НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
_____**Олена КВАСКО**
«____» _____2025 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Дослідження впливу комплексу мікробіологічних препаратів на стан рослин за вірусного інфікування для оптимізації їх культивування»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми
Кандидат біологічних наук,
доцент кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття _____ Олена КВАСКО
(підпис)

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи
Кандидат біологічних наук,
старший викладач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття _____ Оксана ТАРАН
(підпис)

Виконала _____ Оксана БАЛІСЕВИЧ
(підпис)

КИЇВ-2025

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття
Освітній ступінь «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
_____**Олена КВАСКО**
«____» _____2025 р.

З А В Д А Н Н Я

НА ВИПУСКНУ

БАКАЛАВРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТА

Балісевич Оксани Євгенівни
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Дослідження впливу комплексу мікробіологічних препаратів на стан рослин за вірусного інфікування для оптимізації їх культивування»
керівник роботи к.б.н., ст.викл., Таран О.П.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)
затверджені наказом НУБіП України від «22» жовтня 2025 р. № 1880 «С»
2. Строк подання студентом роботи 20 травня 2025
3. Вихідні дані до роботи: Список іноземної літератури, зокрема публікації щодо взаємодії вірусів з рослинами; характеристики застосованих мікробіологічних препаратів; методики імуноферментного аналізу та морфометричного вимірювання показників рослин.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):
4.1. Провести огляд та аналіз літературних джерел щодо взаємодії рослин з вірусами та використання мікробіологічних препаратів.
4.2. Дослідити вплив окремих і комплексних мікробіологічних препаратів на схожість і розвиток покривних культур.
4.3. Оцінити ефективність бактеріальних препаратів при вірусному інфікуванні рослин перцю.
4.4. Виконати імуноферментний аналіз для визначення ступеня вірусного ураження рослин.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	к.б.н., ст.вик., Таран О.П.	11.09.2024	11.09.2024
2	к.б.н., ст.вик., Таран О.П.	06.12.2024	06.12.2024
3	к.б.н., ст.вик., Таран О.П.	03.02.2025	03.02.2025
Висновки	к.б.н., ст.вик., Таран О.П.	01.05.2025	01.05.2025

6. Дата видачі завдання 1 вересня 2024 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Огляд літературних джерел згідно обраної тематики	листопад	
2.	Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	грудень-січень	
3	Розділ 3. Результати дослідження	лютий-квітень	
4.	Висновки та оформлення списку літератури	травень	

Студентка _____ **Оксана БАЛІСЕВИЧ**
(підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____ **Оксана ТАРАН**
(підпис) (прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота складається з 70 сторінок та містить перелік умовних скорочень, вступ, три розділи, висновки, список використаної літератури та додатки. Окрім цього в роботі наведено 8 рисунків та 6 таблиць.

Мета роботи – дослідити вплив комплексу мікробіологічних препаратів на стан рослин при вірусному інфікуванні для оптимізації їх культивування на прикладі рослин покривної ґрунтової суміші та рослин перцю сорту Білозірка.

Завдання дослідження:

1. Провести огляд та аналіз літературних джерел щодо взаємодії рослин з вірусами та використання мікробіологічних препаратів.
2. Дослідити вплив окремих і комплексних мікробіологічних препаратів на схожість і розвиток покривних культур.
3. Оцінити ефективність бактеріальних препаратів при вірусному інфікуванні рослин перцю.
4. Виконати імуноферментний аналіз для визначення ступеня вірусного ураження рослин.

Об'єкт дослідження – рослини покривної ґрунтової суміші та перцю сорту Білозірка.

Предмет дослідження – вплив мікробіологічних препаратів (Мікофренд-т, Біоінокулянт-БТУ, Органік-баланс, Ліпосан) на стан рослин за умов вірусного інфікування.

Результати дослідження:

Згідно з дослідженнями, передпосівна обробка біоінокулянтами позитивно впливає на проростання культур у покривній суміші. Препарат Мікофренд-т сприяв підвищенню схожості фацелії, льону, суданської трави та конюшини олександрійської. Найвищий приріст схожості спостерігався у вики ярої, особливо при сумісному застосуванні Мікофренд-т з Біоінокулянтом-БТУ, що підтверджує ефективність їхньої сумісної дії.

Обробка рослин перцю сорту Білозірка препаратом Органік-баланс значно покращила їхні морфометричні показники: збільшилися висота рослин, довжина кореневої системи, маса надземної та підземної частин.

Експерименти з інфікування вірусом тютюнової мозаїки показали, що у рослин тютюну з'являється мозаїчне забарвлення та деформація верхніх листків, а у перцю – скручування листкової пластинки. Імуноферментний аналіз виявив високий титр вірусних антигенів у листках оброблених рослин, що значно перевищував показники контролю, отже, препарат Органік-баланс не знижує рівень інфекційності вірусу тютюнової мозаїки, хоча і покращує фізіологічний стан рослин. Проте, згідно з літературними даними, продукти ферментації деяких актиноміцетів можуть пригнічувати розвиток вірусу тютюнової мозаїки та зменшувати симптоми інфекції.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ 8
ВСТУП 9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 11
1.1. Взаємодія вірусів рослин з хазяями 11
1.1.1. Внутрішньоклітинний рух за допомогою ендоплазматичного ретикулума 11
1.1.2. Розпізнавання плазмодесм або периферії 15
1.1.3. Модифікація плазмодесм 16
1.1.4. Транслокація через пори 17
1.1.5. Регулювання руху 18
1.2. Механізми контролю вірусних інфекцій з використанням мікробіологічних препаратів 19
1.2.1. Мікроорганізми, що використовуються в боротьбі з вірусними хворобами рослин 22
1.2.2. Індуковані мікробами механізми проти вірусної інфекції рослин 29
1.2.3. Майбутні перспективи 41
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ 43
2.1. Загальні умови вирощування рослин в експериментах 43
2.2. Дослідження впливу мікробіологічних препаратів на розвиток рослин покривної суміші 44
2.3. Дослідження розвитку рослин перцю при вірусному інфікуванні за обробки мікробіологічним препаратом 45
2.4. Проведення імуноферментного аналізу 46
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ 48
3.1. Вплив мікробіологічних препаратів на розвиток рослин покривної суміші 48
3.2. Розвиток рослин перцю при обробці бактеріальним препаратом Органік-баланс та штучному інокулюванні ВТМ 53
ВИСНОВКИ 56
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 58
ДОДАТКИ 66

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

1. БРВ – білки руху вірусів.
2. ЕР – ендоплазматичний ретикулум.
3. МК – матричний комплекс.
4. ПД – плазмодесми.
5. CLCuV – вірус скручування листя бавовнику.
6. CMV – вірус мозаїки огірка.
7. GFLV – вірусу віялоподібного листя винограду.
8. HSP – (англ. heat-shock proteins) – білок теплового шоку.
9. ISR – індукована системна резистентність.
10. IYSV – вірус жовтої плямистості ірису.
11. PepLCV – вірус скручування листя перцю.
12. PGPM – (англ. plant growth-promoting microorganism) – мікроорганізми, які сприяють росту рослин.
13. PGPR – (англ. *plant growth-promoting rhizobacteria)* ризобактерії, що стимулюють ріст рослин.
14. PME – пектинметилестераза
15. PMTV – вірус щиткоподібності верхівки картоплі.
16. PR-білки – (англ. pathogenesis-related) – пов’язані з патогенезом білки.
17. PVX – X вірус картоплі.
18. ROS – (англ. reactive oxygen species) – активні форми кисню.
19. TGB_2 – (англ. triple gene block 2) – потрійний генний блок 2.
20. TGB_3 – (англ. triple gene block 3) – потрійний генний блок 3.
21. TMV, BTM – вірус тютюнової мозаїки.

ВСТУП

У сучасному аграрному виробництві одним із найсерйозніших біотичних чинників, що негативно впливають на продуктивність та якість сільськогосподарських культур, залишаються вірусні інфекції. За оцінками фітопатологів, віруси є причиною приблизно 30% усіх хвороб сільськогосподарських культур, а понад 80% із них мають РНК-геном. Особливу небезпеку становлять віруси, що швидко еволюціонують, набувають високої патогенності та передаються широким спектром переносників, зокрема комахами-фітофагами.

Традиційні заходи боротьби з вірусними захворюваннями, зокрема хімічні методи, мають низьку ефективність через внутрішньоклітинну локалізацію патогенів і здатність до швидкого формування стійких штамів. Більше того, надмірне застосування інсектицидів спричиняє резистентність у векторів та негативний вплив на довкілля. Це зумовлює необхідність впровадження альтернативних, екологічно безпечних і сталих підходів до захисту рослин.

У цьому контексті особливе значення набуває використання мікробіологічних препаратів на основі корисних бактерій та грибів, зокрема ризобактерій, ендофітів та актиноміцетів. Вони здатні реалізовувати комплексний фітозахисний ефект через активацію індукованої системної резистентності, крос-протекцію, а також шляхом продукування метаболітів із антивірусною активністю, зокрема рибонуклеаз, ліпопептидів, фенольних сполук і білків патогенезу.

Біопрепарати, що застосовуються для обробки насіння або вегетативної маси, здатні позитивно впливати на схожість насіння, ріст кореневої системи, морфометричні показники рослин і водночас забезпечувати стримування розвитку інфекційного процесу. Однак на сьогоднішній день існує обмежена кількість експериментальних досліджень щодо ефективності таких препаратів саме в умовах вірусного інфікування.

У зв’язку з цим, актуальним є вивчення впливу комплексу мікробіологічних препаратів на стан рослин у стресових умовах, зумовлених зараженням вірусами,

з метою оптимізації їх культивування. Особливу увагу приділено дослідженню морфометричних параметрів рослин за умов дії ізоляту вірусу тютюнової мозаїки, що є широко поширеним фітовірусом із значним економічним впливом.

Метою даної кваліфікаційної роботи є встановлення ролі мікробіологічних препаратів у підтримці життєздатності рослин та зниженні негативних наслідків вірусного ураження на прикладі покривної суміші та розсади перцю сорту Білозірка при експериментальному інфікуванні вірусом тютюнової мозаїки. Робота базується на актуальних положеннях сучасної фітовірусології, мікробної біотехнології та принципах екологічного землеробства.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Взаємодія вірусів рослин з хазяями

Метою рослинних вірусів є збереження популяції, вони можуть стійко розмножуватися, вражаючи та інфікуючи якомога більше хазяїв. Рослинні віруси переміщуються від клітини до клітини через більш-менш модифіковані плазмодесми і через судинну систему до віддалених частин рослини. Рослинні віруси кодують один або більше неструктурних білків, необхідних для пересування в організмі хазяїна, багато з яких також потребують білків капсиду. Зазвичай, білки руху вірусів (БРВ) визначаються їхньою здатністю збільшувати пропускну межу (англ. size exclusion limit, SEL) і переміщати клітину до клітини. Віруси, що інфікують рослини, розвинули різноманітні стратегії переміщення від клітини до клітини і, як і в інших аспектах свого життєвого циклу, сильно залежать від ендогенної транспортної системи хазяїна під час міграції.

Загалом, характеризуючи кожен етап переміщення вірусу від клітини до клітини треба згадати використання ендоплазматичного ретикулуму (ЕР), як внутрішньоклітинний транспортний шлях, розпізнавання ділянок адгезії навколо клітини, модифікація плазмодесми (ПД) через зміни в структурі клітинної стінки, шаперони класу 70 білка теплового шоку (англ. heat-shock proteins - HSP) як потенційні фактори руху і регуляція руху [1]. Різні процеси вірусної міграції по-різному використовують ці етапи або можуть не включати всі з них. Інші рецензенти висвітлюють різні аспекти міграції на короткі та довгі відстані, включаючи роль цитоскелету та необхідність пригнічення захисту хазяїна.

1.1.1. Внутрішньоклітинний рух за допомогою ендоплазматичного ретикулума

З постійним потоком цитоплазми рослинної клітини можна було б уявити, що БРВ потрібно лише «плисти за течією» та зв’язуватися з ПД або іншими периферичними цільовими сайтами, коли вони стикаються з білками, які вони розпізнають. Дані численних досліджень свідчать про те, що зазвичай це не так, хоча не можна виключати, що частина будь-якого БРВ може прибути до місця

призначення саме таким шляхом. Переміщення від клітини до клітини, як правило, є ранньою подією в процесі інфікування, що відбувається через 4 години для вірусу брязкотіння тютюну у тютюну (*Nicotiana clevelandii*) або через 5 годин для вірусу тютюнової мозаїки (TMV) у N. tabacum і рівень БРВ, що виробляється в перші кілька годин, ймовірно, буде досить низьким. Таким чином, випадковий рух з цитоплазматичним потоком може бути занадто неефективним.

Багато вірусів утворюють центри реплікації, розташованих в ЕР, і багато вірусних білків, необхідних для руху, є мембранними білками, які часто локалізуються в ЕР. Наприклад, білки 2 і 3 блоку потрійного гена (TGB) вірус щіткоподібності верхівки картоплі (PMTV) і вірусу картоплі X (PVX), злиті з флуоресцентними білками, позначають ЕР. БРВ вірусу тютюнової мозаїки, злитий із флуоресцентними білками, позначає ЕР на ранніх стадіях інфікування, а протеїни 126/183 кД, які також необхідні для руху та зв’язуються з руховими комплексами, як було показано, локалізуються на мембранах. БРВ p6 вірусу жовтухи буряків та БРВ мозаїки люцерни, злиті із зеленим флуоресцентним білком, також мітять ендоплазматичний ретикулум [2].

Матричні комплекси вірусів, білки руху, ймовірно, збираються безпосередньо на ЕР (рис. 1.1). ЕР проходить через плазмодесми у вигляді десмотубули та тісно переплітається з актиновим цитоскелетом. Отже, найпростіший і найефективніший шлях для матричних комплексів цих вірусів до ПД від центрів реплікації буде вздовж мембрани ендоплазматичного ретикулума. БРВ тютюнової мозаїки (TMV) демонструє колокалізацію з актиновими філаментами в протопластах, хоча така локалізація може бути наслідком асоціації матричних комплексів з ендоплазматичним ретикулумом. БРВ томатного бронзовистого в'янення (TSWV) взаємодіє з білком, гомологічним до моторних білків міозину та кінезину. У матриксному комплексі вірусу розеткової хвороби арахісу було виявлено білок, подібний до Rab, а білок руху вірусу мозаїки цвітної капусти взаємодіє з гомологом Rab-акцептора [3]. Білки Rab, які, як відомо, переважно як регулятори подій злиття везикула, здатні взаємодіяти з міозинами, а гомолог Drosophila Rab11 бере участь у транспорті РНК.

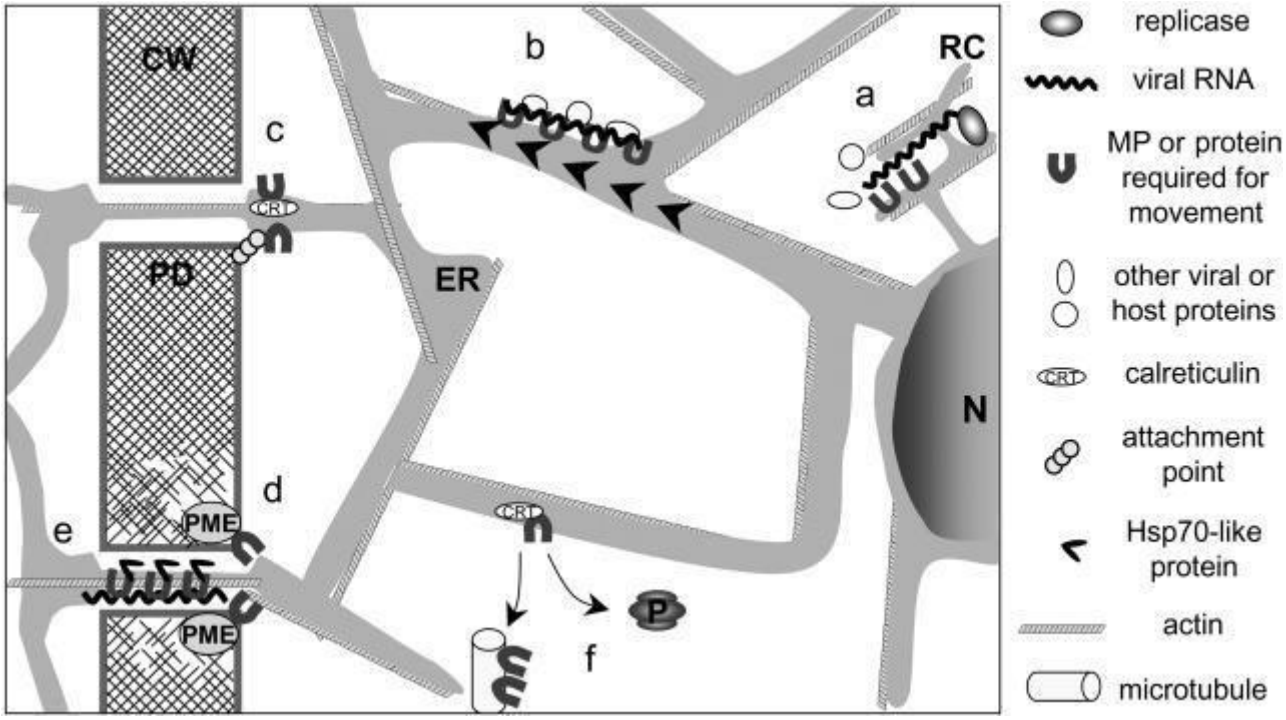

Рис. 1.1. Взаємодії між вірусом і білками-хазяїна під час руху вірусу [3]. Позначення: N – ядро, CW – клітинна стінка.

Схема, що ілюструє можливість пояснення деяких взаємодій між вірусом і білками хазяїна під час руху вірусу. Вірусна РНК, що виходить із репліказного комплексу, зв’язується з білками, залученими до процесу руху, і матричний комплекс формується за участі вірусних і хазяйських факторів (Рис.1.1,а).

Матричний комплекс (МК) може переміщуватися разом зі швидким потоком мембран ЕР (Рис.1.1,б). Вірусні білки можуть зв'язуватися з периферичними мітками, такими як точки прикріплення, або з білками, націленими на плазмодесми, наприклад кальцетикуліном, коли вони зустрічаються (Рис.1.1,с). Через взаємодію з ферментами клітинної стінки, такими як пектинметилестераза, білки, пов’язані з рухом вірусу, можуть послабити структуру стінки (Рис.1.1,d), а білки, подібні до Hsp70, можуть транспортувати комплекс МР-РНК через пору (Рис.1.1,е).

На пізніх стадіях інфекції білки, пов'язані з рухом, ймовірно, спрямовуються на деградацію. У випадку вірусу тютюнової мозаїки кальретикулін може змінювати роль у видаленні МК з ЕР для деградації в протеасомі, а надлишок білків може зв'язуватися з мікротрубочками (Рис.1.1,f). Білки мембрани ЕР рухаються дуже швидко, тому надзвичайно складно

зафіксувати мічені ділянки ЕР, а цей потік є напрямленим і залежить від системи актин/міозин. При деполімеризації актину мембранні білки переміщуються повільніше, у дифузний спосіб.

Таким чином, БРВ можуть не потребувати специфічної взаємодії з актином для швидкого переміщення через ЕР; вони можуть просто переноситися надзвичайно швидким потоком, покладаючись на актин/міозин для підтримання швидкості цього потоку (Рис.1.1,b). У такому сценарії вони все ще матимуть здатність до дифузії в мембрані у разі порушення актинового каркаса. Це може пояснювати, чому відновлення флуоресценції TMV MP-GFP у плазмодесмах після фотофіксації мічених ПД не було повністю пригнічено деполімеризацією актину або інгібуванням міозинових моторів [3].

Білки руху вірусу віялоподібного листя винограду (GFLV) і вірусу мозаїки вігни, які є представниками великої групи вірусів, що значно модифікують плазмодесми для переміщення, не виявляли асоціації з ендоплазматичним ретикулумом. Під час формування трубчастих структур у ПД десмотубула зникає, що призводить до розриву прямого зв'язку між ЕР і ПД. Тому, незважаючи на те, що GFLV реплікується в центрах реплікації, утворених на основі ЕР, вона не може слугувати прямим шляхом до ПД після початку побудови трубчастих структур.

Альтернативним шляхом до плазмодесм могло б бути зв'язування з білком, який спрямовується туди за допомогою секреторного шляху хазяїна, наприклад із нещодавно ідентифікованим зворотно глікозильованим поліпептидом. Цю модель було запропоновано для зв'язування білка руху вірусу тютюнової мозаїки з пектинметилестеразою, а також для TGB_2 X-вірусу картоплі (PVX) і білків, що взаємодіють із $TGB_{12}K$, які зв'язуються з β-1,3-глюканазою [4].

Однак було показано, що здатність вірусу щиткоподібності верхівки картоплі (PMTV) до націлювання на ПД порушується при деполімеризації актину, але не при інгібуванні секреторного шляху. Отже, малоймовірно, що ці вірусні білки транспортуються в секреторних везикулах. Націлювання вірусу мозаїки коров'ячого гороху на периферичні вогнища не залежало ні від

секреторного шляху, ні від цитоскелету, тоді як націлювання МК вірусу віялоподібного листя винограду залежало. Це вказує на існування фундаментальних механістичних відмінностей серед вірусів, що утворюють трубчасті структури.

1.1.2. Розпізнавання плазмодесм або периферії

Лише незначна кількість взаємодій між білками плазмодесм і вірусними білками руху була достовірно продемонстрована. МК вірусу тютюнової мозаїки, вірусу прояснення жилок ріпаку та вірусу мозаїки цвітної капусти зв'язуються з пектинметилестеразою (PME). Було виявлено [4], що PME присутня як у стінці навколо ПД, так і в інших ділянках клітинної стінки льону та тютюну. Отже, якщо PME є рецептором для МК, то, ймовірно, вона виступає загальною периферичною мішенню, а не специфічною для ПД. Взаємодія з PME може допомагати МК залишатися на периферії клітини.

МК вірусу тютюнової мозаїки також взаємодіє з кіназою, асоційованою з клітинною стінкою [5]. Білки, які взаємодіють із TGB_2 X–вірусу картоплі, а також білок At-4/1, подібний до міозину та кінезину, який взаємодіє з МК вірусу томатного бронзовистого в'янення, також є потенційними кандидатами на роль ПД-асоційованих білків, однак їхня локалізація ще не була визначена. Декілька вірусних білків руху виявляють здатність зв'язуватися з периферичними точками прикріплення. Це місця, де плазматична мембрана та ендоплазматичний ретикулум прикріплюються до клітинної стінки.

Результати досліджень вірусного руху свідчать про те, що білкові комплекси, пов'язані з цими точками прикріплення, також можуть бути асоційовані з плазмодесмами, тобто такі точки прикріплення можуть існувати в ПД (Рис.1.1,с). Від ПД та інших точок прикріплення відходять нитки Гехта. Білок руху вірусу віялоподібного листя винограду, злитий із зеленим флуоресцентним білком, помічав периферичні точки прикріплення Гехта, які також містили кальретикулін. Проте залишається незрозумілим, до чого саме БРВ GFLV зв'язується в цих місцях [5].

Кальретикулін – це достатньо поширений шаперон, локалізований у просвіті ЕР, який виконує різноманітні функції, зокрема регулює інтегрин-опосередковану адгезію клітин у тварин. Було показано, що флуоресцентно мічений кальретикулін здатен мітити ЕР, ПД та/або периферичні точки в різних дослідженнях [6]. Білок руху p8 вірусу зморшкуватої мозаїки ріпаку взаємодіє з білком Arabidopsis Atp8, що містить мотив Arg-Gly-Asp (RGD). RGD-мотиви розпізнаються білками, подібними до інтегринів рослин. Було б логічним припустити, що МК також може зв’язуватися з білком, який містить RGD-мотив, або з кальретикуліном. Цікавою знахідкою є те, що БРВ вірусу тютюнової мозаїки був виявлений у комплексі з кальретикуліном.

1.1.3. Модифікація плазмодесм

Відтоді як вперше було продемонстровано здатність білка руху вірусу тютюнової мозаїки збільшувати розмір селективного проникнення плазмодесм – процес, який називають гейтингом [7], ця здатність вважається ключовою властивістю класичних білків руху. Наразі відомо, що багато транспортних комплексів є набагато складнішими, ніж вважалося раніше, і різні функції, необхідні для переміщення вірусу, можуть виконувати окремі білки. Проте гейтинг залишається фундаментальною умовою для міжклітинного поширення вірусів, які не формують трубчатих структур.

Механізми регуляції плазмодесмального апертурного отвору в рослинах досі недостатньо вивчені. Вчені ще у 1996 продемонстрували, що актин бере участь у цьому процесі, оскільки його деполімеризація призводить до збільшення розмірів плазмодесм. Відомо, що відкладення калози закриває плазмодесми у відповідь на захисні реакції та ушкодження. Кілька досліджень показують, що відкладення калози є бар'єром для переміщення вірусів [7]. Було виявлено, що PVX TGB_2 взаємодіє з білками, які асоціюються з β-1,3-глюканазою – ферментом, що розщеплює калозу [4]. Це свідчить про те, що однією зі стратегій, яку PVX може використовувати для гейтингу плазмодесм, є прискорення деградації калози.

Було висунуто гіпотезу, що міозинові спиці вистилають канал плазмодесм, з’єднуючи актин із плазматичною мембраною [8]. Можливо, зміни в структурі цих спиць або їх від'єднання від точок кріплення можуть впливати на розмір. Міозино-/кінезиноподібний білок At-4/1, що взаємодіє з білком руху вірусу томатної бронзовості, може бути необхідним для транспортування вірусу до плазмодесм. Інша цікава можливість полягає в тому, що цей білок може бути компонентом плазмодесм, який бере участь у регуляції гейтингу.

Взаємодія БРВ TMV з пектинметилестеразою (PME) може регулювати активність цього ферменту, розм’якшуючи клітинну стінку навколо плазмодесм, що полегшує їх відкриття (Рис1.1,d). Виходячи з цього, можна припустити, що білок руху TMV не лише використовує PME для націлювання, а й рекрутує додаткову PME до плазмодесм, сприяючи гейтингу. Асоціація БРВ TMV з кальретикуліном також може мати регуляторний вплив, змінюючи локальну концентрацію Ca^{2+} або впливаючи на структуру адгезивних ділянок, пов'язаних із плазмодесмами.

1.1.4. Транслокація через пори

Шаперони родини Hsp70 беруть участь у багатьох клітинних процесах. Віруси можуть використовувати Hsp70 у загальному згортанні білків, формуванні вірусних частинок, а також, можливо, у регуляції захисних реакцій рослини, як безпосередньо, так і опосередковано через взаємодію з білками J-домену. Було продемонстровано, що білки класу Hsp70 можуть переміщуватися через плазмодесми з флоеми [9]. Крім того, вони мають моторну активність, що сприяє транслокації білків. Це свідчить про те, що Hsp70 можуть активно транспортувати вірусні рухові комплекси через пори плазмодесм (Рис1.1,e).

Клостеровіруси – єдина відома група вірусів, що кодує власні гомологи Hsp70, і ці білки було ідентифіковано як білки руху. Гомолог Hsp70 у вірусу жовтяниці буряків може також функціонувати як білок руху для вірусів TGB обох класів [10]. Взаємодія PMTV TGB_2 із білком J-домену, ймовірно, відіграє роль у транслокації через плазмодесми, а також у запропонованому механізмі рециклінгу білків. Білки руху вірусів, що не належать до клостеровірусів, також

виявляють здатність взаємодіяти з білками J-домену [4], що свідчить про консервативну роль Hsp70 у міжклітинному поширенні вірусів у рослинах.

1.1.5. Регулювання руху

Малоймовірно, що спостережувана регуляція вірусних білків руху повністю пояснюється захисними реакціями рослини, оскільки в інтересах вірусу мінімізувати шкоду для свого хазяїна. Таким чином, віруси можуть самостійно сприяти зниженню активності своїх білків руху. Ефективне зниження або видалення БРВ гарантує порушення розміру селективного отвору плазмодесм, а отже, і потоку сигналів та поживних речовин, не продовжуватиметься нескінченно.

Білок руху TMV швидко деградує, приблизно через шість клітин від переднього краю інфекційного вогнища, утворюючи класичний «ореол», який спостерігається, коли БРВ з'єднаний з флуоресцентними білками. Було доведено, що 26S протеасома бере участь у деградації БРВ, і це було спеціально розглянуто як механізм обмеження пошкоджень. Гейтинг плазмодесм під час інфекції TMV обмежувався лише переднім краєм вогнища, навіть якщо ПД клітин у центрі ураження залишалися міченими MP-GFP [11]. Це свідчить про те, що БРВ має бути інактивований у плазмодесмах центральних клітин.

Було показано, що фосфорилювання БРВ TMV пригнічує його здатність до гейтингу [11], і цей білок фосфорилюється кіназою, асоційованою з клітинною стінкою [5]. Припускається, що специфічна плазмодесмальна кіназа може фосфорилювати БРВ, інактивуючи його. Два білки, що взаємодіють із МК вірусу тютюнової мозаїки, а саме асоційований із мікротрубочками білок MPB_2C і кальретикулін, пригнічували міжклітинний транспорт при їхній гіперекспресії. Гіперекспресія кальретикуліну також збільшувала кількість БРВ, що націлювався на мікротрубочки. Кальретикулін є шапероном, що бере участь у видаленні неправильно згорнутих білків з ЕР для деградації через протеасому [12]. Тому він може сприяти видаленню надлишкової кількості БРВ з мембрани ЕР (Рис.1.1,f), а його гіперекспресія може підсилювати цей ефект. Підвищене мічення мікротрубочок БРВ TMV може бути результатом його високої концентрації у

цитоплазмі та високої афінності до мікротрубочок [12]. Проте також можливо, що мікротрубочки відіграють певну роль у деградації МК.

Щодо вірусу щиткоподібності верхівки картоплі, білок TGB_2 було виявлено у структурах, схожих на везикули, і він взаємодіє з гомологом RME_8, білком J-доменного типу, що бере участь у процесі ендоцитозу. Цікаво, що білок TGB_3 також знаходився у везикулярних структурах, але лише при одночасній експресії з TGB_2. Рециркуляція TGB_2 і TGB_3 через ендоцитоз може регулювати рух вірусу різними способами. Один із можливих механізмів полягає в тому, що TGB_2 може вилучати TGB_3 із плазмодесм, запобігаючи їхньому постійному відкриттю та знижуючи цитопатичний ефект інфекції. На пізніх стадіях інфекції рециркуляція TGB_2 і TGB_3 може пригнічувати подальший рух вірусу за рахунок збільшення внутрішньоклітинних концентрацій цих білків [13]. Водночас, на ранніх стадіях інфекції рециркуляція може, навпаки, сприяти поширенню вірусу, збільшуючи кількість доступних TGB_2 і TGB_3 для утворення транспортних комплексів.

Отже, попри величезну варіативність вірусів, їхні стратегії міжклітинного переміщення обмежені доступними клітинними механізмами та необхідністю проходження через плазмодесми. Деякі взаємодії між вірусними та хазяйськими білками можна пояснити кількома способами, що вказує на їхню можливу багатофункціональність. Виявлення спільних закономірностей у дослідженнях вірусного руху свідчить про конвергентну еволюцію механізмів міжклітинного транспорту вірусів. Узгодженість отриманих даних дозволяє припустити, що ми поступово розкриваємо фундаментальні клітинні процеси, що беруть участь у макромолекулярному трафіку.

1.2. Механізми контролю вірусних інфекцій з використанням мікробіологічних препаратів

Вірусні захворювання рослин є однією з основних проблем у сільському та садівничому господарстві, спричиняючи значні втрати врожаю по всьому світу. Традиційні методи боротьби не завжди ефективні для усунення вірусного навантаження в уражених рослинах, а багато нестандартних підходів не дають стабільних результатів. Тому важливо визначити найбільш перспективні та стійкі

стратегії управління економічно значущими вірусними захворюваннями рослин. Оскільки 90% рослинних вірусів мають генетичний матеріал у вигляді одноланцюгової РНК, одним із найперспективніших методів їх контролю є використання рибонуклеаз. Важливим напрямком є інтегроване використання корисних мікроорганізмів, зокрема ризобактерій, ендофітних бактерій, актиноміцетів та грибів. Вони можуть пригнічувати вірусні інфекції за допомогою механізмів, таких як крос-захист, індукція системної резистентності, а також накопичення захисних ферментів, фенольних сполук, ліпопептидів, протеаз та рибонуклеазної активності.

Екологічно безпечне управління хворобами сільськогосподарських культур є однією з найважливіших передумов екологічного та сталого землеробства у XXI столітті, оскільки багато хвороб рослин, спричинених грибковими, вірусними та бактеріальними організмами, є основними чинниками зниження врожайності та погіршення якості продукції в економічно важливих культурах. Серед біотичних стресів віруси рослин викликають серйозні епідемії у всіх основних сільськогосподарських культурах, що становить серйозну загрозу глобальній продовольчій безпеці. Віруси рослин спричиняють майже половину (47%) нових і повторних епідемій хвороб рослин у всьому світі і є причиною приблизно 30% усіх хвороб сільськогосподарських культур [14]. При цьому понад 80% рослинних вірусів мають РНК-геном.

Понад двадцять п’ять родин вірусів рослин здатні інфікувати широкий спектр господарських культур у всьому світі, що призводить до величезних економічних втрат. Приблизно 50% видів вірусів, що викликають захворювання рослин, є внутрішньоклітинними паразитами. Вірусні хвороби рослин часто виникають через зміну кліматичних умов, міжнародну торгівлю сільськогосподарською продукцією, а також через швидку еволюцію самих вірусів [15]. У 1980-х роках вірусні хвороби рослин спричинили економічні збитки на суму приблизно 15–20 мільярдів доларів США, а у 2014 році ці втрати перевищили 30 мільярдів доларів [16]. Це також посилює глобальний економічний вплив вірусних захворювань рослин.

На сьогоднішній день існує дуже мало ефективних варіантів боротьби з вірусними захворюваннями рослин у польових умовах, оскільки застосування інсектицидів та інших токсичних хімічних речовин для обмеження передачі вірусів через переносників є необхідною, хоча й не завжди ефективною стратегією. Через безконтрольне та надмірне використання інсектицидів у переносників вірусів розвинулися механізми стійкості до цих хімікатів. Крім того, процес рекомбінації вірусів підвищує ймовірність появи високопатогенних штамів, здатних долати генетично обумовлену стійкість рослин через механізм руйнування резистентності.

Хімічні заходи боротьби є малоефективними, оскільки віруси є внутрішньоклітинними патогенами. Профілактичні заходи, такі як видалення уражених залишків рослин і багаторазове застосування пестицидів, спрямовані на зменшення чисельності комах-переносників, але не можуть повністю запобігти поширенню вірусів.

Наразі першочерговим завданням є ідентифікація біологічних агентів із корисною активністю, безпечних для довкілля, а також розробка підходів, що поєднують різні біоцидні штами проти основних патогенів і шкідників. Використання таких методів також має активувати імунні реакції у рослин шляхом запуску специфічних сигнальних каскадів, індукованої системної резистентності та синтезу вторинних метаболітів у вірус-інфікованих рослинах.

Порівняно з хімічними пестицидами та трансгенними методами захисту, перспективним напрямком є застосування корисних та різноманітних груп мікроорганізмів, таких як актиноміцети, ендофітні мікроорганізми, бактерії, що стимулюють ріст рослин, та грибкові агенти. Вони здатні не лише пригнічувати активність вірусів, а й знижувати рівень розмноження комах-переносників. Деякі дослідники вже відзначали важливість корисних мікроорганізмів у захисті рослин від шкідників і патогенів, зокрема від вірусних хвороб рослин [17].

1.2.1. Мікроорганізми, що використовуються в боротьбі з вірусними хворобами рослин.

1.2.1.1. Інгібування актиноміцетів у рослинних вірусах

Актиноміцети є перспективними кандидатами для виробництва вторинних метаболітів, відомих як антибіотики, завдяки їхній ролі як агентів біоконтролю та потенційних пробіотиків для рослин. Це обумовлено їхньою здатністю колонізувати рослини та продукувати антибіотики in situ. Декілька дослідників повідомили про антивірусну активність актиноміцетів, таких як *Streptomyces ahygroscopicus*, *Streptomyces sp. ZX01* і *Streptomyces noursei var. xichangensis*, проти інфекції тютюнової мозаїки (TMV) у тютюні [18]. Актиноміцети пригнічують віруси через різні механізми, включаючи активацію захисних шляхів рослин та продукцію сигнальних молекул.

Морські організми метаболічно і фізіологічно відрізняються від наземних мешканців, і морські актиноміцети були ідентифіковані як можливе джерело численних унікальних біоактивних сполук. Вчені [19] досліджували антивірусну активність метаболітів із 28 ізолятів морських актиноміцетів проти вірусу мозаїки огірка (CMV).

Загалом біологічні агенти мають низку переваг, зокрема низьку токсичність для ссавців, біодеградабельність, високу екологічну сумісність та унікальний механізм дії. Метаболіт *Streptomyces olivaceus* виявився ефективним у боротьбі з інфекцією CMV як in vitro, так і у відкритих польових умовах при застосуванні окремо у вигляді обробки насіння та обприскування. Було відзначено зниження рівня некротичних уражень, спричинених вірусом тютюнової мозаїки (TMV) і вірусом Y картоплі (PVY) у *Nicotiana glutinosa* та *Chenopodium quinoa* відповідно, після застосування культуральних фільтратів *Streptomyces* у поєднанні із вірусним соком [20].

Аналогічно, спостерігали інактивацію TMV у *Nicotiana glutinosa* та *N. tabacum* при змішуванні різних компонентів, таких як ферментований бульйон актиноміцетів, з TMV-соком у різні часові проміжки. Антивірусна сполука

ε-полі-L-лізин (ε-PL) з молекулярною масою 3454–4352 Да, що продукується *Streptomyces ahygroscopicus*, має анти-TMV властивості [21].

1.2.1.2. Бактерії та їх консорціум проти вірусів рослин

Моніторинг світового ринку біоконтролю показав, що у групі біопестицидів немає антивірусних біопрепаратів, які діють безпосередньо як антивірусні агенти біологічного походження [22]. Різні бактеріальні штами, такі як *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia sp.* і *Bacillus sp.*, були оцінені щодо їхньої ефективності проти вірусу скручування листя бавовнику (CLCuV) в умовах штучного зараження при застосуванні окремо та в різних комбінаціях. Найвищий рівень інгібування CLCuV спостерігався у рослин, оброблених сумішшю бактеріальних штамів, при цьому вірусне навантаження в інфікованих рослинах становило лише 0,4% порівняно з 74% у контрольних рослинах [23]. Аналіз головних компонентів (PCA) показав високу кореляцію між атрибутами, рівнем вірусного навантаження та частотою захворювань.

У розсаді томатів, обробленій консорціумом *Pseudomonas sp.* у складі хітозанової формуляції, було відзначено посилення ефекту індукованого системного імунітету та накопичення хітозану, що підвищило ефективність біоконтролю проти вірусу скручування листя томатів (ToLCV) при застосуванні *Pseudomonas sp.*. Мінімальна концентрація вірусу була визначена за допомогою напівкількісного ПЛР-аналізу після застосування хітозану та *Pseudomonas sp.*. Скануюча електронна мікроскопія показала значно вищу кількість бактеріальних клітин у коренях без морфологічних чи інших якісних змін [24]. *P. fluorescens* виявилася ефективною у польових умовах проти вірусу мозаїки огірка (CMV) та вірусу крапчастої мозаїки томатів (ToMoV), проявила біоконтрольну активність проти *Tospovirus* у томатів, а також зменшила кількість некротичних уражень, спричинених вірусом некрозу тютюну (TNV), у оброблених *P. fluorescens* рослинах *Nicotiana tabacum* [25]. Вже ідентифіковано штами ризобактерій, що стимулюють ріст рослин (англ. – *plant growth-promoting rhizobacteria*, PGPR), які захищали томати від системної інфекції CMV.

Основне непряме застосування PGPR – це біоконтроль хвороб рослин, зокрема за допомогою конкуренції за поживні речовини, усунення патогенів із екологічної ніші, виробництва метаболітів та індукованого системного імунітету. Ефективність вірусного контролю також залежить від методу, концентрації та часу застосування бактеріальних біоагентів. Деякі штами бактеріальних видів мають інгібуючий ефект на численні рослинні віруси (див. табл. 1.1).

Таблиця 1.1.

Інгібуючі ефекти бактеріальних видів на рослинні віруси.

№	Бактеріальні штами	Цільові віруси	Рослини-хазяї
1	*Azotobacter vinelandii*, *A. chroococcum*, *Bacillus subtilis* Ch13	PVX, PVY, PLRV	*Solanum tuberosum*
2	*Bacillus cereus* (I-35), *Stenotrophomonas* sp. (II-10)	TMV, ChiVMV	*Capsicum annuum*
3	*Bacillus subtilis* 26D, Ttl2	PVX, PVY	—
4	*Bacillus* spp.	TSV	Бавовник
5	*Bacillus amyloliquefaciens* MBI600	TSWV	*S. lycopersicum*, *Solanum tuberosum*
6	*B. amyloliquefaciens* FZB24, *B. pumilus* EN16, *B. subtilis* SW1, термічно інактивовані клітини *P. syringae*, *P. putida* A3, *R. palustris* GJ-22	TMV	*Nicotiana tabacum*
7	*Pseudomonas chlororaphis* O6N	TMV	*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc
8	*B. pumilus* T4, *B. subtilis* GBO3	BCMV	*Vigna unguiculata*
9	*B. pumilus* SE34, *B. amyloliquefaciens* 5B6, *Kluyvera cryocrescens* IN114, *B. amyloliquefaciens* IN937a, *B. subtilis* IN937b, *P. lachrymans*	CMV	*Cucumis sativus*, *S. lycopersicum*, *Capsicum annuum*
10	*Paenibacillus lentimorbus* B-30488	CMV	*Nicotiana tabacum*
11	*Serratia marcescens* 90-166	CMV	*Arabidopsis thaliana*
12	*Pseudozyma churashimaensis*	CMV, PepMoV, PMMoV, BBWV	*Capsicum annuum*
13	*Pseudomonas fluorescens* CHA0	ULCV	*Vigna mungo*
14	*P. fluorescens* CHA0, P3	TNV	*Nicotiana tabacum*

Ці бактеріальні штами можуть бути використані для біологічного контролю рослинних вірусів, підвищуючи стійкість рослин до різноманітних патогенів.

Повідомляється, що бактеріальні мікробні консорціуми також здатні ефективно контролювати багато вірусів. Наприклад, зменшення інфекції CMV спостерігалося при використанні бактеріальних консорціумів, таких як поєднання *Bacillus subtilis* та *Bacillus pumilus*, а також інших комбінацій, включаючи *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* та *Bacillus pumilus* у *Solanum lycopersicum* [26]. Інший консорціум, що включає *Serratia marcescens*, *Pseudomonas putida* та *Bacillus pumilus*, також виявив ефективність проти CMV у *Cucumis sativus* [27].

У боротьбі з захворюванням на некроз соняшника (SND), спричиненим вірусом смугастості тютюну (TSV), використовували консорціум, що складається з *Bacillus licheniformis*, інших штамів *Bacillus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Streptomyces fradiae* у соняшника звичайного [28].

Спільна інфекція рослини різними патогенами поступово стає більш поширеною як модифікатор стійкості господаря і рушій еволюції патогенів. У агроекосистемах рослини є мішенню для великої кількості патогенних мікроорганізмів, і спільна інфекція може бути регулярною, тому важливо це враховувати. Співінфекція сприяла виникненню бактеріальних специфічних симптомів, у той час як спостерігалося зменшення вірусного навантаження порівняно з моноінфікованою рослиною. Це може бути зумовлено механізмами генної заглушення, що втручаються у взаємодію між вірусом і бактеріальними патогенами рослини. Тому відносини патоген-патоген-господар обґрунтовують необхідність подальшого вивчення, як з теоретичної, так і з практичної точки зору.

Деякі з бактеріальних співінфекцій в управлінні вірусними захворюваннями рослин з рослинами-господарями та методами обробки для зменшення вірусної інфекції наведені в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2 .

Докази коінфікованих бактерій у боротьбі з вірусами рослин.

Біоагент	Контрольований вірус рослин	Рослина-господар	Метод обробки
Xanthomonas oryzae	Вірус жовтої мозаїки рису (RYMV)	*Oryza sativa* L.	Обприскування листя
Erwinia tracheiphila	Вірус жовтої мозаїки кабачка (ZYMV)	Гарбузові культури	Обприскування листя
Комбінації *Bacillus spp.*	Вірус огіркової мозаїки (CMV)	*Arabidopsis thaliana* L., *S. lycopersicum* L.	Обприскування листя
P. fluorescens, P. aeruginosa	Вірус некрозу тютюну (TNV)	*N. tabacum* L.	Обприскування листя
Різні ризобактерії	Вірус тютюнової мозаїки (TMV)	*Capsicum frutescens* L.	Полив ґрунту

1.2.1.3. Гриби в інгібуванні вірусів рослин

Ендофіти та грибкові біоагенти здатні розпізнавати зміни у фізіологічному стані рослин, викликані стресом, як частину захисного механізму, тим самим регулюючи експресію генів рослини. Інокуляція гарбузових культур грибом *Colletotrichum legendarium* або вірусом TNV забезпечує системний захист рослин від хвороб, спричинених декількома патогенами. Деякі дослідження [29] показали, що інокуляція цибулі ендофітними грибами знижувала популяцію трипсів – векторів вірусу, що призводило до підвищеної смертності комах. Завдяки антиксенотичній репелентній активності застосованих агентів було зафіксовано зниження активності живлення та відкладання яєць комахами. Крім того, зниження активності живлення трипсів на колонізованих ендофітами рослинах цибулі могло сприяти зменшенню поширення вірусу серед векторів. Взаємодія ендофітів підвищує неефективність віруліферних трипсів у передачі вірусу жовтої плямистості ірису (IYSV), який передається тютюновими трипсами, що негативно впливає на реплікацію IYSV в інфікованих рослинах. Це може бути пов’язано з тим, що ендофіти, зокрема гриби, активують експресію генів у сигнальних шляхах захисту рослин, що, у свою чергу, сприяє накопиченню захисних сполук і розвитку стійкості [30].

Вплив вторинних метаболітів грибів, які синтезуються під час ендофітної асоціації, може відігравати ключову роль у механізмах грибково-вірусної взаємодії. Алкалоїди, що продукуються в результаті дії ендофітних грибів, мають

виражені противірусні властивості. Колонізація сіянців цибулі ендофітами може зменшити пошкодження, спричинені живленням віруліферних трипсів. Більш того, така колонізація також знижує ефективність передачі IYSV трипсами і негативно впливає на його реплікацію в рослинах. Як наслідок, ендофітні гриби можуть стати важливим компонентом досліджень трипарних взаємодій (рослина-ендофіт-комаха).

Ймовірною причиною низького вірусного навантаження, що спостерігалося між рослинами, може бути інгібування або зниження експресії гена білка оболонки вірусу, що призводить до порушення реплікації вірусу на початкових стадіях інфекції. Наприклад, некрозна вірусна інфекція арахісу (*Peanut bud necrosis virus*) була ефективно контрольована шляхом блокування системного поширення вірусу у диких видах *Arachis* завдяки застосуванню біоагентів [31]. Реплікація вірусу і його поширення по системі рослини через клітинно-клітинний рух можуть бути порушені завдяки активації захисних сигналів у рослині, що веде до розвитку індукованої системної резистентності (ISR) [32]. Існують різні механізми біологічного контролю, серед яких ISR є найбільш ефективним у зниженні вірусних захворювань у заражених рослинах-господарях. Ризосфера багатьох видів рослин колонізується PGPR, які забезпечують додаткові позитивні ефекти для рослин-господарів, такі як покращене зростання і підвищена стійкість до патогенів, включаючи гриби, бактерії, нематоди, віруси і віроїди. Грибкові біоагенти, ефективні проти різних вірусних захворювань рослин, наведені в таблиці 1.2.

Таблиця 1.3.

Грибкові біоагенти, що індукують противірусну активність для контролю вірусів рослин.

Назва грибкового біоагента	**Інгібований вірус**	**Рослини-господарі**
Hypocrea lixii	IYSV	*Allium cepa L.* (цибуля)
Trichoderma harzianum, T. polysporum, T. atroviridae	PepLCV	*Capsicum annum L.* (перець)
Paecilomyces variotii	PVX, TMV	*Nicotiana benthamiana L.*, *N. tabacum L.* (тютюн)
Neotyphodium uncinatum	BYDV	*Festuca pratensis L.* (вівсяниця луговая)
Beauveria bassiana (*Balsamo Criv.*)	ZYMV	*Cucurbita pepo L.* (гарбуз)

Назва грибкового біоагента	Інгібований вірус	Рослини-господарі
Penicillium simplicium (*GP17-2*)	CMV	*Arabidopsis thaliana L.*, *N. tabacum L.* (тютюн)
T. harzianum, Metarhizium anisopliae	SCMV	*Zea mays L.* (кукурудза)
T. harzianum	CMV	*Solanum lycopersicum L.* (томати)
Coriolus versicolor	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Lentinus edodes	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Agrocybe aegerita	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Alternaria tenuissima	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Pleurotus eryngii	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Pleurotus ostreatus	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Pleurotus citrinopileatus	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Trichoderma pseudokoningii SMF2	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Penicillium oxalicum	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Coprinus comatus	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Flammulina velutipes	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
Flammulina velutipes (*Fr.*) *Sing*	TMV	*N. tabacum L.* (тютюн)
TMV – вірус тютюнової мозаїки; CMV – вірус мозаїки огірка; *BYDV – вірус жовтої карликовості ячменю; IYSV – вірус жовтої плямистості ірису;* *ZYMV – вірус жовтої мозаїки кабачка; PepLCV – вірус скручування листя перцю;* *SCMV – вірус мозаїки цукрової тростини; PVX – X вірус картоплі.*		

1.2.1.4. Контроль вірусних захворювань рослин за допомогою вірусів

Вірусне навантаження в інфікованих рослинах може спровокувати вивільнення вторинних летких та інших сполук, які дуже сприятливі для залучення векторів. Під час живлення рослиною вірус може виробляти антифідингову речовину, змушуючи вектора залишити її та переселитися на нову рослину, а також впливати на комах-шкідників, стимулюючи їхнє живлення на здорових рослинах [33]. Віруси можуть також негативно впливати на комах. Наприклад, білокрилки, що живляться на рослинах, інфікованих вірусом плямистого в'янення томатів (TSWV), ростуть повільніше та мають знижену плодючість.

Крім того, слабкі та помірні штами вірусів можуть виступати як еліситори у рослинах. Це було зафіксовано у випадку з вірусом мозаїки пепіно (PepMV) у томатах, який залежить від слабких варіантів PepMV для своєї індукції [34]. На ринку доступні комерційні продукти, що містять один або комбінацію двох слабких штамів вірусу.

1.2.2. Індуковані мікробами механізми проти вірусної інфекції рослин

1.2.2.1. Перехресний захист

Мікробні біологічні агенти контролюють і захищають сільськогосподарські культури від хвороб через різноманітні механізми. Застосування біологічних агентів є альтернативним варіантом контролю патогенів за допомогою крос-протекції. Крос-протекція – це тип індукованої резистентності, що розвивається в рослинах проти вірусів рослин. Вона є найбільш ефективною серед тісно споріднених штамів одного і того ж вірусу, хоча існують повідомлення про випадки, коли філогенетично віддалені віруси захищають один одного. Це явище було описано голландцем Тунгом та англійцем Саламаном приблизно сімдесят років тому, коли попередня імунізація рослин-хазяїв слабким штамом захищала їх від зараження агресивним або важким штамом того ж вірусу рослин, що відповідає концепції захисту майбутніх систем виробництва, відомій як крос-протекція слабким штамом (MSCP). *Citrus tristeza virus* (*CTV*), що належить до роду *Closterovirus* і передається попелицями, був успішно контрольований за допомогою крос-протекції в кількох частинах світу [35].

Механізми крос-протекції досі невідомі; проте запропоновано кілька ймовірних механізмів, таких як утворення антитіл, специфічна адсорбція новими клітинними сполуками, виснаження життєво необхідних метаболітів, обмежені сайти реплікації, доступні для розмноження вірусів у рослині, конкуренція між основним та важким вірусами за клітинні компоненти хазяїна та точки реплікації у клітинах, втручання у розпакування вірусу, вторинний вірусний трансляційний процес або реплікацію, а також посилення РНК-сайленсингу захисним вірусом, що спричиняє специфічну до послідовності деградацію РНК тестового вірусу [36].

Одним із найбільш обговорюваних механізмів крос-протекції є РНК-сайленсинг. У цьому механізмі ферменти типу *Dicer-like* (DCL) розпізнають дволанцюгову РНК (dsRNA), що утворюється під час вірусної реплікації, і розрізають її на малі фрагменти довжиною 21–26 нуклеотидів [37]. Ці малі

фрагменти нуклеотидів розпізнаються як «малі інтерферуючі РНК» (siRNAs), які можуть підсилювати РНК-сайленсинг у рослинах, формуючи комплекс сайленсингу РНК (RISC), що містить білки *Argonaute*. Повне сайленсування відбувається тоді, коли *siRNAs* поширюються по всій рослині, ініціюючи сайленсинг вірусу в частинах рослини, які раніше не були заражені вірусом. Під час загального сайленсингу РНК є аналогічними за послідовністю до РНК, що вперше активувала сайленсинг у всіх частинах рослини. Крім того, білки *Argonaute* також беруть участь у пригніченні трансляції вірусних РНК, яке активується комбінацією вірусних індукуючих агентів і факторів стійкості хазяїна [38], і це потребує більш детальних досліджень.

За останні два десятиліття метод посттранскрипційного сайленсингу генів використовувався для активації противірусних відповідей у рослинах шляхом поєднання методів редагування геному, таких як CRISPR/Cas9, та методів генетичної трансформації [39]. Однак механізми антисенсу зазвичай діють для реплікації РНК всередині ядра у дволанцюгових ДНК-вірусах з реверсною транскрипцією, таких як каулімо- та баднавіруси. Для контролю вірусів рослин, що інфікують рослини через РНК, можуть бути використані рибозими, здатні розрізати вірусну РНК [40].

1.2.2.2. Противірусні/антибіотичні сполуки

Полісахариди, полісахаридні пептиди та білки є основними противірусними сполуками, що містяться у грибах. Останніми роками у грибних організмах, таких як *Coriolus versicolor*, *Coprinus comatus*, *Lentinus edodes sing*, *Pleurotus ostreatus* та *Flammulina velutiper*, було досліджено полісахариди та їхні пептиди з противірусними властивостями. Полісахаридний пептид, екстрагований із *Coriolus versicolor*, показав 85,4% та 64,8% антивірусної дії проти *TMV* за низьких концентрацій. Компонент лентинану проявив антивірусну активність проти *TMV* з відновлювальним ефектом 58,7% при концентрації 10 μg mL^{-1} [41].

Компоненти лентинану та полісахаридних пептидів можуть сприяти експресії пероксидази та фенілаланінаміак-ліази, а також білків, пов’язаних із

патогенезом (*PR*-білки), у рослинах-хазяїнах, посилюючи природний імунітет рослин до багатьох хвороб.

Вчені [42] повідомили про численні патогенні гриби з низькою патогенністю щодо вірусів рослин, серед яких *Alternaria tenuissima* здатен успішно сприяти імунізації рослин. Білок із високою активністю може індукувати імунну відповідь рослин, стійкість рослин та активізувати метаболізм росту. Крім того, метанольні екстракти грибів *Neosartorya fischeri* та *Penicillium oxalicum* виявили репресивну дію проти інфекцій TMV. Антимікробні речовини, такі як пептаіболи та трихоконіни грибка *Trichoderma pseudokoningii*, є факторами, що визначають індуковану системну резистентність (*ISR*) і проявляють стійкість до TMV [43]. Алкалоїди також продемонстрували противірусні функції. Аналогічно, *Trichoderma harzianum* зменшував вираженість симптомів TMV на *S. lycopersicum* через *ISR*-активність [44].

Розуміння ефективності бактерій та інших мікроорганізмів у покращенні росту рослин та пригніченні інфекційності вірусів приносить користь у контролі вірусів рослин у польових умовах, особливо для тих, хто прагне екологічно безпечного контролю хвороб сільськогосподарських культур. Використання противірусних сполук, що активують системну стійкість рослин, було описано для багатьох вірусів у рослинах. Антивірусні агенти, отримані з мікроорганізмів, забезпечують екологічно чисті, ефективні та біорозкладні альтернативи традиційним хімічним агентам для контролю вірусних захворювань рослин. Їхні механізми дії проти вірусів рослин можуть безпосередньо впливати на вірусні нуклеїнові кислоти або білки, або ж опосередковано пригнічувати віруси шляхом регуляції реакції хазяїна.

Група актиноміцетів, що включає 80 родів, продукує різноманітні вторинні метаболіти, які відіграють важливу роль у захисті сільськогосподарських культур. Понад 50% відомих антибіотиків отримані саме з актиноміцетів [45]. Нінгнанміцин, противірусна речовина, екстрагована з актиноміцета *Streptomyces noursei var. xichangensis*, є новим цитозиновим нуклеозид-пептидним

антибіотиком, що демонструє високу ефективність у пригніченні інфекцій TMV і широко застосовується у рослинництві.

Було встановлено, що Нінгнанміцин сприяє підвищенню стійкості рослин, заражених TMV, шляхом активації кількох захисних механізмів, таких як індукція пероксидази, фенілаланінаміак-ліази, супероксиддисмутази, активація групи кислих *PR*-білків та експресія *NPR1* і *Jaz3*, що сприяє захисному ефекту відносно білка оболонки TMV [19].

Нінгнанміцин є антибіотиком цитозиново-нуклеозидного типу, що здатен підвищувати концентрацію великої та малої субодиниць рубіскої (*Rubisco LSU* та *Rubisco SSU*), що, у свою чергу, зменшує вміст вірусного білка оболонки. *Rubisco* є важливим ферментом у процесі фіксації вуглецю в рослинній системі. *NNM* має високу здатність послаблювати пошкодження фотосинтезу, пригнічуючи *TMV CP* всередині хлоропластів, оскільки білок оболонки вірусу може порушувати фотосинтез, блокуючи активність *PS II* [19].

Цитозиновий пептидоміцин, екстрагований із *Streptomyces ahygroscopicus*, продемонстрував високу віруцидну активність [18] і був зареєстрований та випущений на ринок Китаю як противірусний засіб для рослин. Також дослідники [46] описали новий глікопротеїн *GP-1*, ізольований із *Streptomyces sp. ZX01*, який показав 80% ефективності проти *TMV* при концентрації 1 мг/мл. Пероксидаза, що відіграє важливу роль у захисних реакціях рослин, бере участь у численних фізіологічних відповідях на біотичний стрес.

Було зазначено [47], що штами *Streptomyces* індукують системну набуту резистентність (*SAR*) до вірусних інфекцій, а *Pseudomonas aeruginosa* підвищує стійкість тютюну до TMV. Противірусна сполука, отримана з *S. noursei var. xichangensis*, також здатна індукувати індуковану системну резистентність (*ISR*). Різні біоактивні сполуки, отримані з *Streptomyces*, виявилися ефективними у зменшенні місцевих уражень TMV на листках дурману індійського. Крім того, біоактивна сполука ε-*Poly-l-lysine*, виділена з *S. ahygroscopicus*, показала значний захисний та лікувальний ефект проти TMV [21]. Симптоми мозаїки, спричинені

вірусом жовтої мозаїки цукіні, зменшувалися на 95–100% після обприскування огірків біоагентами *S. albovinaceus* та *S. sparsogenes* [48].

Застосування антибіотиків у фітопатології, особливо у вірусології рослин, вважається надзвичайно важливим. Цитовірин – антибіотик широкого спектру дії, що зменшує концентрацію вірусу у рослинах-хазяїнах та затримує появу симптомів. Актиноміцин *D* захищає сою від вірусу бобової мозаїки. Пригнічення TMV досягалося завдяки використанню бластицидину S, дексоміцину, мітоміцину C, окситетрацикліну та стрептоміцину, пуроміцину, лауризину або форміцину, циклогексіміду, хлорамфеніколу тощо.

Вірус штрихуватої мозаїки гороху може бути контрольований шляхом обприскування циклогексімідом, актідіоном і стрептоміцином або бластицидином S. Є дослідження, які стверджують, що вірус мозаїки соняшнику у бобових рослинах можна контролювати за допомогою антигрибкового антибіотика *пентаен G 8*, отриманого з *Streptomyces anandii* [49].

Цикадки не могли переносити віруси, якщо рослини-хазяї були оброблені тетрациклінами. Вірус мозаїки брому контролювали за допомогою актиноміцину D та бластицидину S. Бактеріальний біоагент *Bacillus amyloliquefaciens* значно знизив прояв симптомів хвороби, спричиненої *GBNV*, до 84% через транзиторну експресію *MAMP*-генів, що активують імунну реакцію та знижують титр вірусу [50].

Деякі дослідження показують, що лікування вірус-інфікованих рослин антибіотиками не тільки пригнічує віруси, але й зменшує вираженість симптомів захворювання. Однак чітких доказів впливу антибіотиків на вірусні патогени рослин у контексті їхньої основної дії на патогени людини поки що немає. Серед відомих антибіотиків хлорамфенікол впливає переважно на синтез білка. Аналогічно, дауноміцин впливає на окремі етапи синтезу білка та пригнічує метаболізм нуклеїнових кислот, подібно до актиноміцину D. Проте, дауноміцин майже не впливає на синтез вірусної РНК або на саму рослину-хазяїна [51], імовірно, він має безпосередню дію на вірусні частинки.

Актиноміцин D і мітоміцин C також впливають на метаболізм нуклеїнових кислот, утворюючи комплекси з ДНК. Проте, за винятком дуже ранніх стадій інфекції в специфічних комбінаціях вірус-хазяїн, вони не пригнічують синтез РНК вірусів рослин. Вірус огіркової мозаїки може бути пригнічений антибіотиком міхараміцином А, який блокує синтез РНК на основі ДНК.

Очікується, що антибіотики, завдяки своїй молекулярній структурі, інтегруються в метаболічний пул хазяїна, унеможливлюючи взаємодію вірусу з процесами обміну речовин. У формі позакореневого підживлення антибіотики можуть викликати порушення реплікації вірусу або змінювати синтез білка оболонки вірусу. Пригнічення синтезу вірусної РНК вивчали за допомогою заражених вірусом листкових дисків, які інкубували в розчинах антибіотиків. В останні роки ця тема стала об'єктом уваги молекулярних вірусологів і фітопатологів.

1.2.2.3. Ліпопептиди

Ліпопептиди – це антимікробні пептиди, що синтезуються широким спектром мікроорганізмів шляхом нерибосомального синтезу, включаючи вторинні метаболіти, такі як пептаіболи, циклопептиди та псевдопептиди. Багато дослідників перевірили бактеріальні агенти на віруцидну активність і виділили біологічно активні сполуки, що пригнічують віруси рослин. Було виявлено [52], що бактеріальний штам ZH14 продукує біоактивні білки, які забезпечують тривалу та стабільну стійкість до TMV. Визначено покращену ефективність контролю *Pseudomonas fluorescens* CZ проти TMV.

Ліпопептиди – це низькомолекулярні (1000–2000 Да) циклічні антимікробні сполуки, які головним чином синтезуються бактеріями, такими як *Bacillus* та *Pseudomonas* spp. Ліпопептиди є ключовими факторами, що забезпечують їхню біоконтрольну ефективність. Вони синтезуються через багатоферментний біосинтетичний шлях із залученням специфічних генних кластерів нерибосомальних пептидсинтетаз [52]. Крім того, численні ліпопептиди, такі як ітурин, сурфактин, софороліпіди, трегалозоліпід, рамноліпіди та маннозилеритритол ліпіди, виявилися перспективними

біоконтрольними агентами для використання в сільськогосподарському виробництві [53].

Представники роду *Bacillus* синтезують три основні класи ліпопептидів – *сурфактин, ітурин* та *фенгіцин*, які містять 7–10 гідрофільних амінокислот, з'єднаних із гідрофобним жирнокислотним хвостом. Ці сполуки діють як ефективні антагоністи, пригнічуючи фітопатогени через різні механізми, зокрема шляхом індукції та встановлення захисних механізмів рослин, що пов'язані з індукованою системною резистентністю (*ISR*). Останнім часом деякі циклічні ліпопептиди були ідентифіковані як еліцитори захисної відповіді рослин, такої як ISR. Леткі сполуки, такі як *2,3-бутандіол* [54], які виділяються *Bacillus spp.*, були підтверджені як активатори *ISR* у рослин.

Ліпопептидні сурфактанти мають унікальні властивості, які дозволяють їм впливати на проникність мембран та утворення іонних каналів, що може призводити до порушення цілісності та функціональності ліпідного шару плазматичної мембрани. Завдяки здатності порушувати фізичну цілісність живих мембран, ліпопептиди є ефективними антимікробними агентами проти різних мікроорганізмів, включаючи бактерії, гриби, віруси та мікоплазми.

Штам *Bacillus amyloliquefaciens* S499 виділяє циклічні ліпопептиди, які забезпечують ефективний захист як листків, так і коренів цукрового буряку, що веде до біоконтролю хвороби ризоманії через зменшення зараження вірусним вектором *Polymyxa betae*. Вірус некротичної жовтої жилковості буряку спричиняє ризоманію, а його переносником є облігатний кореневий паразит *Polymyxa betae*. Циклічні ліпопептиди *Bacillus* значно зменшують зараження *P. betae* у буряку через *ISR*. Дослідження показали, що стійкість до *P. betae* у буряку є частковою, але супроводжується зниженням концентрації вірусу [104]. Таким чином, циклічні білки відкривають новий підхід до сталого контролю ризоманії.

1.2.2.4. Рибонуклеази проти РНК-вірусів рослин

Рибонуклеази – це група гідролітичних ферментів, здатних димеризуватися та каталізувати розщеплення рибонуклеїнової кислоти на дрібніші фрагменти на кількох критичних етапах транскрипції, а також пригнічувати розмноження

вірусів. Рибонуклеази є класичними компонентами імунної системи. Різні ферменти, такі як *біназ, baRNases* і *баліфази*, що синтезуються бактеріями, можуть екзоцитуватися в зовнішнє середовище. Малі концентрації рибонуклеаз сприяють росту рослин, тоді як високі концентрації цих ферментів мають противірусні властивості та руйнують вірусну РНК. У сортах гречки Кара-Даг і Роксолана спостерігалися різні рівні стійкості до вірусу опіку гречки, що корелювало з підвищеною активністю рибонуклеази [56].

Експресія гена рибонуклеази *pac1* із *Schizosaccharomyces pombe* підвищувала стійкість до CMV, ToMV, PVY та TSWV у рослин хризантеми, тютюну та бальзаміну [57]. При цьому індукція стійкості до вірусів шляхом експресії гена дволанцюгової РНК-специфічної рибонуклеази змінювала рівні стійкості від затримки появи симптомів хвороби до повного захисту від вірусів. Було також показано, що експресія бактеріального гена дволанцюгової РНК-специфічної рибонуклеази забезпечує стійкість до певних вірусів у тютюнових рослинах.

Бактеріальні види, такі як *B. pumilus, B. amyloliquefaciens* і *B. licheniformis* (що продукують *бінази, baRNases* і *баліфази* відповідно), мають здатність секретувати RNase, використовуючи органічні фосфати для адаптації до змінних екологічних умов. Вони також розщеплюють вірусні частинки, що містять РНК, у тканинах рослин. Низькі концентрації рибонуклеаз стимулюють ріст рослин і їхню стійкість до різних стресових факторів, тоді як високі концентрації цих ферментів виявляють противірусну активність шляхом деградації вірусної РНК. Крім того, бактеріальні роди, такі як *Pantoea, Cronobacter, Microbacterium* і *Staphylococcus*, виділені з рослин родини *Cucurbitaceae*, продукують нуклеази, що розщеплюють вірусні нуклеїнові кислоти.

Встановлено сильний і стабільний позитивний зв’язок між активністю рибонуклеаз у кількох сортах картоплі та їхньою стійкістю до PVX, PVY, PVM та PVS [57]. Експресія гена *PAC1* із *Schizosaccharomyces pombe* у сої призводила до значного підвищення концентрації вірусу мозаїки сої у рослинах, вільних від

штаму SC3. Тютюн Бентхена, що містив касету *CRISPR/Cas13a*, створену шляхом генної інженерії, мали високу стійкість до вірусу мозаїки ріпаку [58].

Отже, ці дослідження підтверджують, що *Bacillus* та інші бактерії можуть захищати рослини від вірусних інфекцій, порушуючи механізми передачі вірусних частинок, зокрема через комах і фітопатогени.

1.2.2.5. Резистентність рослин, викликана ризобактеріями, що стимулюють ріст рослин

Ризобактерії, що стимулюють ріст рослин (*PGPR*), є ендофітними або ризосферними бактеріями, які підвищують урожайність, сприяють росту та захищають рослини від патогенів. У результаті синергічного ефекту *PGPR* допомагають іншим мікроорганізмам покращувати стимуляцію росту рослин або пригнічувати патогени. Сполуки, що виробляються мікроорганізмами, які сприяють росту рослин (plant growth-promoting microorganism – *PGPM*), можуть взаємодіяти з імунною системою рослин-господарів та індукувати системну резистентність проти фітопатогенів. Як правило, *PAMPs* (патогенасоційовані молекулярні структури), такі як флагелін та ліпопептиди ендофітних бактерій або капсидні білки вірусів, розпізнаються рецепторами рослинних клітин, що містять повторювані лейцин-збагачені домени [59]. Гени, що відповідають за білки, пов’язані з патогенезом (*PR-білки*), такі як *PR-4* та *PR-10* з противірусними властивостями, експресуються в рослинах під впливом ризобактерій та їхніх метаболітів, а також у відповідь на вірусні та грибкові інфекції. Таким чином, *PGPM* відіграють важливу роль у реакціях рослин на вірусну інфекцію.

Наявність біоагентів або ендофітів у рослинах сприяє розпізнаванню вірусних білків, зокрема вірусної РНК, а також капсидного білка, що веде до активації захисних реакцій рослин. Вчені підтвердили, що *Enterobacter asburiae* активував стійкість до вірусу жовтої кучерявості листків томата, знижуючи рівень захворюваності на 42% навіть через 45 днів після зараження в умовах теплиці. Стійкість до TMV у *S. lycopersicum* регулювалась різними штамами *B.amyloliquefaciens* [25].

Деякі ризобактерії, взаємодіючи з коренями рослин, спричиняють стійкість до бактерій, грибів і вірусів, що викликають захворювання у рослин. Це явище називається індукованою системною резистентністю (ISR). ISR також передбачає участь сигнальних шляхів, залежних від жасмонату та етилену, що активують захисні реакції рослин-господарів проти широкого спектра патогенів [60]. PGPR захищають рослини від зараження CMV, індукуючи природну резистентність проти патогенів [24]. Системна резистентність у рослинах активується двома основними шляхами: *ISR*, який залежить від жасмонату та етилену, або *SAR* (системна набута резистентність), що регулюється саліциловою кислотою [58].

Гіперчутлива реакція характеризується локальним некрозом, який перешкоджає системному поширенню вірусу в рослині. У відповідь на інфекцію на листках, стеблах і плодах формуються некротичні плями або кільцеподібні ураження, які локалізують фітопатоген, не допускаючи зараження здорових тканин. У картоплі (*Solanum tuberosum*) гіперчутливі реакції проти штамів PVY-C та PVY-O контролюються генами *Nytbr* та *Nctbr*, відповідно [61].

Два ендофітні штами *B. subtilis* (26D і Ttl2) секретували рибонуклеази та фітогормони, що пригнічували віруси PVX та PVY у рослинах *S. lycopersicum*. Обидва штами активували ISR шляхом стимуляції транскрипції генів, що беруть участь у саліцилат- та жасмонат-залежних сигнальних шляхах. Вони також збільшували вміст цитокінінів та знижували рівень індолілоцтової кислоти у заражених *PVX* або *PVY* рослинах.

Поліфенольні сполуки є вторинними метаболітами, що відіграють важливу роль у стимуляції росту рослин і захисті від біотичних та абіотичних стресів. Багато пов’язаних з патогенезом білків (PR-білки) мають антимікробну активність проти фітопатогенів. Вироблення PR-білків у рослинах стимулюється внаслідок зараження бактеріями, грибами, вірусами або віроїдами. У фенілпропаноїдному шляху першим ферментом, що бере участь у біосинтезі саліцилової кислоти, є *PAL* (*фенілаланін-амоніоліаза*). Інфекції патогенів стимулюють накопичення саліцилової кислоти, що корелює зі збільшенням експресії *PR-1* — маркерного гена саліцилової кислоти. Обробка перцевих

рослин *B. amyloliquefaciens* (*5B6*) знижувала зараження *CMV* через активацію транскрипції генів, що кодують *PR-4, PR-5* та *PR-10* [62].

Авторитетний *PR*-білок або захисний білок, такий як ген пероксидази, бере участь у різних корисних реакціях проти біотичних стресів рослин, а також у дослідженнях з розкладання та управління забруднювачами [25]. Детально описно, що застосування штамів *Streptomyces* стимулювало SAR для вірусних інфекцій [47], тоді як *P. aeruginosa* була надзвичайно ефективною у підвищенні стійкості до *TMV* у тютюні. Крім того, було показано, що противірусна сполука від *S. noursei* змінює реакції рослин, індукуючи ISR проти TMV. Бактеріального походження *2,3-бутандіол* встановив захисну реакцію проти *CMV* та *TMV* через накопичення транскрипції багатьох генів-маркерів захисту [63].

Ризосферна бактерія *P. fluorescens Pf1* і ендофітний бактеріальний штам *Bacillus spp. EPB22*, застосовані до рослин банана, стимулювали активність захисних ферментів, таких як пероксидаза і поліфенолоксидаза, а також підвищували вміст фенольних сполук, що знижувало поширення BBTV до 80%. Подібні реакції також були виявлені у рослин банана, інфікованих BBTV [29], рослин *S. lycopersicum*, заражених TSWV, та чорного граму, інфікованого *Urdbean leaf crinkle virus*.

Глікопротеїн клітинної стінки грибкового фітопатогена *Cladosporium herbarum*, відомий як пептидогалактоманан, індукує експресію генів, пов’язаних із *SAR* та *ROS*, а також їх накопичення в клітинах тютюну *BY2*, що сприяє ослабленню вірусної інфекції. При цьому спостерігається посилена експресія *PR-1a*, *PR-2* (*β-1,3-ендоглюканаза*), *PR-3* (*хітиназа*), *PR-5* (*білок, подібний до тауматину*), *PAL* (*ген фенілпропаноїдного шляху*) та генів, пов’язаних із захисними реакціями рослин і вродженою резистентністю, таких як ліпоксигеназа і пероксидаза. Крім того, захисні ферменти, також демонстрували потужну противірусну активність [50].

Досліджено, що застосування ризобактеріальних сумішей, які містять ендофітні *Bacillus spp.* та *P. fluorescens*, пригнічувало вірус купчастості верхівки банана [64]. Хітозан і PGPR зменшували тяжкість захворювання та титр вірусу

кабачкової мозаїки, що інфікує огірки, шляхом відтермінування інкубаційного періоду у репродуктивній фазі (4-7 тижнів після висаджування) через активацію біохімічних захисних реакцій. Крім того, штами PGPR GB03 (*B. subtilis*) та IN937a (*B. amyloliquefaciens*) у поєднанні з хітозаном як носієм ефективно діяли проти CMV у рослинах *S. Lycopersicum* [24].

Штами *P. fluorescens* є ефективними у викликанні значних рівнів захисних ферментів у банані, і їхня індукована ферментативна активність пов'язана з біосинтезом фенольних та інших вторинних метаболітів, які вважаються основними чинниками ISR проти хвороби викликаної вірусом опуклих верхівок банану, а також сприяють підвищенню врожайності. ALMV спричиняв локальні інфекції на листках квасолі, які були повністю контрольовані за допомогою обробки максимальною концентрацією хітозану (0,1%) шляхом обприскування або додавання до вірусного інокуляту. Подібні результати були описані також для PVX, TMV, TNV, ALMV, PSV та CMV [65].

Роль активних форм кисню (анл. Reactive oxygen species – *ROS)* у взаємодії між рослиною та вірусом залишається недостатньо вивченою. Передбачається, що *ROS* можуть діяти як захисні речовини, а H_2O_2 – як системний противірусний сигнальний елемент під час інфекції TMV. Вищий рівень продукції ROS також розглядається як біохімічний маркер під час індукції *SAR*.

Вірус скручування листя перцю (*PepLCV*), який переноситься білими мухами, контролюється завдяки *T. harzianum, T. polysporum, T. atroviride* та їхнім консорціям. Вони ендофітно заселяють рослини перцю, значно підвищуючи вміст фенольних сполук (на 183%) і стимулюючи вроджений імунітет рослини шляхом активації біосинтезу фенілпропаноїдів. Здатність біоагентів *Trichoderma* виробляти саліцилову кислоту відіграє важливу роль у придушенні PepLCV (до 50%) та накопиченні ROS у місці інфекції, що обмежує поширення вірусу [32].

Через системний характер вірусної інфекції ефективні хімічні сполуки не можуть бути застосовані для контролю вірусних захворювань рослин в сільському господарстві або садівництві. Однак ендофітні бактерії, що сприяють росту рослин (*ePGPB*), такі як *Paraburkholderia fungorum, Paenibacillus*

pasadenensis, Pantoea agglomerans, Pseudomonas syringae, а також хітозан-оброблені рослини, виявили високу біоконтрольну активність проти вірусу кільцевої плямистості цимбідіуму (*CymRSV*) і *CMV* завдяки значному зниженню вираженості вірусних симптомів та збільшенню висоти рослин порівняно з контролем. Крім того, підвищена експресія гена свідчить про залучення до сигнального шляху саліцилової кислоти, тоді як *non-expressor of pathogenesis-related genes-1* (*NPR1*) опосередковує перехресне регулювання між шляхами саліцилової, жасмонової кислоти та етилену, що призводить до індукції SAR у рослинах через активацію PR2B, білка PR, який запускає захисні механізми проти вірусної інфекції [65].

Біологічний контроль за допомогою мікроорганізмів PGPR може бути рекомендований для захисту від вірусних патогенів, оскільки PGPR відіграють пряму та опосередковану роль у сталому управлінні культурами через покращення проростання насіння, збільшення врожайності, біологічну фіксацію азоту, розчинення фосфатів, підвищене засвоєння поживних речовин, активацію ISR та вироблення інших захисних сполук і ферментів, необхідних для стійкості до захворювань.

1.2.3. Майбутні перспективи

Людство почало розглядати альтернативи внаслідок шкідливого впливу синтетичних пестицидів. Пестициди можуть бути замінені біопестицидами. Різноманітні біологічно отримані сполуки мають пестицидну активність проти шкідників і хвороб. Надзвичайно важливо оцінити кількість, частоту застосування та відповідні методи доставки цих потенційних біоконтрольних агентів у польових умовах для ефективного управління вірусними хворобами рослин.

Молекулярні докази або залучення різних захисних чи регуляторних генів у боротьбі з численними вірусними захворюваннями ще не були досліджені повною мірою. Необхідно розшифрувати механізм захисту, який індукують бактерії, гриби, актиноміцети та водорості проти вірусної інфекції рослин, а також зрозуміти механізм зниження вірусного навантаження в інфікованих

рослинах. Популяції мікроорганізмів, що викликають противірусний ефект, потребують подальшого вивчення щодо оптимальної чисельності мікробів, часу, необхідного для зниження вірусного інокуляту, а також впливу популяції переносників вірусу на противірусні властивості для ефективного контролю вірусів рослин.

Дотепер не існує точних і поглиблених досліджень впливу різноманітних екологічних факторів, таких як кількість опадів, відносна вологість, температура та тривалість світлового дня, на взаємодію з антагоністичними мікроорганізмами, що створює серйозні виклики у формуванні механізму противірусної резистентності. Молекулярний механізм противірусної резистентності, індукований мікробними агентами, поки що залишається нез'ясованим і потребує всебічного аналізу, зокрема вивчення протеоміки та метаболоміки, щоб розкрити мікробні елементи рослини, відповідальні за противірусний захист.

На сьогодні існує багато досліджень щодо ролі бактерій, грибів, актиноміцетів та інших організмів у механізмах захисту рослин від патогенів, за винятком вірусів. Загалом, індуковані механізми захисту від вірусної інфекції, що активуються мікроорганізмами та їх метаболітами, перешкоджають передачі та реплікації вірусу.

Передбачається, що дослідження використання бактерій і рослинних рибонуклеаз для запобігання вірусним інфекціям у рослинах є складним і малодослідженим напрямом.

Отже, ідентифікація екологічно безпечних біологічних агентів із противірусними властивостями для захисту рослин від вірусних хвороб є перспективним методом підвищення стійкості рослин. PGPR мають прямі противірусні властивості, виробляючи рибонуклеази або індуктори системної резистентності, які живуть на поверхні або у внутрішніх тканинах рослин. Крім того, такі мікроорганізми непрямо зменшують вірусне навантаження в агроекосистемах завдяки контролю переносників через механізм «РНК-біоцидів», специфічних для шкідників сільськогосподарських культур.

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ

2.1. Загальні умови вирощування рослин в експериментах

Рослини вирощували у фітокліматичній камері «Silverbox evolution» (Франція) (рис.2.1.) за температурного режиму 20±2 ºС, та режиму освітлення: світло/темрява 14/10 годин.

Рис. 2.1. Фітокліматична камера «Silverbox evolution».

Для освітлення використовували лампу ДНаТ, 600 вт. Режим вологості повітря у камері підтримували на рівні 70-80%, вологість ґрунту у горщиках – 50-80% найменшої вологоємності. Використовували для вирощування торф’яний субстрат «Універсальний з біогумусом» (Україна).

2.2. Дослідження впливу мікробіологічних препаратів на розвиток рослин покривної суміші

Для встановлення можливого позитивного впливу мікроболоігчних препаратів на розвиток рослин проводили дослідження із рослинами покривної суміші, наданої ТОВ «Смарт Кропс» (Україна). Суміш складалася з насіння вики ярої (*Vicia sativa* L.), фацелії пижмолистої (*Phacelia tanacetifolia* Benth.), льону звичайного (*Linum usitatissimum*, L.), суданської трави (*Sorghum bicolor subsp. drummondii* (Nees ex Steud.) Millsp. & Chase,), конюшини олександрійської (*Trifolium alexandrinum*, L.). В суміші покривних культур насіння вики ярої складало 40%, що відповідає технологічним параметрам застосування покривних культур із вмістом представників родини Бобових. Для досліджень використовували вибірку із 10 рослин кожного виду у 3-х кратній повторності для кожного варіанту.

Умови експерименту. Дослідження проводили з препаратами мікробіологічного походження Мікофренд-т та Біоінокулянт-BTU-т виробництва біотехнологічної компанії BTU (Україна). У склад препарату Мікофренд-т входять арбоскулярні гриби роду *Glomus* та штам *Trichoderma harzianum*. Препарат містить бактерії *Bacillus velezensis (Bacillus subtilis)*, *Priestia megaterium (Bacillus megaterium var. phosphaticum*), *Paenibacillus mucilaginosus (Bacillus mucilaginosus), Agrobacterium salinitolerans (Enterobacter), Pseudomonas plecoglossicida (Pseudomonas fluorescens)*. Загальне число життєздатних клітин (1,0 – 1,5)×10^8 КУО/мл. Також до складу біопрепарату входять біологічно активні речовини – продукти життєдіяльності мікроорганізмів: фітогормони, вітаміни та амінокислоти.

До складу препарату Біоінокулянт-BTU-т входять симбіотичні бульбочкові бактерії *Rhizobium leguminosarum bv. viceae*, біологічно-активні продукти життєдіяльності бактерій та компоненти поживного середовища (макро-, мікроелементи тощо). Титр препарату - від 2,5×10^9 КУО/мл. Обидва препарати базуються на наповнювачі - верховому торфові.

Схема проведення досліджень включала варіанти:

1. Контроль – без обробки;

2. Варіант 1. Обробка насіння препаратом Мікофренд-т у розрахунку 100 г препарату на 1 га посіву;

3. Варіант 2. Обробка комплексом біопрепаратів Мікофренд-т + Біоінокулянт-БТУ-т з розрахунку по 100 г кожного препарату на 1 га посіву.

Насіння рослин, що входили до покривної суміші, зволожували для кращого прилипання і обробляли біоперпаратами відповідно до схеми дослідження. Насіння висівали у горщики з діаметром 16 $см^2$ для вирощування.

Проводили оцінку схожості насіння культур згідно з методикою «Насіння сільськогосподарських рослин. Методи випробування насіння» (2004).

2.3. Дослідження розвитку рослин перцю при вірусному інфікуванні за обробки мікробіологічним препаратом

В дослідженнях використовували рослини перцю *Capsicum annuum* L. сорту Білозірка. Насіння пророщували і висівали у контейнери. Після утворення 5-6 справжніх листків проводили інокуляцію ізолятом ВТМ. Догляд за рослинами полягав у поливі та підживленні універсальним добривом Stimul NPK (ФОП Піддубний, Україна) із вмістом $N_{30}P_{25}K_{25}$. Обробку препаратом Органік-баланс+Ліпосан відповідно до схеми:

1. Контроль, без обробок та інокуляції ВТМ.
2. Обробка рослин препаратом Органік баланс у розрахунку 0,6 мл біопрепарату на 400 мл води + Ліпосан у розрахунку 0,4 мл на 400 мл води + інокуляція ВТМ.
3. Інокуляція рослин ізолятом ВТМ, без обробки мікробіологічним препаратом.

Обробку проводили шляхом обприскування рослин з інтервалом у 10 днів до інокуляції ізолятом ВТМ. Препарат Органік-баланс містить калій- та фосформобілізуючі бактерії; природні сапрофітні гриби; органічні речовини–стабілізатори, біологічно-активні речовини, вітаміни, ферменти для розкладання решток; концентрат життєздатних мікроорганізмів: бактерії-антагоністи

патогенних для рослин грибів та клітини бактерій *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum*, *Paenibacillus polymyxa* та ін., титр $1x10^8$ – 1x109 КУО/$см^3$.

Враховували розвиток рослин до інокуляції, появу симптомів та розвиток інфекції ВТМ з використанням імуноферментного аналізу.

2.4. Проведення імуноферментного аналізу

У дослідженнях використовували сет з антитілами та міченими антитілами до вірусу тютюнової мозаїки виробництва LOEWE®Biochemica GmbH (ФРН). Результати ферментативної реакції зчитували при 405 нм (630 нм) імуноферментним аналізатором Stat Fax 303Plus (Awareness Techology Inc, США).

Процедура проведення імуноферментного аналізу:

1 етап. Нанесення покривного антитіла (IgG).

На першому етапі необхідно приготувати розчин антитіла IgG, розвівши його у співвідношенні 1:200 в буфері для покриття (Coating Buffer). У кожну лунку мікропланшета додається по 0,2 мл цього розчину. Після цього планшет інкубують протягом 4 годин при температурі 37 °С. По завершенні інкубації лунки промивають чотири рази буфером для промивання (Wash Buffer), щоб видалити залишки незв'язаного антитіла.

2 етап. Нанесення зразків.

Зразки для аналізу необхідно попередньо розвести в буфері для зразків (Sample Buffer) у співвідношенні 1:20, якщо інше не вказано в сертифікаті продукту. Позитивні або негативні контролі LOEWE® розводять у 2,1 мл Sample Buffer. У кожну лунку вносять по 0,2 мл підготовленого зразка. Планшет інкубують протягом ночі при температурі 4 °С. Після інкубації лунки знову промивають чотири рази буфером для промивання.

3 етап. Нанесення кон'югату антитіло-АР.

На цьому етапі розводять кон'югат антитіла з лужною фосфатазою (АР-кон'югат) у співвідношенні 1:200 у буфері для кон'югату (Conjugate Buffer). У кожну лунку додають по 0,2 мл отриманого розчину. Інкубацію проводять при температурі 37 °С протягом 4 годин. Після цього планшет знову промивають

чотири рази буфером для промивання, щоб видалити надлишок незв'язаного кон'югату.

4 етап. Проведення ферментативної реакції.

До кожної лунки додають по 0,2 мл субстратного розчину (Substrate Solution). Планшет залишають інкубуватися при кімнатній температурі протягом 1–2 годин. Промивання після цього етапу не проводиться. Після завершення інкубації можна оцінити результат шляхом вимірювання оптичної щільності (OD) на відповідній довжині хвилі.

Отже, у даному розділі розглянуто методи та матеріали, що використовувались для дослідження впливу мікробіологічних препаратів на стан рослин при вірусному інфікуванні на прикладі покривної ґрунтової суміші та перцю. Зокрема було розглянуто та описано умови проведення досліджень, впливу мікробіологічних препаратів на стан та розвиток рослин, проведення імуноферментного аналізу для виявлення вірусного інфікування зразків.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив мікробіологічних препаратів на розвиток рослин покривної суміші

Проростання насіння є критичним моментом розвитку культур, що потребує уваги виробників. Передпосівна обробка біостимуляторами дозволяє надати підтримку рослинам на початковому етапі, що важливо для вегетації рослин загалом. У покривних сумішах, де вирощуються кілька різних культур, необхідна увага щодо проростання кожної з них. Дослідженнями встановлено, що обробка біоінокулянтами стимулювала проростання усіх культур у суміші, а приріст кількості пророслого насіння становив 2,5-5% до контролю при застосуванні препарату Мікофренд-т для насіння фацелії, льону, суданської трави та конюшини олександрійської (табл.1). Найвищий приріст схожості встановлено для вики ярої за обробки комплексом біопрепаратів – 7%, за обробки препаратом Мікофренд-т схожість насіння цієї культури підвищувалася на 5%. Результати попередньої оцінки впливу препаратів з використанням модифікованого пристрою (рис. 1) також продемонстрували позитивний ефект на проростання вики ярої саме при сумісній дії двох біоінокулятів.

Таблиця 3.1.

Показники схожості насіння культур в покривній суміші за обробки біоінокулянтами, %

Культура	Варіант обробки		
	Контроль	Мікофренд-т	Мікофренд-т+Біоінокулянт БТУ
Вика яра	92,5±0,2	97,5±0,2	99,7±0,2
Фацелія	72,5±0,3	75,0±0,1	-
Льон	90,0±0,2	95,0±0,2	-
Суданська трава	52,5±0,2	57,5±0,3	-
Конюшина олександрійська	87,5±0,2	90,0±0,3	-

Загалом, відомо, що колонізація рослин арбоскулярними грибами може відбуватися більш чи менш ефективно, у залежності від геномів грибів та рослин,

що вступають в симбіоз, і ця мінливість може спостерігатися навіть на рівні сортів рослин одного виду [66].

Проте, навіть присутність грибів у клітинах кортикального кореня рослини може стимулювати збільшення маси пагонів і коренів, як вважають, за рахунок формування та розвитку бічних коренів [67]. Під час обмінів гриб отримує продукти фотосинтезу рослини, натомість розгалужена мережа гіф сприяє мінералізації та відновленню необхідних поживних речовин ґрунту, таким чином підвищуючи їх біодоступність для рослини. Особливу роль арбоскулярні гриби відіграють у підвищенні біодоступності фосфору, як повідомляють, через механізм експресії генів, продукти яких реагують на неорганічний фосфат та пригнічують реакцію фосфорного голодування рослин, що характерно для ґрунтів із низьким вмістом фосфору [67].

Таким чином, при позитивному результаті інокуляції можна спостерігати посилення росту та розвитку рослин. У наших дослідженнях продемонстровано стимулюючу дію на розвиток рослин покривної суміші як окремого препарату з арбоскулярними грибами, так і комплексного застосування двох біопрепаратів, що, зокрема, показує важливість вибору цільової культури при застосуванні таких біопрепаратів (рис.3.1).

За використання біопрепаратів виявлено підвищення морфологічних показників як підземної так і надземної частини рослин покривної суміші (табл.3.2). Це спостерігали для усіх культур суміші, за винятком фацелії, для якої не виявили позитивного ефекту обробки біопрепаратами, оскільки довжина надземної частини та кореневої системи були дещо нижчі ніж у контролі. Можливо, причиною цього є нижчі фізіологічні показники насіння цієї культури, оскільки його схожість загалом була низькою.

Рис.3.1. Розвиток рослин покривної суміші за обробки насіння біоінокулянтами на 21 день після сходів. Позначення: 1 – контроль; 2 – Мікофренд-т; 3 - Мікофренд-т + Біоінокулянт БТУ

Таблиця 3.2.

Вплив біоінокулянтів на біометричні показники проростків покривних культур.

Культура	Варіанти	Показники	
		Підземна частина, мм	**Надземна частина, мм**
Фацелія	Контроль	22,2±1,5	31,4±0,8
	Мікофренд-т	20,3±1,2	30,2±1,3
Льон	Контроль	47,4±0,8	23,7±1,1
	Мікофренд-т	50,3±1,1	32,3±1,5
Суданська трава	Контроль	11,1±0,9	16,3±1,4
	Мікофренд-т	24,3±1,2	20,7±1,2
Конюшина олександрійська	Контроль	19,4±1,1	32,7±1,3
	Мікофренд-т	21,2±1,5	36,1±1,4

За обробки насіння біоінокулянтом Мікофренд–т довжина кореневої системи проростків льону та конюшини зросли на 6,0 та 9,0 % відповідно порівняно з контролем, тоді як коренева система проростків суданської трави перевищувала контрольне значення у 2 рази. Довжина надземної частини проростків льону та конюшини зросли на 35 та 10% відповідно, порівняно з контролем, а надземна частина рослин суданської трави перевищувала контрольне значення у 1,3 раза.

Стимулюючий ефект обробки на розвиток надземної та підземної частин росин також встановлено для вики ярої, яка була основною культурою досліджуваної покривної суміші. Сумісна обробка біопрепаратами підвищувала довжину кореневої системи на 53% порівняно з контролем, а при обробці Mycofriend®т – на 34%. Надземна частини рослин також розвивалася краще за сумісної обробки і її довжина зросла на 40% порівняно з контролем, тоді як обробка Mycofriend®т підвищувала цей показник на 24% (рис.3.2).

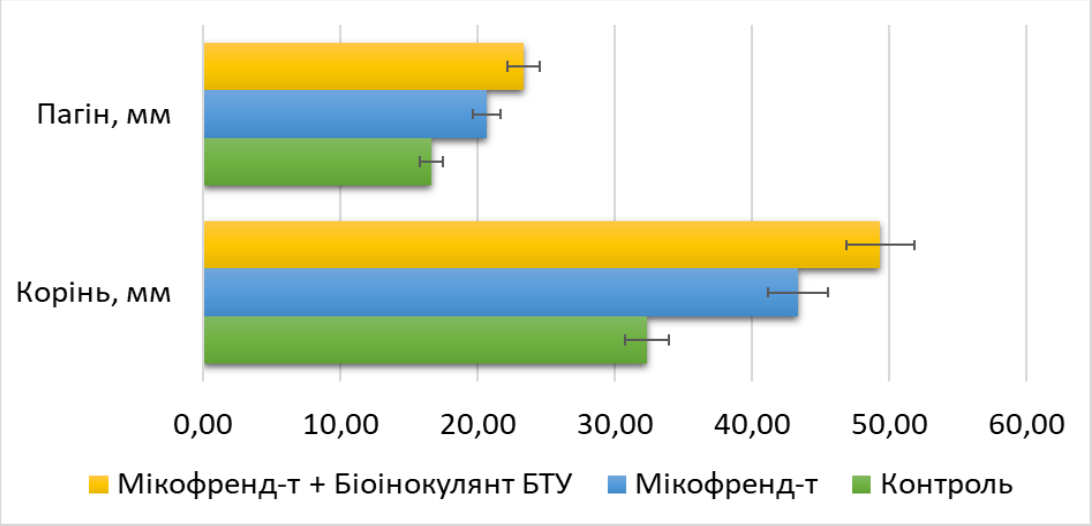

Рис. 3.2. Оцінка впливу біоінокулянтів на ріст вики ярої.

Ефективність обробки мікробіологічними інокулянтами на основі арбускулярних грибів була виявлена у польових дослідженнях при вирощуванні різних сортів вики на збіднених ґрунтах з високим вмістом кальцію в південно-східній Туреччині. У дослідженнях встановлено, що інокуляція арбускулярними мікоризними грибами зменшувала вміст вапна в ґрунті та виявлено найбільш ефективні комбінації ізолятів грибів, що позитивно впливали на біохімічні цикли вуглецю, азоту та фосфору [68]. Також продемонстровано позивний вплив

арбускулярного мікоризного гриба *Sieverdingia tortuosa* на стійкість до збудника атракнозу і посилення ростових показників кореневої системи вики звичайної. Крім того, у наших дослідженнях був використаний препарат Bioinoculant-BTU®-t, який містить бульбочкові бактерії, що мають високу схильність до колонізації рослин вики, що також сприяє посиленню розвитку кореневої системи. За сумісної обробки Мікофренд–т та Bioinoculant-BTU®-t виявили також збільшення додаткових коренів та кореневих волосків у кореневій системі рослин, що, очевидно, вплинуло на підвищення її сирої маси (рис 3.3).

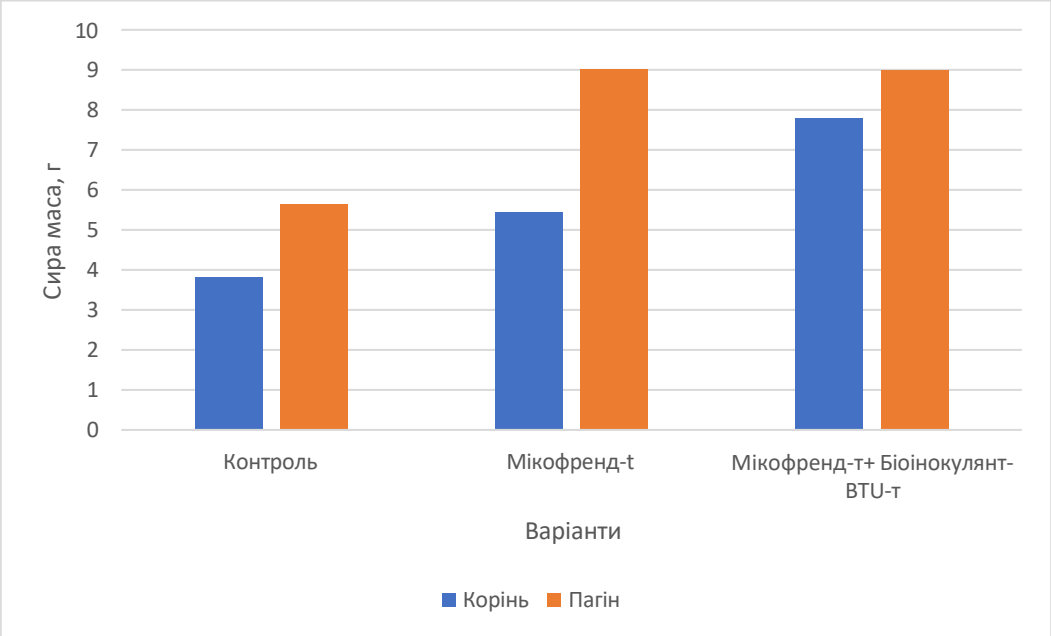

Рис. 3.3. Накопичення сирої маси рослинами покривної суміші за обробки біоінокулянтами.

Загальна сира маса надземної частини рослин при застосуванні Mycofriend®т та комплексу препаратів зростала на 60 та 59% відповідно, що демонструє стимулюючий ефект впливу інокулючих агентів на розвиток листкової поверхні та стебла рослин. Проте найбільший приріст сирої маси виявлено при аналізі даних підземної частини рослин: при застосуванні Mycofriend®+ Bioinoculant-BTU®-t цей показник зростав на 104%, тоді як при застосуванні тільки препарату Mycofriend®т приріст становив 43% до контролю. Таким чином, вплив біоінокулянтів позитивно впливав на розвиток кореневої системи у початковий період вегетації рослин.

3.2. Розвиток рослин перцю при обробці бактеріальним препаратом Органік-баланс та штучному інокулюванні ВТМ

Наразі існує вкрай мало варіантів боротьби з вірусними хворобами рослин в польових умовах, оскільки застосування інсектицидів та інших отруйних матеріалів, що пригнічують передачу вірусу переносниками, є бажаною та неминучою стратегією боротьби. В результаті невибіркового та надмірного використання інсектицидів, комахи-переносники виробили способи стійкості до них. Крім того, вірогідність рекомбінації вірусу збільшила шанси на появу високоагресивних вірусних штамів і штамів, які здатні долати генетично обумовлену резистентність у рослин шляхом руйнування резистентності [69]. Хімічні заходи боротьби безрезультатні, оскільки віруси є внутрішньо-клітинними патогенами. Профілактичні заходи включають видалення уражених рослинних решток та використання більшої кількості застосувань пестицидів для зменшення популяції комах-переносників.

Ізолят ВТМ із рослин тютюну (рис.3.4.) був перенесений штучним інокулюванням на рослини перцю. Симптоми на тютюну проявлялися у вигляді мозаїки та деформації верхніх листків.

Рис. 3.4. Рослини тютюну із симптомами вірусного ураження – мозаїки ВТМ.

Розвиток системної вірусної інфекції на рослинах перцю проявлявся у вигляді деформацій листкової пластинки – скручування країв листка угору (рис.3.5).

Рис.3.5. Скручування листя перцю – симптом вірусного ураження ВТМ.

При застосуванні препарату Органік-баланс рослини перцю добре розвивалися, що демонструє ефективність застосування цього препарату для стимулювання показників росту і розвитку (табл.3.3).

Таблиця 3.3.

Розвиток рослин перцю C. annum при обробці препаратом Органік-баланс.

Варіант досліду	Висота рослин, см	Довжина кореневої системи, см	Маса надземної частини рослин, г	Маса підземної частини рослин, г
Контроль, без препарату	10,2±0,4	8,6±0,5	3,1±0,2	2,4±0,3
Обприскування рослин	15,5±0,3	12,2±0,4	7,4±0,3	4,3±0,4

Показники сирої маси та лінійних розмірів рослин збільшувалися при застосуванні препарату Органік-баланс. Таким чином, цей препарат можна рекомендувати для застосування при вирощуванні розсади перцю.

Проте проведені дослідження наявності антигенів ВТМ у соку інокульованих рослин виявили високий вміст антигенів вірусу, який перевищував негативний контроль у 12,3 раз (рис.3.6).

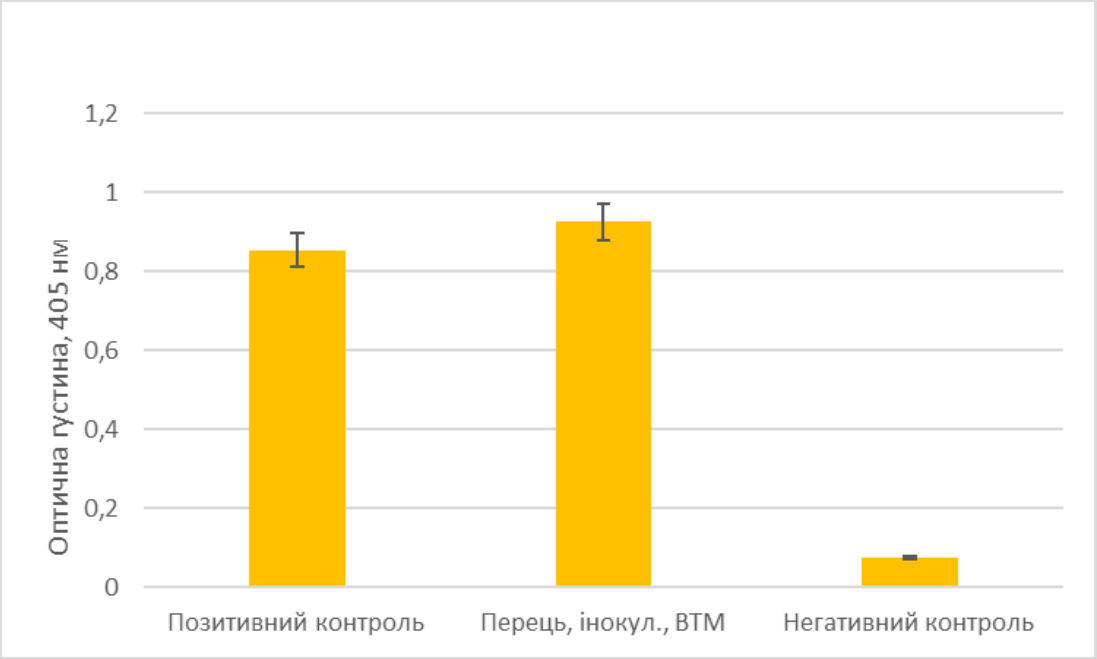

Рисунок 3.6. Вміст антигенів вірусу у соку інокульованих рослин.

Наявність високого титру антигенів у листках інфікованих рослин свідчить про активний розвиток інфекційного процесу. Таким чином, бактеріальний препарат Органік-баланс не призводить до зниження інфекційності ізоляту ВТМ. Разом з тим, у публікаціях [67] показаний ефективний інгібуючий вплив продуктів ферментації деяких ізолятів актиноміцетів на розвиток інфекції ВТМ та вірусу огіркової мозаїки. При цьому повністю знищити вірус у рослинах, очевидно, не вдавалося, проте при обробці препаратами значно знижувалась кількість рослин з проявом симптомів інфекції. Крім того, прояв симптомів захворювання значно уповільнювався при застосуванні цих біопрепартів.

Очевидно, необхідні пошуки спеціалізованих ізолятів та їх метаболітів для ефективного застосування проти вірусної інфекції рослин.

ВИСНОВКИ

1. У межах виконаної бакалаврської роботи був здійснений огляд і глибокий аналіз наукових літературних джерел щодо механізмів взаємодії вірусів із рослинами-господарями, способів переміщення вірусних частинок між клітинами, а також сучасних підходів до контролю вірусних інфекцій із використанням мікробіологічних препаратів. Узагальнено інформацію про антивірусну активність представників різних груп мікроорганізмів: актиноміцетів, ризобактерій, ендофітів і грибів, а також описано основні механізми їх дії, зокрема індуковану системну резистентність, крос-протекцію, продукування ферментів та вторинних метаболітів із вірусолітичною активністю.

2. Експериментальна частина роботи довела позитивний вплив мікробіологічних препаратів на схожість і розвиток культур покривної суміші. Так, обробка насіння препаратом «Мікофренд-т» сприяла підвищенню схожості фацелії, льону, суданської трави, конюшини та особливо вики ярої – зростання з 92,5% до 97,5%. При сумісному застосуванні препаратів «Мікофренд-т» і «Біоінокулянт-БТУ» схожість вики ярої досягла 99,7%, що свідчить про наявність синергетичного ефекту дії бактеріального комплексу. Це демонструє ефективність біопрепаратів як біостимуляторів проростання та початкового розвитку рослин.

3. Оцінка ефективності бактеріального препарату «Органік-баланс» при штучному інфікуванні рослин перцю ізолятом вірусу тютюнової мозаїки показала, що, попри вірусне навантаження, оброблені рослини мали кращий фізіологічний стан. Зокрема, висота рослин зросла на 52% у порівнянні з контролем, маса надземної частини — більш ніж удвічі, а маса кореневої системи — майже вдвічі. Це вказує на здатність бактеріального препарату підтримувати життєздатність рослин і пом’якшувати негативний вплив вірусу.

4. Для підтвердження ступеня інфекційного ураження був проведений імуноферментний аналіз, результати якого засвідчили високу концентрацію вірусного антигену в листках оброблених рослин. Оптична густина в пробах була

у 12,3 раза вищою за негативний контроль, що свідчить про активну реплікацію вірусу. Водночас зовнішні симптоми ураження у рослин, оброблених препаратом, проявлялися менш інтенсивно, що свідчить про наявність захисної або компенсаторної реакції, ймовірно, індукованої дією біоагента.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Reichel C, Mas P, Beachy RN (1999). Роль ендоплазматичного ретикулуму та цитоскелету в транспорті вірусів рослин. Trends Plant Sci 4: 458–462 с.

2. Peremyslov VV, Pan Y-W, Dolja VV (2004). Білок руху клостеровірусу – це інтегральний трансмембранний білок III типу, локалізований в ендоплазматичному ретикулумі. J Virol 78**:** 3704–3709 с.

3. Huang Z, Andrianov VM, Han Y, Howell SH (2001). Ідентифікація білків Arabidopsis, що взаємодіють з білком руху вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV). Plant Mol Biol 47: 663–675 с.

4. Fridborg I, Grainger J, Page A, Coleman M, Findlay K, Angell S (2003). TIP – новий фактор хазяїна, що пов'язує деградацію калози з міжклітинним переміщенням X вірусу картоплі. Mol Plant Microbe Interact 16: 132–140 с.

5. Citovsky V, Mclean BG, Zupan JR, Zambryski P (1993). Фосфорилювання білка міжклітинного руху вірусу тютюнової мозаїки за допомогою регульованої розвитком протеїнкінази, пов'язаної з клітинною стінкою рослин. Genes Dev 7: 904–910 с.

6. Laporte C, Vetter G, Loudes AM, Robinson DG, Hillmer S, Stussi-Garaud C, Ritzenthaler C (2003). Участь секреторного шляху та цитоскелету у внутрішньо-клітинному таргетуванні та збірці канальців білка руху вірусу віялоподібного листя виноградної лози в клітинах тютюну BY-2. Plant Cell 15: 2058–2075 с.

7. Wolf S, Deom CM, Beachy RN, Lucas WJ (1989). Рухливий білок вірусу тютюнової мозаїки змінює межу виключення розміру плазмодесматів. Science 246: 377–379 с.

8. Aoki K, Kragler F, Xoconostle-Cazares B, Lucas WJ (2002). Підклас 70 шаперонів, споріднених з рослинним тепловим шоком, несе мотив, що сприяє транспортуванню через плазмодесми. Proc Natl Acad Sci USA 99: 16342–16347 с.

9. Аграновський А.А., Фолімонов А.С., Фолімонова С.Ю., Морозов С.Ю., Шиман Дж., Лесеман Д., Атабеков Я.Г. (1998). Білок HSP70-подібний до клостеровірусу жовтого буряка опосередковує міжклітинний рух мутанта

потексвірусу з дефіцитом транспорту та химерного вірусу на основі гордеївірусу. J Gen Virol 79: 889–895 с.

10. Oparka KJ, Prior DAM, SantaCruz S, Padgett HS, Beachy RN (1997). Захист епідермальних плазмодесм обмежений переднім краєм розширюваних осередків інфекції вірусом тютюнової мозаїки. Plant J 12: 781–789 с.

11. Boyko V, Ferralli J, Ashby J, Schellenbaum P, Heinlein M (2000). Функція мікротрубочок у міжклітинному транспорті РНК рослинних вірусів. Nat Cell Biol 2: 826–832с.

12. Yang Y, Ding B, Baulcombe DC, Verchot J (2000). Міжклітинний рух білка 25K вірусу картоплі X регулюється трьома іншими вірусними білками. Mol Plant Microbe Interact 13: 599–605 с.

13. Noman A., Aqeel M., Javed M.T., Zafar S., Ali Q., Islam W., Irshad M.K., Buriro M., Kanwal H., Khalid N. Гістологічні зміни у *Hibiscus rosasinensis* сприяють акліматизації та фіторемедіації промислово забруднених ділянок.J. Anim. Plant Sci. 2017;27:1637–1648 с.

14. Rubio L., Galipienso L., Ferriol I. Виявлення вірусів рослин та боротьба з хворобами: актуальність генетичного різноманіття та еволюції. Front. Plant Sci. 2020;11:1092 с.

15. Jones R.A.C. Глобальні пандемії та епідемії вірусних хвороб рослин. Plants. 2021;10:233 с.

16. Bouizgarne B. Бактерії для стимулювання росту рослин та боротьби з хворобами. In: Maheshwari D.K., editor. Бактерії в агробіології: боротьба з хворобами. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany, 2012: 15–46 с.

17. Pandey R.N., Gandhi K.B., Manjunatha L. Оцінка актинобактерій in vitro для біоконтролю сухої кореневої гнилі та фузаріозного в'янення у нуту (*Cicer arietum L.*). J. Food Legumes. 2021;34:245–247 с.

18. Latake S.B., Borkar S.G. Характеристика морського актиноміцету, що має противірусну активність проти вірусу мозаїки огірка. Curr. Sci. 2017;113: 1442–1447 с.

19. Mohamed S.H., Galal A.M. Ідентифікація та противірусна активність деяких галотолерантних стрептоміцетів, виділених з озера Карун. Int. J. Agric. Biol. 2005;7:747–753 с.

20. Chen J., Liu H., Xia Z., Zhao X., Wu Y., An M. Очищення та структурний аналіз ефективної сполуки проти ВТМ ε-полі-L-лізину, що продукується *Streptomyces ahygroscopicus*. Molecules. 2019;24:1156 с.

21. Saritha M., Prasad N.V., Tollamadugu K.V. Останні розробки в прикладній мікробіології та біохімії. Academic Press; Cambridge, MA, USA: 2019. Стан досліджень та застосування біодобрив та біопестицидів: Global scenario; 195–207 с.

22. Ramzan M., Bushra T., Idrees A.N., Anwar K.M., Tariq M.F.A., Naila S., Abdul Q.R., Muhammad U.B., Nida T., Tayyab H. Ідентифікація та застосування агентів біоконтролю проти вірусу кучерявості листя бавовнику у Gossypium hirsutum в тепличних умовах; 2016; 30: 469–478 с.

23. Mishra S., Jagadeesh K.S., Krishnaraj P.U., Prem S. Біоконтроль вірусу кучерявості листя томатів (ToLCV) у польових умовах за допомогою препаратів *Pseudomonas sp*. з додаванням хітозану. Aust. J. Crop Sci. 2014; 8: 347–355 с.

24. Maurhofer M., Reimmann C., Schmidli-Sacherer P., Heeb S., Haas D., Défago G. Гени біосинтезу саліцилової кислоти, експресовані в штамі *Pseudomonas fluorescens p3*, покращують індукцію системної резистентності тютюну проти вірусу некрозу тютюну. Phytopathology. 1998;88:678–684 с.

25. Jetiyanon K., Fowler W., Kloepper J.W. Широкоспектральний захист від кількох патогенів за допомогою сумішей PGPR у польових умовах Таїланду. Plant Dis. 2003;87:1390–1394 с.

26. Murphy J.F., Reddy M.S., Ryu C.M., Kloepper J.W., Li R. Стимуляція росту томатів, опосередкована ризобактеріями, призводить до захисту від вірусу мозаїки огірка. Phytopathology. 2003;93:1301–1307 с.

27. Srinivasan K., Mathivanan N. Біологічний контроль хвороби, спричиненої вірусом некрозу соняшнику, за допомогою порошкових та рідких препаратів

мікробних консорціумів, що сприяють росту рослин, у польових умовах. Biocontrol. 2009;51:395–402 с.

28. Muvea A.M., Subramanian S., Maniania N.K., Poehling H.-M., Ekesi S., Meyhöfer R. Ендофітна колонізація цибулі індукує стійкість до віруліферативних трипсів та реплікації вірусу. Front. Plant Sci. 2018;9:1785.

29. Pieterse C.M.J., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., Van Wees S.C.M., Bakker P.A.H.M. Індукована системна резистентність корисними мікробами. Annu. Rev. Phytopathol. 2014;52:347–375 с.

30. Reddy A., Reddy L., Mallikarjuna N., Abdurahman M.D., Reddy Y.V., Bramel P.J., Reddy D.V.R. Визначення стійкості до вірусу некрозу бруньок арахісу у дикій зародковій плазмі арахісу. Ann. Appl. Biol. 2000;137:135–139 с.

31. Kandan A., Ramiah M., Vasanthi V.J., Radjacommare R., Nandakumar R., Ramanathan A., Samiyappan R. Використання препаратів на основі Pseudomonas fluorescens для боротьби з вірусом плямистого в'янення томатів та підвищення врожайності томатів. Biocontrol Sci. Technol. 2005;15:553–569 с.

32. Mauck K., Bosque-Pérez N.A., Eigenbrode S.D., DeMoraes C.M., Mescher M.C. Механізми передачі впливають на вплив патогенів на взаємодію хазяїна та вектора: дані про рослинні віруси. Funct. Ecol. 2012;26:1162–1175 с.

33. Schenk M.F., Hamelink R., Van der Vlugt R.A.A., Vermunt A.M., Kaarsenmaker R.C., Stijger I.C. Використання атенуйованих ізолятів вірусу мозаїки Пепіно для перехресного захисту. Eur. J.Plant Pathol. 2010;127:249–261 с.

34. Pechinger K., Chooi K.M., MacDiarmid R.M., Harper S.J., Ziebell H. Нова ера крос-протекції від легких штамів. Viruses. 2019;11:670.

35. Lee Y.M., Tscherne D.M., Yun S.I., Frolov I., Rice C.M. Подвійні механізми виключення пестивірусної суперінфекції при проникненні та реплікації РНК. J. Virol. 2005;79:3231–3242 с.

36. Pooggin M.M. Мала РНК-оміка для ідентифікації вірусів рослин, реконструкції вірому та характеристики противірусного захисту. Front. Microbiol. 2018;9:2779.

37. Sanfaçon H. Фактори трансляції рослин та стійкість до вірусів. Viruses. 2015;7:3392–3419 с.

38. Jones M.K., Watanabe M., Zhu S., Graves C.L., Keyes L.R., Grau K.R., Gonzalez-Hernandez M.B., Iovine N.M., Wobus C.E., Vinje J., et al. Кишкові бактерії сприяють інфікуванню В-клітин норовірусом людини та миші. Science. 2014;346:755–759 с.

39. Almand E.A., Moore M.D., Jaykus L.A. Взаємодія вірусів і бактерій: нова тема в історії інфекцій людини. Viruses. 2017;9:58.

40. Wang J., Wang H.Y., Xia X.M., Li P.P., Wang K.Y. Інгібуючий ефект сульфатованого лентинану та лентинану проти вірусу тютюнової мозаїки у розсаді тютюну. Int. J. Biol. Macromol. 2013;61:264–269 с.

41. Kulye M., Liu H., Zhang Y.L., Zeng H.M., Yang X.F., Qiu D.W. Hrip1 – новий білок-еліситор з некротрофного грибка *Alternaria tenuissima* викликає загибель клітин, експресію генів, пов'язаних із захистом, та системну набуту резистентність у тютюну. Plant Cell Environ. 2012;35:2104–2120 с.

42. Shen S., Li W., Ouyang M., Wu Z., Lin Q., Xie L. Ідентифікація двох морських грибів та оцінка їхньої антивірусної та протипухлинної активності. Acta Microbiol. Sin. 2009;49:1240–1246 с.

43. Kolase S.V., Sawant D.M. Виділення та ефективність противірусних компонентів з Trichoderma spp. проти вірусу тютюнової мозаїки на томатах. J. Maharashtra Agric. Univ. 2007;32:108–110 с.

44. Magarvey N.A., Keller J.M., Bernan V., Dworkin M., Sherman D.H. Виділення та характеристика нових таксонів актиноміцетів морського походження, багатих на біоактивні метаболіти. Appl. Environ. Microbiol. 2004;70:7520–7529 с.

45. Galal A.M. Індукція системної набутої стійкості у рослин огірка проти кукумовірусу огіркової мозаїки місцевими штамами *Streptomyces*. Plant Pathol. J. 2006;5:343–349 с.

46. Zhang G.Q., Han L.R., Zhang G.F., Zhang X., Feng J.T. Очищення та характеристика нового глікопротеїну зі Streptomyces sp. ZX01. Int. J. Biol. Macromol. 2015;78:195–201 с.

47. Askora A.A. Ph.D. Антифітовірусні дослідження з деяких ізолятів актиноміцетів. Thesis. Zagazig University; Zagazig, Egypt: 2005 р.

48. Phatak H.C., Batra H.K. Вплив полемічних антибіотиків (пентаєну G8, що продукуються Streptomyces anandi) in vitro на віруси TMV та SMV. Indian. J. Microbiol. 1966;6:49–50 с.

49. Vanthana M., Nakkeeran S., Malathi V.G., Renukadevi P., Vinodkumar S. Індукція стійкості рослин *Bacillus amyloliquefaciens* за допомогою флагеліну і фактора елонгації-TU проти вірусу некрозу бруньок арахісу в томатах. Microb. Pathog. 2019;137:103757.

50. Betto E., Conti G.G., Vegetti G. Alcuni aspetti delle' interazioni virus-piantaospitestudiati con radioisotopl; Proceedings of the VIII Symposium International Agrochimica su L' Energia Nucleare in Agricoltura; Venice, Italy. 1971.pp. 123–133 с.

51. Zhou W.W., Zhang X.L., Zhang B., Wang F., Liang Z.H., Niu T.G. Виділення та характеристика ZH14 з противірусною активністю проти вірусу тютюнової мозаїки. Can. J. Microbiol. 2008;54:441–449 с.

52. Cortes-Sanchez A.J., Hernandez-Sanchez H., Jaramillo-Flores M.E. Біологічна активність гліколіпідів, що продукуються мікроорганізмами: нові тенденції та можливі терапевтичні альтернативи. Microbiol. Res. 2013; 168: 22–32 с.

53. McGrann G.R., Grimmer M.K., Mutasa-Gottgens E.S., Stevens M. Прогрес у розумінні та контролі ризоманії цукрових буряків. Mol. Plant Pathol. 2009;10:129–141 с.

54. Ryu C.M., Murphy J.F., Mysore K.S., Kloepper J.W. Ризобактерії, що стимулюють ріст рослин, системно захищають *Arabidopsis thaliana* від вірусу огіркової мозаїки за допомогою сигнального шляху, незалежного від саліцилової кислоти та NPR1, а також залежного від жасмонової кислоти.. Plant J. 2004;39: 381–392 с.

55. Синдаровська Ю.Р., Гузик О.І., Юзвенко Л.В., Демченко О.А., Діденко Л.Ф., Гриневич О.І., Співак М.Й. Рибонуклеазна активність сортів рослин гречки (Fagopyrum esculentum) з різною чутливістю до вірусу опіку гречки. Укр. біохім. ж. 2014;86:33–40 с.

56. Milosevic S., Simonovic A., Cingel A., Nikolic D., Ninkovic S., Subotic A. Введення dsRNA-специфічної рибонуклеази pac1 у *Impatiens walleriana* забезпечує стійкість до вірусу плямистого в'янення томатів. Sci Hortic. 2013;164:499–506 с.

57. Pakniat-Jahromy A., Behjatnia S.A., Dry I.B., Izadpanah K., Rezaian M.A. Нова стратегія створення рослин, стійких до гемінівірусу, з використанням конструкції ДНК-бета-сателіт/розщеплена барназа. J. Virol. Methods. 2010;170:57–66 с.

58. Сорокіна Є.В. Toll-подібні рецептори та первинне розпізнавання патогенів при інфекційній та неінфекційній шкірній патології. Інст. ж. імунопатології. 2012;2:6–15 с.

59. Glick B.R. Бактерії, що стимулюють ріст рослин: механізми та застосування. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica; London, UK: 2012.

60. Макарова С.С., Макаров В.В., Тальянський М.Є., Калініна Н.О. Стійкість до вірусів картоплі: сучасний стан та перспективи. Вавілов, Ж. Жене. Порода. 2017;21:62–73 с.

61. Dempsey D.M.A., Vlot A.C., Wildermuth M.C., Klessig D.F. Біосинтез та метаболізм саліцилової кислоти. Arab. Book Am. Soc. Plant Biol. 2011;9:e0156.

62. Kong H.G., Shin T.S., Kim T.H., Ryu C.M. Стереоізомери бактеріальної леткої сполуки 2,3-бутандіолу по-різному викликають системні захисні реакції перцю проти численних вірусів у польових умовах. Front. Plant Sci. 2018;9:90.

63. Harish S. Молекулярна біологія та діагностика вірусу бананової грудки та його боротьба за допомогою індукованої системної резистентності. PhD Thesis. Tamil Nadu Agricultural University Coimbatore; Tamil Nadu, India: 2005.

64. Abo-Zaid G.A., Matar S.M., Abdelkhalek A. Індукція стійкості рослин до вірусу тютюнової мозаїки за допомогою біоконтрольного агента *Streptomyces cellulosae* ізоляту Actino 48. Agronomy. 2020;10:1620 с.

65. Shahzad G.I.R., Passera A., Maldera G., Casati P., Marcello I., Bianco P.A. Біоконтрольний потенціал ендофітних бактерій, що стимулюють ріст рослин, проти фітопатогенних вірусів: молекулярна взаємодія з рослиною-господарем та порівняння з хітозаном. Int. J. Mol. Sci. 2022;23:6990.

66. Manjunatha, L., Rajashekara, H., Uppala, L. S., Ambika, D. S., Patil, B., Shankarappa, K. S., Nath, V. S., Kavitha, T. R., & Mishra, A. K. (2022). Механізми мікробного захисту рослин та контроль вірусів рослин. Plants, 11(24), 3449.

67. Xing Z., Li-Rong H., Da-Wei Z., Bing-Nian J., Jun-Tao F. Анти-TMV активність продукту ферментації актиноміцетів штаму ZX01. J. Northwest A. F. Univ. 2012;1:30–36с.

68. Chen J., Liu H., Xia Z., Zhao X., Wu Y., An M. Очищення та структурний аналіз ефективної сполуки проти вірусу BTM ε-полі-L-лізину, що продукується *Streptomyces ahygroscopicus*. Molecules. 2019;24:1156 с.

69. Latake S. B., Borkar S. G. Характеристика морського актиноміцету, що має противірусну активність проти вірусу огіркової мозаїки. Current Science (2017), Vol. 113, N. 7, 10

ДОДАТКИ

Додаток А

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ
І ЕКОЛОГІЇ

ЗБІРНИК

матеріалів доповідей

XI МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ, АСПІРАНТІВ І МОЛОДИХ ВЧЕНИХ

«ЕКОЛОГІЯ – ФІЛОСОФІЯ ІСНУВАННЯ ЛЮДСТВА»

23-24 квітня 2025 р.

Київ – 2025

ЗМІСТ

Агоштон Д.І., Глушко К.В., Паламарчук С.П.
СВІТОВИЙ ТА ЄВРОПЕЙСЬКИЙ ДОСВІД ПРОВЕДЕННЯ ОВД..... 10

Апонюк Д.І., Бережняк Є.М.
МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ВИЗНАЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ СТІЙКОСТІ АГРОЕКОСИСТЕМ..... 11

Бакумова К.С.
ВПЛИВ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК НА СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО..... 13

Balakleinko M.V., Yurasov S.M.
THE CONCEPT FOR REDUCING DUST DISPERSAL WHEN HANDLING BULK CARGO IN SEAPORTS..... 15

Балісевич О.Є., Таран О.П.
РОЗВИТОК РОСЛИН ПЕРЦЮ ПРИ ОБРОБЦІ БАКТЕРІАЛЬНИМ ПРЕПАРАТОМ ОРГАНІК-БАЛАНС ТА ШТУЧНОМУ ІНОКУЛЮВАННІ ВТМ..... 17

Бережняк Є.М., Комашко К.Ю.
ОЦІНКА АНТРОПОГЕННОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ЛАНДШАФТІВ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДИЧНИХ ПІДХОДІВ П.Г. ШИЩЕНКА..... 19

Бєбнєва Є.Р., Боголюбов В.М.
КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ РЕЗУЛЬТАТАМИ ВИМІРЮВАНЬ МОНІТОРИНГОВИХ СТАНЦІЙ ТА ФІТОІНДИКАЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЯКОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ..... 21

Боровик А.В., Бережняк Є.М.
ЗНАЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ..... 23

Бровко Д.Ю., Бережняк Є.М.
НЕОБХІДНІСТЬ ОЦІНЮВАННЯ ЗБИТКІВ, ЗАВДАНИХ ЕКОСИСТЕМАМ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ, УНАСЛІДОК ВОЄННИХ ДІЙ..... 25

Везовик О.В., Ладика М.М.
ЕКОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ СТІЧНИХ ВОД НА ПІДПРИЄМСТВАХ ЗАЛІЗНИЧНОЇ ІНФРАСТРУКТУРИ..... 28

Вилегжаніна Л.В., Субін О.В.
ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНИХ РОСЛИН РОДУ *LILIUM*..... 30

Гапоненко А.М., Бондарь В.І.
ДОСЛІДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИН БОБОВИХ ТА КАПУСТЯНИХ ДЛЯ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ СВИНЦЮ У ҐРУНТІ..... 32

Гарячий І.В., Кудрявицька А.М.
ЕКОЛОГІЧНІ РИЗИКИ ПІД ЧАС ЕКСПЛУАТАЦІЇ АВТОМОБІЛЬНИХ ДОРІГ..... 34

Гаць А.К.
АНАЛІЗ ПРОГНОЗОВАНИХ РИЗИКІВ ПОГІРШЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ Р. УНАВА..... 36

УДК 633.841:606

РОЗВИТОК РОСЛИН ПЕРЦЮ ПРИ ОБРОБЦІ БАКТЕРІАЛЬНИМ ПРЕПАРАТОМ ОРГАНІК-БАЛАНС ТА ШТУЧНОМУ ІНОКУЛЮВАННІ ВТМ

Балісевич О.Є., студентка 4 курсу, факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

Таран О.П., кандидат біологічних наук, ст. викладач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

Національний університет біоресурсів і природокористування України

В умовах глобального поширення вірусних хвороб сільськогосподарських культур, зокрема представників родини пасльонових, найбільш гостро постає проблема проведення контролю вірусної інфекції. Традиційні хімічні засоби захисту виявляються неефективними щодо внутрішньоклітинних патогенів, таких як вірус тютюнової мозаїки (ВТМ), а також сприяють формуванню стійкості у комах-переносників [1]. У зв'язку з цим, надзвичайно актуальними є дослідження, спрямовані на біологізацію захисту рослин з використанням мікробіологічних препаратів, які потенційно здатні стимулювати ріст і розвиток рослин та впливати на перебіг вірусної інфекції.

Метою дослідження була оцінка впливу бактеріального препарату Органік-баланс на морфометричні показники розвитку рослин перцю (*Capsicum annuum* L.) та встановлення його потенційної можливості модулювати прояв симптомів і рівень інфікування при штучному інокулюванні ізолятом вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ).

У рамках дослідження використано рослини перцю (*Capsicum annuum L.*) сорту Білозірка. Насіння пророщували в лабораторних умовах, після чого висівали у стандартні

контейнери для розсади. На етапі формування 5-6 справжніх листків проводили інокуляцію рослин ізолятом вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ).

Для оцінки ефективності біологічного препарату було здійснено обробку рослин препаратом Органік-баланс у комбінації з Ліпосаном, з наступною інокуляцією ВТМ та інокуляцію рослин ВТМ без попередньої обробки препаратом.

Обробку біопрепаратом виконували за допомогою обприскування з інтервалом у 10 днів до моменту інокуляції. Препарат Органік-баланс містив комплекс мікроорганізмів, зокрема *Bacillus subtilis, Azotobacter chroococcum, Paenibacillus polymyxa*, природні сапрофітні гриби, а також біологічно активні речовини, вітаміни, ферменти та стабілізатори.

Упродовж експерименту здійснювалося спостереження за ростом і розвитком рослин, а також моніторинг появи симптомів вірусної інфекції. Для підтвердження присутності вірусного агенту використовували метод імуноферментного аналізу (ІФА) на наявність антигенів ВТМ у соку рослин.

Отримані результати свідчать про суттєвий вплив біопрепарату Органік-баланс на біометричні показники рослин перцю. У дослідному варіанті зафіксовано збільшення висоти рослин (до 15,5±0,3 см), довжини кореневої системи (12,2±0,4 см), а також маси надземної (7,4±0,3 г) та підземної частини (4,3±0,4 г) у порівнянні з контролем, де відповідні показники становили 10,2±0,4 см, 8,6±0,5 см, 3,1±0,2 г та 2,4±0,3 г відповідно. Це вказує на ефективну стимуляцію ростових процесів завдяки дії препарату.

Разом з тим, дані ІФА показали, що вміст антигенів ВТМ у рослинах, інокульованих вірусом, залишався високим незалежно від обробки біопрепаратом. Зокрема, титр антигенів у дослідному варіанті перевищував контроль у 12,3 рази. Це свідчить про те, що Органік-баланс не забезпечує зниження вірусного навантаження у тканинах. Таким чином, хоча препарат і стимулює ріст і розвиток рослин, він не має прямої противірусної активності щодо ВТМ. У світлі наявних публікацій, що демонструють інгібуючу дію деяких представників актиноміцетів [2-4], перспективним напрямом є пошук спеціалізованих мікробних ізолятів, здатних продукувати антивірусні метаболіти та знижувати патогенність вірусів на клітинному рівні.

Список використаних джерел

1. Manjunatha, L., Rajashekara, H., Uppala, L. S., Ambika, D. S., Patil, B., Shankarappa, K. S., Nath, V. S., Kavitha, T. R., & Mishra, A. K. (2022) Mechanisms of Microbial Plant Protection and Control of Plant Viruses. Plants, 11(24), 3449. https://doi.org/10.3390/plants11243449

2. Xing Z., Li-Rong H., Da-Wei Z., Bing-Nian J., Jun-Tao F. (2012) Anti-TMV activity of the fermentation product of actinomycetes strain ZX 01. J. Northwest A. F. Univ.1:30–36.

3. Chen J., Liu H., Xia Z., Zhao X., Wu Y., An M. (2019) Purification and structural analysis of the effective anti-TMV compound ε-Poly-L-lysine produced by Streptomyces ahygroscopicus. Molecules.;24:1156. https://www.mdpi.com/1420-3049/24/6/1156

4. Latake S. B., Borkar S. G. (2017) Characterization of Marine Actinomycete having Antiviral Activity against Cucumber Mosaic Virus. Current Science, Vol. 113, N. 7, 10. https://www.jstor.org/stable/26493051