна та геномна характеристика ендofітних бактерій

Морфологічні властивості досліджуваних штамів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 вивчали з використанням світлового (Carl Zeiss Jena Microscope, Німеччина) та електронного мікроскопів (Jeol Jem 1400 Electron Microscope, Японія). Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей досліджуваних штамів проводили з використанням автоматизованої системи ідентифікації мікроорганізмів Vitek 2 (BioMérieux, Франція).

Виділення ДНК проводили з використанням мікробного набору DNeasy®UltraClean® Microbial Kit. Якість ДНК досліджували за допомогою спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США). Повногеномне секвенування штаму проводили за допомогою Illumina NovaSeq 2x150 п.н. (GATC Biotech, Констанц, Німеччина), що забезпечує приблизно 6,2 млн парних зчитувань по 150 п.н. Геном було зібрано за допомогою Velvet Zerbino (v1.2.10) [23]. Метод збірки - SPAdes v4.0.0, покриття геному: 420.53 ± 133.01.

Аналіз середньої нуклеотидної ідентичності на основі BLAST+ (ANIb) проводили за допомогою JSpecies Web Server [16]. Філогенетичне дерево було візуалізовано в програмі MEGA 11.0.13 [20]. Для його побудови було використано послідовності близьких видів групи *Bacillus subtilis*, а також більш віддалених представників роду *Bacillus*. Як аутгрупу використано *Staphylococcus aureus* для коректного вкорінення дерева. Надійність кластеризації оцінювали методом bootstrap з 1000 реплікацій.

Анотування геному проводили за допомогою RAST Server (Rapid Annotation using Subsystem Technology) [6]. Кластери біосинтетичних генів та вторинні метаболіти прогнозували за допомогою інструменту antiSMASH, версія 7.0 [4]. Схожість геномів досліджуваних ізолятів із типовим штамом *B. velezensis* FZB42 перевіряли за допомогою сервісу Orthologous Average Nucleotide Identity using USEARCH (OrthoANlu), що доступний за посиланням <http://www.ezbiocloud.net/tools/ani> [22].

2.5.1 Дослідження антибіотикорезистентності ендоефітних штамів

Для дослідження стійкості ендоефітних і ризобіальних штамів до антибіотиків використовували диско-дифузійний метод (метод дифузії в агар) [30]. Для цього на поверхню агаризованого середовища Ісварана в чашках Петрі засівали культури досліджуваних штамів і накладали паперові диски, просочені антибіотиками. У дослідженні використовували антибіотики пеніцилінової групи (амоксацилін, амоксицилін/клавуланова кислота, ампіцилін,

ампіцилін/сульбактам, бензилпеніцилін, пеніцилін), аміноглікозиди (амікацин, гентаміцин, канаміцин, стрептоміцин), фторхінолони (левофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин), макроліди (азитроміцин, еритроміцин, кларитроміцин), глікопептидні антибіотики (ванкоміцин, тейкопланін), тетрацикліни (доксидиклін, тетрациклін), нітрофурани (нітрофурантоїн, фуразидин), цефалоспорины (цефазолін, цефтріаксон), поліміксини (поліміксин В), карбапенеми (імпенем/циластан) та амфеніколи (левоміцетин). Концентрації антибіотиків відповідали стандартам виробника дисків та рекомендаціям щодо проведення диско-дифузійного тесту. Посіви інкубували 24 год за температури 28°C, після чого вимірювали зони затримки росту бактерій навколо дисків з антибіотиками. За розмірами цих зон визначали належність бактерій до чутливих, помірно резистентних або стійких штамів [30].

2.6. Визначення впливу ендofітно-ризобіальної інокуляції на фізіолого-біохімічні показники рослин сої

2.6.1. Оцінка деяких показників антиоксидантної активності рослин сої

Каталазну активність у листках сої визначали за методикою, описаною Fransis & Alexander [8]. Рослинний матеріал гомогенізували у фосфатному буфері за співвідношення наважки до об'єму буфера 1:10. Реакцію розкладання H_2O_2 каталазою проводили протягом 5 хв, після чого її припиняли додаванням 10%-го водного розчину H_2SO_4 у співвідношенні 1:9. У контрольному варіанті дослідження водний розчин H_2SO_4 вносили перед додаванням рослинного екстракту. Кількість H_2O_2 в реакційному середовищі до початку та після завершення реакції визначали йодометричним методом. Для цього після припинення реакції в середовище додавали 2 мл H_2O_2 , 0,5 мл 25%-го водного розчину йодистого калію (KI) та кілька крапель 10%-го розчину молібдату амонію. Йод, що виділився, титрували 0,02 н. розчином тіосульфату натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) у присутності крохмалю. Каталазну активність виражали в міліграмах H_2O_2 , розкладеного за 1 хв. у перерахунку на 1 г сирової маси рослинного матеріалу.

Рівень антирадикальної активності (АРА) спиртових екстрактів листків та коренів сої сорту Скульптор визначали на основі їх властивості нейтралізувати стабільні вільні радикали етанольного розчину DPPH $\cdot$ (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) у фазі цвітіння. Реактив DPPH $\cdot$ у розчині має темно-фіолетовий колір та має найкращий спектр поглинання за довжини хвилі 520 нм, а в процесі нейтралізації знебарвлюється або стає солом'яно-жовтого кольору. Ця властивість DPPH $\cdot$ дозволяє здійснювати візуальний моніторинг реакції нейтралізації та розрахунок початкової активності вільних радикалів при зниженні інтенсивності поглинання. Для порівняння здатності спиртових розчинів знешкоджувати вільні радикали використовували значення EC50. Величина EC50 визначається як ефективна концентрація, за якої радикали розчину DPPH $\cdot$ знешкоджуються на 50% [1]. Оптична щільність розчину вимірювалася спектрофотометрично при 520 нм за допомогою мікропланшетного сканера FLUOstar Omega (BMG Labtech, Німеччина) у чотирьох повторностях.

2.6.2. Визначення параметрів водного режиму рослин сої

Для дослідження впливу ендofітно-ризобіальної інокуляції на водний режим, рослини сої сорту Скульптор вирощували в теплиці по 4 шт/горщик за температури повітря 20-22°C і вологості ґрунту 45%. Насіння сої було попередньо інокульовано ризобіями разом з ендofітними бактеріями *B. velezensis* IMB B-8134 згідно дизайну експерименту: 1 – обробка насіння стерильною водою (контроль); 2 – інокуляція насіння комплексним біопрепаратом Ризобін^K (R^K); 3 – інокуляція інокулянтom Ризобін^K разом з ендofітним штамом *B. velezensis* IMB B-8134 (R^K+4); 4 – вирощування 2-го покоління сої, інокульованої комплексом Ризобін^K+ *B. velezensis* IMB B-8134 і попереднього року (R^K+4-праймінг). З появою перших справжніх листків, їх відібрали та визначили параметри водного режиму гравіметричним методом. Вміст води встановлювали шляхом висушування листків до сталої маси у сушильній шафі. Водний дефіцит та водозабезпечення визначали методом насичення листків водою з подальшим розрахунком відносної тургесцентності. Водоутримуючу здатність оцінювали за величиною втрат води

листями під час в'янення. Інтенсивність транспірації визначали гравіметричним методом за швидкістю втрати маси листків у часі [32].

2.7. Агromетeоролoгiчнi умoви та сxeмa пoльoвoгo дoслiду iз зaстoсyвaнням кoмплeкcнoї eндoфiтнo-рiзoбiaльнoї iнoкyляцiї

Агromетeоролoгiчнi умoви вeгeтaцiйнoгo пeрiодy пiвдeннoї чacтини зoни Стeпy (Хepсoнськa oблacть) хaрaктeризyютьcя пoмiрнo жaрким i дyжe пocyшливим клiмaтoм. Випaрoвyвaнiсть i дeфiцит вoлoгoзaбeзпeчeння прoтягoм вeгeтaцiйнoгo пeрiодy cyттeвo змiнювaлocь i зaлeжaлo вiд cepeдньoдoбoвoї тeмпepaтyри, вiднocнoї вoлoгocтi пoвiтр'я тa кiлькocтi прoдyктивних aтмocфepних oпaдiв.

Зaгaльнa тpивaлiсть мiжфaзнoгo пeрiодy «cхoди - пoчaтoк гiлкyвaння» при вирoщyвaннi oбoх cортiв coї 2024–2025 pp. нe пepeвищyвaлa 18 дiб, прoтягoм якoгo випaлo 21,1 мм oпaдiв, aбo 12,3–20,9 % дo зaгaльнoї iх кiлькocтi в цiлoмy зa вeгeтaцiйний пeрiод кyльтyри. Тpивaлiсть мiжфaзнoгo пeрiодy «пoчaтoк гiлкyвaння - пoчaтoк цвiтiння» cортy coї Дioнa cклaдaлa 22 дoби прoтягoм якoгo випaлo 24,6 мм aтмocфepних oпaдiв, aбo 24,5 % дo iх зaгaльнoї кiлькocтi (тaбл. 2.1).

Таблиця 2.1

Гідротермічні умови за міжфазними періодами різних за скоростиглістю сортів сої (середнє за 2024-2025 рр.)

Календарні дати	Середня температура повітря, °С	Кількість опадів, мм	Відносна вологість повітря, %	Випаровувальність, мм	Дефіцит вологозабезпечення, мм	Коефіцієнт зволоження (КЗ)
Сорт Діона						
сходи – початок гілкування (18 діб)						
18.V-04.VI	19,3	21,1	57,0	151,9	130,8	0,14
початок гілкування – початок цвітіння (22 доби)						
05.VI-26.VI	22,9	24,6	46,0	223,0	198,4	0,11
початок цвітіння – початок формування бобів (15 діб)						
27.VI-11.VII	26,5	19,0	40,0	286,4	267,4	0,07
початок формування бобів – початок наливу насіння (16 діб)						
12.VII-27.VII	28,3	9,3	41,0	301,7	292,4	0,03
початок наливу насіння – початок дозрівання насіння (16 діб)						
28.VII-12.VIII	25,8	6,4	44,0	260,1	253,7	0,02
початок дозрівання насіння – повне дозрівання насіння (14 діб)						
13.VIII-26.VIII	24,2	19,9	40,0	261,4	241,5	0,08
Разом						
101 день	24,5	100,3	45,0	1484,5	1384,2	0,07
Сорт Святогор						
сходи – початок гілкування (18 діб)						
19.V-05.VI	19,8	21,1	56,0	158,9	137,8	0,13
початок гілкування – початок цвітіння (26 діб)						
06.VI-01.VII	23,2	24,6	46,0	225,8	201,2	0,11
початок цвітіння – початок формування бобів (20 діб)						
02.VII-21.VII	28,1	28,3	40,0	304,5	276,2	0,09
початок формування бобів – початок наливу насіння (22 доби)						
22.VII-12.VIII	26,3	6,4	43,0	270,0	263,6	0,02
початок наливу насіння – початок дозрівання насіння (22 доби)						
13.VIII -03.IX	24,2	28,6	41,0	257,1	228,5	0,11
початок дозрівання насіння – повне дозрівання насіння (16 діб)						
04.IX-19.IX	20,7	61,5	49,0	191,7	130,2	0,32
Разом						
124 дні	24,1	171,0	46,0	1408,5	1237,5	0,12

Тривалість вказаного міжфазного періоду сорту Святогор складала 26 діб, протягом якого випало 24,6 мм опадів, або 14,4 % до їх кількості за період вегетації культури. За середньодобової температури рівній 22,9 °С й відносної вологості повітря 46,0 % випаровуваність у вказаному міжфазному періоді при вирощуванні сорту Діона складала 223,0 мм, а дефіцит вологозабезпечення досягав 198,4 мм.

При вирощуванні сорту Святогор у міжфазному періоді «початок гілкування - початок цвітіння» випало 24,6 мм атмосферних опадів й випаровуваність становила 225,8 мм внаслідок чого дефіцит вологозабезпечення склав – 201,2 мм. Коефіцієнт зволоження при вирощуванні сорту Діона досягав 0,11 й, відповідно, для сорту Святогор 0,11, тобто такі показники південної частини зони Степу були характерними для пустелі.

Протягом міжфазного періоду «початок цвітіння - початок формування бобів», загальна тривалість якого для сорту Діона складала 14 діб, за середньої температури 26,5 °С й відносної вологості повітря 40,0 % випаровуваність зростала до 286,4 мм, а дефіцит вологозабезпечення становив 267,4 мм.

Кількість опадів при вирощуванні сорту Діона у вказаному міжфазному періоді складала 19,0 мм, або 18,9 % до загальної кількості, що випадали протягом вегетаційного періоду культури. За вказаних погодних умов коефіцієнт зволоження для сорту Діона складав 0,07, що характерно для пустелі й, відповідно, сорту Святогор – 0,09. У міжфазному періоді «початок формування бобів - початок наливу насіння» кількість атмосферних опадів при вирощуванні сорту Діона складала 9,3 мм або 9,2 % до загальної кількості опадів, що випадали за вегетаційний період сорту. За середньої температури 28,3 °С й відносної вологості повітря 41,0 % випаровуваність у вказаному міжфазному періоді при вирощуванні сорту Діона зростала до 301,7 мм, а дефіцит вологозабезпечення досягав 292,4 мм.

При вирощуванні середньостиглого сорту Святогор у міжфазному періоді «початок формування бобів - початок наливу насіння», загальна тривалість якого складала 22 доби, спостерігався негативний вплив погодних умов на формування

урожаю культури. За середньодобової температури рівній 26,3 °C й відносної вологості повітря 43,0 % випаровуваність складала 270,0 мм, а дефіцит вологозабезпечення досягав 263,6 мм. Коефіцієнт зволоження за вказаних погодних умов складав 0,03, що характерно для пустелі.

У міжфазному періоді «початок наливу насіння - повне дозрівання насіння» коефіцієнт зволоження при вирощуванні сорту Діона протягом 16 діб не перевищував 0,02, що характерно для пустелі, відповідно, сорту Святогор – 0,11.

Коефіцієнт зволоження при вирощуванні сорту Діона складав 0,08 (пустеля) й, відповідно, сорту Святогор – 0,32 (напівсуха зона). Загальна тривалість обох міжфазних періодів при вирощуванні сорту Діона складала 30 діб, а сорту Святогор – 38 діб.

Зниження негативних наслідків екстремальних погодних умов, що спостерігалися при вирощуванні обох сортів сої у міжфазні періоди «сходи - початок гілкування», «початок наливу насіння - початок дозрівання насіння» та «початок дозрівання насіння - повне дозрівання насіння» досягалось шляхом проведення вегетаційних поливів, які здійснювали за допомогою крапельного зрошення. При вирощуванні ультраскоростиглого сорту Діона протягом вегетаційного періоду проведено 18 вегетаційних поливів зрошувальною нормою 5315 м³/га, а середньостиглого сорту Святогор – 20 вегетаційних поливів нормою зрошення 5548 м³/га.

Польові досліді протягом 2024-2025 років проводили на зрошуваних землях, розташованих в смт. Наддніпрянське Херсонської області, на спеціально обладнаному зрошуваному масиві [28] за загальновизнаними в землеробстві методиками і методичними вказівками. Загальна характеристика основних елементів погоди у 2024-2025 роках, що складалася за міжфазними періодами обох сортів сої, проведена з використанням спостережень метеорологічної станції смт. Наддніпрянське.

Ґрунт дослідного поля – темно-каштановий середньосуглинковий з вмістом гумусу у 0-25 см шарі ґрунту – 2,2%, загального азоту – 0,17%, рухомого фосфору й обмінного калію – 30 мг і 300 мг/кг ґрунту відповідно; рН водної витяжки

орного шару ґрунту 6,8-7,2. Площа посівної ділянки – 15 м², облікової – 10 м², повторність досліду чотириразова. Сівбу сортів сої проводили в першій декаді травня шириною міжрядь 45 см на глибину 2-3 см. Норма висіву насіння сорту Діона – 800000, Святогор – 600000 схожих насінин на 1 га.

Досліди проводили з вирощуванням ультраскоростиглого сорту сої Діона та середньостиглого сорту Святогор. Для комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння різних за скоростиглістю сортів сої використано штами мікроорганізмів із колекції культур відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України згідно схеми: 1 – Контроль (обробка насіння водою); 2 – Ризобін^K; 3 – Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8134; 4 – Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8135; 5 – Ризобін^K + *Pseudomonas* sp. 6. Інокуляцію насіння проводили згідно описаним методам [29].

Рослини досліджували у фазі бутонізації-початку цвітіння і стиглості бобів. У фазу «бутонізації-початку цвітіння» визначали чисельність мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп у ризосфері сої. Агрохімічний склад ризосферного ґрунту визначали у міжфазні періоди «початок гілкування - початок цвітіння» та «початок бобоутворення - початок наливу бобів» за описаними методами [28]. У фазу стиглості бобів проводили облік урожайності.

У ризосфері сої визначали чисельність мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп. Чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів вивчали на середовищі МПА, амілолітичних – на крохмально-аміачному агарі, нітрогенфіксувальних – на безазотному середовищі Ешбі, фосфатмобілізувальних – на середовищі Наумової з фенолфталеїнфосфатом натрію. Кількість педотрофних мікроорганізмів визначали на ґрунтовому, а оліготрофних – на голодному (водному) агарі. Облік чисельності мікроорганізмів проводили шляхом поверхневого посіву ґрунтових суспензій відповідних десятикратних розведень на агаризовані середовища. Результати представляли кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 г абсолютно сухого ґрунту (АСГ), враховуючи коефіцієнт його вологості [25, 33].

2.8. Методи статистичного аналізу результатів

Аналіз даних лабораторних та польових експериментів проводився за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2017. Числові дані представлені у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки ($\pm m$). Різниця між групами вважалася статистично значущою при $p < 0,05$.

Список використаних джерел до розділу 2

1. Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food chemistry*, 102(4), 1233-1240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.013>
2. Arnow, L. E. (1937). Colorimetric determination of the components of 3,4-dihydroxyphenylalanine-tyrosine mixtures. *Journal of Biological Chemistry*, 118(2), 531–537. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)74525-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)74525-2)
3. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
4. Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H. E., Reitz, Z. L., Biermann, F., Alanjary, M., ... & Weber, T. (2023). antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic acids research*, 51(W1), W46-W50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad344>
5. Borzykh, O. I., Sergiienko, V.G., Tytova, L. V., Biliavska, L. O., Boroday, V. V., Tkalenko, G. M. & Balan, G. O. (2022) Potential of some bioagents in fungal diseases controlling and productivity enhancement of tomatoes, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 55(15), 1750–1765. <https://doi.org/10.1080/03235408.2022.2116685>
6. Brettin, T., Davis, J., Disz, T. et al. (2015). RASTtk: A modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Scientific Reports*, 5, 8365 <https://doi.org/10.1038/srep08365>
7. Elgazzar, R. (2017). *Screening of Siderophore Producers from Soil*. Undergraduate Honors Theses. Paper 379
8. Francis, A. J., & Alexander, M. (1972). Catalase activity and nitrogen fixation in legume root nodules. *Canadian Journal of Microbiology*, 18(6), 861–864. <https://doi.org/10.1139/m72-132>

9. Iutynska, H., Goloborodko, S., Tytova, L. & Dubynska, O. (2022). Effectiveness of endophytic-rhizobial seed inoculation of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivated in irrigated soil. *Journal of Central European Agriculture*, 23(1), 40–53. <https://doi.org/10.5513/jcea01/23.1.3397>
10. Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of microbiology & biology education*, 12(1), 51-53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
11. Manwar, A. V., Khandelwal, S. R., Chaudhari, B. L., Meyer, J. M., & Chincholkar, S. B. (2004). Siderophore production by a marine *Pseudomonas aeruginosa* and its antagonistic action against phytopathogenic fungi. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118(1), 243-251. <https://doi.org/10.1385/ABAB:118:1-3:243>
12. Meier-Kolthoff, J. P., Carbasse, J. S., Peinado-Olarte, R. L., & Göker, M. (2022). TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic acids research*, 50(D1), D801-D807. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab902>
13. Nalawade, T. M., Bhat, K. G., & Sogi, S. (2016). Antimicrobial activity of endodontic medicaments and vehicles using agar well diffusion method on facultative and obligate anaerobes. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 9(4), 335. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1388>
14. Olson, N. D., Wagner, J., Dwarshuis, N., Miga, K. H., Sedlazeck, F. J., Salit, M., & Zook, J. M. (2023). Variant calling and benchmarking in an era of complete human genome sequences. *Nature Reviews Genetics*, 24(7), 464-483. <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00590-0>
15. Rashmi, V., Shylaja Naciyar, M., Rajalakshmi, R., D'Souza, S. F., Prabakaran, D., & Uma, L. (2013). Siderophore mediated uranium sequestration by marine cyanobacterium *Synechococcus elongatus* BDU 130911. *Bioresource technology*, 130, 204-210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.016>
16. Richter, M., Rosselló-Móra, R., Oliver Glöckner, F., & Peplies, J. (2016). JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on

- pairwise genome comparison. *Bioinformatics*, 32(6), 929-931.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
17. Sarvepalli, M., Velidandi, A., & Korrapati, N. (2023). Optimization of siderophore production in three marine bacterial isolates along with their heavy-metal chelation and seed germination potential determination. *Microorganisms*, 11(12), 2873. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122873>
18. Schwyn, B. and Neilands, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1), pp. 47–56.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
19. Shevchuk, N.V., Tytova, L.V., Sergiienko, V.G., Iutynska, G.O. (2025). Phytoprotective potential of soybean endophytic microsymbionts. *Microbiological journal*, 87 (6) pp. 27-40.
<https://doi.org/10.15407/microbiolj87.06.027>
20. Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
21. Tytova, L., Sergiienko, V., Pylypiuk, Y., & Iutynska, G. (2024). Effectiveness of the Complex Microbial Formulation for Disease Protection and Productivity Enhancement of Plants. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 69(4), 161-170.
<https://doi.org/10.2478/agri-2023-0014>
22. Yoon, S. H., Ha, S. M., Lim, J., Kwon, S., & Chun, J. (2017). A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(10), 1281-1286. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0844-4>
23. Zerbino, D.R., (2010). Using the Velvet *de novo* assembler for short-read sequencing technologies. *Current Protocols in Bioinformatics*. 31, 11.5.1-11.5.12. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1105s31>
24. Антипчук, А.Ф., Титова, Л.В., Леонова, Н.О., Іутинська, Г.О. (2008). Інокулянт для підвищення продуктивності сої (Патент на винахід України №85089, МПК С 05 F 11/08, С 12 N 1/20).

25. Білявська Л.О., Іутинська Г.О., Скроцький С.О., Титова Л.В., Леонова Н.О., Хоменко Л.А., Лобода М.І., Рожкова Т.О., & Василюк О.М. (2023). *Визначення біологічної активності ґрунтів, постраждалих від воєнних дій: Методичні рекомендації*. АРТМІЛЛ.
26. Бровко, И. С., Титова, Л. В., Иутинская, Г. О., Сухачева, М. В., & Кравченко, И. К. (2014). Идентификация и азотфиксирующая активность эндوفитных неризобияльных бактерий из клубеньков сои. *Наукові записки ТНПУ Серія: Біологія. Спец. випуск: «Біологічна фіксація азоту»*. 3(60), 52-55.
27. Вожегова Р.А., Голобородько С.П., Дубинська О.Д., Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В. (2024). *Удосконалена енергоощадна технологія вирощування сої в умовах зрошення Південного Степу України: науково-методичні рекомендації*; Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України, 34 с.
28. Городній, М.М., Лісовал, А.П., Бикін, А.В., та ін. (2005). *Агрохімічний аналіз. Підручник*. (2-ге вид.). К.:Арістей, 476 с.
29. Іутинська, Г.О., Білявська, Л.О., Титова, Л.В. та ін. (2018). *Застосування новітніх біопрепаратів у рослинництві. Методичні рекомендації*. Київ, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАНУ, Київ, 104с.
30. Климнюк, С. І. (2004). *Практична мікробіологія*/Климнюк СІ. Ситник ІО, Творко МС–Тернопіль: Укрмедкнига.
31. Леонова Н.О., Данкевич Л.А., Падалко С.Ф., Бобик Л.В., & Драговоз І.В. (2014). Синтез ауксинів та цитокінінів різними фізіологічними групами мікроорганізмів ризосфери та філосфери сої. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія*, 3(60), 121–127.
32. Перепелиця Л.О., Пацюк М.К., & Корево Н.І. (2022). *Навчальна практика з фізіології рослин та генетики: Методичні вказівки до лабораторних робіт*.

33. Романенко В.А. (1961). Розрахунок осінньої вологості ґрунту за універсальним співвідношенням для великої площі. *Праці Українського науково-дослідного гідрометеорологічного інституту*, 34(1), 35–68.

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

РОЗДІЛ 3 СТІЙКІСТЬ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ ДО АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ

3.1 Чутливість ендофітних та ризобіальних штамів до фунгіцидів та інсектицидів

У сучасних системах хімічного захисту рослин широко використовують високотоксичні пестициди, а їх залишки та продукти неповного розкладу забруднюють орні ґрунти, що знижує ефективність застосування мікробних препаратів. Це зумовило проведення дослідів з визначення стресостійкості ендофітних і ризобіальних штамів до сучасних пестицидів, зокрема до фунгіцидів (Вайбранс РФС, Максим XL, Кватрофорс, Сферіко), інсектицидів (Командор Екстра, Командор Гранд, Тіатрин) та препарату комплексної інсекто-фунгіцидної дії (Стандак Топ).

Результати встановлення чутливості штамів ендофітних та ризобіальних бактерій до сучасних фунгіцидів системної і контактної дії та інсектицидів представлено в таблиці 3.1 та підтверджено на рисунках 3.1 та 3.2.

За використання концентрацій, рекомендованих виробниками хімічних препаратів, інсектициди Командор Екстра, Командор гранд, Тіатрин та препарат комплексної дії Стандак Топ не пригнічували ріст досліджуваних штамів ендофітних та ризобіальних бактерій. Фунгіциди вибірково діяли на окремі штами. Так, найбільший інгібувальний ефект спостерігався за застосування чотирьохкомпонентного фунгіциду Кватрофорс (зони затримки росту становили 0,3-12,6 мм), що, ймовірно, зумовлено наявністю у його складі азольних сполук (імазаліл, флутриафол), для яких описано [2, 5] неспецифічний вплив на ґрунтову мікробіоту та активність ферментів, що містяться в ґрунті. До дії фунгіциду Сферіко чутливим виявився лише один штам ризобій – *B. japonicum* В-6023, зона затримки його росту становила 3,4 мм, тоді як інші штами ризобій та усі досліджувані ендофітні штами виявилися стійкими до дії даного препарату.

Фунгіциди Вайбранс РФС та Максим XL, які мають подібний склад діючих речовин (металаксил-М та флудиоксоніл) по-різному впливали на ріст досліджуваних бактерій. Препарат Максим XL інгібував ріст усіх ризобіальних та більшості ендоефітних штамів із зонами затримки росту 1,1-4,2 мм, тоді як до дії фунгіциду Вайбранс РФС чутливим виявився лише один штам – *Paenibacillus* sp.1 (зона затримки росту 2,7 мм). Такий ефект можна пояснити різними компонентами фунгіцидів, оскільки у складі Вайбранс РФС окрім металаксилу-М та флудиоксонілу наявний седаксан, що, ймовірно, впливало на різну дифузію фунгіцидних препаратів у агарі та зумовило різний вплив на мікроорганізми.

Таблиця 3.1

Діаметр зон затримки росту ендоефітних і ризобіальних бактерій під впливом фунгіцидів та інсектицидів.

Штами бактерій	Діаметр зони затримки росту бактерій, мм							
	Вайбранс РФС	Максим XL	Кватрофорс	Сферіко	Стандак Топ	Командор Екстра	Командор гранд	Тіатрин
<i>B. japonicum</i> B-6023	0	1,1 ±0,2	10,2 ±1,3	3,4 ±0,4	0	0	0	0
<i>B. japonicum</i> B-6018	0	3,6 ±0,6	8,0 ±1,04	0	0	0	0	0
<i>B. japonicum</i> B-6035	0	2,7 ±0,3	12,6 ±1,2	0	0	0	0	0
<i>Paenibacillus</i> sp.1	2,7 ±0,5	3,1 ±0,3	6,8 ±0,6	0	0	0	0	0
<i>Ochrobactrum</i> sp. 2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paenibacillus</i> sp. 3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus</i> sp. 4	0	4,2 ±0,5	11,4 ±2,2	0	0	0	0	0
<i>Bacillus</i> sp. 5	0	3,6 ±0,7	11,8 ±1,4	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp.6	0	3,5 ±0,5	10,0 ±1,1	0	0	0	0	0

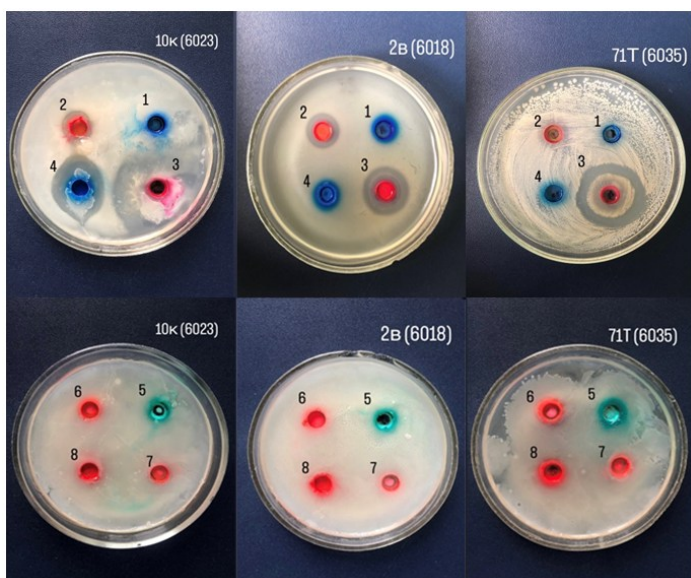


Рис. 3.1. Чутливість комплексного інокулянту Ризобін^К до фунгіцидів та інсектицидів.

Примітка: 1 – Вайбранс РФС; 2 – Максим XL; 3 – Кватрофорс; 4 – Сферіко; 5 – Стандак Топ; 6 – Командор Екстра; 7 – Командор гранд; 8 – Тіатрин;

10к (6023) – *B. japonicum* В-6023; 2в (6018) – *B. japonicum* 6018; 71Т (6035) – *B. japonicum* 6035.

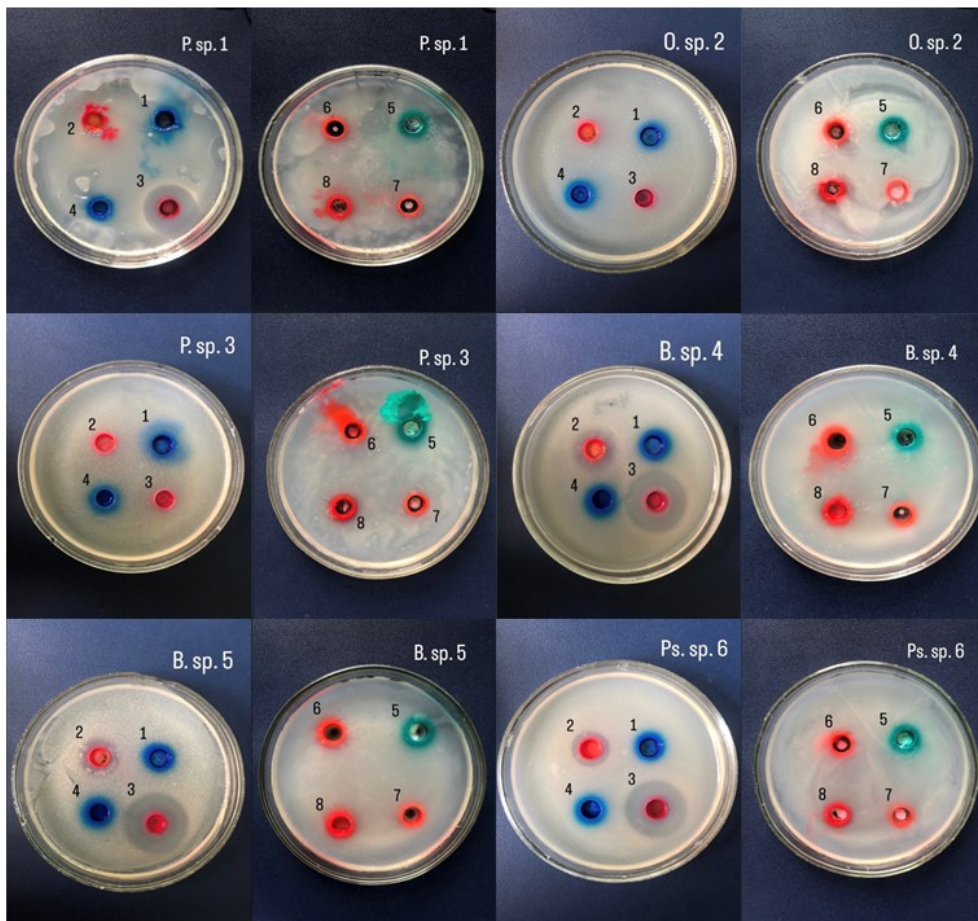


Рис. 3.2. Чутливість ендofітних штамів до фунгіцидів та інсектицидів.

Примітка: 1 – Вайбранс РФС; 2 – Максим XL; 3 – Кватрофорс; 4 – Сферіко; 5 – Стандак Топ; 6 – Командор Екстра; 7 – Командор гранд; 8 – Тіатрин.

P.sp.1 – *Paenibacillus* sp.1; O.sp.2 – *Ochrobactrum* sp. 2; P.sp.3 – *Paenibacillus* sp.1; B.sp.4 – *Bacillus* sp. 4; B.sp.5 – *Bacillus* sp. 5; P.sp.6 – *Pseudomonas* sp.6.

У проведених дослідях бактерії перебували в умовах безпосереднього контакту з пестицидами, що створювало значно вищий рівень експозиції, порівняно з польовими умовами та дослідженнями у теплицях, де насіння зазвичай спочатку обробляють хімічними препаратами, а інокуляцію мікробними препаратами здійснюють через 12-24 годин [3, 6]. За цей час частина діючих речовин адсорбується поверхнею насіння або проникає у його тканини, що знижує їхню доступність для мікроорганізмів. Незважаючи на більш жорсткі умови експерименту, встановлено, що інсектициди не інгібували ріст

досліджуваних бактерій, тоді як фунгіциди проявляли вибірккову дію, яка залежала переважно від природи діючої речовини та її концентрації.

Відповідно до отриманих результатів, до більшості досліджених хімічних препаратів ендofіти не є чутливими, що дозволяє їх одночасне використання в польових умовах в інтегрованих схемах захисту рослин від патогенів і шкідників за умов несприятливого фітосанітарного стану агроєкосистем.

3.2 Вплив температури культивування на ріст ендofітних бактерій

Супраоптимальні температури – це умови за межами оптимального діапазону, сприятливого для організмів. Передбачається, що мікроорганізми, адаптовані до низьких або високих температур, здатні зменшити їх негативний вплив на фітопартнера і підвищити його стресостійкість [1, 4]. Встановлення супраоптимальних температур для росту ендofітних штамів є важливим для визначення їх здатності функціонувати та виявляти свої рістстимулювальні та стресопротекторні функції у асоціаціях з рослинами.

Bacillus sp. 5 мав найвищі показники росту за температури культивування 28°C, поступово із збільшенням температури до 37°C та 42°C ріст зменшувався на 25% та 40% відповідно (рис.3.3). Отже, можна стверджувати, що оптимальні температури для росту даного штаму знаходяться в діапазоні між 28 °C та 37°C, що надає йому властивостей функціонувати за умов високих температур навколишнього середовища.

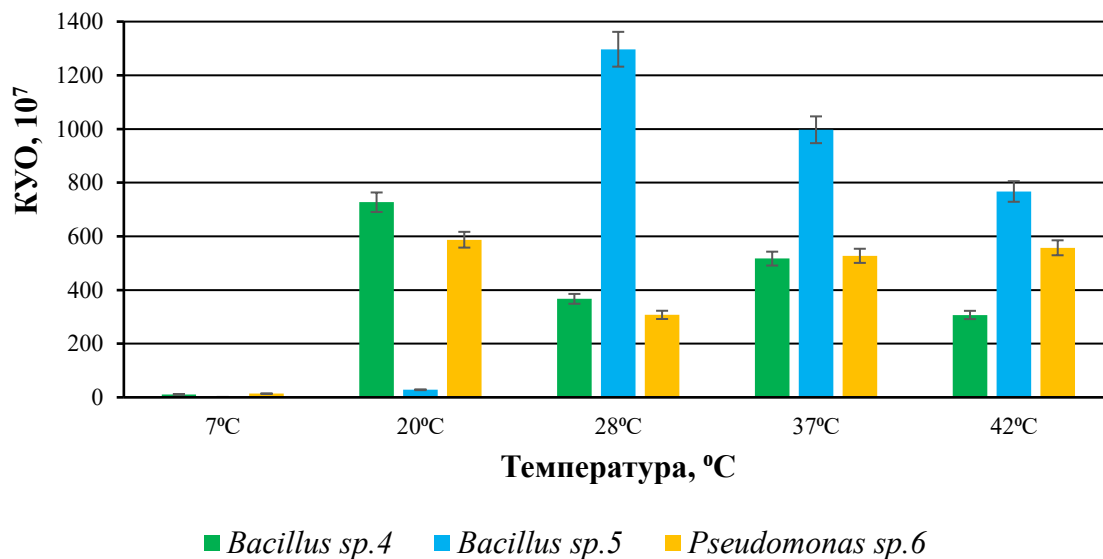


Рис. 3.3. Ріст ендофітних штамів за впливу різних темепратур культивування.

Ендофітний штам *Pseudomonas sp. 6* проявив високу активність росту за досліджених температур (20°C, 28°C, 37°C, 42°C) (рис.3.3). Це може свідчити про широку температурну адаптацію штаму, що надає йому здатність функціонувати за різних умов. Штам *Bacillus sp. 4* проявив здатність до росту у діапазоні від 20 °C до 42 °C, при цьому найактивніший ріст було виявлено за 20 °C. Ендофітні штами *Bacillus sp. 5* та *Pseudomonas sp.6* активно росли за температур від 28 °C до 42 °C та від 20 °C до 42 °C відповідно.

Таким чином, було встановлено що *Bacillus sp. 5* активно росте за середніх та високих температур, а штами *Bacillus sp. 4* та *Pseudomonas sp. 6* мали активний ріст за ширшого діапазону температур від 20°C до 42°C, отже усі досліджувані штами належать до мезофільних бактерій.

Отримані результати свідчать про температурну пластичність досліджуваних ендофітних штамів, що вказує на перспективність використання цих бактерій як інокулянтів для рослин за умов температурних коливань і підвищеного теплового навантаження.

Список використаних джерел до розділу 3

1. Devesa-Aranguren, I., González-Sanz, C., Gutiérrez-Manso, L., Lozano-Enguita, A., Morillas-Montávez, A., Torregrosa Gómez-Meana, I., ... & Cabrera, J. (2025). Root and microbiome synergy in plant heat stress resilience: epigenetic regulation as a frontier for future research. *Journal of Experimental Botany*, eraf520. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf520>
2. Dong, H., He, Y., Fan, C., Zhu, Z., Zhang, C., Liu, X., ... & Tang, T. (2022). Encapsulation of imazalil in HKUST-1 with versatile antimicrobial activity. *Nanomaterials*, 12(21), 3879. <https://doi.org/10.3390/nano12213879>
3. Iutynska, G., Tytova, L., Vozniuk, S., Shevchuk, N., & Bilyavska, L. (2025). Rhizosphere prokaryotic microbiome, resistance to mycoses and productivity of *Glycine max* (L.) Merr. under bacterial inoculation and fungicide application. *Journal of Plant Protection Research*, 65(4), 516-522. <https://doi.org/10.24425/jppr.2025.156887>
4. Khan, M. A., Asaf, S., Khan, A. L., Jan, R., Kang, S. M., Kim, K. M., & Lee, I. J. (2020). Thermotolerance effect of plant growth-promoting *Bacillus cereus* SA1 on soybean during heat stress. *BMC microbiology*, 20(1), 175. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01822-7>
5. Roman, D. L., Voiculescu, D. I., Filip, M., Ostafe, V., & Isvoran, A. (2021). Effects of triazole fungicides on soil microbiota and on the activities of enzymes found in soil: A review. *Agriculture*, 11(9), 893. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090893>
6. Schulz, T. J., & Thelen, K. D. (2008). Soybean seed inoculant and fungicidal seed treatment effects on soybean. *Crop science*, 48(5), 1975-1983. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.02.0108>

РОЗДІЛ 4 АНТАГОНІСТИЧНІ І БІОКОНТРОЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ ЩОДО ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

4.1. Антагоністична активність ендоефітних бактерій щодо збудників бактеріозів

Бактеріальні ендоефіти привертають значну увагу серед агентів біологічного контролю, оскільки здатність колонізувати ті самі екологічні ніші, що й фітопатогени, робить їх перспективною альтернативою хімічним засобам захисту рослин. У зв'язку з цим, було проведено скринінг антагоністичної активності виділених з рослин сої ендоефітних бактерій щодо збудників бактеріозів бобових та овочевих культур.

Патогенні бактерії бобових культур (*X. axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1066, УКМ В-1065 та *X. axonopodis* pv. *glycines* УКМ В-1162) виявилися найбільш чутливими до *Ochrobactrum* sp. 2, *Paenibacillus* sp. 3 та *Bacillus* sp. 5. Зони пригнічення росту становили від 15,5 до 20 мм (табл.4.1). Щодо бактеріальних фітопатогенів, найбільш активним виявився штам *Paenibacillus* sp. 3, який інгібував ріст усіх досліджуваних фітопатогенів. Антагонізм до збудника бактеріозу огірків *X. cucurbitae* УКМ В-1063 проявляли штами *Paenibacillus* sp.1, *Paenibacillus* sp. 3 та *Pseudomonas* sp.6. Всі ендоефіти інгібували *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂.

Таблиця 4.1

Антагоністична активність ендоефітних бактерій щодо збудників бактеріозів
бобових та овочевих культур

Штам ендоефітних бактерій	Діаметр зон затримки росту фітопатогенних бактерій, мм						
	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> УКМ В-1066	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> УКМ В-1065	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> УКМ В-1162	<i>X. vesicatoria</i> УКМ В-1105	<i>X. vesicatoria</i> 7790	<i>X. cucurbitae</i> УКМ В-1063	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 10 ₂
<i>Paenibacillus</i> sp. 1	15,0± 1,2	15,0± 1,3	-	-	15,0± 1,2	15,0± 1,0	15,0± 1,0
<i>Ochrobactrum</i> sp. 2	17,0± 1,3	20,0± 1,5	17,0± 1,4	-	16,0± 1,2	-	18,0± 1,4
<i>Paenibacillus</i> sp. 3	17,0± 1,4	19,0± 1,2	15,5± 0,5	16,0± 0,9	15,0± 1,4	17,5± 1,0	17,0± 1,2
<i>Bacillus</i> sp. 4	13,5± 1,2	-	-	-	-	-	13,4± 1,4
<i>Bacillus</i> sp. 5	16,5± 1,3	17,0± 1,2	17,5± 1,2	-	14,0± 1,2	-	15,5± 1,3
<i>Pseudomonas</i> sp.6	15,5± 1,3	-	13,4± 1,2	-	16,0± 1,3	17,0± 1,2	15,5± 1,5

Примітка: «-» – зон затримки росту не виявлено

Отже, у результаті проведеного дослідження встановлено, що ендоефітні бактерії сої проявляють виражену антагоністичну активність щодо збудників бактеріозів рослин. Найбільш ефективними антагоністами виявилися штами *Ochrobactrum* sp.2, *Paenibacillus* sp.3 та *Bacillus* sp.5. Водночас штам *Paenibacillus* sp.3 характеризувався найширшим спектром антагоністичної дії, інгібуючи розвиток усіх досліджуваних фітопатогенів.

Досліджені ендоефіти проявляли антагонізм не лише щодо патогенів бобових, але й проти збудників бактеріозів овочевих культур. Це свідчить про

їхній широкий спектр антимікробної дії та перспективність використання таких штамів як потенційних агентів біоконтролю для різних сільськогосподарських культур.

4.2. Антифунгальна активність ендофітних бактерій

Використання антагоністичних бактерій для боротьби з фітопатогенними грибами пропонує екологічно безпечну перспективну альтернативу порівняно з хімічними фунгіцидами. Біологічний контроль шляхом застосування PGPR та, зокрема ендофітів, привертає значну увагу в сільському господарстві завдяки їх здатності покращувати здоров'я ґрунту та ріст рослин [12]. Тому було проведено дослідження здатності ендофітних штамів бактерій пригнічувати проростання спор фітопатогенних грибів.

Інгібування проростання спор фітопатогенних грибів *A. alternata* 150721 та *F. oxysporum* 080721 культурами досліджуваних ендофітних бактерій спостерігали у мікроскопі Carl Zeiss за збільшення в 200 разів (рис.4.1). Виявлено, що за дії супернатантів ендофітних бактерій міцелій фітопатогенних мікроміцетів зазнавав морфологічних змін порівняно з контролем. Спостерігалися флокуляція міцелію, деформація та фрагментація гіф, значне інгібування проростання спор, а також утворення потовщених клітин і структур, подібних до хламідоспор.

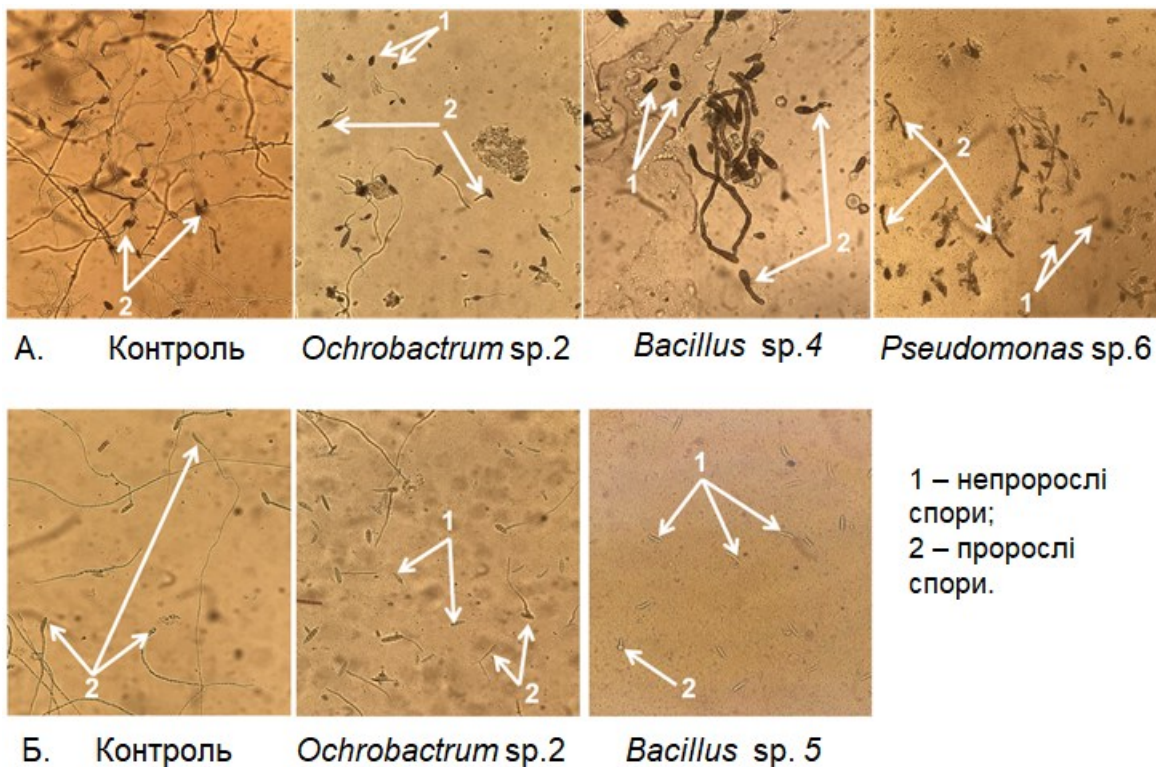


Рис.4.1. Інгібування проростання спор *A. alternata* 150721 (А) та *F. oxysporum* 080721 (Б) під впливом метаболітів ендوفітів.

Результати продемонстрували високий відсоток інгібування проростання спор фітопатогенних грибів *F.oxysporum* 080721 та *A. alternata* 150721 за дії супернатантів ендوفітів (табл.4.2). Найкраще інгібували проростання спор гриба *A. alternata* 150721 супернатанти *Ochrobactrum* sp.2 та *Bacillus* sp.4 з концентрацією 10^9 КУО/мл – на 49,1% та 50% відповідно, а супернатант *Pseudomonas* sp. 6 (10^8 КУО/мл) гальмував проростання спор *A. alternata* 150721 на 45,8%. Проростання спор гриба *F. oxysporum* 080721 найкраще інгібували супернатанти *Ochrobactrum* sp. 2, отримані з бактеріальних культур з концентраціями 10^9 і 10^8 КУО/мл – на 84,5% і 45,7% відповідно, супернатанти *Paenibacillus* sp. 3 отримані з бактеріальних культур з концентраціями 10^9 і 10^8 КУО/мл – на 51,2% і 50,0% відповідно та *Pseudomonas* sp.6 (культура 10^9 КУО/мл) – на 61,3%.

Таблиця 4.2

Антифунгальна активність ендофітних бактерій сої проти фітопатогенних мікроміцетів *A. alternata* 150721 та *F.oxysporum* 080721

Варіант	<i>A. alternata</i> 150721				<i>F.oxysporum</i> 080721			
	Проростання спор, %		Інгібування проростання спор,%		Проростання спор, %		Інгібування проростання спор,%	
Контроль (вода)	79,6		-		78,7		-	
Розведення	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Paenibacillus</i> sp.1	56,1	47,4	17,9	30,6	76,7	70,0	12,2	19,1
<i>Ochrobactrum</i> sp. 2	59,4	40,4	25,1	49,1	41,5	11,9	45,7	84,5
<i>Paenibacillus</i> sp. 3	58,1	58,2	26,8	26,6	38,2	37,3	50,0	51,2
<i>Bacillus</i> sp. 4	52,9	40,0	33,8	50,0	78,6	75,5	3,0	6,8
<i>Bacillus</i> sp. 5	62,1	57,8	22,3	27,7	83,2	76,1	-	6,1
<i>Pseudomonas</i> sp.6	43,3	61,4	45,8	23,2	76,1	31,4	6,1	61,3

Примітка: 1 – супернатанти, отримані з бактеріальної культури з концентрацією 10^8 кл./мл, 2 – супернатанти, отримані з бактеріальної культури з концентрацією 10^9 кл./мл, «-» – інгібування проростання спор відсутнє.

Отже, встановлено, що найбільш ефективними у інгібуванні проростання спор грибів *A. alternata* 150721 та *F. oxysporum* 080721 були бактерії *Bacillus* sp. 4, *Ochrobactrum* sp. 2, *Paenibacillus* sp. 3 та *Pseudomonas* sp.6. Отримані результати свідчать, що досліджувані штами здатні продукувати метаболіти з вираженою антифунгальною активністю, які інгібують проростання спор та спричиняють морфологічні зміни міцелію грибів. Для ендофітів роду *Bacillus* описано [10] синтез ліпопептидів (фенгіцину, бациломіцину, сурфактину та ітурину). *Paenibacilli* є ефективними продуцентами фузарицидинів та поліміксинів [11], а *Ochrobactrum* sp. – диметилтрисульфиду та пентадекану [13]. Представники роду *Pseudomonas* продукують 2,4-діацетилфлороглюцинол, піолутеорин, орфаміди та протегеніни, а також гідролітичні ферменти, такі як хітинази, які сприяють

протигрибній активності, деградації клітинної стінки грибів та індукції системної резистентності (ISR) у рослин [4].

Це підтверджує важливу роль ендоефітних бактерій у природних механізмах захисту рослин від фітопатогенів. Виявлена антагоністична активність досліджуваних штамів свідчить про їх перспективність для подальших досліджень та можливого використання як агентів біоконтролю.

4.3 Біоконтролюючий потенціал ендоефітів за штучного зараження рослин у лабораторно-вегетаційних дослідках

Біологічні агенти з властивостями біоконтролю розглядаються як екологічно безпечна альтернатива хімічним фунгіцидам. Серед перспективних агентів захисту рослин значну увагу приділяють ендоефітним мікроорганізмам [6]. Одними з важливих збудників хвороб сої є гриби роду *Fusarium*, що спричиняють кореневі гнилі та негативно впливають на появу сходів, ріст проростків і врожайність [8, 16]. Ураження надземних органів рослин можуть також викликати гриби роду *Alternaria*, які формують некротичні плями на листках і синтезують токсини, що накопичуються в тканинах рослин [14]. У зв'язку з цим, актуальним є дослідження антагоністичного потенціалу ендоефітних мікроорганізмів щодо фітопатогенних грибів та бактерій, що уражують рослини сої.

Дослідження в умовах лабораторно-вегетаційних дослідів зі штучним зараженням листків сої показали, що застосування ризобіально-ендоефітних композицій для обробки насіння та супернатантів рідких культур ендоефітів для обприскування вегетуючих рослин стримувало розвиток фітопатогенів.

На ранніх етапах інфекційного процесу ураження листків альтернаріозом проявлялося переважно у вигляді хлоротичних ділянок уздовж прожилок, які згодом переходили у некротичні темно-бурі ураження, характерні для інфекцій грибами роду *Alternaria* (рис. 4.2). На поверхні листків контрольного варіанту, пожовтіння охоплювало більшу частину листової пластинки, що вказувало на більший відсоток ураження – 5% на 5-й день після штучного зараження та 21,7% – на 7-й день після зараження (рис. 4.2, табл. 4.3). У варіантах із застосуванням

передпосівної інокуляції насіння та обприскування вегетуючих рослин сої супернатантами ендофітів площа ураження листка була значно меншою, плями були поодинокими, пожовтіння менш значним (рис. 4.2).

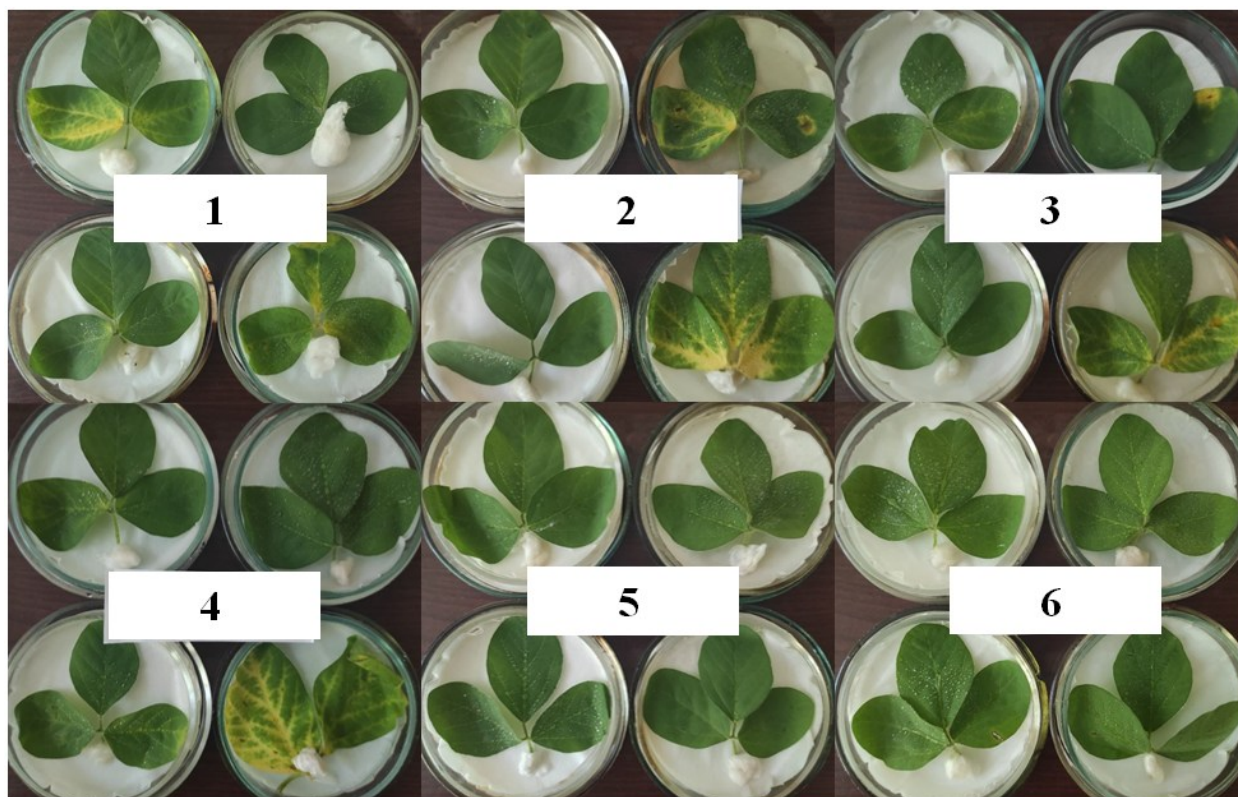


Рис.4.2. Розвиток альтернаріозу на листках сої залежно від передпосівної обробки та обприскування по вегетації.

Примітка: 1 – контроль (обробка насіння водою); 2 – обробка насіння Ризобіном^К; 3 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2; 4 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Paenibacillus* sp. 3; 5 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2 з подальшим обприскуванням супернатантом *Ochrobactrum* sp. 2; 6 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Paenibacillus* sp. 3 з подальшим обприскуванням супернатантом *Paenibacillus* sp. 3.

Фузаріозне ураження проявлялося появою хлоротичних і некротичних плям на листових пластинках, а також пожовтінням тканини листка, що переважно локалізувалося вздовж центральної та бічних жилок. З розвитком інфекційного процесу хлороз поширювався на міжжилкову тканину, супроводжуючись

формуванням бурих некротичних плям різної форми та інтенсивності. Найбільш виражені симптоми спостерігалися у контрольному варіанті (рис. 4.3). Так, на 5-й день після штучного зараження розвиток фузаріозного в'янення необроблених рослин становив 29,2%, а на 7-й день після зараження – 50%. Застосування ендofітно-ризобіальних композицій сприяло значно меншому розвитку хвороби, що виражалось у менших площах пожовтіння листків (рис. 4.3, табл. 4.2).

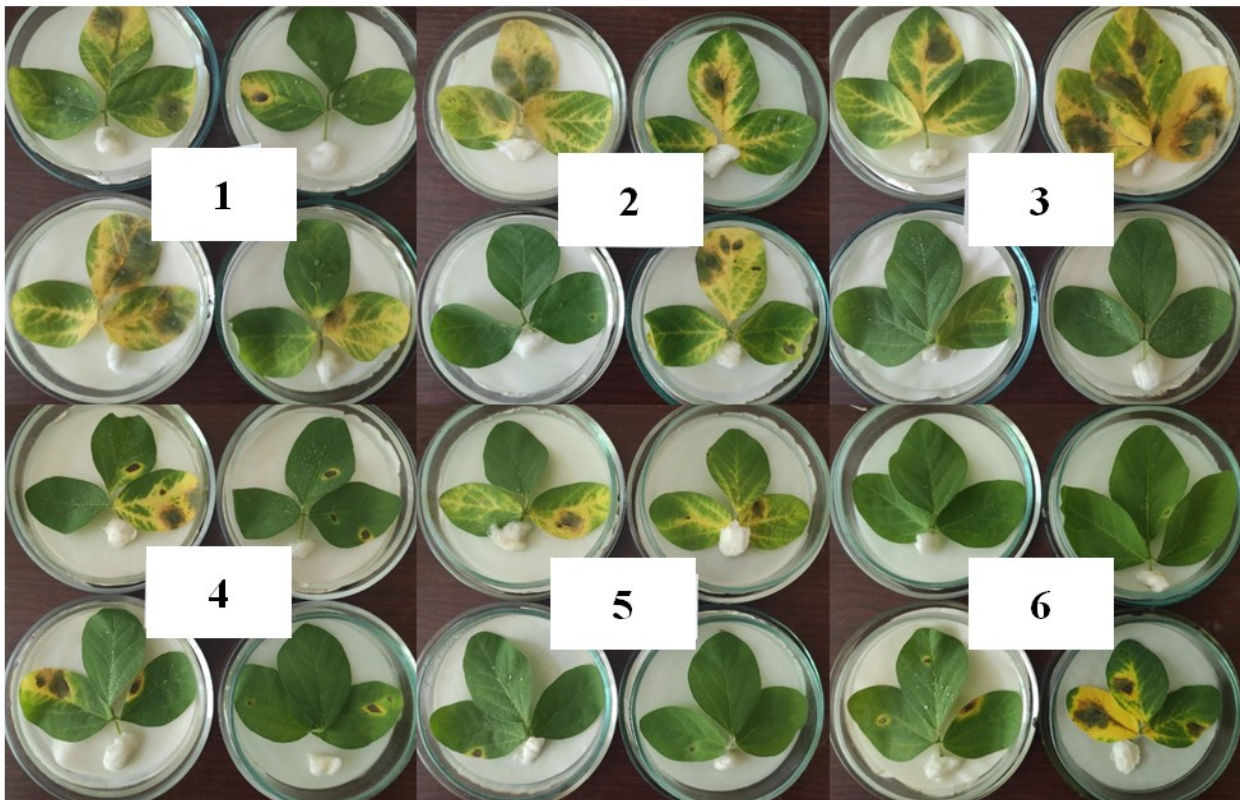


Рис.4.3. Розвиток фузаріозу на листках сої залежно від передпосівної обробки та застосування обприскування по вегетації.

Примітка: 1 – контроль (обробка насіння водою); 2 – обробка насіння Ризобіном^К; 3 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2; 4 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Paenibacillus* sp. 3; 5 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2 з подальшим обприскуванням супернатантом *Ochrobactrum* sp. 2; 6 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Paenibacillus* sp. 3 з подальшим обприскуванням супернатантом *Paenibacillus* sp. 3.

Композиції Ризобіну^К з ендоефітними бактеріями за обробки ними насіння ефективніше стримували розвиток фітопатогенів порівняно з варіантом інокуляції лише бульбочковими бактеріями. На 5-й день після штучного зараження ефективність дії комплексної інокуляції з ендоефітами проти *A. alternata* 150721 була вищою за варіант моноінокуляції на 8%, тоді як на 7 день ефективність зростала на 39,6 та 21,1% у варіантах Ризобін^К+*Ochrobactrum* sp. 2 та Ризобін^К+*Paenibacillus* sp. 3 відповідно (табл. 4.3). Проти *F. oxysporum* 080721 ефективність комплексної ендоефітно-ризобіальної обробки насіння на 5-й день після штучного зараження була вищою за моноінокуляцію на 1,4 та 17,1%, а на 7 день – на 16,8 та 26,0% у варіантах Ризобін^К+*Ochrobactrum* sp. 2 та Ризобін^К+*Paenibacillus* sp. 3 відповідно (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Розвиток мікозів у культурі штучно зараженого листа за дії ризобій та ендоефітних бактерій (сорт Скульптор)

Варіант	Розвиток хвороби, %				Ефективність дії,%			
	Альтернاریоз		Фузаріоз		Альтернاریоз		Фузаріоз	
	через 5 днів	через 7 днів	через 5 днів	через 7 днів	через 5 днів	через 7 днів	через 5 днів	через 7 днів
К	5,0	21,7	29,2	50,0	-	-	-	-
1	1,3	19,0	21,7	38,0	74,0	19,0	25,7	24,0
2	0,9	9,2	21,3	29,6	82,0	58,6	27,1	40,8
3	0,9	13,0	16,7	25,0	82,0	40,1	42,8	50,0
4	0,5	0,9	5,5	17,5	90,0	95,9	81,2	65,0
5	0,9	0,9	9,6	17,5	82,0	95,9	67,2	65,0

Примітка: К – контроль (обробка насіння водою); 1 – обробка насіння Ризобіном^К; 2 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2; 3 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Paenibacillus* sp. 3; 4 – обробка насіння композицією Ризобін^К + *Ochrobactrum* sp. 2 з подальшим обприскуванням супернатантом *Ochrobactrum* sp. 2; 5 – обробка насіння композицією Ризобін^К +

Paenibacillus sp. 3 з подальшим обприскуванням супернатантом *Paenibacillus* sp. 3.

Значно вищі результати ефективності забезпечило поєднання двох прийомів: застосування ризобіально-ендофітних композицій для обробки насіння та обприскування вегетуючих рослин супернатантами ендоефітів (рис. 4.2, 4.3). Проти альтернаріозу ефективність комбінованого застосування захисних заходів на 5-й день після штучного зараження була на рівні 90,0% у варіанті з застосуванням *Ochrobactrum* sp. 2 та 82,0% – у варіанті з *Paenibacillus* sp. 3, тоді як на 7-й день ефективність сягала 95,9% для обох варіантів з обприскуванням супернатантами ендоефітів (табл. 4.3). Проти ураження фузаріозом ефективність комбінованої обробки на 5-й день після штучного зараження становила 81,2% у варіанті з обприскуванням рослин супернатантом *Ochrobactrum* sp. 2 та 67,2% – з *Paenibacillus* sp. 3. На 7-й день після зараження спостерігали незначне зниження ефективності, воно сягало 65% у обох варіантах (табл. 4.3).

У подальших дослідженнях було залучено інші штами ендоефітів – *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5, а також досліди проводили на фоні розвитку мікозів і бактеріозів.

У лабораторно-вегетаційних дослідах за умов штучного зараження листків сої сорту Танаїс спостерігали характерні симптоми мікозів і бактеріозів. У необроблених рослин (контроль) ураження охоплювало значно більші площі листової пластини: розвиток альтернаріозу становив 95% (рис. 4.4), фузаріозу – 26-45% (рис. 4.5), а бактеріозу спричиненого *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* – 40%.

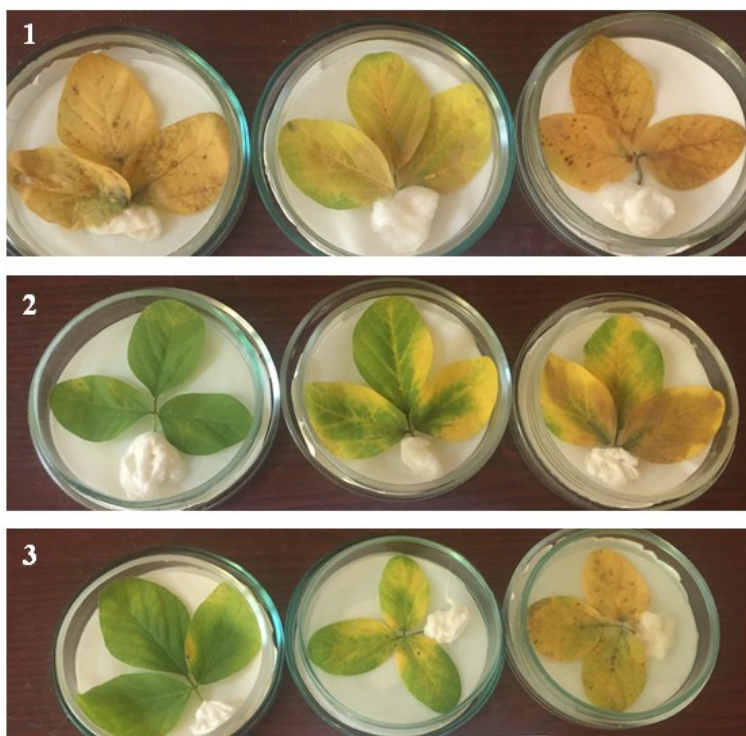


Рис.4.4. Розвиток альтернاریозу на листках сої залежно від передпосівної обробки.

Примітка: 1 – контроль (без обробки насіння); 2 – Ризобін^К + *Bacillus* sp. 4; 3 – Ризобін^К + *Bacillus* sp. 5

Застосування ризобіальних та ендоефітних мікроорганізмів для обробки насіння сої значно стримувало розвиток як мікозів, так і бактеріозів: розвиток альтернاریозу у інокульованих рослин становив 50,5-55% (рис. 4.4), фузаріозу – 18,4-40,5% (рис. 4.5), а бактеріозу – 35-36,5% (табл. 4.4).

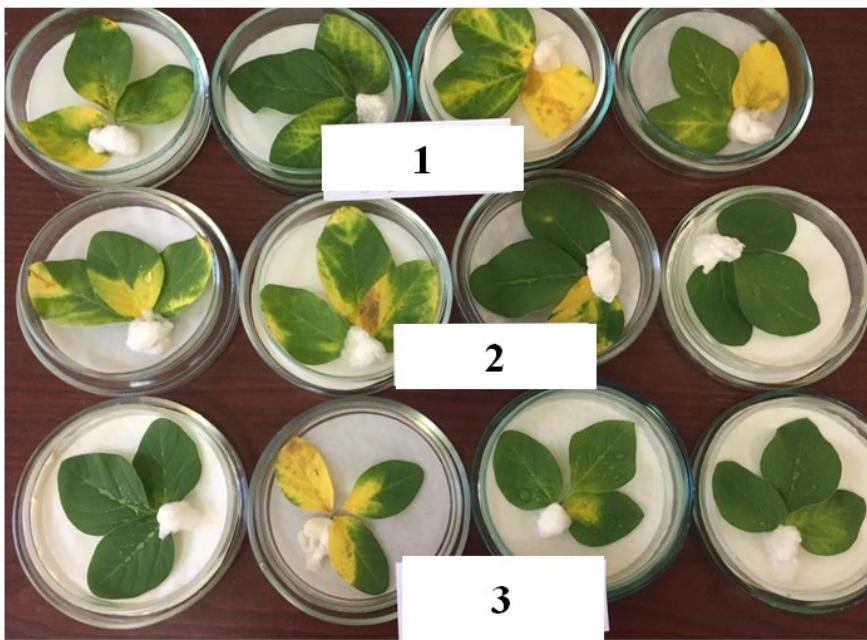


Рис.4.5. Розвиток фузаріозу на листках сої залежно від передпосівної обробки.

Примітка: 1 – контроль (без обробки насіння); 2 – Ризобін^К; 3 – Ризобін^К + *Bacillus* sp. 4.

Поєднання передпосівної обробки насіння та наступного обприскування вегетуючих рослин супернатантами ендофітів забезпечило значний захисний ефект. Так, за застосування композиції Ризобін^К + *Bacillus* sp. 4 з наступним обприскуванням супернатантом *Bacillus* sp. 4, розвиток фузаріозу становив 10,5-16,6%, розвиток альтернаріозу – 50,0%, а бактеріозу, спричиненого *P. savastanoi* pv. *glycinea* – 15,0%. Інокуляція насіння комплексом Ризобін^К + *Bacillus* sp. 5 та обприскування вегетуючих рослин супернатантом *Bacillus* sp. 5 також зменшувало розвиток хвороб сої. Так, ураження фузаріозом у цьому варіанті становило 4,6-2,5%, альтернаріозу – 75,0%, а бактеріозу – 16,0% (табл.4.4).

Таблиця 4.4

Розвиток фітопатогенів у культурі штучно зараженого листа за обробки сої ризобіальними і ендоефітними бактеріями (сорт Танаїс)

Варіант досліджу	Розвиток хвороби,%			
	<i>F. oxysporum</i> 080721	<i>F. (oxysporum +culmorum)</i>	<i>A. alternata</i> 150721	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i> УКМ В-1150
Контроль	45,0	26,0	95,0	40,0
Ризобін ^К	45,0	28,0	80,0	53,0
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 4	30,5	18,4	50,5	35,0
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 5	40,5	24,2	55,0	36,5
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 4 + обпр. <i>Bacillus</i> sp. 4	10,5	16,6	50,0	15,0
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 5 + обпр. <i>Bacillus</i> sp. 5	25,5	4,6	75,0	16,0

Найвищий захисний ефект (76,7%) забезпечила інокуляція насіння композицією Ризобін^К+*Bacillus* sp. 4 з наступним обприскуванням супернатантом *Bacillus* sp. 4 проти *F. oxysporum* 080721, та проти комплексного ураження фузаріозом (82,3%) за інокуляції Ризобін^К+*Bacillus* sp. 5 і обприскування супернатантом *Bacillus* sp. 5 (Табл. 4.5). Проти всіх досліджених збудників хвороб сої ефективність комбінованого застосування захисних заходів була на рівні 31,6-76,7%. Так, проти збудників фузаріозу вона сягала 36,2-82,3%, проти бактеріозу спричиненого *P. savastanoi* pv. *glycinea* – 60,0-62,5%, а найнижчою ефективністю дії була проти альтернатозу – 21,1-47,4% (Табл. 4.5).

Ефективність дії обробки сої ризобіальними і ендоефітними бактеріями проти збудників хвороб сої

Варіант досліджу	Ефективність дії, %			
	<i>F. oxysporum</i> 080721	<i>F. (oxysporum + culmorum)</i>	<i>A. alternata</i> 150721	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i> УКМ В-1150
Контроль	-	-	-	-
Ризобін ^К	0	-	15,8	-
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 4	32,2	29,2	46,8	12,5
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 5	10,0	24,7	42,1	8,8
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 4 + обпр. <i>Bacillus</i> sp. 4	76,7	36,2	47,4	62,5
Ризобін ^К + <i>Bacillus</i> sp. 5 + обпр. <i>Bacillus</i> sp. 5	43,3	82,3	21,1	60,0

Таким чином, проведені дослідження засвідчили, що селекціоновані ендоефітні бактерії проявляють фітопротекторні властивості у захисті сої від домінуючих фітопатогенів. Так, проти розвитку фузаріозу найефективнішими були *Raenibacillus* sp. 3 за застосування лише передпосівної інокуляції з ризобіями (46,4%), тоді як за поєднання інокуляції та обприскування вегетуючих рослин найефективнішим був *Bacillus* sp. 4 (76,7%). Найкраще стримував розвиток альтернаріозу штам *Ochrobactrum* sp. 2 (70,3-92,9%). А від бактеріозу викликаного *P. savastanoi* pv. *glycinea* найкраще захищав штам *Bacillus* sp. 4 (62,5%).

4.4 Здатність ендоефітів до синтезу сидерофорів

Одним із механізмів біоконтролю фітопатогенів є синтез фітосферними мікроорганізмами сидерофорів — низькомолекулярних композитів (500–1500 Да),

для хелатування іонів заліза та доставки його рослинам у доступній формі [15]. Відомо, що сидерофори зменшують окислювальний стрес у мікроорганізмів [9]. Також хелатування заліза може бути опосередкованим фактором впливу на патогенні мікроорганізми через конкуренцію за іони доступного заліза. Відомо, що ендوفіти здатні до синтезу гідроксаматного, карбоксилатного і фенолятного типів сидерофорів для захисту рослин від фітопатогенів [1, 7, 17]. Бактерії, що утворюють хелати заліза, можуть позбавляти патогенів доступного заліза, таким чином проявляючи антагоністичну активність [3]. Підвищений синтез сидерофорів ендوفітами сприяє кращому забезпеченню рослин іонами заліза та інших металів. Ендوفіти також сприяють росту рослин і врожайності, забезпечуючи рослини залізом в умовах його дефіциту завдяки здатності секвеструвати Fe^{3+} , оскільки мають високі константи спорідненості до Fe^{3+} і, відповідно, властивість його мобілізувати [2, 5].

Результати визначення сидерофорної здатності ендوفітів показали, що *Paenibacillus* sp.1, *Ochrobactrum* sp. 2 та *Pseudomonas* sp.6 були здатними до найбільш активного продукування сидерофорів (рис. 4.6). В усіх трьох штамів відмічено різну зміну кольору CAS-агару. Навколо колонії *Paenibacillus* sp.1 спостерігалось чітке кільце фіолетового кольору. У варіантах із *Ochrobactrum* sp.2 та *Pseudomonas* sp.6 спостерігали прозоре гало товщиною 1-2 мм, після якого синій колір середовища змінений на оранжевий. Дані відмінності у забарвленні середовища впродовж життєдіяльності ендوفітних бактерій потенційно є індикатором різних типів продукованих сидерофорів.

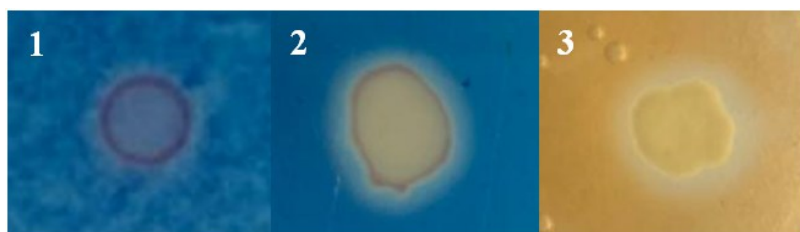


Рис. 4.6. Облік якісного аналізу здатності ендوفітів продукувати сидерофори: 1 – *Paenibacillus* sp.1, 2 – *Ochrobactrum* sp. 2, 3 – *Pseudomonas* sp.6.

Тип сидерофорів, утворених штамами ендоефітів, був підтверджений тетразолієвим тестом як гідроксаматний, на що вказувала поява червоно-малинового забарвлення реакційної суміші. У аналізі Арнова на наявність катехолатного типу сидерофорів, зміну кольору з жовтого на червоно-рожевий відмічено для *Paenibacillus* sp. 3, а також для *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5, проте меншої інтенсивності (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Типи сидерофорів, синтезовані ендоефітними бактеріями

Штам	Гідроксаматний тип	Катехолатний тип
<i>Paenibacillus</i> sp.1	+	-
<i>Ochrobactrum</i> sp. 2	+	-
<i>Paenibacillus</i> sp. 3	+	+
<i>Bacillus</i> sp. 4	+	+/-
<i>Bacillus</i> sp. 5	+	+/-
<i>Pseudomonas</i> sp. 6	+	-

Таким чином, досліджувані штами ендоефітів здатні продукувати сидерофори гідроксаматного типу. Було виявлено, що *Paenibacillus* sp. 3, *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 синтезують сидерофори змішаного типу, що вважається характерним для RGP- мікроорганізмів.

Високу продукцію сидерофорів у рідкій культурі було встановлено у *Paenibacillus* sp. 1, *Bacillus* sp. 4 та *Pseudomonas* sp. 6 – 75,9%, 57,7% та 78,3% відповідно (рис.4.7).

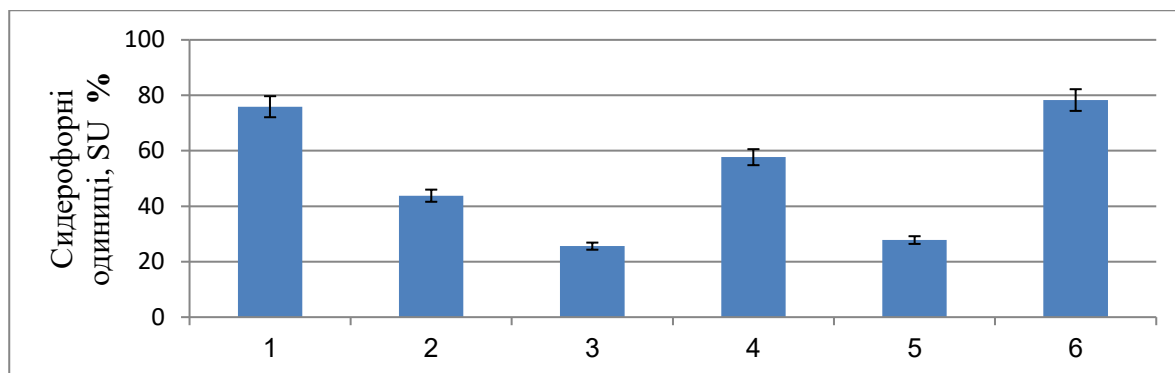


Рис. 4.7. Продукування сидерофорів ендоефітними штамами:

1 – *Paenibacillus* sp. 1; 2 – *Ochrobactrum* sp. 2; 3 – *Paenibacillus* sp. 3; 4 – *Bacillus* sp. 4; 5 – *Bacillus* sp. 5; 6 – *Pseudomonas* sp. 6

У результаті проведених досліджень встановлено, що всі досліджувані штами ендоефітних бактерій здатні синтезувати сидерофори, що підтверджено якісними реакціями на CAS-агарі та додатковими тестами на визначення їхнього типу. Кількісна оцінка у рідкій культурі показала, що найбільш активними продуцентами були *Paenibacillus* sp.1, *Bacillus* sp. 4 та *Pseudomonas* sp. 6. Отримані результати свідчать про високий сидерофорний потенціал окремих ендоефітних штамів, що може бути важливим механізмом їхньої фітопротекторної та рістстимулювальної дії.

Отже, результати показали, що ізольовані з бульбочок сої ендоефітні штами проявляли широкий спектр антагоністичної активності проти бактеріальних і грибних збудників захворювань сої. Штами продемонстрували здатність пригнічувати проростання спор фітопатогенних грибів. Досліджувані ендоефітні бактерії виявляли здатність синтезувати сидерофори, що є опосередкованим засобом захисної дії проти фітопатогенів. Виявлено високу біоконтролюючу ефективність виділених ендоефітних штамів в умовах лабораторних і вегетаційних досліджень.

Список використаних джерел до розділу 4

1. Ashajyothi, M., Velmurugan, S., Kundu, A., Balamurugan, A., Chouhan, V., & Kumar, A. (2023). Hydroxamate siderophores secreted by plant endophytic *Pseudomonas putida* elicit defense against blast disease in rice incited by *Magnaporthe oryzae*. *Letters in Applied Microbiology*, 76(12), ovad139. <https://doi.org/10.1093/lambio/ovad139>
2. Ayilara, M. S., Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2022). Bioprospecting and Challenges of Plant Microbiome Research for Sustainable Agriculture, a Review on Soybean Endophytic Bacteria. *Microbial Ecology*, 85(3), 1113–1135. <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02136-z>
3. Chaudhary, P., Agri, U., Chaudhary, A., Kumar, A., & Kumar, G. (2022). Endophytes and their potential in biotic stress management and crop production. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933017>
4. Dobrzyński, J., Jakubowska, Z. (2025). *Pseudomonas protegens* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi - mini review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 41, 428 <https://doi.org/10.1007/s11274-025-04643-w>
5. Garg, G., Kumar, S. & Bhati, S. (2021). Siderophore in Plant Nutritional Management: Role of Endophytic Bacteria. *Endophytes: Mineral Nutrient Management*, Volume 3, 315–329. https://doi.org/10.1007/978-3-030-65447-4_14
6. Ghosh, S.K., Chaudhary, M., Manjunatha, N. (2020). Endophytes: A Potential Bio-agent for the Plant Protection. In: *Chakravarthy, A. (eds) Innovative Pest Management Approaches for the 21st Century*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0794-6_14
7. Grobelak, A., & Hiller, J. (2017). Bacterial siderophores promote plant growth: Screening of catechol and hydroxamate siderophores. *International journal of phytoremediation*, 19(9), 825-833. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1290581>

8. Han, S., Chen, J., Zhao, Y., Cai, H., and Guo, C. (2021). *Bacillus subtilis* HSY21 can reduce soybean root rot and inhibit the expression of genes related to the pathogenicity of *Fusarium oxysporum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 178:104916. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104916>
9. Khasheii, B., Mahmoodi, P., & Mohammadzadeh, A. (2021). Siderophores: Importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiological Research*, 250, 126790. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126790>
10. Labiadh, M., Dhaouadi, S., Chollet, M., Chataigne, G., Tricot, C., Jacques, P., ... & Kallel, S. (2021). Antifungal lipopeptides from *Bacillus* strains isolated from rhizosphere of Citrus trees. *Rhizosphere*, 19, 100399. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100399>
11. Mülner, P., Schwarz, E., Dietel, K., Herfort, S., Jähne, J., Lasch, P., ... & Vater, J. (2021). Fusaricidins, polymyxins and volatiles produced by *Paenibacillus polymyxa* strains DSM 32871 and M1. *Pathogens*, 10(11), 1485. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111485>
12. Perveen, S., Shoaib, A., Yaqoob, H. S., Riaz, G., & Rafiq, M. (2025). *Ochrobactrum ciceri* and zinc synergy combatting *Fusarium verticillioides*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 136, 102536. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102536>
13. Priyanka, R., Nakkeeran, S. (2019). *Ochrobactrum ciceri* mediated induction of defence genes and antifungal metabolites enhance the biocontrol efficacy for the management of Botrytis leaf blight of *Lilium* under protected conditions. *Journal of Plant Pathology*, 101, 323–337 <https://doi.org/10.1007/s42161-018-00212-3>
14. Salotti, I., Giorni, P., & Battilani, P. (2024). Biology, ecology, and epidemiology of *Alternaria* species affecting tomato: ground information for the development of a predictive model. *Frontiers in plant science*, 15, 1430965. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1430965>

15. Soares, E. V. (2022). Perspective on the biotechnological production of bacterial siderophores and their use. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(11), 3985-4004. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11995-y>
16. Zhao, L., Xu, Y., & Lai, X. (2018). Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.007>
17. Zloch, M., Thiem, D., Gdzala-Kopciuch, R., & Hryniewicz, K. (2016). Synthesis of siderophores by plant-associated metallotolerant bacteria under exposure to Cd^{2+} . *Chemosphere*, 156, 312-325. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.130>

РОЗДІЛ 5 ВСТАНОВЛЕННЯ ТАКСОНОМІЧНОЇ ПРИНАЛЕЖНОСТІ ЕНДОФІТНИХ ШТАМІВ

5.1 Морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості ізолятів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5

Узагальнюючи дані щодо антагоністичних, біозахисних і стресопротекторних властивостей досліджуваних штамів, для подальших досліджень відібрано найбільш перспективні ендоефіти, а саме – *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5. Було проведено їх повногеномне секвенування і видову ідентифікацію, визначено філогенетичні зв'язки та їх вплив на соєво-ризобіальний симбіоз у дрібноділянкових і польових дослідках.

За морфологічними властивостями обидва штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 є грампозитивними паличками розміром $2,0 \times 0,7$ та $2,3 \times 0,5$ мкм відповідно, розташованими поодинокі або об'єднаними в ланцюжки, з центральними ендоспорами, що не змінюють форму клітини (рис.5.1). На м'ясо-пептонному і картопляному агаризованих середовищах вони утворюють округлі матові колонії бежевого кольору діаметром 5-7 мм пастоподібної консистенції. За культивування на м'ясо-пептонному бульйоні штами утворюють плівку.

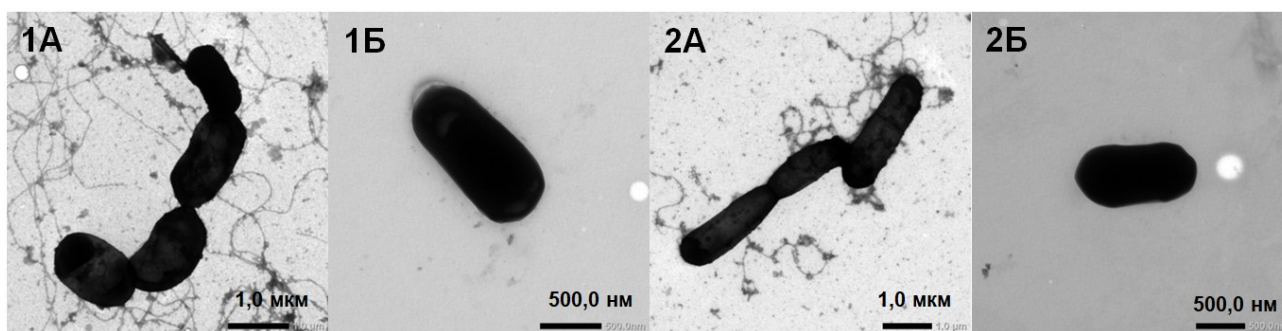


Рис 5.1. Мікрофотографії клітин *Bacillus* sp. 4: вегетативні клітини (1А) та спори (1Б) та *Bacillus* sp. 5: вегетативні клітини (2А) та спори (2Б). (Jeol Jem 1400 Electron Microscope).

При вивченні фізіолого-біохімічних властивостей досліджуваних штамів встановлено, що *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 здатні розріджувати желатин,

ферментувати лактозу, D-маніт, L-арабінозу, D-глюкозу, D-рибозу, а також гідролізувати ескулін та рости при 6.5% NaCl, тоді як ферментувати D-тагатозу та інулін не здатні (табл.5.1).

Таблиця 5.1

Порівняння фізіолого-біохімічних властивостей штамів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 (Vitek 2 BioMérieux) та типового штаму *B. velezensis* sp. nov. CR-502^T

Реакція	<i>Bacillus</i> sp. 4	<i>Bacillus</i> sp. 5	<i>B. velezensis</i> sp. nov. CR-502 ^{T*}
Утилізація джерел карбону			
Цитрат	+	+	-
Лактоза	+	+	+
D-маніт	+	+	+
L-арабіноза	+	+	+
D-глюкоза	+	+	+
Глікоген	+	-	+
D-маноза	-	+	+
D-мелезидоза	-	+	-
N-ацетил-D-глюкозамін	+	-	-
D-тагатоза	-	-	-
Інулін	-	-	-
D-рибоза	+	+	+
Ескулін	+	+	+
Інші властивості			
Розрідження желатину	+	+	+
Ріст при 6,5% NaCl	+	+	+

Примітка: “+” – тест позитивний, “-” – тест негативний, * – за даними [31].

Усі визначені фізіолого-біохімічні властивості штамів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 відповідали властивостям спороутворювальних бактерій групи *Bacillus subtilis* [37]. У більшості тестів результати співпадали з властивостями типового штаму *B. velezensis* sp. nov. CR-502^T [31]. Відмінності між штамми проявилися у таких тестах: ізоляти *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 утилізували цитрат, тоді як типовий штам – ні; *Bacillus* sp. 5 та типовий штам ферментували D-манозу, тоді як *Bacillus* sp. 4 не утилізував; *Bacillus* sp. 5 ферментував D-

мелезидозу, тоді як *Bacillus* sp. 4 і типовий штам – ні. Для N-ацетил-D-глюкозаміну позитивний результат з утилізації спостерігали лише у *Bacillus* sp. 4. Використання глікогену властиве *Bacillus* sp. 4 та типовому штаму, тоді як *Bacillus* sp. 5 показав негативний результат. Ці відмінності свідчать про внутрішньовидову фенотипову різноманітність представників *B. velezensis*, і можуть бути пов'язані з різними екологічними нішами, з яких було виділено штами: *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 – з бульбочок сої, а *B. velezensis* sp. nov. CR-502^T – з річки Велес [31]. Стійкість досліджуваних штамів до 6,5% NaCl дозволяє віднести їх до галотолерантних штамів. Здатність *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 витримувати високий рівень засолення та утилізувати широкий спектр джерел карбону свідчить про їх екологічну пластичність та пристосованість до мінливого ґрунтового середовища.

5.2 Антибіотикорезистентність ендофітних штамів

Забруднення агроєкосистем антибіотиками може призводити до серйозних екологічних наслідків, зокрема до поширення генів стійкості та антибіотикорезистентних бактерій у навколишньому середовищі [44]. Підвищення рівня антибіотикорезистентності у природних екосистемах сприяє циркуляції антибіотикорезистентних бактерій в агроценозах. Зокрема, ендофітні бактерії, стійкі до антибіотиків, можуть виступати потенційними векторами передачі генів резистентності до антибіотиків іншим бактеріям [33]. Саме тому важливим є встановлення антибіотикорезистентності ендофітних штамів, які мають потенціал до застосування як інокулянти у сільському господарстві.

Обидва досліджувані штами проявили високу чутливість до більшості досліджених антибіотиків, зокрема до аміноглікозидів (амікацину, гентаміцину, канаміцину, стрептоміцину), фторхінолонів (левофлоксацину, норфлоксацину, офлоксацину, ципрофлоксацину), макролідів (азитроміцину, еритроміцину, кларитроміцину), глікопептидів (ванкоміцин, тейкопланін) тетрациклінів, цефалоспоринів, амфеніколів, а також карбапенемів (табл.5.2).

Таблиця 5.2

Антибіотикорезистентність ендофітних штамів

Антибіотики		Вміст у диску	Діаметр зони затримки росту, мм	
			<i>Bacillus</i> sp. 4	<i>Bacillus</i> sp. 5
Пеніциліни	Амоксицилін	30 мкг	24,4 ± 0,8	34,0 ± 0,8
	Амоксицилін	10 мкг	18,2 ± 0,6	23,5 ± 3,6
	Амоксицилін/клавуланова кислота	20/10 мкг	25,7 ± 0,2	28,5 ± 6,9
	Ампіцилін	10 мкг	16,3 ± 1,8	33,2 ± 1,4
	Ампіцилін/сульбактам	10/10 мкг	23,0 ± 0,8	35,5 ± 1,2
	Бензилпеніцилін	10 од.	14,5 ± 0,4	19,0 ± 0,8
	Пеніцилін	6 од.	0	12,5 ± 1,2
Аміноглікозиди	Амікацин	30 мкг	36,0 ± 2,4	34,0 ± 0,8
	Гентаміцин	120 мкг	39,5 ± 2,8	44,0 ± 3,2
	Канаміцин	30 мкг	39,0 ± 2,4	38,5 ± 0,4
	Стрептоміцин	10 мкг	23,0 ± 0,8	31,0 ± 0,8
Фторхінолони	Левовфлоксацин	5 мкг	41,5 ± 0,4	42,5 ± 0,4
	Норфлоксацин	10 мкг	32,5 ± 1,2	32,0 ± 0,8
	Офлоксацин	5 мкг	40,0 ± 0	44,0 ± 0
	Ципрофлоксацин	5 мкг	39,5 ± 0,4	46,0 ± 1,6
Макроліди	Азитроміцин	15 мкг	26,5 ± 1,2	35,0 ± 2,4
	Еритроміцин	15 мкг	28,0 ± 0	32,0 ± 1,6
	Кларитроміцин	15 мкг	32,5 ± 1,2	38,0 ± 0
	Тейкопланін	30 мкг	23,5 ± 0,4	28,0 ± 2,4
Тетрацикліни	Доксициклін	30 мкг	28,5 ± 0,4	31,0 ± 1,6
	Тетрациклін	30 мкг	19,0 ± 0,8	26,0 ± 2,4
Нітрофурані	Нітрофурантоїн	300 мкг	13,5 ± 0,4	18,0 ± 2,4
	Фуразидин	300 мкг	20,0 ± 0,8	26,5 ± 3,6
Цефалоспорины	Цефазолін	300 мкг	51,0 ± 1,6	53,5 ± 0,4
	Цефтріаксон	30 мкг	42,5 ± 1,2	46,0 ± 0
Поліміксини	Поліміксин В	300 од.	9,0 ± 0,8	11,5 ± 0,4
Карбапенеми	Іміпенем/циластатин	10/10 мкг	50,0 ± 3,2	50,0 ± 0
Амфеніколи	Левоміцетин	30 мкг	29,5 ± 1,2	35,5 ± 0,4

Bacillus sp. 5 також був чутливим до усіх протестованих антибіотиків груп пеніцилінів та нітрофіранів, тоді як *Bacillus* sp. 4 виявився стійким до пеніциліну. Обидва досліджувані штами продемонстрували низьку чутливість до поліміксину В, з зонами інгібування 9,0-11,5 мм. Стандартні граничні значення чутливості для

поліміксинів не встановлені для грампозитивних бактерій. Однак невеликі зони інгібування вказують на низьку чутливість, що узгоджується з механізмом дії поліміксинів, які в першу чергу впливають на грамнегативні бактерії шляхом взаємодії з ліпополісахаридами зовнішньої мембрани [11].

Отже, обидва штами проявляли чутливість до більшості досліджених антибіотиків, що свідчить про відсутність множинної антибіотикорезистентності. Такий профіль антибіотикочутливості свідчить про низький ризик поширення генів антибіотикорезистентності при потенційному застосуванні цих бактерій як мікробних інокулянтів у сільському господарстві.

5.3. Порівняльний геномний аналіз *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 із референсним штамом *B. velezensis* FZB42

Для визначення видових меж досліджуваних бактерій використовували результати молекулярно-генетичних досліджень – повногеномного секвенування ДНК. Серед доступних індексів спорідненості геному середня нуклеотидна ідентичність (ANI) є одним із найнадійніших вимірювань геномної спорідненості між штамми та має великий потенціал у таксономії бактерій [20]. ANI визначають як парний показник загальної подібності між двома послідовностями геномів. Обчислення ANI включає фрагментацію послідовностей геному, пошук нуклеотидної послідовності, вирівнювання та визначення ідентичності нуклеотидних послідовностей геномів двох прокаріотичних штамів при класифікації та ідентифікації бактерій [20].

Типовим штамом виду *B. velezensis* є CR-502^T, описаний Ruiz-García et al. (2005) [31]. Водночас штам *B. velezensis* FZB42 є одним із найбільш детально досліджених представників цього виду та має повністю секвенований геном, тому широко використовується як референсний штам у геномних та біотехнологічних дослідженнях. Значення ANI між геномом *B. velezensis* FZB42 та досліджуваними штамми *Bacillus* sp. 4 і *Bacillus* sp. 5 становили 98,86% та 98,87% відповідно (табл. 5.3), що свідчить про дуже високий рівень геномної подібності між

досліджуваними штамми та референсним геномом, що перевищує порогове значення 95–96% [20] для віднесення бактерій до одного виду.

Таблиця 5.3

Значення ANI геномів штамів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 і *B. velezensis* FZB42

Порівнювані геноми	<i>B.velezensis</i> FZB42 / <i>Bacillus</i> sp. 4	<i>B.velezensis</i> FZB42 / <i>Bacillus</i> sp. 5
Значення OrthoANIu (%)	98.86	98.87
Довжина геному (п.н.) <i>B.velezensis</i> FZB42	3 917 820	
Довжина геному (п.н.) досліджуваних штамів	3 967 800	4 038 180
Середня довжина вирівняних ділянок геному (п.н.)	2 646 004	2 777 125
Покриття геному (%) <i>B.velezensis</i> FZB42	67.54	70.88
Покриття геному (%) досліджуваних штамів	66.69	68.77

Довжина геному штаму *B. velezensis* FZB42 становить 3 917 820 п.н., тоді як розміри геномів досліджуваних ендофітних штамів становлять 3 967 800 п.н. для *Bacillus* sp. 4 та 4 038 180 п.н. для *Bacillus* sp. 5. Таким чином, геноми ендофітних штамів є дещо більшими за геном референсного штаму.

Аналіз вирівнювання геномних послідовностей показав, що середня довжина вирівняних ділянок становила 2 646 004 п.н. для порівняння *B. velezensis* FZB42 з *Bacillus* sp. 4 та 2 777 125 п.н. – для *B. velezensis* FZB42 з *Bacillus* sp. 5. Відповідно, покриття геному референсного штаму *B. velezensis* FZB42 під час вирівнювання становило 67,54 % для *Bacillus* sp. 4 та 70,88 % для *Bacillus* sp. 5. Водночас покриття геномів ендофітних штамів становило 66,69 % для *Bacillus* sp. 4 та 68,77 % для *Bacillus* sp. 5, що означає що більша частина геному ендофітних ізолятів є подібною до геному референсного штаму, тоді як відмінні ділянки геномів можуть складати штам-специфічні гени та мобільні генетичні елементи.

Отримані результати свідчать про значний рівень геномної подібності між досліджуваними ендофітними штамми *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 та

референсним штамом *B. velezensis* FZB42 та підтверджують належність досліджуваних штамів до виду *B. velezensis*, водночас відмінності у довжині геномів та показниках покриття можуть бути пов'язані з наявністю штам-специфічних генетичних елементів або додаткових геномних ділянок у ендоефітних ізолятів.

5.4 Філогенетичний аналіз

Філогенетичний аналіз є важливим підходом для дослідження еволюційних взаємозв'язків між мікроорганізмами на основі порівняння послідовностей ДНК або білків. Він дозволяє систематизувати молекулярні дані, встановити походження та спорідненість мікроорганізмів і уточнити їх таксономічне положення [3, 30]. У мікробіологічних дослідженнях одним із найбільш поширених молекулярних маркерів для ідентифікації та класифікації бактерій є ген 16S рРНК, послідовності якого широко використовують для аналізу філогенетичних зв'язків і визначення меж видів, зокрема серед представників роду *Bacillus*. Цей ген характеризується поєднанням консервативних та варіабельних ділянок, що робить його зручним інструментом для дослідження еволюційної спорідненості мікроорганізмів [30]. У зв'язку з цим було проведено філогенетичний аналіз на основі послідовностей гена 16S рРНК досліджуваних ендоефітних штамів для визначення їх еволюційного положення та ступеня спорідненості з відомими представниками роду *Bacillus*.

Філогенетичний аналіз показав, що штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 знаходяться в межах клади *B. velezensis* (рис. 5.2). Значення bootstrap, яке інтерпретується як міра достовірності філогенетичної оцінки [17] між досліджуваними ізолятами та референсним штамом *B. velezensis* FZB42 становило 92%. Це означає, що досліджувані штами еволюційно близькі до *B. velezensis*. *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 формують окрему тісну кладу, що свідчить про їхню значну генетичну подібність і близьке еволюційне походження (рис. 5.2).

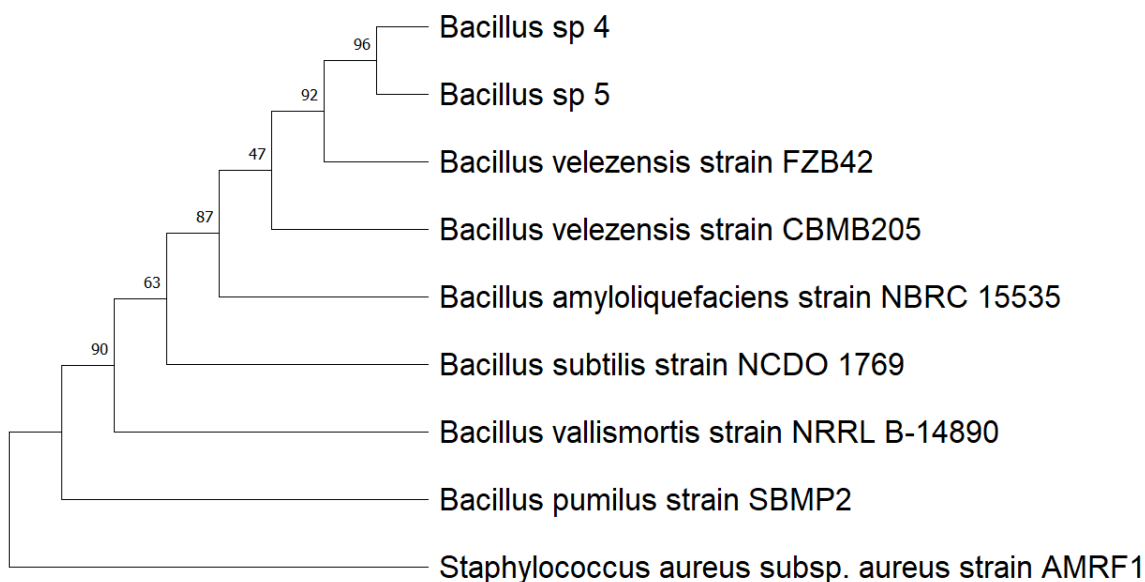


Рис.5.2. Філогенетичний аналіз штамів *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 та послідовностей споріднених видів.

Наступною спорідненою гілкою філогенетичного дерева є штам *B. velezensis* CBMB205, який формує спільну кладу з попередньою групою з bootstrap-підтримкою 47, що свідчить про помірну достовірність цього еволюційного зв'язку. Це можна пояснити обмеженою роздільною здатністю послідовностей генів 16S рРНК для близькоспоріднених штамів *Bacillus*. Низькі значення бутстрепу вказують на недостатній філогенетичний сигнал та нестабільність топології гілок, що може бути наслідком низької кількості інформативних сайтів, подібності послідовностей між штамми або наявності нестабільних («вигнаних») таксонів [21].

B. amyloliquefaciens NBRC 15535 відгалужується від попередніх таксонів із bootstrap-значенням 87, що підтверджує його відносно близьку спорідненість з кладою *B. velezensis*. Така близькість узгоджується з літературними даними, згідно з якими ці види характеризуються високою подібністю послідовностей генів (зокрема *gyrB*) та високими значеннями ДНК–ДНК гібридизації. На цій підставі раніше *B. velezensis* розглядався як пізніший гетеротиповий синонім *B. amyloliquefaciens* [38]. Водночас сучасні філогеномні дослідження

підтверджують їх тісну спорідненість, хоча й обґрунтовують розмежування цих таксонів як окремих видів [9].

Члени видового комплексу *Bacillus subtilis*, включаючи *B. amyloliquefaciens* (bootstrap 87), *B. subtilis* (bootstrap 63) та *B. vallismortis* (bootstrap 90), утворювали сусідні клади, що узгоджується з описом *B. subtilis* species complex [37]. Їх положення на дереві відображає поступове зростання генетичної дистанції від групи, до якої належать досліджувані ізоляти. *B. pumilus*, який не належить до групи *B. subtilis* розташовувався більш віддалено [13]. Як зовнішню групу (outgroup) використано *Staphylococcus aureus*, що дозволяє коректно визначити напрям еволюційного розходження всередині клади *Bacillus*.

Отже, філогенетичний аналіз демонструє, що штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 є еволюційно найближчими до представників виду *B. velezensis*, а саме до референсного штаму FZB42, що підтверджується порівняльним аналізом нуклеотидних послідовностей (ANI). Таким чином, згідно з результатами повногеномного секвенування та філогенетичного аналізу, ізольовані ендofіти були ідентифіковані і депоновані в депозитарії Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України як *B. velezensis* IMB B-8134 та IMB B-8135. Їх геноми задепоновано в GenBank під номерами GCA_051550635.1 та GCA_052976605.1 відповідно.

5.5 Анотація геному та аналіз біосинтетичних генних кластерів

З метою функціональної характеристики досліджуваних штамів та виявлення їх потенціалу як рослин-асоційованих бактерій було проведено анотування геномів із використанням сервісу RAST (Rapid Annotation using Subsystem Technology), який ідентифікує гени, що кодують білки, рРНК та тРНК, призначає функції генам, прогнозує, які підсистеми представлені в геномі та використовує цю інформацію для реконструкції метаболічної мережі [2].

Анотація геномів *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 виявила значне різноманіття функціональних систем (рис. 5.3). Найбільш представленою категорією у геномах обох штамів є «Амінокислоти та їх похідні»,

серед яких виявлено як шляхи біосинтезу, так і деградації амінокислот, включаючи розгалужені (валін, лейцин, ізолейцин) та ароматичні (триптофан, фенілаланін, тирозин). Наявність як анаболічних, так і катаболічних шляхів вказує на метаболічну гнучкість і можливість використання амінокислот як альтернативного джерела енергії та нітрогену.

Присутня велика кількість генів, пов'язаних з метаболізмом вуглеводів, зокрема, у категорії «Carbohydrates» представлені як центральні метаболічні шляхи (гліколіз, цикл трикарбонових кислот, пентозофосфатний шлях), так і численні системи утилізації різноманітних моно- та олігосахаридів (ксилоза, арабіноза, фруктоза, маноза, галактуронати тощо). Здатність досліджуваних штамів до утилізації деяких з вуглеводів було підтверджено нами з використанням системи Vitek 2 BioMérieux, зокрема, утилізація лактози, L-арабінози, D-рибози. Проте, незважаючи на наявність у геномах досліджуваних штамів генів, пов'язаних з утилізацією D-манози та N-ацетил-глюкозаміну, у тестах Vitek 2 BioMérieux *B. velezensis* IMB B-8134 був нездатним до утилізації D-манози, а *B. velezensis* IMB B-8135 мав негативний результат щодо використання N-ацетил-глюкозаміну. Такі відмінності між геномними та фенотиповими даними можуть бути зумовлені тим, що наявність генів не гарантує їх експресії, яка часто залежить від специфічних умов середовища.

Категорія «Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments» представлена генами біосинтезу широкого спектра кофакторів, зокрема вітамінів групи B (тіамін, біотин, фолати, піридоксин, рибофлавін), коензиму A та NAD(P). Категорія «Protein Metabolism» представлена значною кількістю генів, пов'язаних із біосинтезом білка, включаючи рибосомні білки, фактори ініціації, елонгації та термінації трансляції, а також численні аміноацил-tРНК-синтетази. Окрім цього, виявлено гени, що забезпечують фолдинг білків (шаперони), їх посттрансляційну модифікацію та деградацію.

У геномах *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 було виявлено значну кількість генів – 95 та 93 відповідно (рис. 5.3), пов'язаних із процесами споруляції, що є характерною ознакою представників роду *Bacillus*.

Споруляція являє собою складний багатостадійний процес формування ендоспор, які відзначаються високою стійкістю до несприятливих факторів середовища, включаючи висихання, температурні коливання та дефіцит поживних речовин [6].

У геномах досліджуваних штамів було виявлено гени, пов'язані із рухливістю та хемотаксисом, зокрема гени, що кодують компоненти джгутикового апарату. Наявність генів, що кодують структурні білки джгутика, а також компоненти, пов'язані з його функціонуванням, вказує на здатність штамів до активного переміщення у ґрунтовому середовищі. Це є важливим фактором ефективної колонізації ризосфери та проникнення у внутрішні тканини рослин [32]. Крім того, рухливість у поєднанні з хемотаксисом дозволяє бактеріям реагувати на хімічні сигнали, зокрема компоненти корневих ексудатів, що сприяє їх спрямованому переміщенню до рослин-хазяїв.

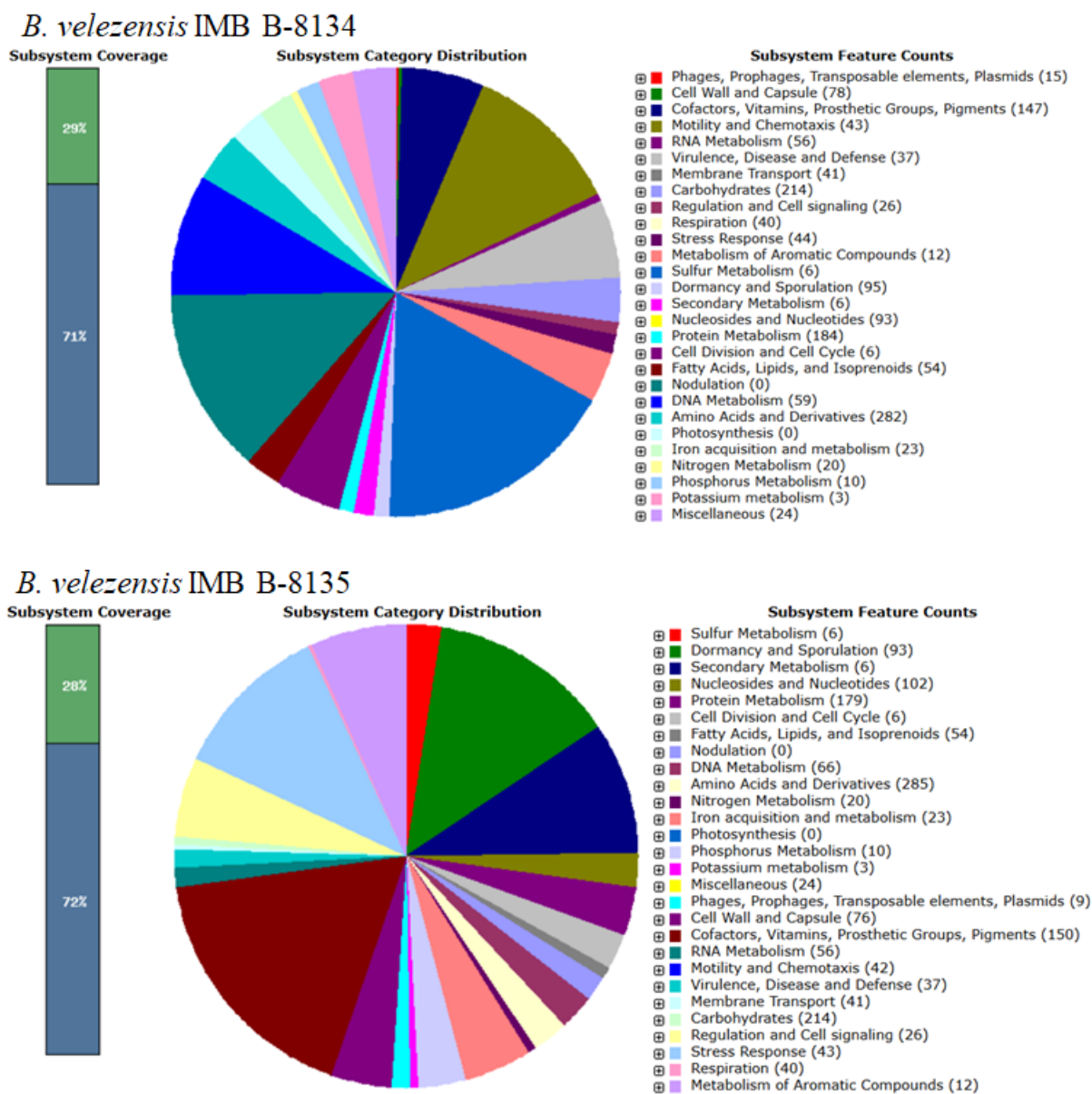


Рис.5.3. Графічна анотація та розподіл категорій підсистем геномів *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135. Числові значення в дужках позначають кількість генів.

Було відзначено наявність у геномах обох штамів *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 генів, пов'язаних зі стрес-відповіддю, що свідчить про їхню здатність адаптуватися до змінних умов середовища, зокрема під час колонізації рослинних тканин. Серед генів, відповідальних за захист від оксидативного стресу, виявлено компоненти систем детоксикації АФК, а також елементи глутатіон-залежного окисно-відновного циклу. Наявність цих генів свідчить про потенційну здатність штамів до нейтралізації АФК, які утворюються

як у процесі метаболізму, так і під час захисної відповіді рослини (oxidative burst) [24]. Це може сприяти як виживанню бактерій у рослинних тканинах, так і опосередковано зменшенню рівня оксидативного стресу в рослині.

У категорії генів, відповідальних за захист від осмотичного стресу ідентифіковано гени, пов'язані з транспортом холіну та синтезом бетаїну – одного з основних осмопротекторів у бактерій. Наявність цих систем вказує на здатність штамів підтримувати клітинний гомеостаз в умовах підвищеної осмолярності, що було підтверджено здатністю рости в середовищі з підвищеним вмістом NaCl [5].

Крім того, у геномах обох штамів виявлено гени, що кодують альтернативний сигма-фактор SigmaB, який є глобальним регулятором стрес-відповіді у бактерій роду *Bacillus*. Цей фактор бере участь у координації експресії генів у відповідь на різні стресові умови, включаючи оксидативний, осмотичний та енергетичний стрес [16].

Також було виявлено окремі гени, пов'язані з іншими аспектами стрес-відповіді, зокрема бактеріальний гемоглобін, що може відігравати роль у адаптації до умов обмеженого кисню [12], характерних для внутрішніх тканин рослин. Окрім цього, ідентифіковано гени детоксикації та метаболізму селену, що можуть бути залучені до захисту клітини від токсичних сполук [36].

Водночас у досліджуваних геномах не було виявлено генів, віднесених до категорій кислотного стресу, теплового та холодового шоку, а також стресу висихання. Це може свідчити про відносну адаптацію штамів до стабільніших умов існування, зокрема до ендofітного способу життя, де коливання факторів середовища є менш вираженими порівняно з ґрунтовими екосистемами. Проте, відсутність цих категорій у межах анотації RAST не виключає наявності окремих генів зі схожими функціями, які могли бути віднесені до інших функціональних груп.

У геномах *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 було виявлено гени (23), пов'язані із захопленням та метаболізмом заліза, включаючи системи транспорту гему та синтезу сидерофорів. Зокрема, ідентифіковано гени біосинтезу катехолатних сидерофорів бацилібактину [8] та антрахеліну [15], які

відіграють важливу роль у міжвидовій конкуренції, обмежуючи доступність заліза для інших мікроорганізмів, включаючи фітопатогени, а також беруть участь у покращенні його доступності для рослин, що сприяє підвищенню їх росту та врожайності [8]. Бактерії здатні захоплювати гем із зовнішнього середовища, після чого він транспортується в клітину та піддається ферментативному розщепленню з вивільненням іонів заліза [39]. Наявність таких систем у досліджуваних штамів свідчить про їх здатність використовувати альтернативні джерела заліза, що є особливо важливим в умовах його обмеженої доступності у рослинних тканинах. Здатність досліджуваних штамів до синтезу катехолатних сидерофорів було підтверджено у лабораторних умовах.

У геномах досліджуваних штамів виявлено гени, пов'язані з метаболізмом нітрогену, що включають процеси асиміляції амонію, денітрифікації та відповіді на нітрозативний стрес. Зокрема, наявність генів асиміляції амонію свідчить про здатність штамів ефективно використовувати амоній як джерело нітрогену для біосинтетичних процесів.

Виявлення генів, залучених до відновлення нітратів і нітритів до амонію, вказує на можливість участі штамів у процесах денітрифікації, що може сприяти підвищенню доступності нітрогену для рослин. Крім того, наявність генів денітрифікації та відповідних редуктазних кластерів свідчить про потенційну здатність штамів до відновлення нітратів до газоподібних форм нітрогену в умовах обмеженого доступу кисню [29]. Сукупність цих ознак свідчить про залученість штамів до трансформації сполук нітрогену та їх адаптацію до змін умов середовища.

У субкатегорії «вторинний метаболізм» у обох штамів виявлено гени (6) відповідальні за синтез ауксинів, які є кількісно найпоширенішими фітогормонами, що секретуються більшістю бактерій, пов'язаних з рослинами, а синтез ауксинів вважається основним фактором, відповідальним за посилений ріст рослин [1], та алкілпіронсинтази, яка каталізує синтез трикетидних піронів з довголанцюгових тіоестерів жирних ацил-CoA та малоніл-CoA [27].

У геномах *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 було виявлено гени, пов'язані з гомеостазом калію (3), сірки (6) та фосфору (10), які відіграють важливу роль у підтриманні клітинного гомеостазу та адаптації до умов навколишнього середовища. Зокрема, системи гомеостазу калію забезпечують регуляцію осмотичного тиску, мембранного потенціалу та внутрішньоклітинного рН, що є критично важливим для виживання бактерій у стресових умовах [10]. Метаболізм сірки пов'язаний із синтезом сірковмісних амінокислот та підтриманням редокс-балансу клітини, зокрема через тіоредоксинову систему, яка бере участь у захисті від оксидативного стресу [34].

Окремо слід відзначити наявність генів, пов'язаних із метаболізмом фосфору, що може свідчити про здатність штамів брати участь у мобілізації фосфатів і, таким чином, покращувати мінеральне живлення рослин. Подібні властивості є характерними для рослин-асоційованих бактерій і розглядаються як один із ключових механізмів стимуляції росту рослин [43].

У геномах закодovanі гени пов'язані зі стійкістю до антибіотиків та токсичних сполук, включаючи ефлюксні насоси та бета-лактамази. Ефлюксні насоси (помпи) – це трансмембранні білки-транспортери, які здатні видаляти більшість клінічно значимого антибіотика із внутрішнього середовища клітини у зовнішнє середовище, зменшуючи його внутрішньоклітинну концентрацію [19]. Бета-лактамази інактивують бета-лактамі антибіотики шляхом гідролізу пептидного зв'язку чотиричленного бета-лактамного кільця, що робить антибіотик неефективним, що забезпечує стійкість бактерії [23]. До бета-лактамів належать підгрупи пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів та монобактамів. За результатами диско-дифузійного методу штами *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 були чутливими до усіх протестованих цефалоспоринів (цефазолін, цефтріаксон), карбапенемів (імпенем/циластан) та більшості пеніцилінів (амоксицилін, амоксицилін/клавуланова кислота, ампіцилін, ампіцилін/сульбактам, бензилпеніцилін). Виявлено гени стійкості до фторхінолонів, стрептотрицину та фосфоміцину. Проте, за результатами біотестів, досліджувані штами були чутливими до усіх протестованих фторхінолонів

(левофлоксацину, норфлоксацину, офлоксацину, ципрофлоксацину). Відсутність фенотипового прояву антибіотикорезистентності може бути пов'язана з особливостями регуляції експресії виявлених генів, недостатнім рівнем їх експресії або відсутністю функціональної активності відповідних генних продуктів за умов проведення експерименту.

Крім того, виявлено гени, пов'язані з метаболізмом та детоксикацією важких металів, а саме, міді, кобальту, цинку та кадмію. Це свідчить про ймовірну здатність штамів адаптуватися до умов техногенного забруднення та потенційно знижувати токсичний вплив металів на рослини.

Особливу увагу привертає наявність генів біосинтезу бактеріоцинів – рибосомально синтезованих антимікробних пептидів, які відіграють важливу роль у пригніченні росту фітопатогенних мікроорганізмів та забезпечують конкурентну перевагу штамів у мікробних спільнотах [7]. Виявлення генів, віднесених до підкатегорії «invasion and intracellular resistance», може відображати здатність бактерій до колонізації внутрішніх тканин рослин, що є характерною ознакою ендofітних мікроорганізмів [32]. Незначну кількість генів (15) у геномах досліджуваних штамів становили інтрони та капсидні білки фагів, а також гени відповідальні за механізми пакування фагів. Відсутність генів фотосинтезу та нодуляції узгоджується з гетеротрофним способом живлення та ненодуляційною природою досліджуваних штамів.

Отже, отримані результати анотації геномів *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 свідчать про наявність широкого спектра генів, пов'язаних із метаболічною активністю, стрес-відповіддю та взаємодією з рослинами. Виявлено гени, залучені до синтезу амінокислот, утилізації різноманітних джерел вуглецю, біосинтезу кофакторів, а також системи, що забезпечують адаптацію до оксидативного, осмотичного та інших типів стресу. Наявність генів рухливості, систем захоплення заліза, синтезу фітогормонів, а також антимікробних сполук, зокрема бактеріоцинів, свідчить про потенційну здатність досліджуваних штамів ефективно колонізувати рослинні тканини та конкурувати з іншими мікроорганізмами. Водночас відсутність генів токсинів і

суперантигенів вказує на їх непатогенний характер. Геномний профіль досліджуваних штамів узгоджується з сукупністю ознак характерних для PGPR, що дозволяє розглядати досліджувані штами як перспективні агенти для використання у сільському господарстві.

Для прогнозування біосинтетичного потенціалу досліджуваних штамів B-8134 та IMB B-8135 було проаналізовано біосинтетичні генні кластери (BGCs), відповідальні за продукування вторинних метаболітів, з використанням анти-SMASH 7.0 [4]. В геномі *B. velezensis* IMB B-8134 було виявлено 23 BGCs, серед них 5 – демонстрували високу гомологію до відомих, 12 - низьку, а 6 не мали виявлених гомологічних ділянок. У геномі *B. velezensis* IMB B-8135 було виявлено 20 BGCs, серед яких 5 – демонстрували високу гомологію, 1 – середню, 11 - низьку, а 3 не мали виявлених гомологічних ділянок. До кластерів з високою гомологією (100%) у обох штамів ідентифіковано ті, що відповідають за біосинтез бацилізину, макролактину, бацилаєну та бацилібактину (табл.5.4).

Таблиця 5.4

Закодовані BGCs у геномах *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135

Регіон	Тип	Найбільш подібний відомий BGC	Найбільш відомий продуцент	Ідентичність, %
<i>B. velezensis</i> IMB B-8134				
1.1	інший	бацилізин	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
2.1	transAT-PKS	макролактин		100
3.1	NRPS, беталактон, transAT-PKS	фенгіцин		80
3.2	transAT-PKS, NRPS, T3PKS	бацилаєн		100
9.1	NRP-металофор, NRPS, RiPP-подібний	бацилібактин	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168	100

Продовження таблиці 5.4.

Регіон	Тип	Найбільш подібний відомий BGC	Найбільш відомий продуцент	Ідентичність, %
<i>B. velezensis</i> IMB B-8135				
1.3	transAT-PKS	макролактин H	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
1.4	transAT-PKS, T3PKS, NRPS	бацилаєн		100
1.5	NRPS, transAT-PKS, беталактон	фенгіцин		80
2.1	інший	бацилізин		100
3.1	transAT-PKS	дифіцидин		60
6.1	RiPP-подібний, NRP-металофор, NRPS	бацилібактин	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168	100

Примітка: У таблиці 5.4 наведені BGCs з високим та середнім рівнем гомології (60-100%), повна характеристика наведена за кодованих BGCs у додатку А.

Бацилізин – це дипептидна антибіотична сполука з молекулярною формулою $C_{12}H_{18}N_2O_5$ та молекулярною масою 270,28 г/моль. Вона продукується аеробними спороутворюючими бактеріями, що належать до роду *Bacillus*, і викликає лізис клітин у бактерій та грибів. Ця сполука в основному з'єднана із залишком L-аланіну на N-кінці та L-антикапсином (непротеїногенною амінокислотою) на C-кінці. Антимікробна активність бацилізину головним чином зумовлена наявністю L-антикапсину на C-кінці. Дослідження антимікробної активності бацилізину показали, що він інгібує глюкозамін-6-фосфат (GlcN6P) синтазу, яка допомагає в синтезі GlcN6P з фруктозо-6-фосфату та глутаміну, що є важливим компонентом пептидоглікану клітинної стінки бактерій. В результаті бацилізин порушує формування мікробної клітинної стінки. Сам бацилізин не має антимікробної активності. Щоб бути ферментативно активним, бацилізин повинен бути гідролізований внутрішньоклітинною пептидазою, яка вивільняє антикапсин, який інгібує GlcN6P синтазу, фермент, необхідний для синтезу глюкозаміну або N-ацетилглюкозаміну [18].

Макролактини – це клас макролідних антибіотиків, кожен з яких містить 24-членне лактонне кільце. Макролактини проявляють виражену антимікробну, протизапальну, протигрибну та протипухлинну активність. [28] Макролактин Н має 22-членне лактонне кільце, на відміну від інших макролактинів, які мають 24-членне кільце. [26]. Макролактини є вторинними метаболітами бактерій роду *Bacillus* з вираженою антимікробною активністю. Основним механізмом їх дії є інгібування синтезу білка. Крім того, окремі представники цієї групи здатні порушувати цілісність клітинної мембрани та змінювати її проникність, що призводить до дестабілізації клітинних процесів [40]. Також описано їх вплив на інгібування ключових ферментів, таких як β -Кетоацил-ацил-транспортний протеїн редуктаза (FabG) [35] і пептиддеформілазу [42]. Таким чином, макролактини реалізують комплексний антимікробний ефект, спрямований на пригнічення росту та життєздатності клітин мікроорганізмів.

Бацилаєн – це лінійний метаболіт полікетидно-нерибосомної природи, який синтезують штами роду *Bacillus* за участю трансацилтрансферазної полікетидсинтетази. Завдяки складній хімічній структурі та особливостям біосинтезу бацилаєн відіграє важливу роль у міжмікробній конкуренції та формуванні стабільного мікробного середовища ризосфери [25]. Бацилаєн проявляє широкий спектр антибактеріальної активності, що зумовлено його здатністю інгібувати синтез білка у прокаріотичних клітинах. Показано, що він пригнічує процес трансляції в бактеріях, не впливаючи суттєво на еукаріотичні клітини [14, 29].

Бацилібактин – це катехолатний сидерофор, який синтезують представники роду *Bacillus*. Він має високу спорідненість до іонів Fe^{3+} і забезпечує ефективне зв'язування та транспорт заліза у бактеріальні клітини, обмежуючи його доступність для фітопатогенних мікроорганізмів, що є одним із ключових механізмів біоконтролю. Водночас існує припущення, що антагоністична дія бацилібактину може реалізовуватися не тільки через обмеження доступності заліза, але й за рахунок прямого антибіозу щодо фітопатогенів. Має значну біоконтролюючу активність проти бактеріальних і грибних фітопатогенів [8].

Окрім цього геноми обох штамів містили кластер, відповідальний за синтез фенгіцину (80%) (табл.5.3). Він є важливим представником сімейства ліпопептидів з широким спектром застосування в сільськогосподарській, харчовій, медичній та косметичній галузях. Фенгіцин діє на фосфоліпідний бішар клітинної мембрани, спричиняючи структурні пошкодження та змінюючи її проникність, що може призвести до витоку клітинного вмісту і, зрештою, до загибелі клітин. Крім того, він може індукувати системну резистентність рослин через дію на клітинні мембрани коренів. Завдяки інгібуючим механізмам, до фенгіцину не виникає резистентності, що робить його застосування екологічно безпечним. [41]

Серед кластерів з середнім рівнем гомології (60%), у геномі *B. velezensis* IMB B-8135 було виявлено дифіцидин (табл.5.3), що належить до класу полікетидів [22]. Полікетидсинтаза, відповідальна за його виробництво, закодована в dif-опероні. Механізм дії дифіцидину полягає в пригніченні синтезу білків, необхідних для розвитку клітинної стінки бактерій [14].

Наявність у геномах *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 зазначених вище BGCs, відповідальних за біосинтез антибіотичних сполук (бацилізину, макролактинів, бацилаєну, дифіцидину, фенгіцину) та сидерофорів (бацилібактину), свідчить про широкий біосинтетичний потенціал досліджуваних штамів. Виявлені метаболіти характеризуються різноманітними механізмами дії, що включають інгібування синтезу білка, порушення цілісності клітинних мембран, пригнічення біосинтезу клітинної стінки, а також обмеження доступності заліза для фітопатогенів. Така різноспрямованість механізмів забезпечує ефективну антагоністичну дію проти широкого спектра мікроорганізмів. Отже, отримані дані свідчать про високий потенціал використання *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 як ефективних біоконтролюючих агентів у сільському господарстві та як основу для створення біопрепаратів із комплексною антимікробною дією.

Таким чином, досліджені штами ендofітних бактерій були ідентифіковані як *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135. Генетичний аналіз

повногеномного сиквенсу штамів BGCs вторинного метаболізму, які зумовлюють перспективність їх застосування у сучасних агробіотехнологіях для підвищення стресостійкості та продуктивності рослин. Використання вище зазначених ендوفітів як інокулянтів у рослинництві (зокрема, вирощуванні сої) є екологічно обґрунтованою стратегією, що сприяє сталому розвитку агрофітоценозів за умов глобальних змін клімату і відповідає запитам продовольчої безпеки в світі.

Список використаних джерел до розділу 5

1. Ahmed, A., & Hasnain, S. (2010). Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure & Applied Chemistry*, 82(1). <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-09-02-06>
2. Aziz, R. K., Bartels, D., Best, A. A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R. A., ... & Zagnitko, O. (2008). The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC genomics*, 9(1), 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
3. Baldauf, S. (2003). Phylogeny for the faint of heart: a tutorial. *Trends in Genetics*, 19, 345-351. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(03\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00112-4)
4. Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H. E., Reitz, Z. L., Biermann, F., Alanjary, M., ... & Weber, T. (2023). antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic acids research*, 51(W1), W46-W50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad344>
5. Boch, J., Kempf, B., Schmid, R., & Bremer, E. (1996). Synthesis of the osmoprotectant glycine betaine in *Bacillus subtilis*: characterization of the gbsAB genes. *Journal of Bacteriology*, 178(17), 5121-5129. <https://doi.org/10.1128/jb.178.17.5121-5129.1996>
6. Bressuire-Isoard, C., Broussolle, V., & Carlin, F. (2018). Sporulation environment influences spore properties in *Bacillus*: evidence and insights on underlying molecular and physiological mechanisms. *FEMS microbiology reviews*, 42(5), 614-626. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy021>
7. Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95-105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
8. Dimopoulou, A., Theologidis, I., Benaki, D., Koukounia, M., Zervakou, A., Tzima, A., ... & Skandalis, N. (2021). Direct antibiotic activity of bacillibactin broadens the biocontrol range of *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600. *mSphere*, 6(4), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/msphere.00376-21>

9. Dunlap, C. A., Kim, S. J., Kwon, S. W., & Rooney, A. P. (2016). *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and ‘*Bacillus oryzicola*’ are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(3), 1212-1217. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000858>
10. Epstein, W. (2003). The roles and regulation of potassium in bacteria. *Progress in nucleic acid research and molecular biology*, 75, 293-320. [https://doi.org/10.1016/s0079-6603\(03\)75008-9](https://doi.org/10.1016/s0079-6603(03)75008-9)
11. Ezadi, F., Ardebili, A., & Mirnejad, R. (2019). Antimicrobial susceptibility testing for polymyxins: challenges, issues, and recommendations. *Journal of clinical microbiology*, 57(4), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/jcm.01390-18>
12. Frey, A. D., & Kallio, P. T. (2003). Bacterial hemoglobins and flavohemoglobins: versatile proteins and their impact on microbiology and biotechnology. *FEMS microbiology reviews*, 27(4), 525-545. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00056-1)
13. Fritze, D. (2004). Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: the aerobic endospore-forming bacteria. *Phytopathology*, 94(11), 1245-1248. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1245>
14. García-Freyre, K. J., Vigueras-Morales, Y. S., Ramírez-Vargas, R., & Mercado-Flores, Y. (2025). *Bacillus velezensis*: A bacterium used as an agrobiotechnological tool. In *CIERMMI Women in Science: Advances in Engineering and Technology* (pp. 75–97). ECORFAN. <https://doi.org/10.35429/h.2025.9.75.97>
15. Garner, B. L., Arceneaux, J. E., & Byers, B. R. (2004). Temperature control of a 3, 4-dihydroxybenzoate (protocatechuate)-based siderophore in *Bacillus anthracis*. *Current microbiology*, 49(2), 89-94. <https://doi.org/10.1007/s00284-004-4286-7>

16. Hecker, M., & Völker, U. (2001). General stress response of *Bacillus subtilis* and other bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 44, 35-91. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(01\)44011-2](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(01)44011-2)
17. Hillis, D. M.; Bull, J. J.. (1993). An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology*, 42(2), 182–192. <https://doi.org/10.1093/sysbio/42.2.182>
18. Islam, T., Rabbee, M. F., Choi, J., & Baek, K.-H. (2022). Biosynthesis, Molecular Regulation, and Application of Bacilysin Produced by *Bacillus* Species. *Metabolites*, 12(5), 397. <https://doi.org/10.3390/metabo12050397>
19. Khaitovych, M. V. (2023). Efflux pumps as a pharmacological target to combat antibiotic resistance. *Medical Science of Ukraine (MSU)*, 19(3), 115-124. <https://doi.org/10.32345/2664-4738.3.2023.15>
20. Kim, M., Oh, H. S., Park, S. C., & Chun, J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(2), 346-351. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.059774-0>
21. Konstantinidis, K. T., Ramette, A., & Tiedje, J. M. (2006). The bacterial species definition in the genomic era. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1475), 1929-1940. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1920>
22. Liu, N., Sun, H., Tang, Z., Zheng, Y., Qi, G., & Zhao, X. (2023). Transcription factor Spo0A regulates the biosynthesis of difficidin in *Bacillus amyloliquefaciens*. *Microbiology Spectrum*, 11(4), e01044-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01044-23>
23. Majiduddin, F. K., Materon, I. C., & Palzkill, T. G. (2002). Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. *International journal of medical microbiology*, 292(2), 127-137. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00198>

24. Mengistu, A. A. (2020). Endophytes: colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 6927219. <https://doi.org/10.1155/2020/6927219>
25. Miao, S., Liang, J., Xu, Y., Yu, G., & Shao, M. (2024). Bacillaene, sharp objects consist in the arsenal of antibiotics produced by *Bacillus*. *Journal of Cellular Physiology*, 239(10), e30974. <https://doi.org/10.1002/jcp.30974>
26. Nagao, T., Adachi, K., Sakai, M., Nishijima, M., & Sano, H. (2001). Novel macrolactins as antibiotic lactones from a marine bacterium. *The Journal of antibiotics*, 54(4), 333-339. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.333>
27. Nakano, C., Ozawa, H., Akanuma, G., Funa, N., & Horinouchi, S. (2009). Biosynthesis of aliphatic polyketides by type III polyketide synthase and methyltransferase in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 191(15), 4916-4923. <https://doi.org/10.1128/JB.00407-09>
28. Ortiz, A., & Sansinenea, E. (2020). Macrolactin antibiotics: amazing natural products. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(7), 584-600. <https://doi.org/10.2174/1389557519666191205124050>
29. Patel, P. S., HuANG, S., Fisher, S., Pirnik, D., Aklonis, C., Dean, L., ... & Mayerl, F. (1995). Bacillaene, a novel inhibitor of procaryotic protein synthesis produced by *Bacillus subtilis*: production, taxonomy, isolation, physico-chemical characterization and biological activity. *The Journal of antibiotics*, 48(9), 997-1003. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.48.997>
30. Porwal, S., Lal, S., Cheema, S., & Kalia, V. C. (2009). Phylogeny in aid of the present and novel microbial lineages: diversity in *Bacillus*. *PLoS One*, 4(2), e4438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004438>
31. Ruiz-Garcia, C., Bejar, V., Martinez-Checa, F., Llamas, I., Quesada, E. (2005). *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 191-195. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63310-0>

- 32.Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 183, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- 33.Scaccia, N., Vaz-Moreira, I., & Manaia, C. M. (2021). The risk of transmitting antibiotic resistance through endophytic bacteria. *Trends in Plant Science*, 26(12), 1213-1226. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.09.001>
- 34.Sekowska, A., Kung, H. F., & Danchin, A. (2000). Sulfur metabolism in *Escherichia coli* and related bacteria: facts and fiction. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 2(2), 145-177.
- 35.Sohn, M. J., Zheng, C. J., & Kim, W. G. (2008). Macrolactin S, a new antibacterial agent with Fab G-inhibitory activity from *Bacillus* sp. AT28. *The Journal of Antibiotics*, 61(11), 687-691. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.98>
- 36.Staicu, L. C., & Barton, L. L. (2017). Bacterial metabolism of selenium—for survival or profit. *Bioremediation of selenium contaminated wastewater* (pp. 1-31). Cham: Springer International Publishing.
- 37.Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., ... & Whitman, W. B. (Eds.). (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*. New York: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>
- 38.Wang, L. T., Lee, F. L., Tai, C. J., & Kuo, H. P. (2008). *Bacillus velezensis* is a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(3), 671-675. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65191-0>
- 39.Wang, M., Wang, Y., Wang, M., Liu, M., & Cheng, A. (2023). Heme acquisition and tolerance in Gram-positive model bacteria: an orchestrated balance. *Heliyon*, 9(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18233>
- 40.Xu, Y., Song, Y., Ning, Y., Li, S., Qu, Y., Jiao, B., & Lu, X. (2024). Macrolactin XY, a macrolactin antibiotic from marine-derived *Bacillus subtilis* sp. 18. *Marine Drugs*, 22(8), 331. <https://doi.org/10.3390/md22080331>

41. Yin, Y., Wang, X., Zhang, P., Wang, P., & Wen, J. (2024). Strategies for improving fengycin production: a review. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 144. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02425-x>
42. Yoo, J. S., Zheng, C. J., Lee, S., Kwak, J. H., & Kim, W. G. (2006). Macrolactin N, a new peptide deformylase inhibitor produced by *Bacillus subtilis*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(18), 4889-4892. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.06.058>
43. Zaidi, A., Khan, M., Ahemad, M., & Oves, M. (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 56(3), 263-284. <https://doi.org/10.1556/AMicr.56.2009.3.6>
44. Zhang, H., Li, X., Yang, Q., Sun, L., Yang, X., Zhou, M., ... & Bi, L. (2017). Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure. *International journal of environmental research and public health*, 14(11), 1336. <https://doi.org/10.3390/ijerph14111336>

РОЗДІЛ 6 ВПЛИВ ЕНДОФІТНО-РИЗОБІАЛЬНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСЛИН СОЇ

Підвищення стійкості рослин до несприятливих факторів навколишнього середовища значною мірою пов'язане з ефектом праймінгу – попередньої підготовки рослин до посилення захисних реакцій за впливу різних екзогенних факторів. Праймінг активує фізіологічні та біохімічні механізми, що сприяють швидшій реакції рослин на стрес і підвищують їхню життєздатність [8].

Одним із перспективних методів є біопраймінг насіння – процес біологічної обробки насіння PGP-бактеріями. У результаті такої обробки покращуються схожість насіння, енергія проростання, параметри росту рослин і їхня стійкість до патогенів. Найчастіше для біопраймінгу використовують мікроорганізми, які здатні синтезувати фітогормони, покращувати засвоєння поживних речовин або інгібувати розвиток фітопатогенів [17]. Біопраймінг розглядають як екологічно безпечну альтернативу хімічній обробці насіння, оскільки він зменшує необхідність використання пестицидів, сприяє покращенню стану рослин і підвищує врожайність агрокультур [8, 17].

Здатність ендofітних мікроорганізмів поширюватися «вертикально», тобто передаватися наступним поколінням через насіння та відтворювати комплементарний мікробіом [5], можна розглядати як варіант біопраймінгу або біоагентного праймінгу. Наявність вертикальної передачі дозволяє рослині з усталеною ендofітною спільнотою передавати бактерії з корисними властивостями своєму потомству [18].

Було вивчено можливість передачі корисних властивостей ендofітів наступним поколінням рослин, використовуючи біопраймінг насіння комплексом ендofітних і ризобіальних бактерій. Під терміном «біопраймовані рослини» тут і далі описано сою другого покоління, вирощену з насіння, інокульованого ендofітними та ризобіальними бактеріями попереднього року.

6.1. Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на рівень антиоксидантної активності рослин сої

На врожайність сої значно впливають абіотичні фактори, зокрема посуха, засоленість, температурні стреси та коливання рН ґрунту [17]. За умов глобального потепління очікується збільшення частоти та інтенсивності посух, що посилює вплив стресових факторів на рослини [21]. Абіотичні стреси зазвичай супроводжуються розвитком окисного стресу, пов'язаного з надмірним утворенням активних форм кисню (АФК) у клітинах рослин [3].

АФК, зокрема супероксидний аніон ($O_2^{\cdot-}$), перекис водню (H_2O_2) та гідроксильний радикал ($OH^{\cdot}$), утворюються у хлоропластах, мітохондріях і пероксисомах як побічні продукти аеробного метаболізму [4, 12]. У помірних концентраціях вони виконують сигнальні функції, проте їх надмірне накопичення спричиняє пошкодження ДНК, ліпідів і білків та порушення клітинного метаболізму [9].

Для підтримання окисно-відновної рівноваги в клітинах рослини активують антиоксидантну систему захисту, що включає ферментативні антиоксиданти – супероксиддисмутазу, каталазу та пероксидазу, а також неферментативні сполуки, такі як аскорбінова кислота, каротиноїди, глутатіон і пролін [7, 12]. Ендofіти пом'якшують абіотичний стрес у рослин, зменшуючи окислювальне пошкодження через продукцію або стимуляцію антиоксидантів, що сприяє адаптації рослин, стимуляції росту та активації генів стресостійкості [2, 20].

Зважаючи на те, що посуха є одним із основних чинників індукції окисного стресу у рослин, було досліджено вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на антиоксидантний потенціал рослин сої за посушливих умов. Дрібноділянкові досліді проводили на дослідній ділянці ІМВ НАНУ, м. Київ. Гідротермічні умови вегетаційного періоду вирощування сої наведені в таблиці 6.1. Загалом, у травні-вересні середньодобова температура повітря перевищувала багаторічну середню на $4,0^{\circ}C$, а дефіцит вологи становив 22,7%. Найсухішими місяцями були липень і серпень, коли середньодобова температура повітря становила $24,4^{\circ}C$, а кількість опадів – 19,6 мм. Гідротермічний коефіцієнт вегетаційного періоду становив 0,8,

що свідчить про недостатній рівень вологи. За таких умов температури повітря та кількості опадів транспірація рослин була швидкою.

Таблиця 6.1

Метеорологічні умови вегетаційного періоду 2024 року, Київ (Метеопост 2010)

Місяць	Середньодобова температура повітря, °С	Загальна кількість опадів, мм	Гідротермічний коефіцієнт
Травень	16,2	15,4	0,3
Червень	21,5	137,0	2,1
Липень	24,4	51,9	0,7
Серпень	23,1	25,2	0,4
Вересень	20,5	33,0	0,5
Всього за вегетаційний період	21,1	309,2	0,8
Довгострокове середнє значення за період травень-вересень	17,1	339,0	-

Одним із важливих ферментів антиоксидантного захисту рослин є каталаза, яка каталізує розкладання перекису водню, одного з основних представників активних форм кисню (АФК). Висока каталазна активність свідчить про інтенсивне ферментативне знешкодження АФК, тоді як низька може вказувати на слабкий стрес або участь неферментативних антиоксидантів [6]. Відомо, що ендوفіти зменшують окислювальне ушкодження рослин і підвищують вміст антиоксидантів, регулюючи експресію відповідних генів [13]. Каталазна активність у листі сої у варіантах з передпосівною обробкою насіння комплексом Ризобін^К + *Bacillus velezensis* ІМВ В-8134 та у біопраймованих рослин була вищою за контроль на 52,2 % і 66,6 % відповідно (рис. 6.1).

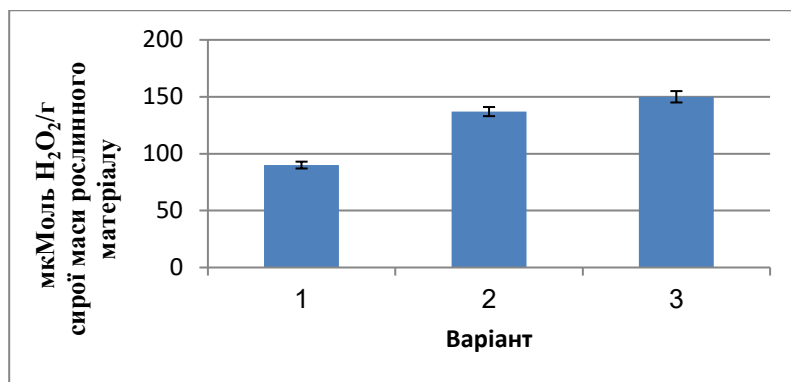


Рис. 6.1. Каталазна активність в листі сої: 1 – контроль; 2 – інокуляція Ризобіном^К + *B. velezensis* IMB B-8134; 3 – біопраймінг Ризобіном^К + *B. velezensis* IMB B-8134.

Виявлене підвищення каталазної активності у рослин, біопраймованих комплексом Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134, свідчить про активацію ферментативного ланцюга антиоксидантного захисту. Каталаза, яка відповідає за розщеплення H_2O_2 , є ключовим ферментом у нейтралізації надлишку АФК, що забезпечує стабільність метаболічних процесів в умовах абіотичного стресу. Водночас підвищений рівень каталазної активності в цих рослинах вказує на підтримку окисного гомеостазу рослин. Це, ймовірно, є частиною адаптивної реакції, індукованої ендофітами, які відомі своєю здатністю модулювати експресію захисних генів у рослинах [13].

Поряд із дослідженням активності ферментів антиоксидантного захисту важливим є оцінювання низькомолекулярних антиоксидантів, які беруть участь у нейтралізації активних форм кисню. З цією метою було визначено антирадикальну активність (АРА) рослин методом DPPH·, який оцінює неферментативну антиоксидантну активність, тобто здатність сполук, що містяться в етанольних екстрактах нейтралізувати вільні радикали шляхом віддачі їм електрона або атома водню [6].

Для порівняння АРА спиртових екстрактів використовували EC50 – концентрацію, при якій 50% радикалів DPPH· нейтралізуються. Величина EC50 є обернено пропорційною АРА: чим нижче значення EC50, тим сильніша здатність етанольних екстрактів нейтралізувати вільні радикали DPPH·. Найнижчі значення EC50 були характерні для контрольних рослин (32 % для екстрактів листя та 55 %

для коренів), що свідчить про підвищену антирадикальну активність і може бути пов'язано з активацією неферментативної антиоксидантної системи у відповідь на посуху (рис. 6.2). За передпосівної інокуляції насіння препаратом Ризобін^К ЕС50 становила 34,5% для екстрактів листя та 56% – для коренів (рис. 6.2).

Застосування комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції сприяло кращому адаптаційному потенціалу рослин, що відобразилося на рівні АРА, який був нижчим, ніж у контролі та у варіанті з обробкою лише Ризобіном^К – ЕС50 становила 44,5% для екстрактів листя та 60,5% – для коренів. Ймовірно, це пов'язано з меншим накопиченням низькомолекулярних антиоксидантів у тканинах рослин, що може бути наслідком менш вираженого оксидативного стресу за дії ендofітно-ризобіальної інокуляції.

Рослини, отримані з біопраймованих насінин, зберегли високі значення ЕС50 у варіанті з використанням препарату Ризобін^К, а використання комплексу Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134 для біопраймування насіння сприяло збільшенню значень ЕС50 на 21,8 та 90,6% порівняно з контролем для екстрактів з коренів і листя відповідно. Зниження антирадикальної активності, ймовірно, було наслідком кращої адаптації рослин до несприятливих умов навколишнього середовища та утворення меншої кількості антиоксидантів за застосування ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння.

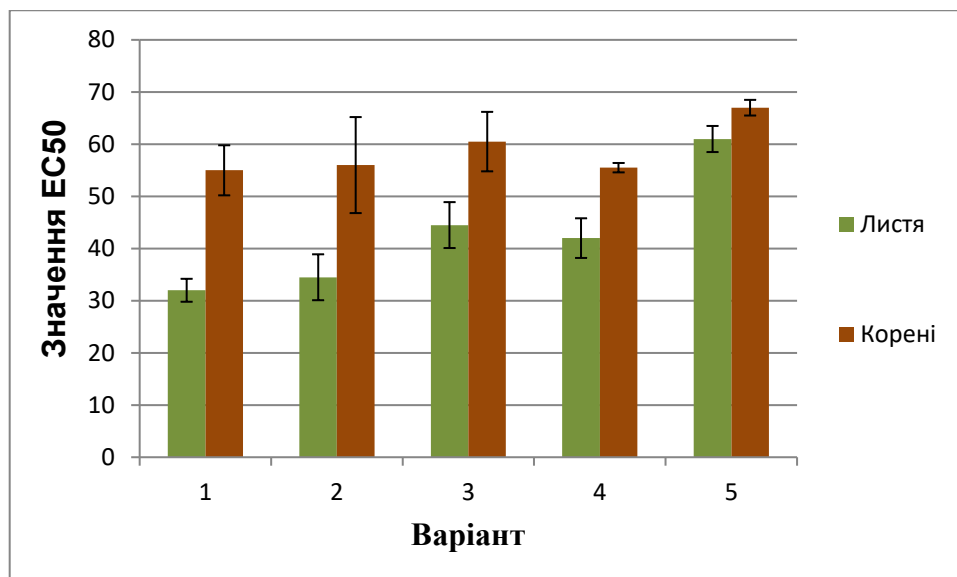


Рис. 6.2. Антирадикальна активність відносно DPPH· у листі та коренях сої: 1 – контроль; 2 – інокуляція насіння Ризобіном^К; 3 – інокуляція комплексом Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134; 4 – біопраймінг Ризобін^К; 5 – біопраймінг Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134.

Зниження загальної АРА етанольних екстрактів листя і коренів у варіантах з бактеріальною інокуляцією, порівняно з контролем, є ймовірною ознакою нижчого рівня окисного стресу в оброблених рослинах. Посушливі умови під час вегетаційного періоду спричинили значне накопичення АФК в необроблених рослинах, що стимулювало підвищення продукції низькомолекулярних антиоксидантів і, відповідно, призвело до нищих значень EC50 у тесті DPPH·. Отримані дані, можна пояснити тим, що контрольні рослини перебували під вищим окислювальним стресом, спричиненим несприятливими посушливими та гіпертермічними умовами. Водночас інокуляція ризобіями і ендofітами сприяла кращій адаптації рослин сої, що підтверджувалося меншою кількістю антиоксидантних речовин, утворених в екстрактах дослідних рослин.

Отже, результати досліджень показали, що ендofіти сприяли збалансуванню редокс-гомеостазу, що підтримує нормальне функціонування клітин. Зниження АРА етанольних екстрактів листя та коренів у варіантах з бактеріальним інокулюванням порівняно з контролем є ймовірним свідченням

зниження рівня окислювального стресу в оброблених рослинах. Рослини контрольної групи мали вищий рівень антирадикальної активності порівняно з тими, що були інокульовані ендofітно-ризобіальним комплексом. Це можна пояснити тим, що в посушливих умовах АРА часто природно підвищується, оскільки рослина зазнає окисного стресу через нестачу води та високі температури. У відповідь рослина починає синтезувати більше антиоксидантних сполук (наприклад, фенольних кислот, флавоноїдів тощо) для захисту клітин. Контрольні рослини, що не піддавалися інокуляції, ймовірно, зазнавали більшого стресу, а тому синтезували антиоксиданти активніше. Водночас ендofітні бактерії в експериментальних рослинах могли знижувати рівень стресу в цих рослинах. Це характерно для ендofітів та ризобій, оскільки вони покращують живлення (особливо нітрогеном), можуть синтезувати фітогормони (ауксини, цитокініни) та посилюють адаптацію до посухи [14]. Завдяки нижчому рівню стресу рослинам не потрібно було так інтенсивно виробляти антиоксиданти, а отже, виявлена активність була нижчою.

Комплексна ендofітно-ризобіальна інокуляція насіння сої сприяла формуванню високого рівня антиоксидантного захисту завдяки активації ензимної та неензимної протекторних систем. Використання комплексних інокулянтів сої на основі ризобій та ендofітних бактерій є перспективним для створення нових адаптивних біотехнологій, здатних підтримувати фізіологічний гомеостаз фітопартнера в несприятливих умовах, що допоможе запобігти втратам врожаю цієї культури від абіотичних стресів.

6.2. Параметри водного режиму рослин сої за інокуляції

Процеси водного режиму рослин змінюються протягом вегетаційного періоду. Це пов'язано, головним чином, із впливом сухої та спекотної погоди, що призводить до зниження вологості листя та збільшення транспірації, а отже – до гальмування розвитку рослин. Дефіцит води скорочує вегетаційний період і прискорює старіння рослин [22]. Якщо процес випаровування води рослиною переважає її надходження з ґрунту, рослина втрачає тургор і в'яне. У такій

рослині знижується інтенсивність фотосинтезу, посилюються процеси гідролізу та розкладу органічних речовин, порушується дія ферментів [25].

Посухостійкість, яку забезпечують ендofіти у сільськогосподарських культурах, є результатом активації цілого ряду фізіологічних та біохімічних механізмів у рослині-господарі. Ендofітні мікроорганізми, виділені з посушливих регіонів, де вони пристосовані до екстремальних умов, мають потенціал передавати ці адаптивні властивості менш стійким видам або сортам культурних рослин [1]. Феномен посухостійкості можна пояснити посиленням накопиченням осмотично активних сполук (осмолітів) у тканинах рослин, колонізованих ендofітами, або зниженою провідністю листя та уповільненням транспіраційного потоку, або ж утворенням товстішої кутикули. Таким чином, у багатьох дослідженнях підкреслюється явище підвищення посухостійкості рослин шляхом інокуляції ендofітними мікроорганізмами [10].

Відносний вміст води (вологість) у тканинах рослин є ключовим фізіологічним параметром, що відображає стан гідратації рослинних тканин і широко використовується як індикатор клітинного водного балансу в стресових умовах [15]. Результати дослідження водного режиму рослин сої на ранніх стадіях онтогенезу у вегетаційних експериментах показали, що вміст вологи в листі у всіх варіантах експерименту був на рівні 77,5–81,2 % (табл. 6.2).

Показники водного режиму листя сої на ранніх стадіях онтогенезу

Варіант	Вологість, %	Водний дефіцит, %	Водозабезпечення, %	Водоутримуюча здатність, % (втрата води через 2 год.)	Інтенсивність транспірації
1	77,5	16,3	67,4	33,4	0,10
2	81,2	13,8	69,4	25,0	0,134
3	80,6	13,5	82,0	25,6	0,02
4	81,2	14,8	76,8	19,4	0,02

Примітка: 1 – контроль; 2 – інокуляція комплексом Ризобіон^К + *B. velezensis* IMB B-8134; 3 – біопраймінг Ризобіон^К + *B. velezensis* IMB B-8134; 4 – біопраймінг Ризобіон^К + *B. velezensis* IMB B-8134 + інокуляція Ризобіон^К + *B. velezensis* IMB B-8134.

Водний дефіцит, який характеризує ступінь нестачі води до повного насичення тканин, виражений у відсотках до загального вмісту за повного насичення тканин водою, був найвищим у контролі – 16,3%, тоді як у варіанті з комплексною ендofітно-ризобіальною інокуляцією та у варіанті з біопраймованими рослинами був майже на одному рівні і становив 13,5-14,8%. Зниження водного дефіциту свідчить про покращення водного статусу рослин і їх здатності підтримувати клітинний тургор, що узгоджується з даними про позитивний вплив PGPR та ендofітів на водний баланс рослин [11].

Водозабезпечення виражає вміст води у нативній тканині відносно вмісту води в насиченому водою листку і по суті є відносною тургесцентністю. Цей показник варіював від 67,4% в контролі до 69,4% у варіанті з комплексною інокуляцією, а найбільшим вмістом води у тканині листків характеризувався варіант з біопраймованим насінням (82,0%), що вказує на підвищення рівня

гідратації клітин та ефективніше утримання води в тканинах. Високі значення показника водозабезпечення свідчать про кращу адаптацію рослин до умов дефіциту води. Відомо, що ендofітні мікроорганізми здатні стимулювати синтез осмопротекторів, таких як пролін і розчинні цукри, що підвищує гідратацію клітин і їх стійкість до водного дефіциту [19].

Перебуваючи у безводному середовищі, рослини починають активно втрачати воду. Це значною мірою залежить від наявності продихів на листку і насичення листків водою. Згідно отриманих даних, водоутримуюча здатність листків сої через 2 год в'янення становила 19,4–33,4% втрати води, причому найменші втрати спостерігалися у варіанті з біопраймуванням та додатковою інокуляцією. Це свідчить про підвищену здатність інокульованих рослин утримувати воду, що може бути пов'язано зі змінами у структурі клітинних стінок, кутикули або регуляцією продихів. Показано, що рослини, інокульовані ендofітними бактеріями, мають більший ніж у неінокульованих рослинах вміст абсцизової кислоти – рослинного гормону, який регулює рухливість продихів і допомагає рослинам реагувати на абіотичні стреси [19].

Транспірація відіграє важливу роль у сприянні транспорту та поглинанню води рослинами. Вона підтримує насичення водою кожної частини рослини, стабілізуючи морфологію клітинних тканин, сприяючи розподілу неорганічних солей у рослині та виділяючи надлишкову теплову енергію, що утворюється в результаті фотосинтезу та окисного метаболізму в рослинах [23, 24]. Інтенсивність транспірації що вказує, з якою швидкістю рослини втрачають воду – досить мінливий показник, який змінюється залежно від пори року, а також від поєднання ґрунтового-екологічних та метеорологічних факторів [26]. Показано, що інокуляція рослин ендofітними бактеріями здатна підвищувати інтенсивність транспірації [23]. У наших дослідженнях цей показник був найнижчим у рослин отриманих з біопраймованого насіння та за передпосівної обробки таких рослин (0,02). Отже, комплексна ендofітно-ризобіальна інокуляція сприяла підвищенню водоутримуючої здатності рослин сої та зниженню інтенсивності транспірації.

Результати проведених досліджень показали, що комплексна ендofітно-ризобіальна інокуляція покращила водний режим сої на ранніх стадіях онтогенезу, завдяки чому рослини були краще забезпечені водою та набули здатності втрачати її менше. Використання ендofітних бактерій у технологіях вирощування сої дозволить підвищити адаптивність рослин до дефіциту води та посушливих умов, що спостерігаються останніми роками внаслідок глобальних кліматичних змін. Результати підкреслюють роль ендofітів у підвищенні термотолерантності сої та стійкості до посушливих умов вирощування і свідчать про те, що цей ефект може зберігатися в наступних поколіннях.

Список використаних джерел до розділу 6

1. Byregowda, R., Prasad, S. R., Oelmüller, R., Nataraja, K. N., & Prasanna Kumar, M. K. (2022). Is Endophytic Colonization of Host Plants a Method of Alleviating Drought Stress? Conceptualizing the Hidden World of Endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9194. <https://doi.org/10.3390/ijms23169194>
2. Chakrabarti, M., Nagabhyru, P., Schardl, C. L., & Dinkins, R. D. (2022). Differential gene expression in tall fescue tissues in response to water deficit. *The Plant Genome*, 15(2). Portico. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20199>
3. Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2016). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, 90(5), 856–867. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>
4. Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>
5. Geisen, S., Kostenko, O., Cnossen, M. C., ten Hooven, F. C., Vreš, B., & van der Putten, W. H. (2017). Seed and Root Endophytic Fungi in a Range Expanding and a Related Plant Species. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01645>
6. Haida, Z., & Hakimian, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1555–1563. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1012>
7. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S., Mahmud, J., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>

8. Jatana, B. S., Grover, S., Ram, H., & Baath, G. S. (2024). Seed Priming: Molecular and Physiological Mechanisms Underlying Biotic and Abiotic Stress Tolerance. *Agronomy*, 14(12), 2901. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122901>
9. Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>
10. Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White, J. F. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 66(4), 268–276. <https://doi.org/10.1111/lam.12855>
11. Marasco, R., Rolli, E., Vigani, G., Borin, S., Sorlini, C., Ouzari, H., ... & Daffonchio, D. (2013). Are drought-resistance promoting bacteria cross-compatible with different plant models?. *Plant signaling & behavior*, 8(10), e26741. <https://doi.org/10.4161/psb.26741>
12. Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., & Van Breusegem, F. (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 663–679. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2>
13. Nie, X., Zhao, Z., Zhang, X., Bastías, D. A., Nan, Z., & Li, C. (2024). Endophytes alleviate drought-derived oxidative damage in *Achnatherum inebrians* plants through increasing antioxidants and regulating host stress responses. *Microbial Ecology*, 87(1). <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02391-2>
14. Pokluda, R., Ragasová, L., Jurica, M., Kalisz, A., Komorowska, M., Niemiec, M., & Sekara, A. (2021). Effects of growth promoting microorganisms on tomato seedlings growing in different media conditions. *PLOS ONE*, 16(11), e0259380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259380>
15. Ram Priyanka, D., Kandoliya, U. K., Vaghela, T. I., Bhuvra, B., & Gajera, H. P. (2025). Life under salinity stress: Physiological insights into soybean response to

- exogenous growth regulators under saline irrigation condition. *International Journal of Agriculture and Plant Science*, 7(5), 56–61.
16. Singh, D. P., Singh, H. B., & Prabha, R. (Eds.). (2016). *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity* (Vol. 2). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5>
 17. Singh, D., Singh, S. K., Singh, V. K., Verma, H., Mishra, M., Rashmi, K., & Kumar, A. (2021). Plant growth-promoting bacteria: application in bioremediation of salinity and heavy metal-contaminated soils. *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants*, 73–78. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821199-1.00007-9>
 18. Truyens, S., Weyens, N., Cuypers, A., & Vangronsveld, J. (2014). Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1), 40–50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>
 19. Tufail, M. A., Ayyub, M., Irfan, M., Shakoor, A., Chibani, C. M., & Schmitz, R. A. (2022). Endophytic bacteria perform better than endophytic fungi in improving plant growth under drought stress: A meta-comparison spanning 12 years (2010–2021). *Physiologia Plantarum*, 174(6), e13806. <https://doi.org/10.1111/ppl.13806>
 20. Verma, H., Kumar, D., Kumar, V., Kumari, M., Singh, S. K., Sharma, V. K., Droby, S., Santoyo, G., White, J. F., & Kumar, A. (2021). The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants. *Microorganisms*, 9(8), 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>
 21. Vicente-Serrano, S. M., Quiring, S. M., Peña-Gallardo, M., Yuan, S., & Domínguez-Castro, F. (2020). A review of environmental droughts: Increased risk under global warming? *Earth-Science Reviews*, 201, 102953. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2019.102953>

22. Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response Mechanism of Plants to Drought Stress. *Horticulturae*, 7(3), 50. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7030050>
23. Yuan, Z. S., Liu, F., Xie, B. G., & Zhang, G. F. (2018). The growth-promoting effects of endophytic bacteria on *Phyllostachys edulis*. *Archives of microbiology*, 200(6), 921-927. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-1500-8>
24. Барвінко, В. О. (2025). Роль сортової агротехніки в технології вирощування сорті сої, 65 с.
25. Лихолат, Ю. В., Хромих, Н. О., Алексеева, А. А., Лихолат, Т. Ю., Лихолат, О. А., Вишнікіна, О. В., ... & Григорюк, І. П. (2020). Особливості водообмінних процесів нетрадиційних малопоширених плодових рослин в умовах степового придніпров'я як критерій розширення асортименту продукції з високою біологічною цінністю. *Екологічний вісник Криворіжжя*, 5, 112–126. <https://doi.org/10.31812/ecobulletin2020.05.112>
26. Орлова, Л. Д. (2009). Інтенсивність транспірації лучних рослин лівобережного лісостепу України. *Biosystems Diversity*, 17(1), 166–171. <https://doi.org/10.15421/010925>

РОЗДІЛ 7 ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ КОМПЛЕКСНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ НА ОСНОВІ РИЗОБІЙ ТА ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ

Як було зазначено у розділі 2.7, агрометеорологічні умови під час проведення дослідів у 2024-2025 рр. були несприятливими для рослин сої, зважаючи на випаровуваність та дефіцит вологозабезпечення.

7.1 Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на чисельність мікроорганізмів основних еколого- функціональних груп ризосфери сої

Кількість мікроорганізмів та їх метаболічна активність характеризують біологічну активність ґрунту [3]. Визначення вмісту в ризосфері сої мікроорганізмів різних еколого-функціональних груп залежно від застосування інокуляції ризобіями та ендofітними бактеріями проводили у фазу «цвітіння - початок утворення бобів», оскільки цей період характеризується інтенсивним функціонуванням симбіотичного апарату сої. Встановлено, що інокуляція насіння сої впливала на чисельність мікроорганізмів різних еколого-функціональних груп у ризосферному ґрунті сої обох досліджуваних сортів (табл.7.1).

Таблиця 7.1.

Кількість мікроорганізмів у ризосферному ґрунті сої, млн КУО/1 г абсолютно сухого ґрунту (середнє за 2024 і 2025 роки)

Варіант	Амоніфікувальні	Амілолітичні	Фосфатмобілізатори	Педотрофи	Оліготрофи	Нітрогенфіксувальні
Сорт Діона						
1	30,8 ±1,4	24,2 ±2,8	9,9 ±1,1	47,7 ±5,7	46,6 ±9,3	16,1 ±2,9
2	85,5 ±5,6	53,4 ±8,8	30,8 ±2,4	56,4 ±2,2	88,9 ±18,5	17,05 ±1,8
3	52,6 ±11,9	20,0 ±7,2	13,9 ±3,2	49,1 ±1,05	110,7 ±17,9	22,9 ±3,7
4	45,3 ±4,3	44,9 ±5,05	16,3 ±2,1	57,7 ±9,7	28,2 ±4,7	22,5 ±3,3
5	40,1 ±7,2	27,6 ±5,5	13,7 ±1,0	25,5 ±3,9	64,7 ±6,2	17,2 ±2,8
Сорт Святогор						
1	90,3 ±10,3	57,1 ±9,1	26,1 ±1,2	42,7 ±7,7	67,7 ±11,1	73,9 ±16,8
2	95,6 ±7,3	67,1 ±12,3	33,2 ±2,4	44,8 ±6,05	72,7 ±11,7	75,4 ±11,0
3	81,7 ±10,2	48,3 ±9,4	32,7 ±6,7	41,1 ±6,7	58,0 ±6,7	40,9 ±4,5
4	89,8 ±9,3	58,3 ±10,3	31,6 ±6,3	50,2 ±7,5	57,3 ±11,8	72,1 ±13,7
5	99,2 ±16,7	83,6 ±11,7	25,1 ±2,5	45,2 ±8,1	78,4 ±6,9	68,9 ±7,5

Примітка: 1 – Контроль (без обробок); 2 – Ризобін^К; 3 – Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134; 4 – Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8135; 5 – Ризобін^К + *Pseudomonas* sp.6.

Амоніфікувальні мікроорганізми здатні розкласти органічні нітрогенвмісні сполуки з утворенням амонію, який вивільняється, і тим самим сприяють

покращенню живлення рослин нітрогеном в ґрунтових екосистемах [8]. Найбільше амоніфікувальних мікроорганізмів у ризосферному ґрунті сої сорту Діона, було відмічено у варіанті з використанням Ризобіну^К – у 2,7 рази вище за контроль.

Амілолітичні мікроорганізми здійснюють гідролітичне розкладання вуглеводних компонентів, що містяться в рослинних рештках та органічній речовині ґрунту, що сприяє підвищенню родючості ґрунту [1]. Найбільше мікроорганізмів цієї групи у ризосфері сої сорту Діона спостерігали за інокуляції насіння Ризобіном^К – у 2,2 рази вище за контрольний варіант, тоді як для сорту Святогор найбільш ефективним було застосування Ризобіну^К з *Pseudomonas* sp.6, отримані показники були у 1,4 рази вищі за контроль.

Ґрунти часто містять велику кількість нерозчинних мінеральних і органічних сполук фосфору, який є необхідним для росту більшості рослин і мікроорганізмів. Одним із шляхів покращення фосфорного живлення рослин є застосування мікроорганізмів, що збільшують рухомість сполук фосфору [5]. Найбільше фосфатмобілізувальних мікроорганізмів було зафіксовано за використання Ризобіну^К окремо та сумісно з ендоефітними штамами *B. velezensis* IMB B-8134 і *B. velezensis* IMB B-8135. У цих варіантах кількість фосфатмобілізаторів сягала 30,8 – 33,2 млн. КУО/г ґрунту, що було вище за контроль у 3,1 рази для сорту Діона і в 1,2 рази для сорту Святогор.

Педотрофні мікроорганізми беруть участь у трансформації органічної речовини та процесах гумусоутворення, а зростання їх чисельності свідчить про інтенсифікацію цих процесів [6]. Найбільшій кількості педотрофних мікроорганізмів у ризосферному ґрунті обох досліджуваних сортів сприяла інокуляція комплексом Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8135. У цих варіантах чисельність педотрофів була вищою, порівняно з неінокульованим контролем на 20,9% (сорт Діона) і 17,5% (сорт Святогор).

Оліготрофні мікроорганізми адаптовані до екологічних місць існування із низькими концентраціями субстратів і низьким енергетичним потоком, а збільшення їх вмісту у ґрунті може свідчити про активніше використання

залишкових кількостей доступних поживних речовин [2]. Найбільшій чисельності оліготрофних мікроорганізмів у ризосферному ґрунті сої сорту Діона сприяла інокуляція комплексом Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134, що в 2,3 рази перевищувало показник контрольного варіанту. У ризосферному ґрунті сої сорту Святогор найбільше оліготрофних мікроорганізмів спостерігали за інокуляції Ризобін^К + *Pseudomonas* sp.6, що було у 1,1 рази вище за контроль.

Нітроген є важливим макроелементом для рослин, але переважна кількість його перебуває в атмосферному повітрі у недоступній формі N₂, тому поповнення запасів відбувається, зокрема, завдяки його біологічній фіксації нітрогенфіксувальними мікроорганізмами, які перетворюють його на доступні для рослин сполуки NH₄ [7]. Підвищення їх кількості у ризосферному ґрунті сприяє забезпеченню рослин доступним азотом, покращенню їх росту і підтриманню родючості ґрунту. У ризосферному ґрунті сої сорту Діона найвища кількість нітрогенфіксувальних мікроорганізмів (22,9 млн. КУО/г ґрунту) зафіксована у варіанті Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134, що на 42,2% вище за контрольний варіант. Для сорту Святогор в середньому за роки досліджень різниця між варіантами була статистично недостовірною.

За результатами аналізу чисельності еколого-функціональних груп мікроорганізмів можна припустити наявність сортоспецифічної реакції ризосферного мікробіому сої сортів Діона та Святогор на ендofітно-ризобіальну інокуляцію. Найбільш виражені відмінності спостерігались у чисельності нітрогенфіксувальних, оліготрофних та амілолітичних мікроорганізмів, що може бути пов'язано з генотипово зумовленими відмінностями у складі корневих ексудатів та їх впливом на формування мікробних угруповань ризосфери.

Встановлено, що застосування ризобіальних та ендofітно-ризобіальних препаратів впливало на спрямованість мікробіологічних процесів у ризосферному ґрунті сої сортів Діона та Святогор, що відображалось зміною значень індексів педотрофності, оліготрофності та мінералізації/іммобілізації. Найвище значення індексу педотрофності для ризосферного ґрунту сої сорту Діона встановлено у варіанті Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8135 (1,49), що свідчить про активізацію

процесів трансформації водорозчинних гумусових фракцій. Індекс оліготрофності був найвищим у варіанті інокуляції Ризобіном^К + *Pseudomonas* sp.6 (2,57). Підвищення індексу оліготрофності вказує на формування більш стабільної оліготрофної частини мікробіоценозу [1]. Найвищий показник мінералізації–іммобілізації встановлено у варіанті Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8135 (1,10) для сорту Діона, що свідчить про переважання мінералізаційних процесів. У той же час, у ризосфері сорту Святогор спостерігалась тенденція до іммобілізації органічної речовини, проте засосування передпосівної інокуляції збільшувало доступність азоту, порівняно з контрольним варіантом (табл.7.2).

Таблиця 7.2

Екологічні індекси мікробних спільнот ризосферного ґрунту сої
(середнє за 2024 і 2025 роки)

Варіант	Індекс педотрофності	Індекс оліготрофності	Індекс мінералізації іммобілізації
Сорт Діона			
Контроль	1,04	0,48	0,78
Ризобін ^К	0,94	2,51	0,89
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	0,88	1,86	0,81
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	1,49	0,75	1,10
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	1,23	2,57	0,70
Сорт Святогор			
Контроль	0,41	1,17	0,54
Ризобін ^К	0,53	1,21	0,62
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	0,59	1,15	0,62
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	0,49	0,97	0,67
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	0,48	0,94	0,89

Для сої сорту Святогор встановлено подібні тенденції зміни індексів функціонального стану мікробіоценозу ризосфери за впливу інокуляції. Підвищення індексу педотрофності у варіантах із застосуванням комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції вказує на активізацію трансформації гумусових

речовин [1]. Найвищі значення індексу оліготрофності відмічено у варіанті інокуляції Ризобіном^К, що свідчить про формування більш стабільної оліготрофної частини мікробного угруповання. Водночас значення індексу мінералізації-іmobilізації, які нижче одиниці у варіантах комплексної інокуляції, свідчить про посилення процесів іmobilізації поживних елементів та стабілізацію органічної речовини ґрунту (табл.7.2).

Отже, ризосферний ґрунт сої обох досліджених сортів у варіантах з комплексною ендofітно-ризобіальною інокуляцією насіння характеризувався підвищеною біологічною активністю, про що свідчать високі значення чисельності мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп та показники екологічних індексів. Це сприяло зростанню стійкості рослин до посушливих погодно-кліматичних умов та покращенню поживного режиму рослин.

7.2 Вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на вміст макроелементів ґрунту

Визначення вмісту поживних елементів у 0-20 см шарі темно-каштанового ґрунту дослідного поля показало, що застосування комплексних мікробних препаратів мало позитивну післядію на ґрунт, збагачуючи його поживними елементами, доступними для рослин. У ґрунті варіантів, де було застосовано інокуляцію бульбочковими й ендofітними бактеріями, підвищувався вміст мінерального азоту. При вирощуванні сої сорту Діона у міжфазні періоди «початок гілкування - початок цвітіння» та «початок бобоутворення - початок наливу бобів» середній вміст мінерального нітрогену за умов бактеріальної інокуляції зростав на 9,83-13,64 мг/кг. А у ризосферному ґрунті сої сорту Святогор – на 5,11-7,79 мг/кг порівняно з контрольними варіантами.

Встановлено, що вирощування сортів сої за комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння на зрошенні змінював вміст рухомого фосфору. Так, в ґрунті сої сорту Діона максимальна його кількість містилася у варіанті Ризобін^К+ *B. velezensis* IMB B-8135 – 53,4 мг/кг, а у сорту Святогор – у варіанті

Ризобін^К+ *Pseudomonas* sp.6 (53,35 мг/кг). В інших варіантах значення цього показника коливалися в межах 48,95-52,85 мг/кг ґрунту (табл.7.3).

Таблиця 7.3.

Агрохімічний склад темно-каштанового ґрунту під рослинами сої, мг/кг

Інокулянти	Вміст мінерального нітрогену N-NO ₃ + N-NH ₄	Вміст рухомого фосфору P ₂ O ₅	Вміст обмінного калію K ₂ O
Сорт Діона			
Контроль (обробка насіння водою)	17,72	44,50	162,5
Ризобін ^К	24,27	51,15	198,5
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	31,36	51,60	221,5
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	29,36	53,40	238
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	27,55	48,95	196
НІР ₀₅	5,02	3,96	26,7
Сорт Святогор			
Контроль (обробка насіння водою)	28,24	43,25	214,5
Ризобін ^К	34,97	50,65	191
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	35,41	50,20	233
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	36,03	52,85	207,5
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	33,35	53,35	202,5
НІР ₀₅	3,49	4,65	19,05

Вміст обмінного калію в шарі 0-20 см на варіанті Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8135 сорту Діона був найвищим – 238 мг/кг. У дослідях з соєю сорту Святогор вміст калію був найвищим за застосування Ризобін^К + *B. velezensis* IMB B-8134, він склав 233 мг/кг, тоді як на контрольних варіантах його вміст був найменшим і становив 162.5-214.5 мг/кг ґрунту.

Таким чином, ефективність застосування бактеріальних препаратів визначається здатністю бактерій, на основі яких вони виготовлені, фіксувати азот атмосфери і біологічно активні речовини. Це стимулює розвиток рослин, кореневі

ексудати яких сприяють підвищенню кількості мікроорганізмів які мінералізують органічну речовину ґрунту, покращують мінеральне живлення рослин. Сучасні бактеріальні препарати сприяють формуванню потужного азотфіксуючого апарату (бульбочок) на коренях, інтенсивному розвитку бобових рослин, захисту від захворювань, що допомагає отримувати високі врожаї насіння.

7.3 Вплив ендоефітно-ризобіальної інокуляції на формування врожайності сої

Для отримання стабільно високих урожаїв насіння сої надзвичайно важливе значення має оптимальна густота стояння рослин, яка сприяє інтенсивному росту й розвитку культури. У проведених дослідженнях норма висіву насіння сорту Діона становила 800 тис. шт./га і, відповідно, сорту Святогор – 600 тис. шт. схожих насінин на 1 га (табл.7.4).

Таблиця 7.4.

Густота стояння, польова схожість і виживання рослин сої залежно від сорту й застосування бактеріальних препаратів

Інокулянти	Норма висіву насіння, тис./га	Зійшло рослин, тис./га	Польова схожість насіння, %	Кількість рослин у фазу повної стиглості, тис./га	Вижило рослин, %
Сорт Діона					
Контроль 1 (без обробки насіння)	800 000	400 000	50,0	340 000	85,0
Контроль 2 (обробка насіння водою)	800 000	400 000	50,0	340 000	85,0
Ризобін ^K	800 000	480 000	60,0	470 000	97,9
Ризобін ^{K+} <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	800 000	570 000	71,3	560 000	98,2
Ризобін ^{K+} <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	800 000	560 000	70,0	540 000	96,4
Ризобін ^{K+} <i>Pseudomonas</i> sp.6	800 000	520 000	65,0	510 000	98,1
НІР ₀₅	-	64,1	8,02	82,7	5,42

Продовження таблиці 7.4.

Інокулянти	Норма висіву насіння, тис./га	Зійшло рослин, тис./га	Польова схожість насіння, %	Кількість рослин у фазу повної стиглості, тис./га	Вижило рослин, %
Сорт Святогор					
Контроль 1 (без обробки насіння)	600 000	310 000	51,7	290 000	93,5
Контроль 2 (обробка насіння водою)	600 000	310 000	51,7	290 000	93,5
Ризобін ^K	600 000	360 000	60,0	350 000	97,2
Ризобін ^{K+} <i>B. velezensis</i> IMB B-8134	600 000	380 000	63,3	370 000	97,4
Ризобін ^{K+} <i>B. velezensis</i> IMB B-8135	600 000	380 000	63,3	370 000	97,4
Ризобін ^{K+} <i>Pseudomonas</i> sp.6	600 000	360 000	60,0	350 000	97,2
НІР ₀₅	-	26,3	4,33	29,7	1,62

Протягом вегетаційного періоду обох сортів сої, частина рослин відмирала, через що густота посівів на ділянках польового дослідження зменшувалася. Проведення комплексної ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння суттєво впливало на збереження рослин. Найбільше виживало рослин сорту Діона за інокуляції насіння Ризобін^{K+} *B. velezensis* IMB B-8134 – 98,2% та Ризобін^{K+} *B. velezensis* IMB B-8135 – 96,4%, а сорту Святогор – за інокуляції композицією Ризобін^{K+} *B. velezensis* IMB B-8134 – 97,4%. Найменше виживало рослин у контрольних варіантах, —85,0-93,5%.

Встановлено, що за структурою урожаю: висотою рослин, кількістю бобів і насіння, що формувалися й масою насіння з 1 рослини показники сорту Святогор, порівняно із сортом Діона, були вищими (табл. 7.5).

Структура урожаю різних за скоростиглістю сортів сої залежно від
інокуляції

Іноку- лянти (В)	Висота, см		Кількість на 1 рослині, шт			Маса насіння	
	рос- лин	прикріплення першого боба	продуктив- них вузлів	бобів	насіння	з 1 росли- ни	1000 шт. насінин, г
Сорт Діона (A ₁)							
1.	60	10	8	16	26	6,2	127,3
2.	60	11	9	16	28	6,3	129,8
3.	70	12	9	21	31	7,2	136,5
4.	81	16	13	25	46	8,4	145,5
5.	78	15	12	23	43	7,8	144,5
6.	73	15	10	23	42	7,6	141,3
7.	74	16	12	24	39	8,2	137,8
НІР ₀₅	7,11	2,17	1,65	3,22	6,90	0,75	6,04
Сорт Святогор (A ₂)							
1.	71	17	9	19	28	7,3	126,5
2.	72	17	10	20	29	7,5	129,0
3.	76	19	13	28	34	8,0	140,3
4.	92	23	15	31	52	9,7	143,5
5.	89	21	15	29	50	9,0	142,3
6.	87	23	13	28	49	8,8	141,8
7.	90	23	15	30	51	9,1	141,3
НІР ₀₅	7,85	2,39	2,15	4,21	9,50	0,78	6,04

Примітка: 1 – Контроль 1 (без обробок); 2 – Контроль 2 (обприскування водою); 3 – Ризобін^К; 4 – Ризобін^К + *B. velezensis* ІМВ В-8134; 5 – Ризобін^К + *B. velezensis* ІМВ В-8135; 6 – Ризобін^К + *Pseudomonas* sp.6; 7 – Ризобін^К + *Bacillus megaterium* УКМ В-5724.

Відомо, що інокуляція сої ризобіями сприяє покращенню живлення рослин нітрогеном, їх росту та формуванню врожайності. У наших експериментах, за застосування інокуляції препаратом Ризобін^К, який містить три штами *B. japonicum* було відмічено приріст урожайності порівняно з неінокульованим варіантом на 9,23% (0,18 т/га) для сої сорту Діона та на 14,2% (0,30 т/га) для сорту Святогор. Значно кращих результатів було досягнуто за комплексної ендofітно-

ризобіальної інокуляції. За роки досліджень максимальна урожайність насіння обох досліджених сортів отримана у варіанті за комплексної інокуляції насіння Ризобін^К + *B. velezensis* IMB В-8134 – в середньому 2,69 т/га за вирощування ультраскоростиглого сорту Діона та 2,95 т/га – середньостиглого сорту Святогор, що на 38-40% перевершувало контрольні показники (табл. 7.6).

Таблиця 7.6.

Урожайність за ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння різних за скоростиглістю сортів сої на зрошуваних землях Південного Степу України, т/га.

Інокулянти (В)	Урожайність, т/га			Середній приріст до контролю 1	
	2024 р.	2025 р.	середнє	т/га	%
Сорт Діона (А₁)					
Контроль 1 (без обробки насіння)	2,77	1,13	1,95	-	-
Контроль 2 (обробка насіння водою)	2,80	1,15	1,97	-	-
Ризобін ^К	3,02	1,25	2,13	0,18	9,23
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB В-8134	3,57	1,82	2,69	0,74	37,9
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB В-8135	3,26	1,77	2,51	0,56	28,7
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	3,01	1,66	2,33	0,38	19,4
Сорт Святогор (А₂)					
Контроль 1 (без обробки насіння)	2,84	1,37	2,10	-	-
Контроль 2 (обробка насіння водою)	2,85	1,38	2,11	-	-
Ризобін ^К	3,11	1,69	2,40	0,30	14,2
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB В-8134	3,77	2,14	2,95	0,85	40,4
Ризобін ^К + <i>B. velezensis</i> IMB В-8135	3,39	1,98	2,68	0,58	27,6
Ризобін ^К + <i>Pseudomonas</i> sp.6	3,11	1,98	2,54	0,44	20,9

А. Оцінка істотності часткових відмінностей:

НІР₀₅ (А)= 0,154 т/га; НІР₀₅ (В)=0,091 т/га

В. Оцінка істотності середніх (головних) ефектів:

НІР₀₅ (А)= 0,058 т/га; НІР₀₅ (В)=0,065 т/га

Висока урожайність формувалася й у варіанті Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8135, яка у сорту Діона становила 2,51 т/га й у сорту Святогор – 2,68 т/га. Приріст урожайності сорту Діона за комплексної інокуляції насіння різних варіантів польового досліду, порівняно з Контролем 1, склав: Ризобін^K – 0,18 т/га; відповідно, Ризобін^K+ *B. velezensis* IMB B-8134 – 0,74; Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8135 – 0,56; Ризобін^K+ *Pseudomonas* sp.6 – 0,38.

При вирощуванні середньостиглого сорту Святогор приріст урожайності був достатньо високим і за наведеними варіантами польового досліду досягав: Ризобін^K – 0,30 т/га; Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8134 – 0,85 т/га; Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8135 – 0,58; Ризобін^K + *Pseudomonas* sp. 6 – 0,44.

Найменша урожайність кондиційного насіння обох сортів сої отримана у контрольних варіантах (Контроль 1 та Контроль 2), яка у сорту Діона складала 1,95–1,97 т/га і у сорту Святогор – 2,10–2,11 т/га.

За роки досліджень максимальна урожайність насіння обох сортів сої отримана у варіанті з комплексною інокуляцією насіння Ризобін^K + *B. velezensis* IMB B-8134 – в середньому 2,69 т/га за вирощування ультраскоростиглого сорту Діона та 2,95 т/га – середньостиглого сорту Святогор, що на 38-40% перевищувало контрольні показники.

Підвищення продуктивності зерно-бобових культур з використанням потенціалу симбіотичних і несимбіотичних мікроорганізмів є економічно і екологічно обґрунтованим заходом у сучасному землеробстві. Цим питанням приділяється багато уваги дослідників. У роботах Szpunar-Krok et al. [9] за ризобіальної інокуляції *B. japonicum* і відсутності підживлення нітрогеном сорт сої Алдана мав середнє збільшення врожайності насіння на 7,1% (0,28 т/га), а сорт Аннушка – на 14,6% (0,50 т/га). У дослідях, проведених у США Leggett (2017), показано, що завдяки інокуляції сої *B. japonicum* було досягнуто середнє збільшення врожайності зерна сої на 1,67% (протягом 4 років випробувань), а в Аргентині на 6,39% (за 5 років випробувань), що еквівалентно 60 і 190 кг/га відповідно [4].

Також відомо про позитивний ефект від комплексної інокуляції насіння одночасно декількома штамми. Так, Tu et al. [10] продемонстрували, що спільна інокуляція ізолятом *Bradyrhizobium* Bra6 та різними ізолятами *Pseudomonas* посилювала утворення активних симбіотичних систем, засвоєння поживних речовин і накопичення біомаси сої.

Проте слід зазначити, що незважаючи на загальні підходи, застосування різних інокулянтів потребує корекції з урахуванням особливостей аборигенної мікробіоти, ґрунтових умов і особливо кліматичних змін. Саме тому нами були проведені дослідження, які показали позитивний ефект застосованої у роботі мультиштамової інокуляції насіння – консорціуму мікроорганізмів, до складу якого входять три штами бульбочкових бактерій та один з нововиділених штамів ендofітних бактерій.

Список використаних джерел до розділу 7

1. Biliavska, L., Iutynska, G., Loboda, M., Ropotilov, B., & Skrotskyi, S. (2024). Diagnostics and bioremediation of soils affected by military operations in Ukraine. *Biological Systems: Theory and Innovation*, 15(3), 67-78. <https://doi.org/10.31548/biologiya/3.2024.67>
2. Dragone, N. B., Hoffert, M., Strickland, M. S., & Fierer, N. (2024). Taxonomic and genomic attributes of oligotrophic soil bacteria. *ISME communications*, 4(1), ycae081. <https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae081>
3. Jezierska-Tys, S., Wesołowska, S., Gałazka, A. et al. (2020). Biological activity and functional diversity in soil in different cultivation systems. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 17, 4189–4204. doi: <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02762-5>
4. Leggett, M., Diaz-Zorita, M., Koivunen, M., Bowman, R., Pesek, R., Stevenson, C., & Leister, T. (2017). Soybean response to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* in the United States and Argentina. *Agronomy journal*, 109(3), 1031-1038. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.04.0214>
5. Malynovska, I. M. (2021). The determination of specific phosphatmobilizing activity of soil microorganisms. *Agriculture and plant sciences: theory and practice*, (1), 43-47. doi: <https://doi.org/10.54651/agri.2021.01.06>
6. Maslovska, O., Komplikevych, S., Zinchuk, D., Hnatush, A., Zaritska, Y., Telehuz, O., & Hnatush, S. (2025). Bacteriome of the soil affected by hostilities as a source of isolation of plant growth-promoting metal-resistant bacteria. *Annals of Microbiology*, 75(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13213-025-01807-9>
7. Rusmana, I., Mubarik, N. R., & Santosa, D. A. (2017). The abundance of nitrogen fixing, nitrifying, denitrifying and ammonifying bacteria in the soil of tropical rainforests and oil palm plantations in Jambi. *Makara Journal of Science*, 21(4), 7. doi: <https://doi.org/10.7454/mss.v21i4.8841>

8. Saghai, A., & Hallin, S. (2024). Diversity and ecology of NrfA-dependent ammonifying microorganisms. *Trends in Microbiology*, 32(6), 602-613.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2024.02.007>
9. Szpunar-Krok, E., Bobrecka-Jamro, D., Pikula, W., & Jańczak-Pieniążek, M. (2023). Effect of nitrogen fertilization and inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* on nodulation and yielding of soybean. *Agronomy*, 13(5), 1341.
<https://doi.org/10.3390/agronomy13051341>
10. Tu, T. C., Lin, S. H., & Shen, F. T. (2021). Enhancing symbiotic nitrogen fixation and soybean growth through co-inoculation with *Bradyrhizobium* and *Pseudomonas* isolates. *Sustainability*, 13(20), 11539.
<https://doi.org/10.3390/su132011539>

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ендофітні мікроорганізми привертають значну увагу дослідників завдяки здатності позитивно впливати на ріст і розвиток рослин, підвищувати їхню стійкість до абіотичних і біотичних стресових факторів, сприяти покращенню продуктивності, що зумовлює їхні потенційні можливості практичного застосування в рослинництві.

У проведених дослідженнях було вивчено стійкість ризобій і нововиділених ендофітних штамів до зовнішніх факторів, а саме до впливу пестицидів та різних температур культивування. Фунгіцидні препарати Кватрофорс (діючі речовини: флутриафол, імазаліл, металаксил-М, піраклостробін) та Максим XL (флудиоксоніл, металаксил-М) пригнічували ріст *B. japonicum* УКМ В-6018, УКМ В-6023 та УКМ В-6035 з зонами затримки росту 1,1-12,6 мм, що корелює з результатами роботи Revellin et al., які зазначають, що металаксил у складі фунгіциду Apron 35J (Ciba-Geigy) пригнічував ріст *B. japonicum* G49 [29]. Зазначені препарати також мали вплив на ендофітні штами *Bacillus* sp. 4, *Bacillus* sp. 5 та *Pseudomonas* sp. 6, тоді як за даними Shen et al. металаксил не пригнічував ріст ендофітних бактерій рису *Bacillus aryabhattai* E7, *B. aryabhattai* MN1, *B. fortis* T9 та *Pseudomonas granadensis* T6 [32]. У роботі Andreolli et al. було виявлено, що ендофітні ізоляти *Bacillus* sp. VAe та V3Be були чутливими до фунгіциду Switch® (діючі речовини флудиоксоніл та ципродиніл), а *Pseudomonas* sp. PT1e та PT2e – виявились стійкими [3]. Pizzi et al. зазначають, що ендофітний штам *P. extremaustralis* ED219, виділений з виноградної лози, є стійким до фунгіциду Switch®, тоді як штам *B. velezensis* ED163 стійкості не проявляв [25]. Отже, згідно отриманих результатів та даних інших дослідників випливає висновок, що діюча речовина металаксил має інгібувальний вплив на *B. japonicum*, тоді як ріст ендофітних *Bacillus* sp. та *Pseudomonas* sp. у більшості випадків пригнічує флудиоксоніл.

У роботі Andreolli et al. також відмічено інгібувальний вплив піраклостробіну, який є діючою речовиною фунгіциду Tucana® на *Bacillus* sp.

VAe, V3Be та *Pseudomonas* sp. PT1e, тоді як штами *Bacillus* sp. V12e та *Pseudomonas* sp. PT2e виявились стійкими до його дії [3]. За даними Kholostiakov et al., фунгіцид Plant Health Fungus Control (діючі речовини: боскалід, піраклостробін та тебуконазол) інгібував ріст ендофітних штамів *Bacillus* sp. OTH3, U5 W2 OTH5, *B. mycoides* TD3 та *Paenibacillus* sp. Tw2 [15]. У даній роботі піраклостробін у складі препарату комплексної інсекто-фунгіцидної дії Стандак Топ не мав впливу ані на бульбочкові, ані на ендофітні штами, з чого можна зробити висновок, що чутливість бактерій до піраклостробіну варіює на штамовому рівні.

Жоден з протестованих інсектицидних препаратів не інгібував ріст досліджених бульбочкових та ендофітних штамів. Так, на відміну від результатів Rathjen et al., які зазначали що інсектицид Gaucho 600 (діюча речовина імідаклоприд) пригінчував ріст *R. leguminosarum* WSM1455 [28], селекціоновані нами ризобіальні штами були стійкими до імідаклоприду у складі препаратів Командор Екстра та Командор Гранд. Отже, зважаючи на те, що більшість протестованих пестицидів не інгібували ріст досліджуваних ендофітних та ризобіальних штамів, їх можна застосовувати комплексно із зазначеними хімічними засобами захисту рослин за несприятливого стану агроєкосистем.

У ході дослідження впливу різних температур культивування на ріст досліджуваних ендофітів було встановлено, що штам *Bacillus* sp. 4 проявляв найвищу активність росту за 20°C, а *Bacillus* sp. 5 найактивніше ріс за температури 28°C, тоді як за підвищення температури до 37°C та 42°C – активність росту знижувалась, але зберігалась, отже досліджувані штами можна віднести до мезофільних бактерій. У дослідженнях Mahdi et al. 2022 встановлено, що максимально допустимою температурою для ендофітного ізоляту кіноа *B. velezensis* QA2 було 45°C [21], а у роботі Mahdi et al. 2026, ендофіти томатів *Bacillus* KSH-09 та KSH-12 показали помірний ріст за 40°C, але не росли за 42°C [22]. За нашими результатами штам *Pseudomonas* sp. 6 проявляв ростову активність у широкому спектрі температур від +20 до +42°C. Ці результати співпадають з даними інших дослідників. Так, Alghanmi et al, зазначають, що

ендофіт пустельної рослини *Ifloga spicata* *Pseudomonas* sp. R4-79 залишався життєздатним і продовжував рости за температури +37 °С, хоча й повільніше порівняно з контролем (28°C) [1]. У роботі Mahdi et al. 2026 ендофітні штами томатів *Pseudomonas* sp. KSH-04 та KSH-07 продемонстрували активний ріст за контрольної температури (30°C) та підтримували значний ріст при 42°C [22]. Згідно отриманих результатів та даних інших дослідників можна зробити висновок, що температури, за яких були здатні до активного росту ендофітні штами загалом залежали від рослини, з якої вони були виділені.

За результатами скринінгу антагоністичної активності ендофітних штамів було встановлено, що патогени бобових культур *X. axonopodis* pv. *phaseoli* УКМ В-1066 та УКМ В-1065 були найбільш чутливими до дії *Ochrobactrum* sp. 2 та *Paenibacillus* sp. 3, а *X. axonopodis* pv. *glycines* УКМ В-1162 – до *Bacillus* sp. 5. Штам *X. vesicatoria* 7790, який уражує пасльонові культури найкраще інгібували штами *Ochrobactrum* sp. 2 та *Pseudomonas* sp.6, а *X. cucurbitae* УКМ В-1063, який є патогеном гарбузових – *Paenibacillus* sp. 3. Збудник бактеріального раку томатів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ найактивніше інгібував ендофітний штам *Ochrobactrum* sp. 2. Антагоністичну активність ендофітів проти фітопагенних мікроорганізмів відмічали інші дослідники. Зокрема, Li et al. [18] показали, що ендофітний штам *B. amyloliquefaciens* B014, продемонстрував високу інгібуючу активність проти *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* АBB-2. Виявлено, що етилацетатні екстракти ендофітного штаму *B. velezensis* 25 (Bv-25) демонстрували сильну антибактеріальну активність проти *X. citri* subsp. *citri* (Хсс) [27]. Purwanti et al. показали, що *P. polymyxa* BP18 інгібує ріст *X. oryzae* [26]. Отже, у наведених даних літератури показано, що ендофіти здатні інгібувати патогенні бактерії, проте у більшості досліджень були протестовані патогени, що уражують ту ж культуру, із здорових тканин якої був виділений ендофітний штам. Тоді як у наших дослідженнях показано, що ендофітні ізоляти сої проявляли активні антагоністичні властивості не лише до патогенів бобових, а і до патогенів овочевих культур, зокрема гарбузових та пасльонових. Отримані результати

підкреслюють широкий антагоністичний потенціал досліджуваних штамів та розширюють вже описані ефекти щодо патогенів.

Наші дослідження показали, що метаболіти ендоефітних штамів, які містилися в супернатантах культуральних рідин, були здатні ефективно інгібувати проростання спор фітопатогенних мікроміцетів *A. alternata* 150721 та *F. oxysporum* 080721, викликаючи деформацію та фрагментацію гіф. Найбільш ефективними проти *A. alternata* були супернатанти *Bacillus* sp. 4 та *Pseudomonas* sp.6, а проти *F. oxysporum* – *Ochrobactrum* sp. 2 та *Paenibacillus* sp. 3. Схожі результати були отримані іншими авторами. Так, Zhu et al. зазначають що штами *P. megaterium* TSA-10E та *B. cereus* KB-6 зумовили значне зменшення проростання конідіальних клітин та довжини зародкових трубок *F. oxysporum* HKFo і *F. incarnatum* HKFi, що свідчить про те, що бактеріальні метаболіти безпосередньо впливали на ранні процеси інфекції [43]. У роботі Zaragoza et al. описано, що ендоефітні штами *Bacillus* sp. пригнічували розвиток міцелію *A. solani* та *Fusarium* sp. [40]. В роботі Perveen et al. показано, що *Ochrobactrum ciceri* ефективно пригнічував ріст та утворення конідій збудника гнилі кукурудзи *F. verticillioides* [24].

Ендоефітно-ризобіальна інокуляція насіння значно зменшувала ураження рослин мікозами, а захисний ефект за поєднання інокуляції та обприскування вегетуючих рослин супернатантами культуральних рідин ендоефітів сягав 95,9% проти ендоефітні та 81,2% проти *F. oxysporum*. Отримані результати узгоджуються з даними інших авторів. Так, у дослідженнях Ali et al. культуральні фільтрати *B. subtilis* B11-128 та *B. amyloliquefaciens* B11-144 повністю пригнічували поширення уражень, спричинених *A. alternata* на пуансетії та дифенбахії, а також *A. solani* на листі томатів [2]. Liu et al. зазначають, що ендоефіт *B. subtilis* YLX6, виділений зі листя жимолості блакитної, продемонстрував сильний антагонізм проти *A. alternata* [19]. У роботі Xu & Kim обробка рослин томатів штамом *P. polymyxa* SC09-21 забезпечила 80,0% пригнічення фузаріозної гнилі викликаной *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* [38]. А у дослідженнях Cai et al. інокуляція *P. polymyxa* hg18 забезпечила біоконтроль *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* на рівні

74,49% [6]. Отримані результати дослідження розширили сферу застосування ендоефітів і підкреслили ефективність комплексної інокуляції ендоефітних штамів з ризобіальними, за якої ендоефіти ефективно контролювали розвиток мікозів, а ризобіальні штами надавали стійкості рослинам сої.

Синтез сидерофорів є важливим механізмом біоконтролю фітопатогенів та конкуренції, характерний для багатьох PGPR та ендоефітів. У наших дослідженнях було показано, що усі досліджені ендоефітні штами були здатні до синтезу сидерофорів гідроксаматного типу, крім того, *Paenibacillus* sp. 3, *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 синтезували також сидерофори катехолатного типу. Найактивнішими продуцентами сидерофорів виявились штами *Paenibacillus* sp. 1 (75,9%), *Bacillus* sp. 4 (57,7%) та *Pseudomonas* sp. 6 (78,3%). Здатність синтезувати сидерофори як вільноіснуючими, так і ендоефітними штамами відмічали інші автори. Серед штамів, виділених Cherif-Silini et al. з ризосфери пшениці найпотужнішими продуцентами сидерофорів були *B. thuringiensis* B25 (53,05%), *B. thuringiensis* BA11 (51,51%) та *B. subtilis* subsp. *subtilis* D11 (43,5%). Помаранчевий ореол на агаризованому середовищі, що вказує на продукцію сидерофорів, спостерігався виключно у штамів *B. thuringiensis* BA11, *B. thuringiensis* D12 та *B. atropheaus* D13 [9]. У наших дослідженнях помаранчеве гало також було не у всіх сидерофорсинтезуючих штамів. Xu & Kim зазначають, що усі досліджувані ними штами *Paenibacillus* (SC02-09, SC09-21, SG09-01, SG09-02, SR04-02, SR04-16, SR07-23) утворювали помаранчеві ореоли в агарі CAS через сім днів, що підтверджує утворення сидерофорів [38]. Ендоефіт *P. aeruginosa* Mgrv7, виділений з листя мангових дерев, також синтезував сидерофори [16]. Незважаючи на значну увагу дослідників до вивчення механізмів біоконтролю та здатності ендоефітів до синтезу сидерофорів, визначення типів продукованих сидерофорів описано недостатньо. За нашими результатами, деякі з штамів синтезували два типи сидерофорів, що, ймовірно, зумовлює біоконтролюючі властивості.

Найперспективнішими за антагоністичними та біоконтролюючими властивостями виявились ендоефітні штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5, тому

подальші дослідження були спрямовані на визначення їхніх характеристик і таксономічного положення. За сукупністю фенотипових характеристик, а також результатами аналізу повногеномних послідовностей ендofітні штами *Bacillus* sp. 4 та *Bacillus* sp. 5 було ідентифіковано як *B. velezensis* IMB B-8134 та B-8135.

Представники виду *B. velezensis* широко поширені в ризосфері рослин та їх внутрішніх тканинах. Відомо про штами *B. velezensis*, виділені з ризосфери сої [39], кукурудзи [23], виноградної лози [11], оливкових дерев [4], арахісу [7], вівса [8], манго [5], суниці [41]. А типовий штам *B. velezensis* sp. nov. CR-502^T було виділено з гирла річки Велес, звідки і походить його назва [31]. У доступній літературі не виявлено даних про штами *Bacillus velezensis*, виділені саме з бульбочок сої. Отже визначення фізіолого-біохімічних, культуральних характеристик, проведення філогенетичного аналізу і анотування повних геномів нововиділених штамів доповнює знання про штами *B. velezensis*, виділені з ще не описаної екологічної ніші.

Досліджені фізіолого-біохімічні властивості співпадають з такими у типового штаму *B. velezensis* sp. nov. CR-502^T [31]. Відмінними були здатність до утилізації цитрату, глікогену, D-манози, D-мелезидози та N-ацетил-D-глюкозаміну. Дані характеристики варіюють у роботах і інших авторів. Так, Zhang et al. повідомляють, що виділений ними з рослин суниці штам *B. velezensis* JZ був здатний до утилізації цитрату [41]. Тоді як у роботах Zhou et al. та Rui et al. штами *B. velezensis* BR-01 та *B. velezensis* GXMZU-B1 були негативними щодо утилізації цитрату [30, 42]. *B. velezensis* HNAH 17806 продемонстрував здатність ферментувати глікоген [34]. *B. velezensis* TL використовував манозу [35]. Штам *B. velezensis* DTA1 використовував глікоген, D-манозу та N-ацетилглюкозамін [17]. Таким чином, здатність *B. velezensis* використовувати перераховані джерела вуглецю варіює на штамовому рівні.

Тест на антибіотикорезистентність досліджуваних штамів показав, що *B. velezensis* IMB B-8134 та IMB B-8135 були чутливими до аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів, глікопептидів, тетрациклінів, цефалоспоринів, амфеніколів, а також карбапенемів. Отримані нами результати корелюють з

даними літератури щодо штамів *B. velezensis*, які, за даними Heo et al., Hrabar et al. та Wash et al., були чутливими до антибіотиків, що належать до перерахованих груп [12, 13, 36]. Згідно опису типового штаму *B. velezensis*, наданого Ruiz-Garcia et al. [31], ці бактерії чутливі до амоксициліну та амоксициліну/клавуланової кислоти, що корелює з даними, отриманими нами. Низькі показники чутливості досліджуваних штамів до поліміксину В корелюють з даними Khan et al., за якими штам *B. velezensis* FiA2 також був стійким до поліміксину В [14]. Проте спостерігалися і відмінності у отриманих нами профілях антибіотикорезистентності та даними літератури. Так, Wash et al., зазначають, що штам *B. velezensis* HU-91 продемонстрував стійкість до пеніциліну [36]. Досліджуваний нами *B.velezensis* IMB B-8134 був стійким до пеніциліну, а *B. velezensis* IMB B-8135 – був чутливим. Отже, незважаючи на невеликі відмінності, отриманий профіль антибіотикочутливості досліджуваних штамів загалом відповідає характеристикам, описаним для *Bacillus velezensis*.

Порівняльний геномний та філогенетичний аналізи послідовностей *B. velezensis* IMB B-8134 та IMB B-8135 показали, що досліджувані штами є найбільш подібними до референсного штаму *B. velezensis* FZB42 за індексом ANI. Анотація геномів *B. velezensis* IMB B-8134 та *B. velezensis* IMB B-8135 виявила гени, пов'язані з метаболізмом заліза, а саме гени біосинтезу сидерофорів. Здатність даних штамів до синтезу сидерофорних сполук була підтверджена експериментально. У геномах виявлено гени, відповідальні за стресостійкість (детоксикація АФК, осмотичний стрес тощо). Закодовані властивості були підтверджені у лабораторних тестах. Виявлені гени стійкості до антибіотиків груп пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів та монобактамів не впливали на фенотипові прояви, адже обидва штами виявились чутливими до більшості протестованих антибіотиків даних груп. Також важливо відмітити, що в геномах обох штамів не виявлено генів синтезу токсинів та суперантигенів. Виявлено BGCs, відповідальні за синтез бацилізину, макролактину, бацилаєну, бацилібактину, фенгіцину та дифіцидину. Ці сполуки, ймовірно, і зумовлюють біоконтролюючі властивості досліджуваних штамів. Кластери, відповідальні за

синтез даних вторинних метаболітів у геномах штамів *B. velezensis* описують і інші дослідники [5, 7, 8, 23].

Незважаючи на те, що про здатність ендofітів до вертикальної передачі відома з літературних джерел [10, 33], нами вперше запропоновано використовувати дану корисну властивість для біопраймінгу насіння. У дослідженнях впливу комплексної інокуляції ендofітними та ризобіальними бактеріями на антиоксидантну активність та показники водного режиму за посушливих умов, було виявлено збереження стресопротекторного ефекту у рослин сої, інокульованих у попередньому році. Так, було виявлено зниження антирадикальної активності у інокульованих рослин, що є проявом стресозахисних властивостей ендofітних та ризобіальних штамів. Також було показано підвищення каталазної активності, що свідчить про активацію ферментативних шляхів нейтралізації накопичених АФК за вирощування сої у посушливих умовах. За застосування біопраймування насіння комплексом Ризобін^К + *B. velezensis* ІМВ В-8134 неферментативна антирадикальна активність була нижче контролю на 21,8 та 90,6% порівняно з контролем для екстрактів з коренів і листя відповідно, а каталазна активність була вищою за контрольний показник на 66,6%. Yoshida et al. також досліджували активує інокуляція *B. velezensis* S141 реакцію рослин на посуху, зокрема осмотичний або оксидативний стресовий захист, проте рослини сої в умовах посухи демонстрували типові стресові реакції незалежно від обробки [39]. У наших дослідженнях виявлено значний захисний ефект ендofітно-ризобіальної інокуляції на рослини сої, який зберігається і посилюється у наступного покоління рослин. Ймовірно, це пов'язано з тим, що досліджуваний нами штам є ендofітом, на противагу дослідженням Yoshida et al., які використовували *B. velezensis* S141, виділений з ризосфери сої [39].

У експериментах показано, що інокульовані рослини були краще забезпечені водою (зниження показників водного дефіциту, підвищення показників водозабезпечення та водоутримуючої здатності). Ці ефекти також зберігалися у біопраймованих рослин. Хоча дослідження Yoshida et al.

продемонстрували вплив інокуляції *B. velezensis* S141 на збільшення коренів в умовах посухи [39], вплив інокуляції ендofітами та ризобіями на наземні органи рослин в умовах посухи залишався не дослідженим.

Також у літературі не описано вплив ендofітно-ризобіальної інокуляції на чисельність мікроорганізмів основних еколого-функціональних груп у ризосферному ґрунті сої. Тоді як у проведених експериментах показано, що застосування передпосівної інокуляції сприяло підвищенню кількості амоніфікувальних, амілолітичних, фосфатмобілізувальних, педотрофних та оліготрофних мікроорганізмів. Це безпосередньо впливало і на збільшення вмісту мінерального азоту, рухомого фосфору та обмінного калію у ґрунті. Отримані дані щодо підвищення вмісту мінерального зоту та рухомого фосфору в ґрунті за комплексної інокуляції узгоджуються з результатами Xing et al. (2022), які показали, що коінокуляція *B. japonicum* 5038 з *Bacillus aryabhattai* MB35-5 сприяла збільшенню вмісту нітрогену у ґрунті та мала значний вплив на його накопичення у рослинах сої, а інокуляція *B. japonicum* 5038 та *Paenibacillus mucilaginosus* 3016 сприяла підвищенню вмісту доступного фосфору в ґрунті ризосфери сої [37].

Підвищення родючості ґрунту завдяки застосуванню інокуляції зумовило підвищення схожості, показників структури урожаю та виживання рослин. Інші дослідники також повідомляють про збільшення загальної біомаси рослин, за комплексної інокуляції *B. diazoefficiens* USDA110 + *B. velezensis* S141 [39]. Окрім цього у літературі описано і підвищення урожайності: на 26,5% порівняно з контролем за використання інокуляції *B. velezensis* Ag75 [23], та на 9,72-13,84%, порівняно з контролем за обробки сої мікробним препаратом на основі *B. velezensis* (CGMCC № 14384) [20]. У наших дослідженнях за використання інокуляції комплексом Ризобін^K+ *B. velezensis* IMB B-8134 приріст урожайності досягав 37,9% та 40,4% для сортів Діона та Святогор відповідно, що можна пояснити саме синергічною дією ризобіальних та ендofітних бактерій. У більшості цитованих вище робіт не було зосереджено увагу на погодних умовах, в яких вирощували рослини. На відміну від цих робіт нами було показано

підвищення стресостійкості рослин за умов посухи і високих температур під час вегетації сої. Це особливо важливо, враховуючи негативні глобальні зміни клімату.

Узагальнення даних літератури та отриманих нами результатів можна представити концептуальною схемою мережі симбіотичних взаємовідносин, які формуються в мікробно-рослинній системі за інокуляції ризобіальними і ендоефітними штамами (рис.1).

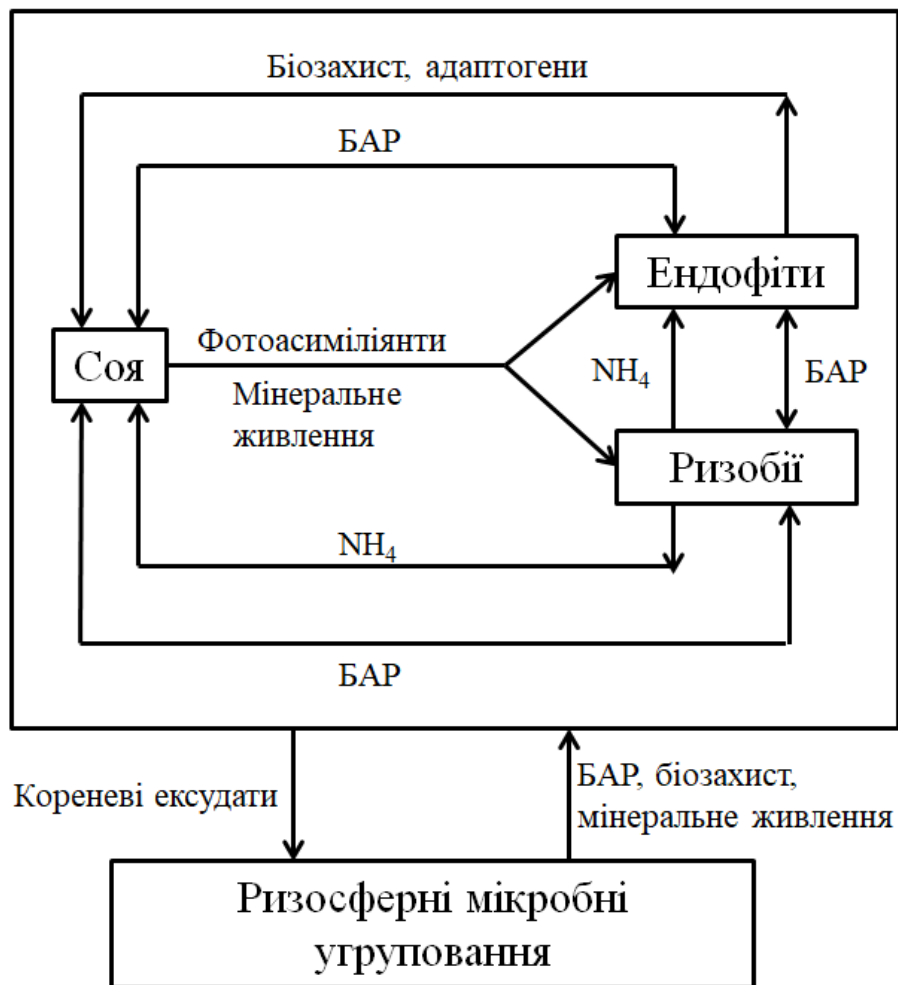


Рис.1. Концептуальна схема мережі симбіотичних взаємовідносин в системі «соя – ризобії – ендоефіти – ризосферні мікробні угруповання».

Ендоефітні та ризобіальні мікробні консорціуми формують симбіотичну систему з рослинами, у якій ендоефітні симбіонти підвищують стійкість фітопартнера до впливу абіотичних та біотичних стресів, водночас обмінюючись з рослиною необхідними для існування біологічно активними речовинами (БАР).

Ризобіальні бактерії постачають ендofітам та рослині доступний нітроген та беруть участь у взаємному обміні БАР. Рослина, у свою чергу, забезпечує мікроорганізми елементами мінерального живлення та продуктами фотосинтезу. Ця симбіотична система взаємодіє також і з мікробними угрупованнями ризосферного ґрунту: рослина – шляхом виділення корневих ексудатів, які приваблюють та стимулюють ґрунтові мікроорганізми, а вони сприяють біозахисту рослин та забезпечують їх біологічно активними та мінеральними речовинами.

Список використаних джерел до розділу узагальнення результатів дослідження

1. Alghanmi, L., Elhady, A., Parween, S., & Hirt, H. (2025). Plant growth promotion and pathogen protection by the desert endophyte *Pseudomonas grandensis* R4-79. *BMC microbiology*, 25(1), 690. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04431-4>
2. Ali, G. S., El-Sayed, A. S., Patel, J. S., Green, K. B., Ali, M., Brennan, M., & Norman, D. (2016). *Ex vivo* application of secreted metabolites produced by soil-inhabiting *Bacillus* spp. efficiently controls foliar diseases caused by *Alternaria* spp. *Applied and environmental microbiology*, 82(2), 478-490. <https://doi.org/10.1128/AEM.02662-15>
3. Andreolli, M., Lampis, S., Tosi, L. et al. Fungicide sensitivity of grapevine bacteria with plant growth-promoting traits and antagonistic activity as non-target microorganisms. *World J Microbiol Biotechnol* 39, 121 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03569-5>
4. Azabou, M.C., Gharbi, Y., Medhioub, I., Ennouri, K., Barham, H., Tounsi, S., & Triki, M.A. (2020). The endophytic strain *Bacillus velezensis* OEE1: An efficient biocontrol agent against *Verticillium* wilt of olive and a potential plant growth promoting bacteria. *Biological Control*, 142, 104168. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104168>
5. Balderas-Ruíz, K. A., Bustos, P., Santamaria, R. I., González, V., Cristiano-Fajardo, S. A., Barrera-Ortíz, S., ... & Serrano-Carreón, L. (2020). *Bacillus velezensis* 83 a bacterial strain from mango phyllosphere, useful for biological control and plant growth promotion. *AMB Express*, 10(1), 163. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01101-8>
6. Cai, F., Yang, C., Ma, T., Jin, M., Zhang, C., & Wang, Y. (2024). An endophytic *Paenibacillus polymyxa* hg18 and its biocontrol potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control*, 188, 105380. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105380>

7. Chen, L., Shi, H., Heng, J., Wang, D., & Bian, K. (2019). Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. *Microbiological research*, 218, 41-48.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.002>
8. Cheng, C., Su, S., Bo, S., Zheng, C., Liu, C., Zhang, L., ... & Liu, Z. (2024). A *Bacillus velezensis* strain isolated from oats with disease-preventing and growth-promoting properties. *Scientific Reports*, 14(1), 12950.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-63756-8>
9. Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I., & Boudabous, A. (2016). Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Annals of Microbiology*, 66(3), 1087-1097.
<https://doi.org/10.1007/s13213-016-1194-6>
10. Geisen, S., Kostenko, O., Cnossen, M. C., ten Hooven, F. C., Vreš, B., & van der Putten, W. H. (2017). Seed and Root Endophytic Fungi in a Range Expanding and a Related Plant Species. *Frontiers in Microbiology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01645>
11. Hamaoka, K., Aoki, Y., & Suzuki, S. (2021). Isolation and characterization of endophyte *Bacillus velezensis* KOF112 from grapevine shoot xylem as biological control agent for fungal diseases. *Plants*, 10(9), 1815.
<https://doi.org/10.3390/plants10091815>
12. Heo, G., Kong, H., Kim, N., Lee, S., Sul, S., Jeong, D. W., & Lee, J. H. (2022). Antibiotic susceptibility of *Bacillus velezensis*. *FEMS Microbiology Letters*, 369(1), fnac017. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnac017>
13. Hrabar, J., Babić, I., Jozić, S., Trumbić, Ž., Pioppi, A., Nielsen, L. J. D., ... & Mladineo, I. (2025). Prospecting microbiota of Adriatic fish: *Bacillus velezensis* as a potential probiotic candidate. *Animal microbiome*, 7(1), 64.
<https://doi.org/10.1186/s42523-025-00429-5>
14. Khan, T. A., Liangliang, H., Attia, K. A., Bashir, S., Ziyuan, X., Alsubki, R. A., ... & Xia, L. (2025). *Bacillus velezensis* FiA2 as an oxydifficidin-producing strain and its effects on the growth performance, immunity,

- intestinal microbiota, and resistance to *Aeromonas salmonicida* infection in *Carassius carassius*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(5), 3667-3683. <https://doi.org/10.1007/s12602-025-10485-7>
- 15.Kholostiakov, V., Burns, B., Ridgway, H., & Padamsee, M. (2025). Effects of fungicides on the beneficial seed-borne microbiome and seedling development of a long-lived myrtaceae tree species. *Symbiosis*, 96(2), 133-154. <https://doi.org/10.1007/s13199-025-01064-z>
 - 16.Kotb, E., Al-Abdalall, A. H., Ababutain, I., AlAhmady, N. F., Aldossary, S., Alkhalidi, E., ... & Ahmed, A. A. (2024). Anticandidal activity of a siderophore from marine endophyte *Pseudomonas aeruginosa* Mgrv7. *Antibiotics*, 13(4), 347. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040347>
 - 17.Le, H. T., Tran, T. T. T., Nguyen, S. T., La, D. D., Vu, N. D., Le, M. H., & Nguyen, H. T. (2025). Genomic insights into salt-tolerant, exopolysaccharide-producing *Bacillus velezensis* DTA1 isolated from coral island soil in Vietnam: Implications for soil remediation. *One Ecosystem*, 10, e158806. <https://doi.org/10.3897/oneeco.10.e158806>
 - 18.Li, S. B., Fang, M., Zhou, R. C., & Huang, J. (2012). Characterization and evaluation of the endophyte *Bacillus* B014 as a potential biocontrol agent for the control of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*–Induced blight of Anthurium. *Biological control*, 63(1), 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.06.002>
 - 19.Liu, J., Yang, J., Li, X., Li, H., & Li, Y. (2026). Evaluation of *Bacillus subtilis* YLX6 for biocontrol of *Alternaria alternata*, the causal agent of leaf spot in *Lonicera caerulea*. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.70525>
 - 20.Lv, D., Zhang, L., Guo, Y., Zhao, F., Cao, Z., Jha, S. K., ... & Wang, X. (2025). Effect of *Bacillus velezensis* on the structure of the rhizosphere microbial community and yield of soybean. *BMC plant biology*, 25(1), 1052. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07048-x>

21. Mahdi, I., Allaoui, A., Fahsi, N., & Biskri, L. (2022). *Bacillus velezensis* QA2 potentially induced salt stress tolerance and enhanced phosphate uptake in quinoa plants. *Microorganisms*, 10(9), 1836. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091836>
22. Mahdi, Z. H., Jalil, B. S., & Ali, N. S. M. (2026). Thermotolerant and Halotolerant Endophytic Bacteria from Karbala, Iraq: Promising Biocontrol Agents against *Xanthomonas gardneri*. *Kerbala Journal of Nursing and Health Sciences*, 2(1), 84-94. <https://doi.org/10.1186/s41938-026-00896-1>
23. Mosela, M., Andrade, G., Massucato, L. R., de Araújo Almeida, S. R., Nogueira, A. F., de Lima Filho, R. B., ... & Gonçalves, L. S. A. (2022). *Bacillus velezensis* strain Ag75 as a new multifunctional agent for biocontrol, phosphate solubilization and growth promotion in maize and soybean crops. *Scientific Reports*, 12, 15284. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19515-8>
24. Perveen, S., Shoaib, A., Yaqoob, H. S., Riaz, G., & Rafiq, M. (2025). *Ochrobactrum ciceri* and zinc synergy combatting *Fusarium verticillioides*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 136, 102536. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102536>
25. Pizzi, S., Di Canito, A., Mulero, E. P., Bezerra, C. C. D. O. N., Ricciardi, V., Maddalena, G., ... & Vigentini, I. (2026). Study of grapevine endophytes' interaction with the host and their potential as biocontrol agents as sustainable alternative to agrochemicals. *Frontiers in Microbiology*, 17, 1758446. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1758446>
26. Purwanti, E. W., Ramadhani, R. D., & Farid, A. (2025). Antagonistic Activity of *Paenibacillus polymyxa* against *Xanthomonas oryzae*: An *In Vitro* Dual Culture Study. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 29(2), 109-113. <https://doi.org/10.22146/jpti.108578>
27. Rabbee, M. F., & Baek, K. H. (2023). Detection of Antagonistic Compounds Synthesized by *Bacillus velezensis* against *Xanthomonas citri* subsp. *citri* by Metabolome and RNA Sequencing. *Microorganisms*, 11(6), 1523 <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061523>

28. Rathjen, J. R., Ryder, M. H., Riley, I. T., Lai, T. V., & Denton, M. D. (2020). Impact of seed-applied pesticides on rhizobial survival and legume nodulation. *Journal of Applied Microbiology*, 129(2), 389-399. <https://doi.org/10.1111/jam.14602>
29. Revellin, C., Leterme, P. & Catroux, G. Effect of some fungicide seed treatments on the survival of *Bradyrhizobium japonicum* and on the nodulation and yield of soybean [*Glycine max.* (L) Merr.]. *Biology and Fertility of Soils*, 16, 211–214 (1993). <https://doi.org/10.1007/BF00361410>
30. Rui, L. I. U., Ying, L. I. A. N. G., Doudou, Y. I. N., Chaodong, S. O. N. G., Zuqin, M. O., Junfeng, X. I. A. O., ... & Naikun, S. H. E. N. (2024). Screening, condition optimization and preliminary application of nitrite degrading *Bacillus velezensis* GXMZU-B1. *South China Fisheries Science*, 20(4), 133-143. <https://doi.org/10.12131/20240013>
31. Ruiz-Garcia, C., Bejar, V., Martinez-Checa, F., Llamas, I., Quesada, E. (2005). *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 191-195. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63310-0>
32. Shen, F. T., Yen, J. H., Liao, C. S., Chen, W. C., & Chao, Y. T. (2019). Screening of rice endophytic biofertilizers with fungicide tolerance and plant growth-promoting characteristics. *Sustainability*, 11(4), 1133. <https://doi.org/10.3390/su11041133>
33. Truyens, S., Weyens, N., Cuypers, A., & Vangronsveld, J. (2014). Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1), 40–50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>
34. Wang, C., Ye, X., Ng, T. B., & Zhang, W. (2021). Study on the biocontrol potential of antifungal peptides produced by *Bacillus velezensis* against *Fusarium solani* that infects the passion fruit *Passiflora edulis*. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 69(7), 2051-2061.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06106>
35. Wang, Z., Zhang, W., Dong, Z., Wu, Y., Kuang, S., Xia, Y., ... & Zhou, Z. (2026). Optimization of culture conditions for enhanced antibacterial metabolite production by *Bacillus velezensis* TL and evaluation of its efficacy against necrotic enteritis in broilers. *Poultry Science*, 106439.
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2026.106439>
 36. Wash, P., Yasmin, H., Ullah, H., Haider, W., Khan, N., Ahmad, A., ... & Hassan, M. N. (2023). Deciphering the genetics of antagonism and antimicrobial resistance in *Bacillus velezensis* HU-91 by whole genome analysis. *Journal of King Saud University-Science*, 35(11), 102954.
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102954>
 37. Xing, P., Zhao, Y., Guan, D., Li, L., Zhao, B., Ma, M., ... & Li, J. (2022). Effects of *Bradyrhizobium* co-inoculated with *Bacillus* and *Paenibacillus* on the structure and functional genes of soybean rhizobacteria community. *Genes*, 13(11), 1922. <https://doi.org/10.3390/genes13111922>
 38. Xu, S. J., & Kim, B. S. (2014). Biocontrol of *Fusarium* crown and root rot and promotion of growth of tomato by *Paenibacillus* strains isolated from soil. *Mycobiology*, 42(2), 158-166. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.2.158>
 39. Yoshida, K. I., & Teaumroong, N. (2026). *Bacillus velezensis* S141: A Soybean Growth-Promoting Rhizosphere Bacterium. *Plants*, 15(3), 387.
<https://doi.org/10.3390/plants15030387>
 40. Zaragoza, S. E., Cruz, R. S., Gómez, D. S., Sandoval, M. C. E., Ocampo, G. Y., Constantino, M. A. M., & Villarreal, A. W. (2021). Identification of endophytic bacteria of seeds from *Cedrela odorata* L. (*Meliaceae*) with biotechnological characteristics. *Acta Biológica Colombiana*, 26(2), 196–206.
<https://doi.org/10.15446/abc.v26n2.85325>
 41. Zhang, L., Liu, Z., Pu, Y., Zhang, B., Wang, B., Xing, L., ... & Liu, N. (2024). Antagonistic strain *Bacillus velezensis* JZ mediates the biocontrol of *Bacillus altitudinis* m-1, a cause of leaf spot disease in strawberry. *International*

42. Zhou, J., Xie, Y., Liao, Y., Li, X., Li, Y., Li, S., ... & He, Y. Q. (2022). Characterization of a *Bacillus velezensis* strain isolated from *Bolbostemmatidis Rhizoma* displaying strong antagonistic activities against a variety of rice pathogens. *Frontiers in microbiology*, 13, 983781. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.983781>
43. Zhu, Q., Ma, Y., Zhang, T., Liu, W., Zhang, S., Chen, Y., ... & Zhang, X. (2025). Biocontrol Potential of Rhizosphere Bacteria Against *Fusarium* Root Rot in Cowpea: Suppression of Mycelial Growth and Conidial Germination. *Biology*, 14(8), 921. <https://doi.org/10.3390/biology14080921>

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі представлено дані вивчення біологічної активності нових штамів ендоефітних бактерій, виділених з бульбочок сої, визначено їхні біопротекторні та адаптогенні властивості. Показано, що комплексна ендоефітно-ризобіальна інокуляція насіння в системі «соя – ризобії – ендоефіти – ризосферна мікробіота» сприяла формуванню мережі симбіотичних взаємовідносин, які підвищували стресостійкість і продуктивність рослин, особливо в умовах сучасних кліматичних змін.

1. Виявлено здатність досліджуваних штамів ендоефітних бактерій до активного росту в межах температур від 20°C до 42°C, а також стійкість до більшості сучасних фунгіцидів та інсектицидів, що свідчило про можливість застосування в інтегрованих системах захисту рослин, вирощуваних в різних кліматичних зонах.
2. Досліджувані ендоефітні бактерії здійснювали ефективний біоконтроль фітопатогенів різними шляхами: інгібуванням проростання спор мікроміцетів, антагонізмом щодо збудників бактеріозів бобових та овочевих культур, синтезом сидерофорів гідроксаматного і катехолатного типів. Застосування ендоефітно-ризобіальної обробки насіння забезпечувало високу ефективність захисту від фузаріозу та альтернативіозу сої (до 82,3-95,5%) у лабораторно-вегетаційних дослідках.
3. На основі морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей, філогенетичного аналізу послідовностей субодиниці 16S рРНК та повногеномного аналізу ідентифіковано активні штами *B. velezensis*, проведено депонування їх послідовностей у DDBJ/ENA/GenBank, штами розміщено у депозитарії IMB НАНУ за номерами IMB B-8134 та B-8135. За даними повногеномного секвенування та анотації геномів виявлено гени і біосинтетичні кластери, пов'язані із загальним метаболізмом штамів, а також гени, відповідальні за стрес-відповідь, інвазивну здатність, синтез

антибіотичних сполук (циклічних ліпопептидів, полікетидів) та сидерофорів (бацилібактину).

4. Передпосівна ендofітно-ризобіальна інокуляція активувала ферментативні та неферментативні механізми антиоксидантного захисту рослин, сприяла їх кращій адаптації до несприятливих гідротермічних умов, покращуючи водозабезпечення і водоутримувальну здатність листків.
5. В ризосфері рослин сої за передпосівної комплексної інокуляції насіння бульбочковими та ендofітними бактеріями зростала чисельність функціонально важливих груп мікроорганізмів: амоніфікувальних, амілолітичних, фосфатмобілізувальних (у 2,2-3,1 рази), педотрофних і нітрогенфіксувальних (на 21-42%), збільшувався вміст мінерального нітрогену (на 27,5-76,9%), обмінного калію (на 20,0-23,3%), та рухомого фосфору (на 8,62-46,4%),
6. В умовах посушливого Півдня України застосування передпосівної ендofітно-ризобіальної інокуляції насіння підвищувало польову схожість, виживання та густоту стояння сої, покращувало структуру урожаю і забезпечувало стабільне зростання насіннєвої продуктивності на 19,4-40,4%. Ефективність науково-технічної розробки підтверджено актами впровадження у Херсонській та Одеській областях.

ДОДАТКИ

Додаток А

Біосинтетичні генні кластери вторинних метаболітів, ідентифіковані у геномі *B. velezensis* IMB B-8134

Регіон	Тип	Найбільш подібний відомий кластер	Ідентичність, %
1.1	інший	бацилізин	100
2.1	transAT-PKS	макролактин	100
2.2	терпен	N/I*	N/I
2.3	PKS-like	бутирозин А/ бутирозин В	7
3.1	NRPS, беталактон, transAT-PKS	фенгіцин	80
3.2	transAT-PKS, NRPS, T3PKS	бацилаєн	100
4.1	transAT-PKS	дифіцидин	46
5.1	T3PKS	N/I	N/I
5.2	transAT-PKS-like	дифіцидин	53
9.1	NRP-metallophore, NRPS, RiPP- подібний	бацилібактин	100
13.1	NRPS	сурфактин	47
14.1	терпен	N/I	N/I
18.1	NRPS- подібний, transAT-PKS- подібний, NRPS	лоциломіцин/ лоциломіцин В/ лоциломіцин С	50
20.1	NRPS	сурфактин	47
21.1	transAT-PKS- подібний	дифіцидин	26
23.1	NRPS	пліпаєстатин	30
24.1	NRPS	фенгіцин	20
26.1	NRPS	сурфактин	13
27.1	NRPS	фенгіцин	13
28.1	NRPS	N/I	N/I
29.1	NRPS	лоциломіцин/ лоциломіцин В/ лоциломіцин С	14
33.1	NRPS	N/I	N/I
34.1	NRPS	N/I	N/I

* N/I – не виявлено; зелений колір – високий рівень ідентичності; без кольору – низький рівень ідентичності.

Кластери генів біосинтезу вторинних метаболітів, ідентифіковані у геномі *B. velezensis* IMB B-8135

Регіон	Тип	Найбільш подібний відомий кластер	Ідентичність, %
1.1	PKS- подібний	бутирозин А/ бутирозин В	7
1.2	терпен	N/I	N/I
1.3	transAT-PKS	макролактин Н	100
1.4	transAT-PKS, ТЗPKS, NRPS	бацилаєн	100
1.5	NRPS, transAT-PKS, беталактон	фенгіцин	80
2.1	інший	бацилізин	100
3.1	transAT-PKS	дифіцидин	60
4.1	терпен	N/I	N/I
4.2	ТЗPKS	N/I	N/I
4.3	transAT-PKS- подібний	дифіцидин	53
6.1	RiPP-подібний, NRP-металофор, NRPS	бацилібактин	100
8.1	NRPS	лоциломіцин В/ лоциломіцин С	57
10.1	NRPS	сурфактин	43
15.1	NRPS-подібний, transAT-PKS-подібний, NRPS	лоциломіцин В/ лоциломіцин С	50
16.1	NRPS	сурфактин	47
19.1	NRPS	пліпастатин	30
20.1	NRPS	фенгіцин	20
21.1	NRPS	лоциломіцин В/ лоциломіцин С	21
22.2	NRPS	фенгіцин	13
23.1	NRPS	сурфактин	13

* N/I – не виявлено; зелений колір – високий рівень ідентичності, помаранчевий колір – середній рівень ідентичності; без кольору – низький рівень ідентичності.

Додаток Б

Паспорти та свідоцтва про депонування, висновки дослідження щодо вірулентності штамів



ПАСПОРТ

штаму мікроорганізму, який передається
в Депозитарій Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Номер в депозитарії IMB B-8134

Дата надходження 10.12.2024р.

1. Видова назва культури *Bacillus velezensis*
2. Номер чи найменування штаму *Bacillus* sp.4
3. Родовід штаму (ізолюваний, отриманий в установі чи колекції, одержаний як мутант, селекціонований) Селекціонований.
4. Спосіб одержання штаму (ким, дата, місце, джерело, як і т. п.) Виділений із бульбочок сої культурної (*Glycine max* L. Merr) у Київській області (Україна) співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології IMB НАН України у 2014 році.
5. Хто і де (організація, ФІО) ідентифікував штаб IMB НАН України: Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В. в 2024 році (відділ загальної та ґрунтової мікробіології).
6. Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні особливості штаму Досліджуваний штаб *Bacillus* sp. 4 – аероб. Ростає на агаризованих середовищах: МПА, Громико, Гаузе №2. На МПА утворює бежеві матові колонії круглої форми, з опуклим профілем, однорідної структури і щільної консистенції. При рості на МПБ утворює плівку. Грампозитивна культура, молоді клітини – тонкі палички, розміром 2,0×0,7 мкм поодинокі або об'єднані в ланцюжки, з ендоспорами, розташованими по центру, що не змінюють форму клітини. Штаб здатен утилізувати D-маніт, L-арабінозу, D-глюкозу, D-рибозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, цитрат, манітол, тоді як ферментувати D-тагатозу та інулін не здатен. Реакція Фогес-Проскауера тривала. Гідролізує крохмаль, казеїн, желатин, ескулін, відновлює нітрати до аміаку. Штаб здатен утворювати каталазу та оксидазу. Оптимум рН – 6,8-7,4. Штаб не патогенний, може використовуватися для потреб сільського господарства як активний полівекторний стресопротекторний препарат для обробки насіння або розсади і вегетуючих рослин.
8. Продукт, що синтезується штамом Штаб синтезує амоній з азоту повітря, фітогормони, амінокислоти, органічні кислоти, сидерофори та антибіотичні речовини.
9. Активність штаму Антагоніст фітопатогенних грибів, бактерій. Активний азотфіксатор, фосфатмобілізатор. Стійкий до гіпертермії. Технологічний.
10. Спосіб, умови та склад середовищ для зберігання штаму Штаб зберігається на МПА, середовищі Громико (МПА+СА), агаризованому середовищі Гаузе №2 (пересів 1 раз на 6 міс.) або в ліофілізованому вигляді.
11. Спосіб, умови та склад середовищ для розмноження штаму Розмноження проводиться на середовищах аналогічного складу.
12. Генетичні особливості штаму Прототроф. Діазотроф.
13. Причина депонування Промисловий штаб, патентування.
14. Відомості про депозитора Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, відділ загальної і ґрунтової мікробіології, авторський колектив: Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В., вул. Заболотного, 154.

Автори:

Дата: 10.12.2024р.

Г. О. Іутинська

Л. В. Титова

Н. В. Шевчук



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К.ЗАБОЛОТНОГО

вул. Ак.Заболотного, 154, м. Київ, 03143,
Тел.: +380 44 526-11-79, +380 44 526-23-89, e-mail: secretar@imv.org.ua

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Автори: Г.О. Іутинська, Л.В. Титова, Н.В. Шевчук

Депозитор: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Поштова адреса: 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

Цим підтверджується, що штаму:

Bacillus velezensis sp. 4

первісно депонований згідно з «Інструкцією про порядок депонування в Україні штамів мікроорганізмів з метою здійснення патентної процедури» в

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Реєстраційний номер, наданий штаму культури Депозитарієм:

Bacillus velezensis IMB B-8134

Супровідна документація, яку одержано від депозитора: паспорт,
висновок про вивчення вірулентності штаму.

Дата первісного депонування 10.12.2024



Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д.К. Заболотного

НАН України, академік НАН України *Микола СПІВАК*



IMB B-8134
Bacillus
velezensis sp. 4

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, академік НАН України
 Микола СПІВАК
"грудня 2024"р.

ВИСНОВОК

щодо дослідження вірулентності штаму
Bacillus velezensis sp. 4 на моделі білих мишей

Штам *Bacillus velezensis* sp. 4 надано для депонування авторами: Г.О.Іутинською, Л.В.Титовою, Н.В.Шевчук, депозитор — Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Бактерії *Bacillus velezensis* sp. 4 вперше депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за ідентифікаційним номером IMB B-8134.

Bacillus широко розповсюджені в природі. Їх можна знайти в ґрунті, водоймах, харчових продуктах. Завдяки своїм властивостям утворювати спори, вони виживають протягом тривалого часу і легко розповсюджуються. Окремі представники вказаного роду мікроорганізмів включені до переліку небезпечних біологічних об'єктів, які можуть інфікувати людей і тварин, або бути для них токсичними чи алергічними чинниками [11-13, 16-18].

Важливим представником роду *Bacillus* є *Bacillus velezensis*, що має сільськогосподарське, біотехнологічне та екологічне застосування завдяки стимулюванню росту рослин, пригніченню рослинних патогенів, пробіотичній дії в кормах для тварин, синтезу антимікробних, протипухлинних сполук, біосурфактантів та розкладу побічних продуктів агропромисловості [5]. Одним з найбільш корисних ефектів *B. velezensis* є продукування біологічно активних сполук, таких як сурфактин, бацилізин і фенгіцин, які пов'язані з антагоністичною та протизапальною активностями [8].

Bacillus velezensis — спороутворювальний штам, широко поширений у природі. Легкість виділення та культивування, швидкий ріст та стійкість до стресу роблять його придатним інокулянтном [3]. Він також сприяє росту пшениці, буряка, моркви, перцю, картоплі, редиски [7], огірків [9] та сої [6]. *B. velezensis* посилює симбіоз *B. japonicum* та сої шляхом секреції флавоноїдів, зокрема рутину, який модулює експресію генів утворення бульбочок. Ця взаємодія покращує засвоєння азоту та ріст сої, навіть за умов низького вмісту азоту у ґрунті [2].

Умовною мірою патогенності мікроорганізмів є їх вірулентність. Критерієм авірулентності слугує відсутність інфекційної патології та загибелі

мишей протягом 14 діб у разі введення рекомендованих граничних концентрацій клітин мікроорганізмів у гострих дослідях. Вірулентними вважаються штами мікроорганізмів, ЛД50 яких при надходженні через шлунок $<10^8$ клітин/мишу ($<10^9$ /щура) і відповідно при внутрішньочеревних, інтраназальних чи інгаляційних ін'єкціях $<10^6$ /мишу і $<10^7$ /щура [19]. З метою депонування мікроорганізмів проводили первинну санітарно-гігієнічну оцінку штамів, а саме визначили у гострих дослідях на моделі білих мишей окремі показники патогенності – вірулентність та інвазивність (інфекційність) культури. Для досліджень брали максимальні дози матеріалу (таблиця).

За період спостереження після введення суспензій живих бактерій (перорально у дозах від $0,5 \times 10^9$ до 5×10^9 КУО на мишу та внутрішньочеревно у дозах від 1×10^9 до 5×10^9 КУО на мишу [19], усі тварини добре поїдали корм, мали жвавий вигляд, не спостерігалися зміни хутряного покриву. Достовірної різниці в масі та температурі тіла дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані організму та поведінці не було.

Таблиця. Результати дослідження вірулентності штаму
Bacillus velezensis sp. 4

Матеріал для введення	Кількість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
	Гол.	мл	млрд. клітин	в/ч per os	діб	Захворіло штук	Загинуло штук	Вижило штук
<u>Дослід:</u>								
Суспензія активних 48 годинних клітин бактерій	6	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0,5	per os	1	0	0	6
	6	0,5	1,0	per os	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	per os	1	0	0	6
<u>Контроль:</u>								
Фізіологічний розчин	6	0,5	0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0	per os	1	0	0	6

Всі миші і контрольні в тому числі, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одна від одної, поверхні гладенькі, спайок не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка вишневого кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;

- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин після 14 діб після початку досліджень показали, що даний штам мікроорганізмів не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних.

Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензій живих культур клітин не спричинило інвазій бактерій у внутрішні органи тварин. Ретрокультури не виявлені. Отримані результати свідчать про авірулентність штаму для дослідження теплокровних тварин (LD_{50} в/ч > 5 млрд. клітин/мишу, LD_{50} per os > 5 млрд. клітин/мишу)

Таким чином, згідно отриманих результатів та відповідних нормативних документів [1, 4, 10, 14-16, 18], штам *Bacillus velezensis* sp. 4 належить до групи авірулентних мікроорганізмів, не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин. Згідно даних щодо вірулентності, без урахування рівнів токсичності, токсигенності, алергенності, дисбіотичної дії штам *Bacillus velezensis* sp. 4 може вважатися непатогенним. Висновок видано для депонування вищезгаданої культури бактерій в Депозитарії ІМВ.

Література

1. Anne de Boer Sietske, A., Diderichsen, B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 36, 1–4 (1991). <https://doi.org/10.1007/BF00164689>.
2. Cheng, Y., Jiang, X., He, X., Wu, Z., Lv, Q., Zhao, S., ... & Liu, J. (2025). *Bacillus velezensis* 20507 promotes symbiosis between *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 and soybean by secreting flavonoids. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1572568.
3. Cheng, Y., Lou, H., He, H., He, X., Wang, Z., Gao, X., et al. (2024). Genomic and biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* using an extracellular extract from *Bacillus velezensis* 20507. *Front. Microbiol.* 15:1385067. doi: 10.3389/fmicb.2024.1385067
4. DIRECTIVE 2000/54/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work // <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/>.
5. Keshmirshekan, A., de Souza Mesquita, L. M., and Ventura, S. P. M. (2024). Biocontrol manufacturing and agricultural applications of *Bacillus velezensis*. *Trends Biotechnol.* 42, 986–1001. doi: 10.1016/J.TIBTECH.2024.02.003
6. Kondo, T., Sibponkrung, S., Hironao, K. Y., Tittabutr, P., Boonkerd, N., Ishikawa, S., ... & Yoshida, K. I. (2023). *Bacillus velezensis* S141, a soybean growth-promoting bacterium, hydrolyzes isoflavone glycosides into aglycones. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 69(3), 175-183.
7. Meng, Q., Jiang, H., and Hao, J. J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biol. Control* 98, 18–26. doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.010
8. Sousa, E. G., Campos, G. M., Viana, M. V. C., Gomes, G. C., Rodrigues, D. L. N., Aburjaile, F. F., ... & Azevedo, V. (2025). The research on the identification, taxonomy, and comparative genomics analysis of nine *Bacillus velezensis* strains

- significantly contributes to microbiology, genetics, bioinformatics, and biotechnology. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1544934.
9. Sun, X., Xu, Z., Xie, J., Hesselberg-Thomsen, V., Tan, T., Zheng, D., et al. (2022). *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions. *ISME J.* 16, 774–787. doi: 10.1038/s41396-021-01125-3
 10. The safety of two *Bacillus* probiotic strains for human use/ Iryna B Sorokulova et al.// *Dig Dis Sci.* 2008 Apr; 53(4). P.954-63.
 11. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. ДСП МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99. 1999 р.
 12. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
 13. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995 р.
 14. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 9-те, 2020.
 15. Кожемякин Ю.М і ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 С.
 16. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсикогігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.
 17. Перелік пріоритетних біологічних патогенних агентів. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 15.09.2023 р. № 800-р.
 18. Смирнов В.В, Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. Киев: Наукова думка, 1982.
 19. Шаповалова О.В. і ін. Стандартизація методу виготовлення суспензій мікроорганізмів // Збірка «Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях» Київ, «Знання України», 2004, стор.70-75.

Науковий співробітник, к.м.н.

Валентина БОЙКО

Інженер

Тетяна ЖИЛІХОВСЬКА



ПАСПОРТ

штаму мікроорганізму, який передається
в Депозитарій Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Номер в депозитарії IMB B-8135

Дата надходження 10.12.2024 р.

1. Видова назва культури *Bacillus velezensis*
2. Номер чи найменування штаму *Bacillus* sp.5
3. Родовід штаму (ізолюваний, отриманий в установі чи колекції, одержаний як мутант, селекціонований) Селекціонований.
4. Спосіб одержання штаму (ким, дата, місце, джерело, як і т. п.) Виділений із бульбочок сої культурної (*Glycine max* L. Merr) у Київській області (Україна) співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології IMB НАН України у 2014 році.
5. Хто і де (організація, ФІО) ідентифікував штаб IMB НАН України: Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В. у 2024 році.
6. Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні особливості штаму
Досліджуваний штаб *Bacillus* sp. 5 – аероб. Росте на агаризованих середовищах: МПА, Громико, Гаузе №2. На МПА утворює бежеві матові колонії круглої форми, з опуклим профілем, однорідної структури і щільної консистенції. При рості на МПБ утворює плівку. Грампозитивна культура, молоді клітини – тонкі палички, розміром 2,3×0,5 мкм поодинокі або об'єднані в ланцюжки, з ендоспорами, розташованими по центру, що не змінюють форму клітини. Штаб здатен утилізувати D-маніт, L-арабінозу, D-глюкозу, D-рибозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, цитрат, манітол, тоді як ферментувати D-тагатозу та інулін не здатен. Реакція Фогес-Проскауера тривала. Гідролізує крохмаль, казеїн, желатин, відновлює нітрати до аміаку. Штаб здатен утворювати каталазу та оксидазу. Оптимум рН – 6,8-7,4. Штаб не патогенний, може використовуватися для потреб сільського господарства як активний полівекторний стресопротекторний препарат для обробки насіння або розсади і вегетуючих рослин.
8. Продукт, що синтезується штабом Штаб синтезує амоній з азоту повітря, фітогормони, амінокислоти, органічні кислоти, сидерофори та антибіотичні речовини.
9. Активність штаму Антагоніст фітопатогенних грибів, бактерій. Активний азотфіксатор, фосфатмобілізатор. Стійкий до гіпертермії. Технологічний.
10. Спосіб, умови та склад середовищ для зберігання штаму Штаб зберігається на МПА, середовищі Громико (МПА+СА), агаризованому середовищі Гаузе №2 (пересів 1 раз на 6 міс.) або в ліофілізованому вигляді.
11. Спосіб, умови та склад середовищ для розмноження штаму Розмноження проводиться на середовищах аналогічного складу.
12. Генетичні особливості штаму Прототроф. Діазотроф.
13. Причина депонування Промисловий штаб, патентування.
14. Відомості про депозитора Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, відділ загальної і ґрунтової мікробіології, авторський колектив: Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В., вул. Заболотного, 154.

Автори:

Дата: 10.12.2024 р.

Г. О. Іутинська
Л. В. Титова
Н. В. Шевчук



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К.ЗАБОЛОТНОГО

вул. Ак.Заболотного, 154, м. Київ, 03143,
Тел.: +380 44 526-11-79, +380 44 526-23-89, e-mail: secretar@imv.org.ua

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Автори: Г.О. Іутинська, Л.В. Титова, Н.В. Шевчук

Депозитор: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Поштова адреса: 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

Цим підтверджується, що штам:

Bacillus velezensis sp. 5

первісно депонований згідно з «Інструкцією про порядок депонування в Україні штамів мікроорганізмів з метою здійснення патентної процедури» в

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Реєстраційний номер, наданий штаму культури Депозитарієм:

Bacillus velezensis IMB B-8135

Супровідна документація, яку одержано від депозитора: паспорт,
висновок про вивчення вірулентності штаму.

Дата первісного депонування 10.12.2024



Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д.К. Заболотного

НАН України, академік НАН України *Микола СПІВАК*



IMB B-8135
Bacillus
velezensis sp. 5

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, академік НАН України



Микола СПІВАК

"зрудна" 2024р.

ВИСНОВОК

щодо дослідження вірулентності штаму
Bacillus velezensis sp. 5 на моделі білих мишей

Штам *Bacillus velezensis* sp. 5 надано для депонування авторами: Г.О.Лутинською, Л.В.Титовою, Н.В.Шевчук, депозитор — Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Бактерії *Bacillus velezensis* sp. 5 вперше депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за ідентифікаційним номером IMB B-8135.

Рід *Bacillus* містить види, що зустрічаються в різноманітних природних та створених людиною середовищах, і мають екологічне, біотехнологічне та медичне значення. Деякі штами застосовують в сільському господарстві, біоремедіації та фармацевтичному виробництві. Проте, частина представників роду належить до потенційно небезпечних біологічних агентів, через їх здатність спричиняти захворювання у людей і тварин, а також викликати токсичні або алергічні реакції [11-13, 16-18].

B. velezensis — це ендоспороутворювальна ґрунтова бактерія, вперше описана Ruiz-Garcia в 2005 році, яка раніше класифікувалася як інший вид *Bacillus*, а потім була підтверджена як *B. velezensis* [5]. *Bacillus velezensis* зазвичай зустрічається в ґрунті, особливо в ризосфері. Завдяки своїм корисним властивостям *B. velezensis* вважається важливим членом асоційованого з рослинами мікробіому. Як наслідок, в останні десятиліття цей вид став модельним організмом для вивчення як бактерій, що сприяють росту рослин (PGP), так і біологічних засобів контролю (BCA). Поєднання властивостей PGP і BCA в *B. velezensis*, а також властива штаммам *Bacillus* стійкість до зберігання (завдяки утворенню спор) сприяли тому, що цей вид широко використовується в численних комерційних сільськогосподарських продуктах, спрямованих на поліпшення здоров'я та продуктивності сільськогосподарських культур [9].

B. velezensis виробляє різні вторинні метаболіти, наприклад нерибосомальні ліпопептиди (фенгіцин, бациломіцин D, сурфактин, мікосубтилін і бацилібактин), полікетиди (макролактин, диффіцидин і бацилаен), антимікробні пептиди (бацилізин і амілоцикліцин) та інші речовини (пліпастатин, ітурин, паєнібактин і паєніларвіні), які діють проти різних фітопатогенних мікроорганізмів [6, 10].

Bacillus velezensis демонструє значні можливості у стимулюванні росту рослин та підвищенні їх стійкості до хвороб [7], інокуляція цією бактерією може

зменшити вміст активних форм кисню в рисі в умовах посухи, тим самим підвищуючи її посухостійкість [4]. Крім того, *B. velezensis* виявляє здатність розчиняти неорганічний фосфор, виробляти сидерофор і синтезувати полі-γ-глутамінову кислоту, що значно підвищує активність дегідрогенази коренів ріпаку і надземну масу, сприяючи росту рослин в солоних і лужних умовах [3].

Умовною мірою патогенності мікроорганізмів є їх вірулентність. Критерієм авірулентності слугує відсутність інфекційної патології та загибелі мишей протягом 14 діб у разі введення рекомендованих граничних концентрацій клітин мікроорганізмів у гострих дослідах. Вірулентними вважаються штами мікроорганізмів, ЛД₅₀ яких при надходженні через шлунок <10⁸ клітин/мишу (<10⁹/щура) і відповідно при внутрішньочеревних, інтраназальних чи інгаляційних ін'єкціях <10⁶/мишу і <10⁷/щура [19]. З метою депонування мікроорганізмів проводили первинну санітарно-гігієнічну оцінку штамів, а саме визначили у гострих дослідах на моделі білих мишей окремі показники патогенності – вірулентність та інвазивність (інфекційність) культури. Для досліджень брали максимальні дози матеріалу (таблиця).

За період спостереження після введення суспензій живих бактерій (перорально у дозах від 0,5 x 10⁹ до 5 x 10⁹ КУО на мишу та внутрішньочеревно у дозах від 1 x 10⁹ до 5 x 10⁹ КУО на мишу [19], усі тварини добре поїдали корм, мали жвавий вигляд, не спостерігалися зміни хутряного покриву. Достовірної різниці в масі та температурі тіла дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані організму та поведінці не було.

Таблиця. Результати дослідження вірулентності штаму
***Bacillus velezensis* sp. 5**

Матеріал для введення	Кількість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
	Гол.	мл	млрд. клітин	в/ч per os	діб	Захворіло штук	Загинуло штук	Вижило штук
Дослід:								
Суспензія активних 48 годинних клітин бактерій	6	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0,5	per os	1	0	0	6
	6	0,5	1,0	per os	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	per os	1	0	0	6
Контроль:								
Фізіологічний розчин	6	0,5	0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0	per os	1	0	0	6

Всі миші і контрольні в тому числі, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження

дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одна від одної, поверхні гладенькі, спайок не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка вишневого кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;
- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин після 14 діб після початку досліджень показали, що даний штам мікроорганізмів не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних.

Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензій живих культур клітин не спричинило інвазій бактерій у внутрішні органи тварин. Ретрокультури не виявлені. Отримані результати свідчать про авірулентність штаму для дослідження теплокровних тварин (LD_{50} в/ч > 5 млрд. клітин/мишу, LD_{50} per os > 5 млрд. клітин/мишу)

Таким чином, згідно отриманих результатів та відповідних нормативних документів [1, 2, 8, 14-16, 18], штам *Bacillus velezensis* sp. 5 належить до групи авірулентних мікроорганізмів, не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин. Згідно даних щодо вірулентності, без урахування рівнів токсичності, токсигенності, алергенності, дисбіотичної дії штам *Bacillus velezensis* sp. 5 може вважатися непатогенним. Висновок видано для депонування вищезгаданої культури бактерій в Депозитарії IMB.

Література

1. Anne de Boer Sietske, A., Diderichsen, B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 36, 1–4 (1991). <https://doi.org/10.1007/BF00164689>.
2. DIRECTIVE 2000/54/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work // <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/>.
3. Lv, D., Zhang, L., Guo, Y., Zhao, F., Cao, Z., Jha, S. K., ... & Wang, X. (2025). Effect of *Bacillus velezensis* on the structure of the rhizosphere microbial community and yield of soybean. *BMC plant biology*, 25(1), 1052.
4. Park, D., Jang, J., Seo, D. H., Kim, Y., & Jang, G. (2024). *Bacillus velezensis* GH1-13 enhances drought tolerance in rice by reducing the accumulation of reactive oxygen species. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1432494.
5. Rabbee, M. F., Ali, M. S., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., & Baek, K. H. (2019). *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules*, 24(6), 1046.

6. Rabbee, M. F., Hwang, B. S., & Baek, K. H. (2023). *Bacillus velezensis*: a beneficial biocontrol agent or facultative phytopathogen for sustainable agriculture. *Agronomy*, 13(3), 840.
7. Sun, X., Xu, Z., Xie, J., Hesselberg-Thomsen, V., Tan, T., Zheng, D., ... & Kovács, Á. T. (2022). *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions. *The ISME journal*, 16(3), 774-787.
8. The safety of two *Bacillus* probiotic strains for human use/ Iryna B Sorokulova et al.// *Dig Dis Sci*. 2008 Apr; 53(4). P.954-63.
9. Torres, M., Sampedro, I., Llamas, I., & Béjar, V. (2025). *Bacillus velezensis*. *Trends in Microbiology*.
10. Zaid, D. S., Cai, S., Hu, C., Li, Z., & Li, Y. (2022). Comparative genome analysis reveals phylogenetic identity of *Bacillus velezensis* HNA3 and genomic insights into its plant growth promotion and biocontrol effects. *Microbiology Spectrum*, 10(1), e02169-21.
11. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. ДСП МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99. 1999 р.
12. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
13. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995 р.
14. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 9-те, 2020.
15. Кожемякин Ю.М і ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 С.
16. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсикогігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.
17. Перелік пріоритетних біологічних патогенних агентів. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 15.09.2023 р. № 800-р.
18. Смирнов В.В, Резник С.Р., Василевская И.А. Споробразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. Киев: Наукова думка, 1982.
19. Шаповалова О.В. і ін. Стандартизація методу виготовлення суспензій мікроорганізмів // Збірка «Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях» Київ, «Знання України», 2004, стор.70-75.

Науковий співробітник, к.м.н.

Валентина БОЙКО

Інженер

Тетяна ЖИЛІХОВСЬКА

Додаток В
Акти про впровадження

АКТ

від 12.11.2020 року

виробничої перевірки результатів ПНД 22 «Корми і кормовий білок» Асканійської
ДСДС ІЗЗ НААН

за темою: «Елементи технології вирощування різних за скоростиглістю
селекційних сортів сої нового покоління на темно-каштанових ґрунтах підзони
Південного Степу на зрошенні»
в ДП «ДГ «Асканійське» АДСДС ІЗЗ НААН» Каховського району Херсонської
області у 2020 році.

Назва розробки	Технічна характеристика розробки	Місце і об'єм впровадження	Економічна ефективність
Елементи технології вирощування різних за скоростиглістю селекційних сортів сої нового покоління на темно-каштанових ґрунтах підзони Південного Степу на зрошенні.	Застосування передпосівної інокуляції насіння різностиглих сортів сої бульбочковими й ендоефітними бактеріями в умовах зрошення	Херсонська область Каховський район с. Тавричанка ДП «ДГ «Асканійське» АДСДС ІЗЗ НААН» Сорт Діона – 10 га Сорт Аратта – 10 га	Приріст урожаю сої на зрошуваних землях за передпосівної інокуляції насіння штамом Ризобін ^К + Bsp.4 (Ризобін ^К + <i>Bacillus sp.</i> 4) склав по сорту Діона 0,82 т/га, по сорту Аратта склав 1,85 т/га

Даний акт участі у фінансових операціях не приймає

Замовник:

Директор

ДП «ДГ «Асканійське» АДСДС ІЗЗ НААН»

Найдьонов В.Г.

Головний агроном

ДП «ДГ «Асканійське» АДСДС ІЗЗ НААН»

Нижеголенко В.М.

Виконавці:

Асканійська ДСДС ІЗЗ НААН

Завідувач лабораторії агротехнологій

Тищенко А.В.



АКТ

від 31.08.2025

впровадження науково-технічної розробки по завданню 05.00.01.06.Ф Наукові основи підвищення ефективності бобово-ризобіального симбіозу рослинами сої на зрошуваних землях Південного Степу України у Товаристві з обмеженою відповідальністю «РИС БЕССАРАБІЇ» Ізмаїльського району Одеської області в 2025 році

Автори розробки (організація) Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН та Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Назва розробки	Технічна характеристика розробки	Місце і об'єм впровадження	Економічна ефективність
Методологічні напрями вирощування рослин сої за комплексної інокуляції насіння бульбочковими й ендofітними бактеріями	Застосування комплексної інокуляції насіння різних за стиглістю сортів сої бульбочковими й ендofітними бактеріями в умовах зрошення	Одеська область, Ізмаїльський район ТОВ «Рис Бессарабії» Сорт Діона 10 га.	Приріст урожаю сої на зрошуваних землях за комплексної інокуляції насіння штамом Ризобін ^К + Bsp. 4 (Ризобін ^К + Baccillus sp. 4) склав по сорту Діона 0,90 т/га

Представник господарства, в якому впроваджена розробка:

директор ТОВ «Рис Бессарабії»



Олег ОБРАЗЕНКО

Представник автора розробки:

старший науковий співробітник ІКОСГ НААН

Олена ДУБІНСЬКА

Додаток Г

**СПИСОК ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ**

(*– особистий внесок здобувача)

Статті:

1. Tytova, L., Dubynska, O., **Shevchuk, N.**, & Iutynska, G. (2026). Enhancing soybean adaptive potential and productivity with endophyte-rhizobial inoculation. *Biological Systems: Theory and Innovation*, 17(2), pp. 92-105. <https://doi.org/10.31548/biologiya/2.2026.92> (*експериментально досліджено чисельність мікроорганізмів агрономічно корисних еколого-функціональних груп у ризосферному мікробіоценозі сої за застосування передпосівної ендofітно-ризобіальної інокуляції за умов зрошення, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
2. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V. (2026). Identification of new *Bacillus velezensis* endophytic strains – probiotic agents for soybean symbiotic systems development. *The European Journal of Technical and Natural Sciences*, 2, pp. 3-7. <https://doi.org/10.29013/EJTNS-26-2-3-7> (*експериментально визначено біохімічні властивості досліджуваних штамів, проведено порівняння геномів обох штамів з типовим штамом *B. velezensis*, виконано аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
3. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Sergiienko, V.G., Iutynska, G.O. (2025). Phytoprotective potential of soybean endophytic microsymbionts. *Microbiological journal*, 87 (6) pp. 27-40. <https://doi.org/10.15407/microbiolj87.06.027>. (*експериментально досліджено антагоністичні властивості та здатність ендofітів синтезувати сидерофори, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
4. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O., Sergiienko, V.G., Katrii, V.B. (2025). Influence of rhizobia and endophytic bacteria on adaptation and

- productivity of *Glycine max* (L.) Merr. under hyperthermia and drought conditions. *Microbiological journal*, 87 (5), pp. 12-25. <https://doi.org/10.15407/microbiolj87.05.012> (*експериментально визначено антиоксидантну активність етанольних екстрактів листя і коренів сої та параметри водного режиму рослин сої залежно від передпосівної обробки насіння ендofітними та бульбочковими бактеріями, проведено аналіз отриманих даних, оформлення та написання розділів результати та обговорення)
5. Голобородько, С., Іутинська, Г., Титова, Л., Дубинська, О., **Шевчук, Н.** (2024). Агрокліматичні фактори та продуктивність різних за скоростиглістю сортів сої за ендofітно-ризобіальної інокуляції в умовах неполивного землеробства південного степу України. *Біологічні системи: теорія та інновації*, 15 (1), pp. 5-11. [http://dx.doi.org/10.31548/biologiya15\(1\).2024.001](http://dx.doi.org/10.31548/biologiya15(1).2024.001) (*експериментально досліджено чисельність мікроорганізмів агрономічно корисних еколого-функціональних груп у ризосферному мікробіоценозі сої за застосування передпосівної ендofітно-ризобіальної інокуляції в умовах неполивного землеробства Південного Степу України, проаналізовано та оформлено результати дослідження).

Тези:

1. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O. Genotypic and phenotypic characteristics of endophytic *Bacillus* strains with phytoprotective activity. 6th Scientific Conference "Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology", 25-26 November, 2025, Kyiv, Ukraine, P. 35. (форма участі – очна)
2. Іутинська, Г.О., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.**, Дубинська, О.Д. Застосування мікробних препаратів для підвищення резистентності рослин до кліматичних змін. Міжнародна науково-практична конференція «Кліматичні зміни та сталий розвиток сільського господарства», 19 вересня 2025 року, Одеса, Україна, С.145-148. (форма участі – заочна)

3. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Iutynska, G.O., Sergiienko, V.G., Goloborodko, S.P., Dubynska, O.D. The effect of endophytic bacteria on adaptive potential and productivity of *Bradyrhizobium japonicum*-*Glycine max* (L.) Merr. symbiosis under adverse agroclimatic factors. XVI з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (ТМУ), 2-6 червня 2025 р., Тернопіль, Україна, Р. 142. (форма участі – заочна)
4. **Shevchuk, N.**, Tytova, L., Fomenko, S., Bilyavska, L. Stress-protective activity of endophytic bacteria and their influence on the adaptive potential of soybean. V Scientific Conference of Young Researchers "Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology", 19-20 November, 2024, Kyiv, Ukraine, Р. 32. (форма участі – очна)
5. Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.**, Дубинська, О.Д., Голобородько, С.П., Іутинська, Г.О., Павліченко, Ю.М., Білявська, Л.О. Застосування ендоефітних бактерій у сучасних агробіотехнологіях. Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2024: матер. VIII Міжнародної науково-практичної конф., присвяченої 95-річчю від дня народження відомого вченого-мікробіолога, фізіолога рослин та популяризатора науки, проф. К.М. Векірчика, 18 – 19 квітня 2024 р., Тернопіль, Україна, С. 296-300. (форма участі – заочна)
6. **Shevchuk, N.V.**, Tytova, L.V., Sergienko, V.G., Fomenko, S.V., Bilyavska, L.O. Endophytes and their potential in biotic stresses management and crop productivity. «Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in war and post-war period», 15-16 листопада 2023 р., Київ, Україна, С. 221-223. (форма участі – очна)
7. Сергієнко, В.Г., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.** Бактеріальні прератати в системах захисту сої від хвороб. Міжнародна науково-практична конференція «Інновації у сучасному агропромисловому виробництві», 21-22 вересня 2023 р., Одеса, Україна, С. 190-194. (форма участі – заочна)
8. **Шевчук, Н.В.**, Титова, Л.В., Сергійчук, Н.М., Білявська, Л.О. Вплив ендоефітно-ризобіальної інокуляції на біорізноманітність мікробіому

ризосфери сої. XIX Всеукраїнська науково-практична конференція студентів і молодих вчених, 24 червня 2022 р., Київ, Україна, С.278-279. (форма участі – заочна)

Монографії, розділ у монографії, методичні рекомендації

1. Вожегова, Р. А., Голобородько, С. П., Дубинська, О. Д., Іутинська, Г. О., Титова, Л. В., **Шевчук, Н. В.**, Заєць, С. О., Юзюк, С. М. Наукові основи підвищення ефективності бобово-ризобіального симбіозу рослинами сої на зрошуваних землях Південного Степу України : монографія / Р. А. Вожегова, С. П. Голобородько, О. Д. Дубинська, Г. О. Іутинська, Л. В. Титова, Н. В. Шевчук, С. О. Заєць, С. М. Юзюк; Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства Національної академії аграрних наук України. – Одеса : Олді+, 2025. – 158 с. ISBN 978-617-8559-72-4
2. Вожегова, Р.А., Голобородько, С.П., Дубинська, О.Д., Іутинська, Г.О., Титова, Л.В., **Шевчук, Н.В.** Удосконалена енергоощадна технологія вирощування сої в умовах зрошення Південного Степу України: науково-методичні рекомендації / Вожегова Р.А., Голобородько С.П., Дубинська О.Д., Іутинська Г.О., Титова Л.В., Шевчук Н.В.; 2024. 34 с.
3. Титова, Л.В., Іутинська, Г.О., Голобородько, С.П., Дубинська, О.Д., Леонова, Н.О., **Шевчук, Н.В.**, Білявська, Л.О., Сергієнко, В.Г. Біотехнологічні основи сталого розвитку агроєкосистем і відновлення порушених ґрунтів. В кн.: “Мікробні біотехнології в сільськогосподарському виробництві”, Ніжин: Вид. Лисенко М.М., 2024. С. 93 – 125.

Документ підписано у сервісі Вчасно (продовження)

Дисертація Шевчук Н.В.pdf

Документ відправлено (3651906946): 12:37 22.07.2026

Відправник документу

Електронний підпис

12:37 22.07.2026

Ідентифікаційний код: 3651906949

Шевчук Надія Володимирівна

Власник ключа: Шевчук Надія Володимирівна

Час перевірки КЕП/ЕЦП: 12:35 22.07.2026

Статус перевірки сертифікату: Сертифікат діє

Серійний номер: 514B5C86A1E5DA1104000000F137AE00E7598F05

Тип підпису: кваліфікований

Тип сертифікату: кваліфікований