

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0418U001166

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 06-03-2018

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Грабова Ганна Юліївна

2. Grabova Ganna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.07

Назва наукової спеціальності: Мікробіологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 28-02-2018

Спеціальність за освітою: мікробіологія

Місце роботи здобувача: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. академіка Заболотного, 154, м. Київ, Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.233.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. академіка Заболотного, 154, м. Київ, Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. академіка Заболотного, 154, м. Київ, Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.27

Тема дисертації:

1. Экзометаболіти штаму *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524, що визначають його біологічні властивості.
2. Exometabolites of the *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524 strain, which determines its biological properties.

Реферат:

1. Дисертацію присвячено вивченню біологічних властивостей штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 та дослідженню екзометаболітів, що зумовлюють його біологічну активність. Виділено з ґрунту штам *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 та охарактеризовано його антагоністичну, еліситорну та фітостимулювальну активності, природу екзометаболітів, що їх визначають. Показано, що пом'якшення або нівелювання негативного впливу на рослини біотичних факторів довкілля, зокрема, фітопатогенних мікроміцетів, можливе завдяки застосуванню комплексу екзометаболітів різноспрямованої дії (антибіотиків, фітогормонів тощо), що синтезує штам IMB B-7524. Враховуючи захисні властивості, штам *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 є перспективним агентом біоконтролю захворювань

сільськогосподарських культур, викликаних фітопатогенними мікроорганізмами. За результатами багатоетапного скринінгу бактерій-антагоністів свіжевиділених та колекційних фітопатогенних мікроміцетів і бактерій було відібрано 5 штамів *Bacillus* sp. з найбільш високим рівнем і широким спектром антагоністичної активності проти фітопатогенів, зокрема, різних патоварів бактерії роду *Pseudomonas* серед 100 досліджених. Антагоністична активність відібраних штамів бацил у більшості випадків була на тому ж рівні, а в деяких випадках перевищувала таку штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7100, що є основою відомого препарату Фітодоктор (Спорофіт). Серед зазначених штамів за показниками стимуляції росту та розвитку рослин виділявся штам *Bacillus* sp. C6, метаболіти якого стимулювали схожість та нагромадження біомаси рослинами озимої пшениці в рулонній культурі, що значно розширює спектр його біологічної активності. За результатами поліфазного таксономічного аналізу, що включав дослідження морфолого-культуральних, фізіолого-біохімічних, хемотаксономічних та молекулярно-генетичних властивостей, відібраний штам ідентифіковано як *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524. Показано, що там *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 відповідає вимогам безпечності, що висуваються до штамів, які можуть бути використані при створенні біологічних препаратів для рослинництва. Показано, що у штамів аеробних спороутворювальних бактерій *Bacillus* sp. C1, C10, Lg24s, Lg37s та *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 мала місце експресія генів синтезу циклоліпопептидних антибіотиків родини фенгіцинів. Рівень експресії цих генів був максимальним у штаму IMB B-7524. Окрім генів фенгіцинсинтаз, у штамів IMB B-7524 та *Bacillus* sp. Lg37s також відбувалась транскрипція гену синтезу циклоліпопептидів родини ітуринів *ituD*. Аналітичними дослідженнями підтверджено, що до складу екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 входять антибіотичні сполуки, що відносяться до родини фенгіцинів. Таким чином, визначено, що висока антагоністична активність відібраного штаму зумовлена його здатністю синтезувати одночасно ліпопептидні антибіотики, що відносяться до родин фенгіцинів та ітуринів. Розширено поняття про участь цих антибіотиків у прояві аеробними спороутворювальними бактеріями біоконтролю за фітопатогенними мікроміцетами. Визначено, що за обробки рослин озимої пшениці супернатантом культуральної рідини та фракцією ліпопептидних антибіотиків штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524, при подальшому зараженні їх фітопатогенним мікроміцетом *B. sorokiniana*, спостерігалось достовірне зменшення розвитку хвороби у порівнянні з контролем. Оскільки за умовами експерименту обробка екзометаболітами бацил та конідіями фітопатогену були розділені в просторі і часі, такий результат, досягався не лише прямим фунгіцидним ефектом антибіотиків мікробного походження, але і стимуляцією захисних реакцій рослин. Підтвердженням такого висновку є встановлене підвищення ФАЛ активності у коренях та пагонах рослин озимої пшениці, оскільки ФАЛ вважається загальновідомим біохімічним маркером індукції системної стійкості у рослин. Досліджено якісний та кількісний склад екзометаболітів, що зумовлюють фітостимулювальну активність штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524. При цьому встановлено, що розведений супернатант культуральної рідини штаму стимулює схожість та нагромадження біомаси рослин озимої пшениці. Показано, що штам синтезує речовини, що відносяться до 3 класів гормонів-стимуляторів та стресовий гормон абсцизову кислоти.

2. The dissertation is devoted to the study of biological properties of the *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 strain and the study of exometabolites that determine its biological activity. The strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 has been isolated from the soil; its antagonistic, elicitor and phyto-stimulating activities and the nature of exometabolites, which determine them, have been investigated. It has been shown that mitigation or elimination of the negative influence of biotic factors of an environment, in particular, phytopathogenic micromycetes, is possible under the conditions of synthesis of the complex of exometabolites of multi-directional action by the strain IMB B-7524. Thus, it has been shown that the strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 is a promising agent for biocontrol of diseases of agricultural crops caused by phytopathogenic microorganisms. Based on the results of multi-stage screening of antagonists of actual and collectible phytopathogenic micromycetes and bacteria, 5 strains of bacilli were selected. The strains listed had the highest level and a wide range of antagonistic activity against the specified phytopathogens and the topical pathogens of bacteria of the genus *Pseudomonas* among the 100 studied strains. In the most cases,

antagonistic activity of the selected bacilli strains had the same level, and in certain cases exceeded that of the strain *B. amyloliquefaciens* IMV B-7100, which is the basis of the known preparation Phytodoctor (Sporophyte). Among these strains, the strain *Bacillus* sp. C6 was distinguished by indicators of stimulation of growth and development of plants; its metabolites had positive effect on germination and accumulation of biomass in plants of winter wheat roll culture. This property of exometabolites of the strain extends greatly the spectrum of its biological activity and allows us to consider it a promising agent for biocontrol of diseases of agricultural crops. According to the results of polyphase taxonomic analysis, which included the study of cultural-morphological, physiological-biochemical, chemo-taxonomic and molecular-genetic properties, the selected strain was identified as *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524. It has been found that the strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524 meets the safety requirements for strains that may be used to create biological preparations for plant growing. It has been established that in strains of aerobic spore-forming bacteria, selected on basis of the screening results, such as *Bacillus* sp. C1, C10, Lg24s, Lg37s and *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMB B-7524, expression of the genes of synthesis of cyclopeptide antibiotics of the fengycin family took place. The level of expression of these genes was maximal in the strain IMV B-7524. Besides the genes of fengycinsyntheses, transcription of the gene of synthesis of cyclolipopeptides of the iturin family of *ituD* was also observed in strains IMV B-7524 and *Bacillus* sp. Lg 37s. It has been shown that exometabolites of the strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524 includes antibiotic compounds belonging to the fengycin family. Thus, it has been determined that the high antagonistic activity of the selected strain is due to its ability to simultaneously synthesize lipopeptide antibiotics belonging to the families of fengycins and iturins. The concept of participation of these antibiotics in the manifestation of biocontrol on phytopathogenic micromycetes by the aerobic spore-forming bacteria has been expanded. It has been determined that, when processing young plants of winter wheat with salicylic acid and exometabolites of strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524, with further infection with the phytopathogenic micromycete *B. sorokiniana*, a significant reduction of disease development was observed, compared with the control. Since, under the experimental conditions, the treatment with exometabolites of bacilli and conidia of the phytopathogen were separated in space and time, such a result, probably, was achieved not only by the direct fungicidal effect of antibiotics of microbial origin, but also by the stimulation of own self-defense potential of plants. The confirmation of this conclusion is an increase of PAL activity in the roots and shoots of winter wheat plants, because PAL is considered to be a well-known biochemical marker for induction of systemic resistance in plants. We have investigated the qualitative and quantitative composition of exometabolites that cause the phytostimulating activity of the strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524. It was established that diluted cultural liquid of the strain stimulates the germination and plant biomass accumulation of winter wheat. It has been shown that the strain synthesizes compounds which belong to 3 classes of hormones-stimulants and a stress hormone abscisic acid.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Драговоз Ігор Володимирович
2. Dragovoz Igor

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.12

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Копилов Євгеній Павлович
2. Korylov Evhenii

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.16

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Іваниця Володимир Олексійович
2. Ivanytsia Volodymyr Oleksiiiovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Підгорський Валентин Степанович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Підгорський Валентин Степанович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Т.А.