

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0402U002157

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 10-07-2002

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. ШАРГА БОРИС МИХАЙЛОВИЧ

2. ShARGA BORYS MYKHAILOVYCh

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.07

Назва наукової спеціальності: Мікробіологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 19-06-2002

Спеціальність за освітою:

Місце роботи здобувача: Ужгородський національний університет

Код за ЄДРПОУ: 02070832

Місцезнаходження: 88000, м. Ужгород, вул. Університетська, 14

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки 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, Київська обл., 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: Ужгородський національний університет

Код за ЄДРПОУ: 02070832

Місцезнаходження: 88000, м. Ужгород, вул. Університетська, 14

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.27.23

Тема дисертації:

1. Мікроорганізми окремих видів роду *Bacillus* та їх антагонізм до фітопатогенних бактерій та грибів
2. Microorganisms of some species from *Bacillus* genus and their antagonism to plant pathogenic bacteria and fungi.

Реферат:

1. У дисертації описано результати виявлення антагоністів серед бактерій роду *Bacillus*, дослідження їх властивостей, зокрема, антибіозу до фітопатогенних мікроорганізмів родів *Botrytis* та *Erwinia*, а також деяких інших патогенних для рослин бактерій та грибів. Дано оцінку захисного ефекту цих антагоністів проти фітопатогенних мікробів на рослинах *in vitro*, теплиці та поля. Встановлено мікопаразитизм бацил, захоплення ними ніші фітопатогенних грибів та бактерій. Досліджено особливості продукції клітинами бацил антимікробних речовин у визначеному рідкому поживному середовищі, проведено їх виділення та дослідження фізико-хімічних властивостей, впливу частково очищених антимікробних речовин на мембранний вольтаж (Dy) та переміщення іонів K⁺ через клітинні оболонки чутливих мікробів. У одного з штамів-антагоністів (*B. subtilis* BS 2924) виявлено утворення газоподібного антимікробного метаболіту широкого спектру дії та досліджено рівень його продукції на різних середовищах, властивості з допомогою

газо-рідинної хроматографії, ІЧ-спектроскопії, мас-спектрометрії. Біологічний контроль з використанням бацил-антагоністів можливий, але необхідно забезпечити їх краще виживання в польових умовах.

2. The thesis describes results of selection of antagonists among isolates of *Bacillus* genus and study of their properties, particularly, antibiosis against phytopathogenic *Botrytis cinerea*, *Botrytis fabae*, *Erwinia* spp. and some other plant pathogenic bacteria and fungi. The protective effect of these antagonists was evaluated on in vitro grown plants and on plant material from the greenhouse and field. Biological control with application of bacteria antagonistic to *Botrytis* and *Erwinia* may provide a useful alternative to chemicals. Of 270 *Bacillus* isolates tested, 54 (20%) were found to cause necrosis and/or chlorosis when placed on leaves of *Vicia faba* L. Only 14 strains (6.5%) were able to prevent chocolate spot symptoms developing in vivo and all of these antagonised *B. cinerea* and *B. fabae* in vitro through antibiosis. *B. macerans* BS 153 and *B. subtilis* BS 2924 were selected for biocontrol experiments in both the greenhouse and field in which plants were sprayed with bacterial suspensions. Detached leaves were inoculated with *Botrytis* at intervals after bacilli application. The beneficial effect of the biocontrol agent persisted much longer in glasshouse grown plants. ED 50 estimated for *B. macerans* BS 153 and *B. subtilis* BS 2924 at the same time were 1.3 and 1.27 times less concentrated in the greenhouse than in the field spray. 20 Among selected antagonists only *B. subtilis* BS 934 and its antimicrobial metabolite were able to suppress fire blight symptoms on detached flowers. The *B. subtilis* BS 934 was used in both the greenhouse and the field experiments in which flowers of 'Conference' pear were sprayed with bacterial suspension. The median effective dose, ED 50 of *B. subtilis* BS 934 suspension was about 10 times less in the greenhouse than in the field spray. From the high number of bacteria required and the rate of decline of introduced *Bacillus* populations in field grown plants it is concluded that improved formulations and spray application techniques are needed for better survival and protective effect of the antagonists. Antimicrobial substances were produced by *B. subtilis* cultures in a defined medium and isolated from culture filtrate by precipitation at pH 2.5. Active fractions were extracted in ethyl-acetate, acetone and 80 % ethanol. The extracts were developed in thin-layer chromatography with ethanol : water (2 :1, v/v). Three bands were indicated under UV light ($\lambda = 350$ nm) for each of extracts with Rf 0.67, 0.69 and 0.75 for *B. subtilis* BS 107; 0.69, 0.72 and 0.8 for *B. subtilis* BS 934; 0.61, 0.67 and 0.76 for *B. subtilis* BS 2924; 0.65, 0.69 and 0.79 for *B. subtilis* BS 2931. Only plaques with Rf 0.75, 0.76, 0.79 and 0.8 were ninyhydrine negative and in each case they formed an inhibitory zone, when thin layer chromatography plates contacted with agar seeded by *Erwinia* test cultures. The antimicrobial substances release into fermentation medium was observed from early hours of *B. subtilis* BS 107, BS 934, BS 2924 and BS 2931 cultivation. At that time pelleted cells contained higher amount of antimicrobial substances than concentrated to the volume of pellet supernatant from these cultures. The higher antimicrobial activity of concentrated filtrates was observed in old cultures. The antimicrobial substances were resistant to the action of nucleases, proteases and lipase. The culture filtrate concentrate remained biologically active, when autoclaved 2 times for 35 minutes at 2 atmosphere gauge pressure in acidic, neutral and alkaline solutions. They exhibited no loss of antimicrobial activity at pH 1-14 within a month of observation and when stored at 4°C for over 1 year. *B. subtilis* BS 107, BS 934 or BS 2931 showed in vitro and in vivo antagonism to the potato black leg and soft rot agents. The application of antagonist or its antimicrobial substance to the cut potato tissues prevented or reduced symptoms of the diseases. In experiments *B. subtilis* BS 107 and *B. subtilis* BS 934 suppressed significantly potato rots in storage. The antimicrobial substances were active in vitro against a broad spectrum of cells. The antimicrobial products of selected antagonists have properties, which differ them from the antimicrobial metabolites described earlier for other bacilli. The substances showed the repellent properties on *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Erwinia chrysanthemi* cells in 21 chemotaxis and suppressed the penetration and movement of the pathogens within plant vessels. Strain *B. subtilis* BS 2924 produced the antimicrobial gaseous metabolite with broad spectrum of action. The addition of D(+)glucose to nutrient agar led to most higher metabolite production. The chemical tests on hydrogen cyanide, indole and ammonia were negative. Gas-liquid chromatography, IR-spectrometry and mass-spectrometry headspace analysis of *B. subtilis* BS 2924 culture revealed the high CO₂ content and presence of toxic compounds with C=O, COOH, CH₃, C₂H₅ and OH-groups. The methane, ethane and ethylene were not produced by the culture.

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. Смірнов Валерій Веніамінович

2. Smirnov Valerij Veniaminovich

Кваліфікація: д.мед.н., 03.00.20

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. Патика Володимир Пилипович,

2. Патика Володимир Пилипович,

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Бухало Ася Сергіївна

2. Бухало Ася Сергіївна

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.24

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**

Мацелюх Богдан Павлович

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

Мацелюх Богдан Павлович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

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

Юрченко Т.А.

