

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 3 рази на рік
Заснований у липні 2006 року

№ 2(64)
2025

Одеса
ОНУ
2025

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Ідентифікатор у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R30-01955
(Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення № 1548 від 23.11.2023 р.)

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР
В. О. Іваниця (Одеса, Україна)
ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА
Т. О. Філіпова (Одеса, Україна)
ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
А. Анадон (Мадрид, Іспанія), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), А. І. Вінніков (Дніпро, Україна),
Б. М. Галкін (Одеса, Україна), Г. О. Іутинська (Київ, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна),
І. К. Курдиш (Київ, Україна), І. П. Метеліцина (Одеса, Україна), Ф. Моцці (Тукуман, Аргентина),
І. І. Панчук (Чернівці, Україна), М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна),
Л. М. Сківка (Київ, Україна), Л. Ф. Суходуб (Суми, Україна), Ф. І. Товкач (Київ, Україна),
Н. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються
Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова

Відповідно до наказу МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).

Видання реферується та індексується у таких базах даних: «Україніка наукова»,
Index Copernicus International Journals Master List, Наукова періодика України
(Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's Periodicals
Directory, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету
імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.urau.ua), Google
Академія, BASE Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, Наукова
електронна бібліотека e-LIBRARY, InfoBase Index.

Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко

Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, м. Одеса, 65082, Україна.
Тел.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2025

Establisher

Odesa I. I. Mechnikov National University.

Identifier in the Registry of Media: R30-01955

(Resolution of the National Council of Television and Radio Broadcasting of Ukraine No 1548 dated 23.11.2023)

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

A. Anadon (Madrid, Espana), N. Chanishvili (Tbilisi, Georgia), B. M. Galkin (Odesa, Ukraine), G. O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L. V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), I. K. Kurdish (Kyiv, Ukraine), I. P. Metelitsyna (Odesa, Ukraine), F. Mozzi (Tucuman, Argentina), I. I. Panchuk (Chernivtsi, Ukraine), M. V. Patyka (Kyiv, Ukraine), V. S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), L. M. Skivka (Kyiv, Ukraine), L. F. Sukhodub (Sumy, Ukraine), F. I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L. D. Varbanets (Kyiv, Ukraine), A. I. Vinnikov (Dnipro, Ukraine).

Scientific Editor V. O. Ivanytsia

All articles accepted for publishing are subject to peer review

Approved for publishing by the Academic Council of

Odesa I. I. Mechnikov National University

As per Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No 1301 dated 15.10.2019 the journal is included in the List of Specialist Scientific Publications of Ukraine (Category "B").

The journal is abstracted and indexed in the following databases: "Ukrainica Scientific", Index Copernicus International Journals Master List, Scientific Periodicals of Ukraine (V. I. Vernadskyi National Library of Ukraine), Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Periodicals of Ukraine (journal.urau.ua), Odesa I. I. Mechnikov National University's Electronic Archive-Repository, Google Scholar, BASE Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, e-LIBRARY, InfoBase Index.

Editors: T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa I. I. Mechnikov National University,

2 Vsevoloda Zmiienka St, Odesa, 65082, Ukraine.

Tel.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa I. I. Mechnikov
National University, 2025

ЗМІСТ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

А. Г. Мерліч, Н. В. Бачинський, К. С. Петренко, Г. В. Лісютін, В. О. Іваниця ОПТИМІЗАЦІЯ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ БАКТЕРІОЦИНУ <i>ENTEROCOCCUS ITALICUS</i> ОНУ 547 ЗА ДОПОМОГОЮ АНІОНООБМІННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ	6
---	---

О. Д. Масловська, С. Я. Комплікєвич, В. Г. Буняк, О. М. Мороз, С. О. Гнатуш ФІТОСТИМУЛЮВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕТАЛОРЕЗИСТЕНТНИХ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ З РИЗОСФЕРИ <i>COLOBANTHUS QUITENSIS</i> (KUNTH) BARTL. (О. ДЕСЕПШН, МОРСЬКА АНТАРКТИКА)	16
---	----

Н. І. Теслюк, К. О. Шульга, Т. В. Іваниця, К. Я. Жиловська ОПТИМІЗАЦІЯ СХЕМИ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ЕКСПЛАНТІВ ТА ФІТОГОРМОНАЛЬНОГО СКЛАДУ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВВЕДЕННЯ КУКУРУДЗИ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i>	32
--	----

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

Є. Л. Кур'янінов, О. Ю. Зінченко АНТИМІКРОБНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КУЛЬТИВОВАНИХ ГРИБІВ: ОГЛЯД ДОСЛІДЖЕНЬ ОСТАНЬОГО ДЕСЯТИЛІТТЯ	47
--	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	64
---	----

CONTENTS

EXPERIMENTAL WORKS

**A. G. Merlich, N. V. Bachynskyi, K. S. Petrenko,
G. V. Lisiutin, V. O. Ivanytsia**

OPTIMIZATION OF ISOLATION AND PURIFICATION OF THE BACTERIOCIN
FROM *ENTEROCOCCUS ITALICUS* ONU 547 BY ANION-EXCHANGE
CHROMATOGRAPHY 6

**O. D. Maslovska, S. Y. Komplikevych, V. H. Buniak,
O. M. Moroz, S. O. Hnatush**

PLANT GROWTH-PROMOTING PROPERTIES
OF HEAVY METAL RESISTANT BACTERIA ISOLATED FROM
THE RHIZOSPHERE OF *COLOBANTHUS QUITENSIS* (KUNTH) BARTL.
(DESEPTION ISLAND, MARITIME ANTARCTICA) 16

**N. I. Tesliuk, K. O. Shulha, T. V. Ivanytsia,
K. Y. Zhylovska**

OPTIMIZATION OF EXPLANT STERILIZATION PROTOCOL
AND PHYTOHORMONAL COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM
FOR ESTABLISHMENT OF MAIZE IN VITRO CULTURE 32

OBSERVATION ARTICLES

Ye. L. Kurianinov, O. Yu. Zinchenko

THE ANTIMICROBIAL PROMISE OF CULTIVATED MUSHROOMS:
A REVIEW OF THE LAST DECADE'S FINDINGS 47

INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS 64

A. G. Merlich, N. V. Bachynskyi, K. S. Petrenko,
G. V. Lisiutin, V. O. Ivanytsia

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +380964367403, e-mail: andriymerlich@gmail.com

OPTIMIZATION OF ISOLATION AND PURIFICATION OF THE BACTERIOCCIN FROM *ENTEROCOCCUS* *ITALICUS* ONU 547 BY ANION-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY

Aim. The aim of the work was to optimize isolation and purification of the bacteriocin from *E. italicus* ONU 547, which has biotechnological potential by low pressure anion exchange chromatography. **Methods.** Anion exchange chromatography by the BioLogic LP system with the cartridge Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q was used for isolation of the bacteriocin from the culture liquid and for its partial purification. Two-step and three-step elution protocols were tested in order to increase yield of the bacteriocin and its purity. **Results.** The bacteriocin from culture liquid of *E. italicus* ONU 547 (320 AU/mL) was isolated and partially purified by anion-exchange chromatography with low-pressure system. The slightly alkaline hydrogen potential (pH = 8.0) of culture liquid and mobile phase was suitable for effective binding of the bacteriocin to the column with a positive charged matrix. The two-step (10% and 100% Buffer B with 1 M NaCl) elution procedure resulted in 4.4% yield of the bacteriocin, while three-step elution (10%, 50% and 100%) – 5%. The simplified procedure for bacteriocin isolation and purification is proposed. **Conclusions.** Low pressure anion-exchange chromatography with pH 8.0 of the mobile phase is effective for isolation of the bacteriocin directly from culture liquid of *E. italicus* ONU 547 and for its partial purification. Three-step elution procedure with 10%, 50% and 100% 1M NaCl leads to higher purity and yield of the bacteriocin.

Key words: bacteriocin, *Enterococcus italicus*, anion exchange chromatography, peptide purification.

The problem of antibiotic resistance due to growing number of bacterial strains which are not sensitive to known antibiotics is one of the most important challenges in modern medicine worldwide which leads to 700000 deaths every year [1]. Among the infections caused by bacterial strains resistant to antibiotics, skin and wound infections, including with purulent complications are especially spread. The major pathogens are methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* [8, 11].

The increasing problem of antibiotic resistance in pathogenic bacteria led to search their possible alternative and ones of the most important among them are

© А. Г. Мерліч, Н. В. Бачинський, К. С. Петренко, Г. В. Лісютін, В. О. Іваниця, 2025



bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB) [1, 10]. Bacteriocins are antimicrobial peptides or proteins which are synthesized by ribosomes and show inhibitory activity against different species of bacteria [10].

In our previous research the bacteriocin from the strain *Enterococcus italicus* ONU 547 was partially purified and characterized. It showed promising inhibitory activity against some opportunistic pathogens, including wound infections. However, the tested classical four-step purification procedure, which included precipitation by 70% ammonium sulfate, ion-exchange chromatography and hydrophobic chromatography performed by Sep-Pak vacuum cartridges followed by reversed-phase high performance liquid chromatography, was not effective to obtain this antimicrobial compound [9]. Moreover, this procedure is complex and rather expensive. Unlike this approach, the ion-exchange chromatography alone looks much simpler and according to the literature data can result in high bacteriocin yield [10].

The information on bacteriocins from *E. italicus* species is scarce and only several publications can be found in scientific literature [5, 9]. To study bacteriocins from a theoretical and practical point of view their purification always is needed [10]. Moreover, one of the major drawbacks for usage of bacteriocins in clinical practice is low yield and high price of bacteriocin preparations. To make bacteriocin production possible in large-scale and cost-effective the known purification procedures have to be simplified [1].

Thus, the aim of this work was to optimize isolation and purification of the bacteriocin from *E. italicus* ONU 547, which has biotechnological potential by low pressure anion exchange chromatography

Materials and methods

The LAB strain *E. italicus* ONU 547 was used as a bacteriocin producer. This strain was isolated in our previous work from fermented plant material and for which the ability to produce a bacteriocin with a biotechnological potential was established [9].

As an indicator strain to determine the activity of the bacteriocin before and after purification, *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 was used with known sensitivity to this antimicrobial compound [9].

The strains were stored at -80°C with 20% glycerol and activated by subculture in MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) broth at 37°C for 24 hours [3].

To obtain culture liquid from *E. italicus* ONU 547 with the bacteriocin the producer strain was inoculated in 200 mL and cultivated at 37°C for 24 hours. After incubation, the culture was centrifuged at $10,000 \times g$ ($+4^{\circ}\text{C}$, 10 min). The pH of the collected supernatant (CFS) was adjusted to 7.0 using 1 M NaOH [7].

The activity of the bacteriocin in the CFS was determined by the agar well diffusion assay against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 (10^6 cells/mL) with two-fold serial dilutions in 0.2 M potassium phosphate buffer according to [6]. The same phosphate buffer and MRS broth were used as controls.

The amount of arbitrary units of the bacteriocin activity per mL (AU/mL) was determined by the following formula:

$$\frac{\text{AU}}{\text{mL}} = (1000 \div V) \times D,$$



where: V – volume of the sample poured into the well (50 μ L), D – the last dilution that still results in the appearance of inhibitory activity against the indicator strain [6].

The isolation of the bacteriocin directly from the CFS and its purification were carried out using anion exchange chromatography with a BioLogic LP chromatography system and a Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q Cartridge (BioRad, USA). Liquid chromatography was performed according to [4, 6] with significant modifications.

The Buffer A (20 mM Tris-HCl, pH 8.0) and the Buffer B (20 mM Tris-HCl, 1 M NaCl, pH 8.0) were used as the mobile phase at a flow rate of 1 mL/min [4]. The pH of the prepared buffers was adjusted to 8.0 with concentrated HCl. Then, the prepared solutions were filtered and degassed using an acetate filter and a Bunsen flask with a New Aspiret vacuum pump (Ca-Mi, Italy).

Thereafter, the pH of the CFS was adjusted to 8.0 using 1 M NaOH to provide the bacteriocin with a surface negative charge and filtered through a MillexGS MF-Millipore MCE Membrane syringe filter (Merck, Germany) with a pore diameter of 0.22 μ m.

The chromatographic system was first washed with deionized water, then the Buffer A was passed through the system to measure its conductivity. After that, the column was activated with the Buffer B and equilibration was performed with the Buffer A. After stabilization the conductivity parameters, 2 mL of the filtered CFS were loaded into the sample loop and introduced to the column by the Buffer A. The same buffer was also used to wash the column

In order to optimize purification process the two elution protocols were tested. The first one was the two-step elution procedure with 10% Buffer B followed by 100%. The second elution protocol included three-step elution with 10%, 50%, and 100% Buffer B.

Each time after the increase in optical density, 1 mL samples were collected using a fraction collector into plastic microtubes and concentrated twice by evaporation using a TECHNE concentrator (Cole-Parmer, Germany) at 60 °C and nitrogen. As controls, CFS was used, which was loaded into the column, as well as Buffers A and B. After concentration, the samples were cooled, adjusted to neutral pH and tested for antimicrobial activity by the agar well diffusion assay, as described above. The active fractions after elution were pooled, two-fold serially diluted and tested for inhibitory activity to determine AU/mL, which depends on the protein concentration, as mentioned above. Yield of the bacteriocin was calculated based on sample volumes and AU/mL. The experiments were performed three times.

Results and discussion

Preparation of CFS containing bacteriocin

At the beginning of the study, 200 mL of CFS from *E. italicus* ONU 547 with inhibitory activity 320 AU/mL against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 were obtained. The CFS with inhibitory activity of the same level was obtained in our previous work [9] indicating stable bacteriocin synthesis of this enterococci strain, even after long storage.



The presence of inhibition against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 in our experiments indicated only the activity of the antibacterial peptide, as was confirmed in our previous study by treatment of CFS with Proteinase K [9]. The AU/mL can allow suppose concentration of a bacteriocin without other sophisticated methods. This approach is standard in the study of LAB bacteriocins [6, 7]. It is known that bacteriocins, which are proteins or peptides by their chemical nature, exhibit antibacterial properties [2].

Isolation and purification of the bacteriocin by the ion-exchange chromatography with two-step elution

In order to optimize the purification of the bacteriocin from *E. italicus* ONU 547, the anion exchange chromatography method with the BioLogic LP chromatography system was used. The Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q Cartridge column (BioRad, USA) was chosen as the stationary phase. Two elution options were tested: the first involved two steps, which were performed with 10% and 100% Buffer B, and the second involved three steps, performed with 10%, 50% and 100% of this solution.

As a result of the two-step elution procedure a chromatogram with four peaks was obtained (Fig. 1). The first peak, with a R_t of 0-5 min, corresponds to the stage of sample loading, the second and third with a time of 25 and 35 min – to the first elution (10% Buffer B), and the fourth, which was the largest peak and which appeared at 40 min of the experiment, corresponded to the second elution performed with 100% Buffer B.

The fractions were collected when increase in absorbance was observed on the chromatogram (green dots) and their antimicrobial activity was tested against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 in order to detect the bacteriocin. It was found that

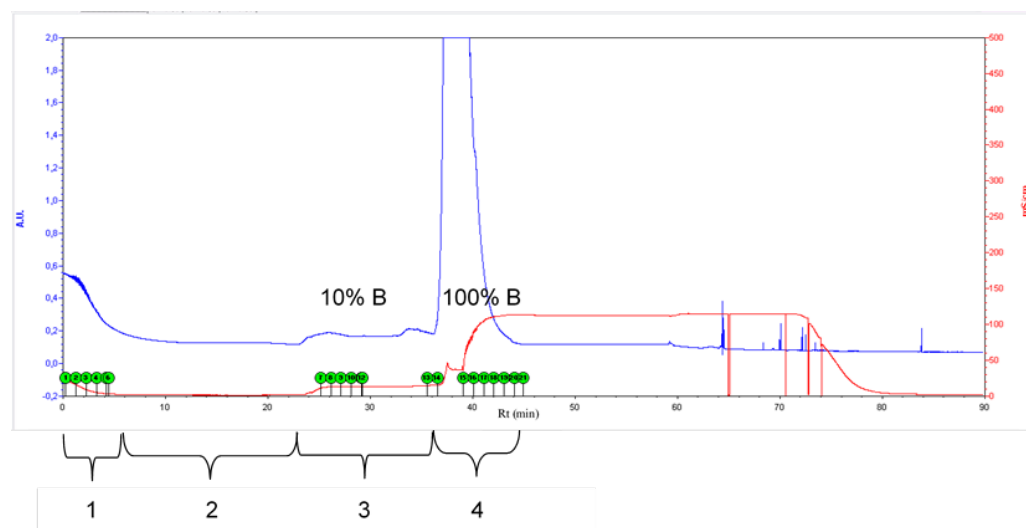


Fig. 1. Chromatogram of the purification process of the bacteriocin from *E. italicus* ONU 547 by anion exchange chromatography with two elution steps

Footnote: 1 – sample loading step, 2 – washing step, 3 – first elution step,
4 – second elution step

— absorbance, — conductivity



the highest antimicrobial activity and, accordingly, the highest concentration of the bacteriocin, were present in fractions №18 and 19 collected at 42 and 43 min of the experiment, respectively (Fig. 2). These fractions were collected at the second step of elution, which was carried out with 100% Buffer B. Therefore, only part of the fourth peak corresponds to the studied bacteriocin, and the rest of it is represented by other contaminant proteinaceous compounds, which were eliminated during the purification process.

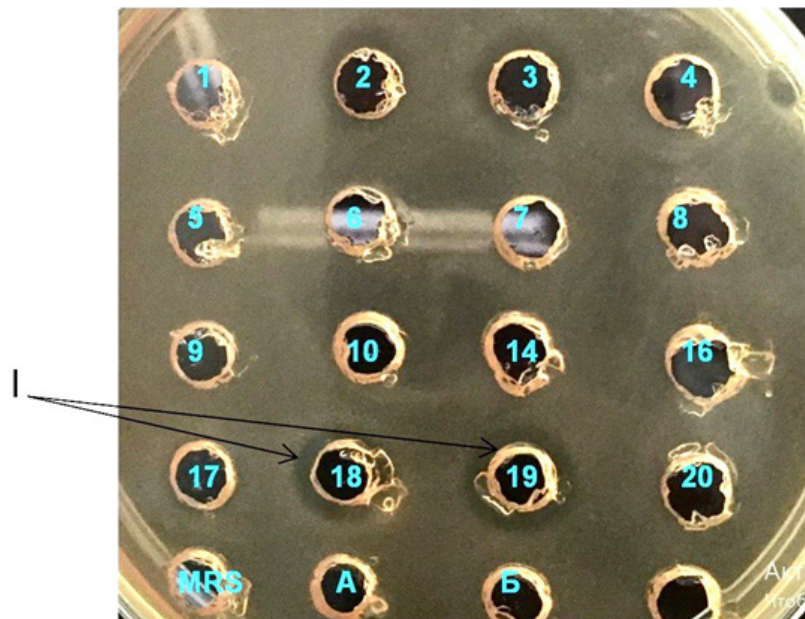


Fig. 2. Results of testing the antimicrobial activity of fractions obtained after anion exchange chromatography with two-step elution (10%, 100% Buffer B) against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157

Footnote: 1–6: sample loading step, 7–10: first elution step, 14, 16–20: second elution step; MRS – MRS broth, A – Buffer A, B – Buffer B (controls); I – zones of growth inhibition of the sensitive indicator strain

In addition, antimicrobial activity and, accordingly, the bacteriocin were absent in two peaks corresponding to the first elution step, which indicates that they are represented by other peptides or proteins. The absence of an increase in optical density during the washing step indicates a strong binding of this biomolecule under the study conditions to the column matrix by electrostatic interactions and, accordingly, the correct selection of the pH value of the CFS and buffers to provide the bacteriocin with a surface negative charge, which was slightly alkaline (8.0).

The two active fractions were pooled together resulted in a sample “EI” of 0.35 mL volume with 80 AU/mL.

Partial purification of the bacteriocin by the three-step elution procedure

The second variant of ion-exchange chromatography involved three elution steps by sequentially passing through the system 10%, 50%, and 100% Buffer B. As a result of the experiment, three peaks were observed on the obtained chromatogram, corresponding to the elution steps (Fig. 3).

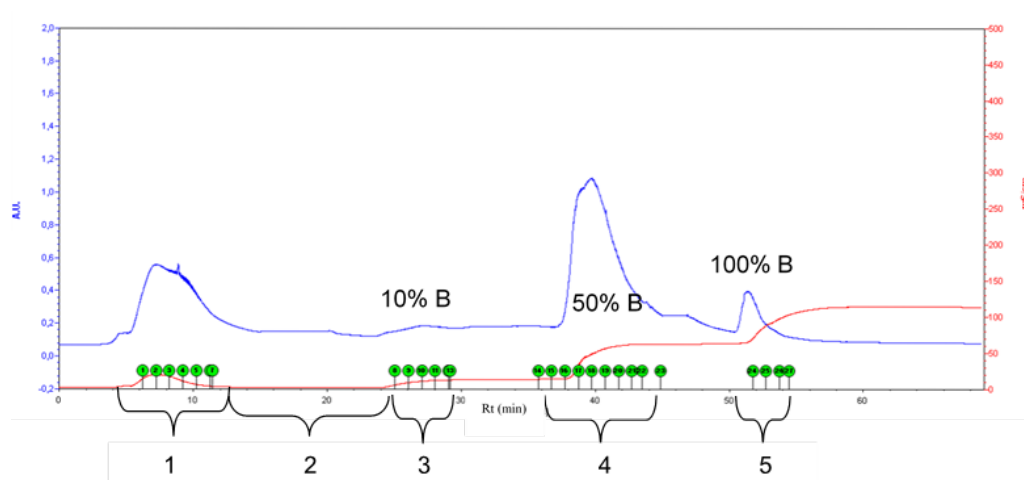


Fig. 3. Chromatogram of the purification process of the bacteriocin with three elution steps

Footnote: 1 – sample loading step, 2 – washing step, 3 – first elution step,
4 – second elution step, 5 – third elution step
— absorbance, — conductivity

The first elution peak, presented by compounds eluted from column by 10% Buffer B, appeared at 25–30 min of the experiment and was, as in the previous elution protocol, small. The second highest peak, appeared at approximately 40 min of the chromatography by passing 50% Buffer B, and the third peak, eluted from the column by 100% buffer B, had a retention time (Rt) of 50–52 min.

After testing the antimicrobial activity against *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157, the bacteriocin was detected in fractions №18, 19 and 20, which corresponded to the main peak area of the second elution step (50% Buffer B). The Rt of the bacteriocin in this protocol was 40–42 min. The absence of antimicrobial activity in the first and third elution peaks indicate that they correspond to contaminants.

As in the previous elution procedure, the active fractions (№18, 19 and 20) were pooled in one tube. The resulted volume of the purified bacteriocin (“EI”) after the three-step elution was 0.8 mL and the antimicrobial activity – 40 AU/mL, which were compared with the results of the two-step elution procedure (Table 1). The obtained results in this work are much better than in previous one, when the classic four-step purification procedure was applied, which resulted only in 20 AU/mL [9].

Table 1

Antimicrobial activity of the bacteriocin fractions obtained by anion exchange chromatography with two and three elution steps

Sample	Volume, mL	AU/mL	Yield, %
CFS	2	320	100
EI (two-step elution)	0.35	80	4.4
EII (tree-step elution)	0.8	40	5



It was found that the yield of purified antimicrobial compounds after the first variant of the experiment was 4.4%, and after the second – 5%. The results of this work are in agreement with the data of other scientists who also carried out the purification of enterococcal bacteriocins. Thus, it was reported that after a five-step purification procedure, which is much more complex, the yield of enterocins was 4% [6]. The further experiments on improvement of our results are now in progress.

To our knowledge, this is the first report on effective isolation and purification of a bacteriocin from the *E. italicus* species by anion-exchange chromatography. The purification procedure of other bacteriocins produced by the strain *E. italicus* GGN 10 was realized by precipitation with 60% ammonium sulfate followed by two steps of reversed-phase chromatography. However, yield of the purified compounds was not determined [5].

As for the purity of the obtained fractions, the bacteriocin sample obtained after anion exchange chromatography with three elution steps (EII) looked much clear compared to the control, which was used throughout the work as CFS. In addition, it should be noted that both obtained elution samples were transparent, unlike CFS, in which even after the filtration, undissolved particles were observed, which may be components of the MRS medium that were poorly dissolved as well as aggregated peptides. In our further work we plan to perform protein electrophoresis to additionally assess the purity of the bacteriocin after mentioned chromatography procedures.

Thus, the purification process of the bacteriocin from *E. italicus* ONU 547 was optimized using anion exchange chromatography with the BioLogic LP system and the Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q Cartridge column from BioRad (USA). As a result of the tested two protocols of step elution it was found that the best bacteriocin yield, which was 5%, and the highest level of purity were observed after using a three-step elution, which involves the step passage through the system of 10%, 50% and 100% Buffer B containing 1M NaCl. This isolation and purification procedure is simple, does not require preliminary concentration and purification stages, and can be used to obtain purified samples of the bacteriocin from *E. italicus* ONU547 for its further study and application in biotechnology.

**А. Г. Мерліч, Н. В. Бачинський, К. С. Петренко,
Г. В. Лісютін, В. О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
тел.: +380964367403, e-mail: andriymerlich@gmail.com

ОПТИМІЗАЦІЯ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ БАКТЕРІОЦИНУ *ENTEROCOCCUS ITALICUS* ОНУ 547 ЗА ДОПОМОГОЮ АНІОНООБМІННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Резюме

Мета. Метою роботи була оптимізація виділення та очищення бактеріоцину з *E. italicus* ОНУ 547, який має біотехнологічний потенціал, за допомо-



гою аніонообмінної хроматографії низького тиску. **Методи.** Для виділення бактеріоцину з культуральної рідини та його часткового очищення використовували аніонообмінну хроматографію, що здійснювали за допомогою системи BioLogic LP з картриджем Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q. Для збільшення виходу бактеріоцину та його чистоти було випробувано протоколи двох крокової та трьох крокової елюції. **Результати.** Бактеріоцин з культуральної рідини *E. italicus* OHU 547 (320 ВО/мл) було виділено та частково очищено за допомогою аніонообмінної хроматографії з системою низького тиску. Слаболужний водневий потенціал (pH=8,0) культуральної рідини та рухомої фази був придатним для ефективного зв'язування бактеріоцину з позитивно зарядженим матриксом колонки. Двоступенева процедура елюції (10% та 100% буферу В з 1 М NaCl) призвела до виходу бактеріоцину 4,4%, тоді як тріступенева елюція (10%, 50% та 100%) – 5%. Запропоновано спрощену процедуру виділення та очищення бактеріоцинів. **Висновки.** Аніонообмінна хроматографія низького тиску з pH 8,0 рухомої фази є ефективною для виділення бактеріоцину безпосередньо з культуральної рідини *E. italicus* OHU 547 та для його часткового очищення. Тріступенева процедура елюції з 10%, 50% та 100% 1 М NaCl призводить до вищої чистоти та виходу бактеріоцину.

Ключові слова: бактеріоцин, *Enterococcus italicus*, аніонообмінна хроматографія, очищення пептидів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Almeida-Santos A.C., Novais C., Peixe L., Freitas A.R. *Enterococcus* spp. as a producer and target of bacteriocins: a double-edged sword in the antimicrobial resistance crisis context // *Antibiotics*. – 2021. – V. 10: 1215. Doi: 10.3390/antibiotics10101215
2. Bemena L.D., Mohamed L.A., Fernandes A.M., and Lee B.H. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. – 2014. – V. 3. – P. 924–949.
3. De Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of *Lactobacilli* // *Journal appl. Bacteria*. – 1960. – V. 23(1). – P. 130–135.
4. Frank D. SQP: anion exchange chromatography of green fluorescent protein (GFP) using the AKTA Pure system. – 2016. – P. 15. Режим доступу: <https://biomanufacturing.org/uploads/files/125829292942807316-anion-exchange-chromatography-of-green-fluorescent-protein-gfp-using-the-akta-pure-system.pdf>
5. Gaaloul N., Braïek O.B., Berjeaud J.M., Arthur T., Cavera V., Chikindas M., Hani K., Ghraïri T. Evaluation of antimicrobial activity and safety aspect of *Enterococcus italicus* GGN10 strain isolated from Tunisian bovine raw milk // *Journal of Food Safety*. – 2014. – V. 34. – P. 300–311. Doi: 10.1111/jfs.12126
6. H-Kittikun A., Biscola V., El-Ghaish Sh., Jaffrès E., Xavier D., Pillot G., Haertlé T., Chobert J.-M., Hwanhlem N. Bacteriocin-producing *Enterococcus faecalis* KT2W2G isolated from mangrove forests in southern Thailand: Purification, characterization and safety evaluation // *Food Control*. – 2015. – V. 54. – P. 126–134. Doi: 10.1016/j.foodcont.2014.12.037



7. Hwanhlem N., Chobert J.-M., H-Kittikun A. Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: Isolation, screening and optimization // *Food Control*. – 2014. – V. 41. – P. 202–211. Doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.021>
8. Ilyas F., James A., Khan S., Haider S., Ullah S., Darwish G., Taqvi S.A.H.R., Ali R., Younas Q., Rehman A. Multidrug-resistant pathogens in wound infections: a systematic review // *Cureus*. – 2024. – № 16(4). – e58760. Doi: [10.7759/cureus.58760](https://doi.org/10.7759/cureus.58760)
9. Merlich A., Galkin M., Choiset Y., Limanska N., Vasyliieva N., Ivanytsia V., Haertlé T. Characterization of the bacteriocin produced by *Enterococcus italicus* ONU547 isolated from Thai fermented cabbage // *Folia Microbiol (Praha)*. – 2019. – V. 64. – P. 535–545. Doi: [10.1007/s12223-019-00677-4](https://doi.org/10.1007/s12223-019-00677-4)
10. Pingitore E.V., Salvucci E., Sesma F., and Nader-Macías M.E. Different strategies for purification of antimicrobial peptides from lactic acid bacteria (LAB) // *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. – 2007. – P. 557–568.
11. Rakotondraoelina L.M., Rakotovo-Ravahatra Z.D., Rafaramalala S.S., Rakotovo A.L., Rasamindrakotroka A. Antibiotic resistance and associated factors with purulent skin infections due to *Staphylococcus aureus* // *Archives of Microbiology and Immunology*. – 2022. – № 6. – P. 289–293. Doi: [10.4081/jphia.2023.2307](https://doi.org/10.4081/jphia.2023.2307)

REFERENCES

1. Almeida-Santos AC, Novais C, Peixe L, Freitas AR. *Enterococcus* spp. as a producer and target of bacteriocins: a double-edged sword in the antimicrobial resistance crisis context. *Antibiotics*. 2021; 10: 1215. Doi: [10.3390/antibiotics10101215](https://doi.org/10.3390/antibiotics10101215)
2. Bemena LD, Mohamed LA, Fernandes AM, and Lee BH. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2014; 3: 924–949.
3. De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal appl. Bacteria*. 1960; 23(1): 130–135.
4. Frank D. SQP: anion exchange chromatography of green fluorescent protein (GFP) using the AKTA Pure system. 2016: 15. <https://biomanufacturing.org/uploads/files/125829292942807316-anion-exchange-chromatography-of-green-fluorescent-protein-gfp-using-the-akta-pure-system.pdf>
5. Gaaloul N, Braiek OB, Berjeaud JM, Arthur T, Cavera V, Chikindas M, Hani K, Ghrairi T. Evaluation of antimicrobial activity and safety aspect of *Enterococcus italicus* GGN10 strain isolated from Tunisian bovine raw milk. *Journal of Food Safety*. 2014; 34: 300–311. Doi: [10.1111/jfs.12126](https://doi.org/10.1111/jfs.12126)
6. H-Kittikun A, Biscola V, El-Ghaish Sh, Jaffrès E, Xavier D, Pillot G, Haertlé T, Chobert J-M, Hwanhlem N. Bacteriocin-producing *Enterococcus faecalis* KT2W2G isolated from mangrove forests in southern Thailand: Purification, characterization and safety evaluation. *Food Control*. 2015; 54: 126–134. Doi: [10.1016/j.foodcont.2014.12.037](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.037)



7. Hwanhlem N, Chobert J-M, H-Kittikun A. Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: Isolation, screening and optimization. *Food Control*. 2014; 41: 202–211. Doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.021>
8. Ilyas F, James A, Khan S, Haider S, Ullah S, Darwish G, Taqvi SAHR, Ali R, Younas Q, Rehman A. Multidrug-resistant pathogens in wound infections: a systematic review. *Cureus*. 2024;16(4): e58760. Doi: 10.7759/cureus.58760
9. Merlich A, Galkin M, Choiset Y, Limanska N, Vasylieva N, Ivanytsia V, Haertlé T. Characterization of the bacteriocin produced by *Enterococcus italicus* ONU547 isolated from Thai fermented cabbage. *Folia Microbiol (Praha)*. 2019; V. 64: 535–545. Doi: 10.1007/s12223-019-00677-4
10. Pingitore EV, Salvucci E, Sesma F, and Nader-Macías ME. Different strategies for purification of antimicrobial peptides from lactic acid bacteria (LAB). *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. 2007: 557–568.
11. Rakotondraoelina LM, Rakotovoao-Ravahatra ZD, Rafaramalala SS, Rakotovoao AL, Rasamindrakotroka A. Antibiotic resistance and associated factors with purulent skin infections due to *Staphylococcus aureus*. *Archives of Microbiology and Immunology*. 2022; 6: 289–293. Doi: 10.4081/jphia.2023.2307

Стаття надійшла до редакції 12.09.2025 р.



О. Д. Масловська, С. Я. Комплікевич, В. Г. Буняк,
О. М. Мороз, С. О. Гнатуш

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна,
e-mail: svitlana.hnatush@lnu.edu.ua

ФІТОСТИМУЛЮВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕТАЛОРЕЗИСТЕНТНИХ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ З РИЗОСФЕРИ *COLOBANTHUS QUITENSIS* (KUNTH) BARTL. (О. ДЕСЕПШН, МОРСЬКА АНТАРКТИКА)

Враховуючи зміни клімату, забруднення ґрунтів внаслідок діяльності людини, зокрема військових дій, виділення стійких до чинників середовища мікроорганізмів з фітостимулювальними властивостями є актуальним. Середовища з екстремальними умовами є джерелом для виділення мікроорганізмів, які можуть мати перспективу використання в біотехнології. **Мета роботи:** дослідити здатність металорезистентних галотолерантних ізолятів бактерій, виділених із зони ризосфери *C. quitensis* (Kunth) Bartl. (о. Десепшн, Морська Антарктика), синтезувати сидерофори й ауксиноподібні сполуки, фіксувати молекулярний азот, солюбілізувати сполуки цинку, синтезувати деякі ферменти та стимулювати ріст ярої пшениці *Triticum aestivum* сорту *Tybal*, а також відібрати перспективні штами для ідентифікації та включення до складу мікробних препаратів. **Матеріали і методи.** Виділення ізолятів бактерій та дослідження їхніх властивостей проводили класичними мікробіологічними методами. Здатність продукувати сидерофори виявляли з використанням хромазуролу *S* і гексадецилтриметиламоній бромиду, ауксиноподібні сполуки – з реактивом Сальковського. Насіння пшениці інокулювали суспензіями бактерій та висівали у ґрунт. Досліджували схожість насіння, вологість, суху масу, вміст пігментів у листках, морфометричні показники проростків. **Результати.** Шість з 19 відібраних галотолерантних металорезистентних ізолятів бактерій, які утворювали сидерофори, ауксиноподібні сполуки та за наявності ензиматичної активності (D388 і D391 – амілазної, D389 і D394 – протеазної, D390 – ліпазної, D395 – протеазної, амілазної, ліпазної, лецитиназної, целюлазної) відібрали для дослідження впливу на ріст пшениці. Загальний вміст хлорофілу був найбільшим у листках пшениці, обробленої ізолятами D389 і D388. Вміст хлорофілу а у листках пшениці, обробленої ізолятами D389, D395 і D388 був на 13,4–28,7% вищим, порівняно з контролем. Найвищий вміст сидерофорів виявлено у середовищі культивування ізоляту D388 ($10,94 \pm 1,2$ ум. од.), ауксиноподібних сполук ($10,93 \pm 1,0$ мкг/мл) – ізоляту D387. **Висновки.** Металорезистентні галотолерантні ізоляти бактерій із ризосфери *C. quitensis* виявляють фітостимулювальний вплив на ріст пшениці. За здатністю синтезувати сидерофори, ауксиноподібні сполуки, фіксувати N_2 , солюбілізувати ZnO , стимулю-



вати ріст *T. aestivum*, наявністю амілазної активності для ідентифікації та перевірки у складі бактерійного препарату відібрали ізолят D388.

Ключові слова: антарктичні мікроорганізми, фітостимулювальні бактерії, сидерофори, ауксиноподібні сполуки, металорезистентні мікроорганізми.

Ризосфера – зона ґрунту в межах кількох міліметрів, що оточує коріння рослин. Її характеризує підвищена біологічна активність завдяки впливу різних сполук, які виділяють коренева система рослини та мікробіота. Мікроорганізми ризосфери впливають на життєдіяльність рослин. Серед них є як патогенні, так і фітостимулювальні. У ризосфері *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. переважають представники *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidota*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia* і *Actinobacteria* [22].

Використання препаратів на основі мікроорганізмів з фітостимулювальними властивостями є сучасним підходом до покращення родючості ґрунту, захисту рослин від фітопатогенів та несприятливих чинників середовища [11]. Механізм позитивної дії фітостимулювальних мікроорганізмів пов'язаний із їхньою здатністю фіксувати азот, розчиняти сполуки феруму, фосфору, цинку, калію та інших елементів, продукувати фітогормони, пригнічувати розвиток фітопатогенів і синтезувати речовини, що підвищують стійкість рослин до стресів, спричинених абіотичними чинниками [13, 20]. Деякі фітостимулювальні мікроорганізми, окрім безпосереднього впливу на рослину, також забезпечують розщеплення пестицидів і детоксикацію сполук важких металів [21]. Враховуючи глобальні зміни клімату, забруднення посівних площ різноманітними поллютантами унаслідок антропогенної діяльності і військових дій, актуальною є потреба виділення стійких до чинників середовища фітостимулювальних мікроорганізмів. Середовища з несприятливим умовами існування часто є джерелом для виділення біотехнологічно перспективних штамів мікроорганізмів. Тому метою роботи було дослідити здатність металорезистентних галотолерантних ізолятів бактерій, виділених із зони ризосфери *C. quitensis* (Kunth) Bartl. (о. Десепшн, Морська Антарктика), синтезувати сидерофори й ауксиноподібні сполуки, фіксувати молекулярний азот, солюбілізувати сполуки цинку, синтезувати деякі ферменти та стимулювати ріст ярої пшениці *Triticum aestivum* сорту Tybalt, а також відібрати перспективні штами для ідентифікації та включення до складу мікробних препаратів.

Матеріали і методи

У роботі використовували зразки ґрунту з зони ризосфери *C. quitensis* (о. Десепшн, Морська Антарктика, -62.982130, -60.518980). Для виділення мікроорганізмів до 1 г ґрунту із зони ризосфери *C. quitensis* додавали 9 мл 0,9% розчину натрій хлориду. Ретельно перемішавши, отриману суспензію витримували 20 хв, після чого її знову струшували та робили розведення і висівали 0,1 мл на середовища: триптон-соєвий агар (ТСА) (Merck, Millipore) для виділення мікроорганізмів, які метаболізують нітроген органічних сполук; ТСА, розведений у 10 разів, для виділення оліготрофних мікроорганізмів; крохмально-аміачне середовище – для мікроорганізмів, які метаболізують ні-



тропоген неорганічних сполук; середовище Ешбі для олігонітрофільних, у т. ч. азотофіксувальних бактерій; середовище Сабура (Merck, Millipore) – для мікроскопічних грибів; середовища Виноградського – для мікроорганізмів, які забезпечують першу і другу фази нітрифікації; середовище Піковської – для мікроорганізмів, які здатні солюбілізувати неорганічні фосфоровмісні сполуки; середовище Менкіної – для мікроорганізмів, які метаболізують органічні фосфатовмісні сполуки [2, 16, 17]. Мікроорганізми вирощували 5–10 діб за аеробних умов та температури $+20\pm 2$ °C.

Чисті культури отримували після кількаразових пересівів на розведене у 10 разів ТСА методом збідненого штриха. Чистоту культури перевіряли візуально за морфологією колоній, формою клітин та їхніми розмірами (мікроскоп KRUSS A. MBL2000).

Для визначення стійкості мікроорганізмів до сполук важких металів використовували розведений у 10 разів ТСА, до якого додавали різні концентрації манган(II) хлориду тетрагідрату (1,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0 мМ), ферум(II) сульфату гептагідрату (0,5; 2,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0 мМ), кобальт(II) хлориду гексагідрату (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мМ), кадмій хлориду геміпентагідрату (0,0002; 0,01; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мМ), купрум(II) хлориду дигідрату (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 мМ), калій дихромату (0,1; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,5; 10,0 мМ). Для визначення стійкості мікроорганізмів до NaCl використовували розведений у 10 разів ТСА, до якого додали натрій хлорид у різних концентраціях (2,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0%). Середовища стерилізували за 121 °C упродовж 20 хв, після чого здійснювали посів культур. Бактерії вирощували впродовж трьох-п'яти діб за 20 ± 2 °C.

Для виявлення здатності мікроорганізмів синтезувати сидерофори використовували середовище із хромазулолом S і гексадецилтриметиламоній бромідом [15]. Ізоляти висівали штрихом і вирощували за температури $+20\pm 2$ °C упродовж 5–10 діб. Здатність синтезувати сидерофори оцінювали за утворенням жовтої (сидерофори α -гідроксикарбоксилатного типу) чи рожевої (органічні кислоти) зони навколо штрихів досліджуваних ізолятів [18]. Деякі Грам-позитивні бактерії є чутливими до гексадецилтриметиламоній броміду, тому ми використовували модифіковану методику визначення здатності синтезувати сидерофори. Бактерії вирощували на середовищі MM9, а тоді штрихи заливали розчином барвників у 0,9% розчині агарози. Спостерігали за утворенням жовтого або рожевого забарвлення навколо штрихів ізолятів, залежно від типу сидерофорів [19]. Для кількісного визначення вмісту сидерофорів використовували метод, описаний у роботі [8].

Для дослідження здатності бактерій синтезувати ауксиноподібні сполуки, їх вирощували впродовж трьох діб за температури 20 ± 2 °C у живильному бульйоні з 0,15 г триптофану на 1 л середовища [12]. Вміст ауксиноподібних сполук визначали, використовуючи модифіковану методику з додаванням реактиву Сальковського, та обраховували за калібрувальною кривою. Для побудови кривої використовували розчин індолілоцтової кислоти (1–30 мкг/мл).

Для визначення здатності бактерій фіксувати N_2 їх інкубували у рідкому середовищі Ешбі впродовж семи діб за температури 20 ± 2 °C. Поява помутніння в середовищі була ознакою здатності бактерій до фіксації азоту з повітря [2].



Для виявлення целюлазної активності бактерії вирощували на середовищі із карбоксиметилцелюлозою сім діб. Для визначення здатності бактерій гідролізувати целюлозу середовище заливали розчином Люголя. У разі розщеплення карбоксиметилцелюлози навколо колоній бактерій утворювалися прозорі зони. Індекс ензиматичної активності (IE) визначали за формулою: $IE = (A-B) / B$, де: A – діаметр зони гідролізу целюлози, мм; B – діаметр колонії бактерій, мм [7].

Для визначення здатності бактерій солюбілізувати ZnO їх вирощували на середовищі такого складу (г/л): глюкоза – 10,0; амоній сульфат – 1,0; калій хлорид – 0,2; дикалій гідрофосфат – 0,1; магнію сульфату гептагідрат – 0,2; агар – 20,0; дистильована вода – 1,0 л. ZnO (0,1%), стерилізували окремо [9]. У разі здатності штаму солюбілізувати ZnO навколо колоній після семи діб вирощування утворювалися прозорі зони. Індекс солюбілізації (IS) визначали за формулою: $IS = (A-B) / B$, де: A – діаметр зони солюбілізації ZnO, мм; B – діаметр колонії бактерій, мм [10].

Для виявлення ліпазної активності мікроорганізми вирощували упродовж п'яти діб на середовищі такого складу (г/л): пептон – 10,0; натрій хлорид – 5,0; кальцій хлорид гексагідрат – 0,1; агар – 20,0; вода дистильована – 1,0 л, рН 7,2–7,4. Після стерилізації до середовища вносили водний розчин твіну-20 (поліоксіетилен-20-сорбітанмонолаурат) у концентрації 10 г/л. За наявності ліпаз навколо штрихів досліджуваних мікроорганізмів утворювалася непрозора зона кальцієвих солей жирних кислот, які вивільнялися із твіну-20 [2].

Протеолітичну активність досліджуваних бактерій оцінювали за їхньою здатністю розріджувати желатин після посіву суспензії досліджуваного штаму бактерій уколом у стовпчик триптон-соевого бульйону (Merck, Millipore) з желатином (12,5%). Бактерії культивували за температури 20 ± 2 °C сім-десять діб. Розрідження желатину або відсутність цієї ознаки оцінювали візуально, реєструючи інтенсивність та форму розрідження [2].

Для виявлення лецитиназної активності бактерії впродовж п'яти діб культивували на середовищі Менкіної такого складу (г/л): глюкоза – 10,0; амоній сульфат – 0,5; магнію сульфату гептагідрат – 0,3; калій хлорид – 0,3; манган сульфат – 0,001; ферум сульфат – 0,001; кальцій карбонат – 5,0; соєвий лецитин – 3,5; агар – 20,0; дистильована вода; рН 7,0–7,2. Утворення прозорої зони навколо колоній бактерій свідчило про їхню лецитиназну активність [16].

Для виявлення здатності досліджуваних бактерій синтезувати амілази, використовували метод посіву газonom на агаризоване живильне середовище, яке містить 1–2% крохмалю. Ріст оцінювали візуально після семи діб вирощування. Для визначення ступеня гідролізу крохмалю амілазами культури мікроорганізмів її колонії заливали розчином Люголя. Середовище з крохмалем забарвлювалося в синій колір, а зони, де відбулося розщеплення крохмалю, залишалися світлими, або забарвлювалися в червоно-бурий колір (реакція на декстрини). Визначали індекс амілазної активності (IA) за формулою: $IA = (A-B) / B$, де: A – діаметр зони гідролізу крохмалю, мм; B – діаметр колонії бактерій, мм [14].



Для дослідження впливу мікроорганізмів на показники проростання пшениці, насіння замочували на ніч у суспензії бактерій густиною 5,0 за Мак-Фарландом, після чого висівали у вологий ґрунт (маса ґрунту для кожної проби 450 ± 20 г). Для приготування суспензії використовували 0,9% натрій хлорид і культуру бактерій із стаціонарної фази росту, вирощену на ТСА (розведення у 10 разів). Для легшого підрахунку насіння поміщали у товщу ґрунту рядками та скроплювали водою. Щоденно у ґрунт вносили 50 мл води з водогону. Пшеницю вирощували впродовж чотирнадцяти діб, після чого проводили визначення вмісту пігментів і сухої маси рослини ваговим методом [5]. Схожість насіння пшениці визначали впродовж восьми діб росту [3]. Для кількісного визначення пігментів наважку свіжого рослинного матеріалу (0,3–0,5 г) розтирали у фарфоровій ступці з невеликою кількістю крейди у 96% розчині етанолу (2–3 мл). Після настоювання упродовж двох–трьох хвилин екстракт фільтрували. Екстракцію пігментів продовжували невеликими порціями чистого розчинника на фільтрі аж до повного виділення пігментів. Екстракти кількісно переносили в мірну колбу на 25 мл і об'єм витягу доводили до мітки 96% розчином етанолу. Для кількісного визначення пігментів частину отриманого екстракту наливали у кювету спектрофотометра (UV/Vis P3 серія Precision, оптичний шлях 10 мм). Іншу кювету заповнювали 96% розчином етанолу (контроль). Визначали оптичну густину витягу. Максимум поглинання для хлорофілу *a* спостерігали за довжини хвилі 665 нм, а для хлорофілу *b* – 649 нм. Концентрації пігментів розраховували за формулами: $C_a = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}$ (мкг/мл); $C_b = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665}$ (мкг/мл); $C_{a+b} = 6,10 \cdot D_{665} + 20,04 \cdot D_{649}$ (мкг/мл). Після встановлення вмісту пігментів у витягу, визначали його вміст у дослідному матеріалі за формулою: $A = C \times V / P \times 1000$, де *A* – вміст пігменту в рослинному матеріалі, мкг/г маси сирової речовини; *C* – концентрація пігментів, мкг/мл; *V* – об'єм витягу пігментів, мл; *P* – наважка рослинного матеріалу, г [5].

Статистичні розрахунки результатів досліджень проводили з використанням програм “Microsoft Excel 2016”, а побудову графіків – із OriginPro 8.5. Результати представлені як середнє значення з поправкою на стандартне відхилення ($\bar{x} \pm SD$). Достовірність даних і різниці між ними оцінювали за коефіцієнтом Стюдента. Достовірною вважали різницю за рівня значимості $p \leq 0,05$ [4].

Результати та їх обговорення

Мікроорганізми, які метаболізують нітроген органічних сполук ($1,03 \times 10^9 \pm 5,16 \times 10^7$ КУО/г сухого ґрунту), є найчисельнішою групою мікроорганізмів зони ризосфери *C. quitensis*. Чисельність оліготрофних мікроорганізмів була в 5,3 раза нижчою, порівняно з ними. Менш чисельними були мікроорганізми, які метаболізують неорганічні сполуки нітрогену, неорганічні фосфатовмісні сполуки, олігонітрофільні, у т. ч. азотофіксуювальні мікроорганізми, нітрифікуювальні мікроорганізми, мікроскопічні гриби. Їхня чисельність була від $4,2 \times 10^7$ до $8,2 \times 10^7$ КУО/г сухого ґрунту. Хімічний склад ґрунту, ймовірно, зумовлює переважання серед мікроорганізмів тих, які здатні окиснювати NO_2^- , порівняно з чисельністю мікроорганізмів, які окиснюють NH_4^+ (рис. 1).



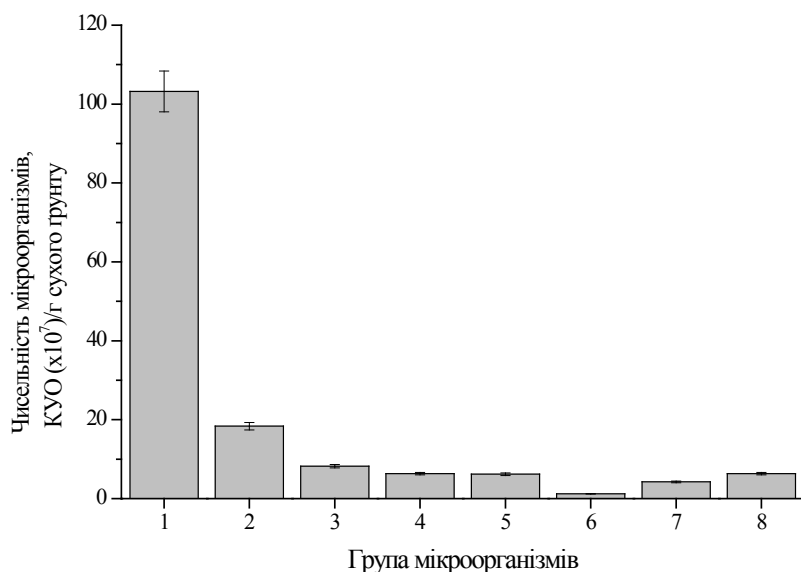


Рис. 1. Чисельність груп мікроорганізмів зони ризосфери *Colobanthus quitensis*:
 1 – мікроорганізми, які метаболізують нітроген органічних сполук; 2 – оліготрофні мікроорганізми; 3 – мікроорганізми, які метаболізують неорганічні нітрогеновмісні сполуки; 4 – олігонітрофільні мікроорганізми; 5 – мікроорганізми, які здійснюють першу фазу нітрифікації; 6 – мікроорганізми, які здійснюють другу фазу нітрифікації; 7 – мікроорганізми, які метаболізують неорганічні фосфатовмісні сполуки; 8 – мікроскопічні гриби

Fig. 1. Numbers of microorganisms of different groups in the rhizosphere zone of *Colobanthus quitensis*:

1 – microorganisms that metabolise nitrogen from organic compounds; 2 – oligotrophic microorganisms; 3 – microorganisms that metabolise inorganic nitrogen-containing compounds; 4 – oligotrophic microorganisms; 5 – microorganisms that carry out the first phase of nitrification; 6 – microorganisms that carry out the second phase of nitrification; 7 – microorganisms that metabolise inorganic phosphate-containing compounds; 8 – microscopic fungi

Жодна колонія, яка виросла на середовищі Менкіної, не утворювала зони розщеплення лецитину. Це дозволяє стверджувати, що мікроорганізмів, які метаболізують органічні фосфатовмісні сполуки, у зразку не було.

У результаті первинного скринінгу дев'ятнадцять ізолятів мікроорганізмів, які відрізнялися за морфологією колоній за росту на середовищах Піковської, Ешбі та середовищі з карбоксиметилцелюлозою, були виділені у чисті культури. Клітини вісімнадцяти ізолятів забарвлювалися негативно за методом Грама і були паличкоподібними бактеріями. Один ізолят (D388) слабо забарвлювався за Грамом. У мазку його клітини розташовані попарно і формували V- або Y-подібні скупчення.

У різних біотопах Антарктиди фіксують високі концентрації сполук важких металів та інших забруднювачів, хоча вона є географічно ізольованим континентом та не зазнає значного впливу діяльності людей [9]. Серед дев'ятнадцяти досліджених ізолятів з ризосфери *C. quitensis* сімнадцять ізолятів стійкі до впливу калій біхромату (0,5 мМ), п'ять – до впливу купруму(II) хлориду дигідрату (6,0 мМ), три – до впливу манган(II) хлориду тетрагідрату (20,0 мМ), два – до впливу ферум(II) сульфату гептагідрату (20 мМ), два – до

впливу кадмій хлориду дигемідрату (0,1 мМ), один – до впливу кобальт(II) хлориду гексагідрату (5,0 мМ) [1].

Однією з головних причин деградації ґрунтів сільськогосподарського призначення є їхнє засолення. Це зумовлено як природними процесами, так і діяльністю людини. Надмірна солоність середовища спричиняє осмотичний стрес та негативно впливає на ріст рослин. Рослини здатні накопичувати осмоліти і підтримувати низький рівень Na^+ всередині клітин для зменшення впливу високої концентрації солі. Симбіоз з мікробіомом ризосфери також є одним із механізмів стійкості рослин до осмотичного стресу [6]. Серед виділених із ризосфери *C. quitensis* ізолятів бактерій тринадцять були помірними галофілами, які здатні рости за наявності в середовищі 2,5% натрій хлориду, шість – були здатні рости за наявності в середовищі 7,5% натрій хлориду. Ізоляти D386, D387, D388 і D391 росли на середовищі з 10,0% натрій хлориду. Ізолят D391 був екстремальним галофілом, який ріс за впливу 15,0% натрій хлориду [1].

Ізоляти D388, D389, D390 та D384 з ризосфери *C. quitensis* були здатні синтезувати сидерофори, ймовірно, α -гідроксикарбоксилатного типу, оскільки середовище навколо штрихів забарвлювалося у жовтий колір. Найвищий вміст сидерофорів виявлено у середовищі культивування ізолятів бактерій D388 ($10,94 \pm 1,2$ ум. од.) та D389 ($5,6 \pm 0,5$ ум. од.), а найнижчий – у середовищі культивування D384 ($0,26 \pm 0,02$ ум. од.) (рис. 2).

Усі відібрані з зони ризосфери *C. quitensis* ізоляти бактерій утворювали ауксиноподібні сполуки. Їх найвищий вміст ($10,93 \pm 1,0$ мкг/мл, $8,24 \pm 0,8$ мкг/

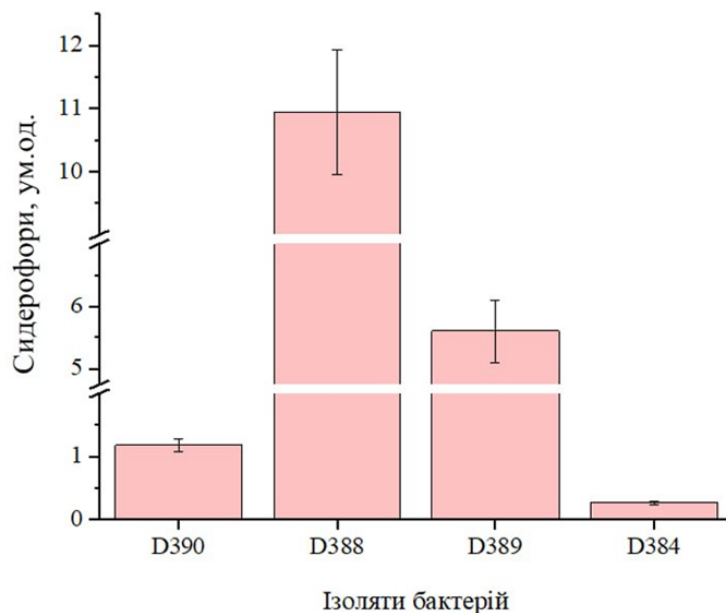


Рис. 2. Вміст сидерофорів у середовищі культивування бактерій з ризосфери *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 3$)

Fig. 2. Siderophore concentration measurement in the culture medium of bacteria strains isolated from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 3$)



мл, $6,93 \pm 0,6$ мкг/мл,) виявлено у середовищі культивування ізолятів D387, D393, D395. Найнижчий ($1,13 \pm 0,1$ мкг/мл) – у середовищі культивування ізоляту D391 (рис. 3).

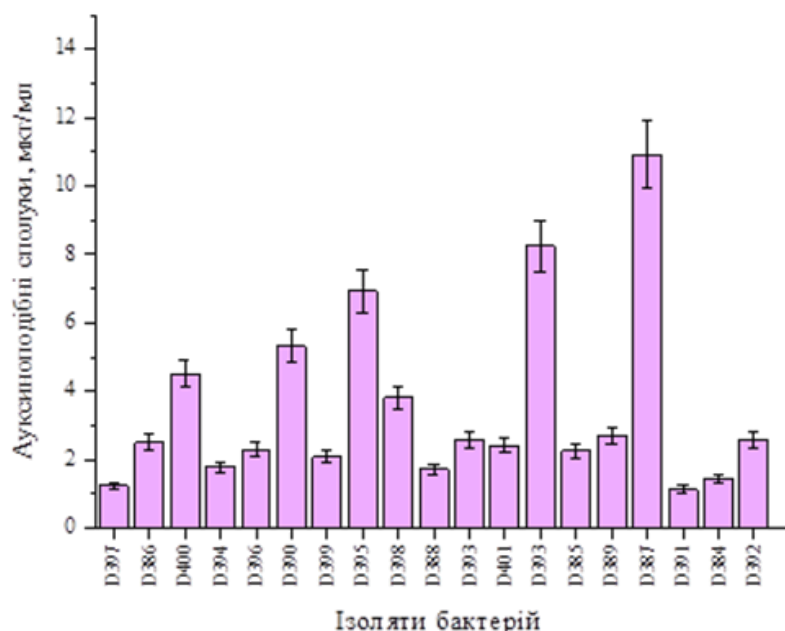


Рис. 3. Вміст ауксиноподібних сполук у середовищі вирощування ізолятів бактерій з ризосфери *Colobanthus quitensis* ($x \pm SD$, $n = 3$)

Fig. 3. Content of auxin-like compounds in the culture medium of bacterial isolates collected from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* ($x \pm SD$, $n = 3$)

Десять з дев'ятнадцяти ізолятів бактерій, виділених з ризосфери *C. quitensis* (D384, D388, D389, D391, D393, D395, D398, D400, D401 і D402), здатні фіксувати молекулярний азот. Солюбілізували ZnO ізоляти D388, D395, D396, D397, D400. Для ізоляту D400 було визначено найвищий індекс ($2,5 \pm 0,2$) солюбілізації ZnO, а найнижчий ($0,6 \pm 0,05$) – для ізоляту D397.

Тринадцять ізолятів розріджували желатин. Ізоляти D386, D388, D391, D395, D396, D397, D399, D400, D401, D402 виявляли амілолітичну активність. Найвищий індекс ензиматичної активності ($1,5 \pm 0,13$) визначено для ізоляту бактерій D399, а найнижчий – для ізоляту бактерій D396 ($0,5 \pm 0,045$). Індекс ензиматичної активності в інших ізолятів був у межах 0,8–1,2.

Ізоляти D386, D387, D390, D395, D399 і D400 виявляють ліпазну активність (здатні гідролізувати твін-20). Ізоляти D395, D396, D400 виявляють лецитиназну активність. Целюлази утворювали ізоляти D395 та D400. Індекс ензиматичної активності у цих ізолятів був у межах 1,0–1,8.

Стійкі до впливу сполук важких металів ізоляти бактерій D388, D389, D390, D391, D394, D395, які утворювали ауксиноподібні сполуки, сидерофори, та виявляли ензиматичну активність, відібрали для дослідження впливу на ріст ярої пшениці *Triticum aestivum* сорту Tybalt. Насіння пшениці упродовж 12 годин бактеризували суспензіями досліджених ізолятів бактерій, після

чого висівали у ґрунт. За контроль була пшениця, насіння якої витримували 12 годин у 0,9% розчині NaCl. Пшеницю вирощували упродовж 14 діб. На 3-тю і 8-му доби росту пшениці визначали схожість насіння, а на 14 добу росту – вологість, морфометричні параметри, вміст пігментів у листках проростків.

Інокуляція насіння пшениці ізолятами бактерій з ризосфери *C. quitensis* позитивно впливала на окремі показники. У разі інокуляції насіння пшениці ізолятами бактерій D388 і D391 незначно збільшувалася схожість насіння пшениці, порівняно з контролем. Інокуляція насіння пшениці ізолятом D395 і D389 не зумовлювала значних змін схожості. Після оброблення насіння пшениці ізолятом бактерій D390 схожість насіння пшениці знижувалася, порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

Схожість насіння, вологість та суха маса листків ярої пшениці *Triticum aestivum* сорту Tybalt, інокульованої ізолятами бактерій, виділеними з ризосфери *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n = 3$)

Table 1

Seed germination, moisture content and dry weight of leaves of spring wheat *Triticum aestivum* cultivar Tybalt, inoculated with bacterial isolates collected from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n = 3$)

Ізоляти бактерій	Схожість, %	Вологість, %	Суха маса, %
Контроль	84 $\pm$ 3	87,0 $\pm$ 2,61	12,6 $\pm$ 0,38
D388	88 $\pm$ 4	98,7 $\pm$ 2,96	9,4 $\pm$ 0,28
D389	78 $\pm$ 6	88,0 $\pm$ 2,64	12,2 $\pm$ 0,43
D390	58 $\pm$ 2	89,0 $\pm$ 2,67	11,5 $\pm$ 0,37
D391	89 $\pm$ 3	89,8 $\pm$ 2,69	7,7 $\pm$ 0,23
D394	72 $\pm$ 3	88,6 $\pm$ 2,66	11,5 $\pm$ 0,34
D395	80 $\pm$ 3	87,9 $\pm$ 2,64	11,2 $\pm$ 0,34

Вологість та суха маса проростків пшениці, насіння якої було інокульоване дослідженими ізолятами, незначно відрізнялися від показників пшениці, обробленої 0,9% NaCl.

Довжина кореня 14-добових проростків пшениці, обробленої 0,9% NaCl, не перевищувала 170 мм, а довжина пагона – 200 мм. Довжина кореня пшениці, насіння якої було оброблено ізолятами бактерій D391, D388, D395, D394 і D390, була на 5–15% нижчою, порівняно з контролем. Оброблення насіння пшениці ізолятом бактерій D389 зумовлювало незначне збільшення довжини кореня, порівняно з контролем. Отже, довжина пагона 14-добових проростків пшениці, насіння якої обробили ізолятами бактерій з ризосфери *C. quitensis*, не значно відрізнялася від контролю (рис. 4). Загальний вміст хлорофілу у листках 14-ти добових проростків пшениці у контролі становив 800 $\pm$ 55 мкг/г сирої маси рослини (рис. 5).



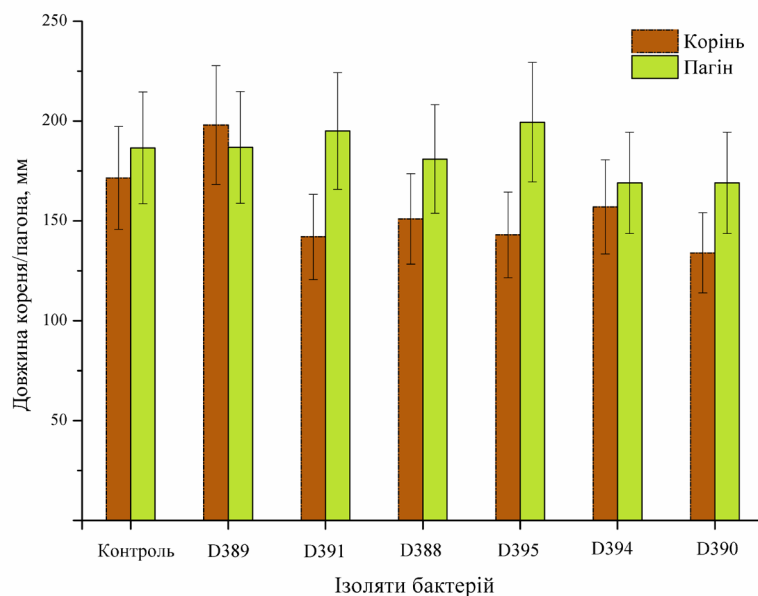


Рис. 4. Довжина кореня та пагона *Triticum aestivum* сорту Tybalt, насіння якої обробили ізолятами бактерій з ризосфери *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n=3$)

Fig. 4. Root and shoot length of *Triticum aestivum* cultivar Tybalt, whose seeds were treated with bacterial isolates from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n=3$)

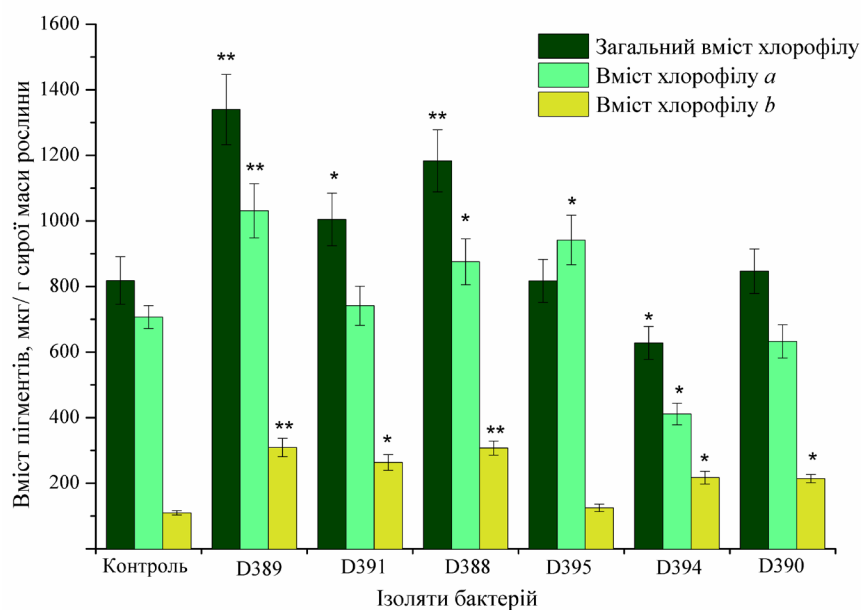


Рис. 5. Вміст пігментів у листках *Triticum aestivum* сорту Tybalt, насіння якої обробили ізолятами бактерій з ризосфери *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n=3$, * – $p \leq 0,05$ – вірогідні зміни вмісту хлорофілу, порівняно з контролем)

Fig. 5. Pigment content in leaves of *Triticum aestivum* cultivar Tybalt whose seeds were treated with bacterial isolates from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* ($\bar{x} \pm SD$, $n=3$, * – $p < 0.05$ – probable differences in chlorophyll content compared to the control)

Загальний вміст хлорофілу був найбільшим у листках пшениці, обробленої ізолятами D389 та D388. Вміст хлорофілу *a* у листках пшениці, обробленої ізолятами D389, D395 і D388 був на 13,4–28,7% вищим, порівняно з контролем (рис. 5). Вміст хлорофілу *b* у листках пшениці, бактеризованої усіма ізолятами, окрім D395, були вищими, порівняно з контролем.

Таким чином, у результаті роботи виділили металорезистентні галотолерантні ізоляти бактерій із ризосфери *C. quitensis*, які виявляють фітостимулювальний вплив на ріст пшениці. За здатністю синтезувати сидерофори, ауксиноподібні сполуки, фіксувати молекулярний азот, солубілізувати ZnO, стимулювати ріст *T. aestivum*, наявністю амілазної активності для ідентифікації та перевірки у складі бактерійного препарату відібрали ізолят D388.

Автори вдячні докт. біол. наук І. Ю. Парнікозі з Національного антарктичного центру МОН України за відбір антарктичних зразків та приватному підприємству «Західний Буг» (Львівська область, Україна) за надання насіння *T. aestivum* сорту Tybalt.

Робота виконана за Державною цільовою науково-технічною програмою проведення досліджень в Антарктиці на 2011–2025 роки.

O. D. Maslovska, S. Y. Komplikevych, V. H. Buniak,
O. M. Moroz, S. O. Hnatysh

Ivan Franko National University of Lviv,
4, Hrushevsky Str., Lviv, 79005, Ukraine,
e-mail: svitlana.hnatysh@lnu.edu.ua

PLANT GROWTH-PROMOTING PROPERTIES OF HEAVY METAL RESISTANT BACTERIA ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE OF *COLOBANTHUS QUITENSIS* (KUNTH) BARTL. (DECEPTION ISLAND, MARITIME ANTARCTICA)

Summary

Considering climate change and soil pollution caused by human activity, including hostilities, the isolation of plant growth-promoting microorganisms resistant to environmental factors is a current issue. Environments with extreme conditions are a source for the isolation of microorganisms that may have potential for use in biotechnology. **Aim of the study:** to study the ability of metal-resistant halotolerant bacterial isolates from the rhizosphere of *C. quitensis* (Kunth) Bartl. (Deception Island, Maritime Antarctic) to synthesize siderophores and auxin-like compounds, fix molecular nitrogen, solubilize zinc compounds, synthesize certain enzymes, and stimulate the growth of spring wheat *Triticum aestivum* of the Tybalt variety, as well as to select promising strains for identification and inclusion in microbial preparations. **Materials and methods.** Bacterial isolates were purified, and their properties were studied using classical microbiological methods. The ability to produce siderophores was detected using chromazulrol S and hexadecyltrimethylammonium bromide, while auxin-like compounds were detected using Salkovsky's reagent. Wheat seeds were inoculated with bacterial suspensions and sown into the soil. Seed germination, moisture content, dry



weight, pigment content in leaves, and morphometric parameters of seedlings were studied. **Results.** Six of the 19 selected halotolerant metal-resistant bacterial isolates that produced siderophores, auxin-like compounds, and enzymatic activity (D388 and D391 – amylase, D389 and D394 – protease, D390 – lipase, D395 – protease, amylase, lipase, lecithinase, cellulase) were chosen for study of their effect on wheat growth. The total chlorophyll content was the highest in wheat leaves treated with isolates D389 and D388. The chlorophyll a content in wheat leaves treated with isolates D389, D395, and D388 was 13.4–28.7% higher than in the control. The highest content of siderophores was found in the culture medium of isolate D388 (10.94 ± 1.2 conventional units), and auxin-like compounds (10.93 ± 1.0 $\mu\text{g/ml}$) – in isolate D387. **Conclusions.** Metal-resistant halotolerant isolates of bacteria from the rhizosphere of *C. quitensis* have a growth-promoting effect on wheat. Based on their ability to synthesize siderophores, auxin-like compounds, fix N_2 , solubilize ZnO , have amylase activity, and stimulate the growth of *T. aestivum*, isolate D388 was selected for identification and testing as part of a bacterial preparation.

Key words: Antarctic microorganisms, plant growth-promoting bacteria, siderophores, auxin-like compounds, metal-resistant microorganisms.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Властивості бактерій, виділених з ризосфери *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (о. Десепшн, Морська Антарктика): кваліфікаційна робота (бакалаврська) / Буняк Василина Григорівна; Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра мікробіології. – Львів, 2025. – 48 с.
2. Гудзь С.П., Гнатуш С.О., Яворська Г.В., Білінська І.С., Борсукевич Б.М. Практикум з мікробіології. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2014. – 436 с.
3. ДСТУ 4138–2002. Насіння сільськогосподарських культур: методи визначення якості: чинний від 01.01.2004. – К.: Держспоживстандарт України, 2003. – 170 с.
4. Петровська І.Р., Салига Ю.Т., Вудмаска І.В. Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. – Київ: Аграрна наука, 2022. – 172 с.
5. Романюк Н.Д., Цвілінюк О.М., Микієвич І.М., Терек О.І. Фізіологія рослин: навчальний практикум для студентів біологічного факультету. – Львів: Піраміда, 2005. – 160 с.
6. Acuña-Rodríguez I.S., Hansen H., Gallardo-Cerda J., Atala C., Molina-Montenegro M.A. Antarctic extremophiles: biotechnological alternative to crop productivity in saline soils // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2019. – Vol. 7. – P. 22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00022>
7. Ahmed S., Rahman M.S., Hasan M.M., Paul N., Sajib A.A. Microbial degradation of lignocellulosic biomass: discovery of novel natural lignocellulolytic bacteria // *BioTechnologia*. – 2018. – Vol. 99, No 2. – P. 137–146. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.75657>
8. Arora N.K., Verma M. Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria // *Biotechnology*. – 2017. – Vol. 7. – P. 381. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-1008-y>



9. Ausuri J., Dell'Anno F., Vitale G.A., Palma Esposito F., Funari V., Franci G., Galdiero M., Della Sala G., Tedesco P., Coppola D., de Pascale D. Bioremediation of multiple heavy metals mediated by Antarctic marine isolated *Dietzia psychrocaliphila* J11D // Journal of Marine Science and Engineering. – 2022. – Vol. 10, No 11. – P. 1669. <https://doi.org/10.3390/jmse10111669>
10. Bhakat K., Chakraborty A., Islam E. Characterization of zinc solubilization potential of arsenic tolerant *Burkholderia* spp. isolated from rice rhizospheric soil // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2021. – Vol. 37, No 3. – P. 39. doi: 10.1007/s11274-021-03003-8
11. Biliavska L., Iutynska G., Loboda M., Ropotilov B., Skrotskyi S. Diagnostics and bioremediation of soils affected by military operations in Ukraine // Biological Systems: Theory and Innovation. – 2024. – Vol. 15, No 3. – P. 67–78. <https://doi.org/10.31548/biologiia/3.2024.67>
12. Gang S., Sharma S., Saraf M., Buck M., Schumacher J. Analysis of indole-3-acetic acid (IAA) production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the Salkowski method // Bio-protocol. – 2019. – Vol. 9, No 09. – P. e3230. doi: 10.21769/BioProtoc.3230
13. Gómez-Godínez L.J., Aguirre-Noyola J.L., Martínez-Romero E., Arteaga-Garibay R.I., Ireta-Moreno J., Ruvalcaba-Gómez J.M. A look at plant-growth-promoting bacteria // Plants. – 2023. – Vol. 12, No 8. – P. 1668. <https://doi.org/10.3390/plants12081668>
14. Hasan Md. M., Marzan L. W., Hosna A., Hakim A., Azad A. K. Optimization of some fermentation conditions for the production of extracellular amylases by using *Chryseobacterium* and *Bacillus* isolates from organic kitchen wastes // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2017. – Vol. 15, No 1. – P. 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.02.009>
15. Lougen B.C., Haarmann D., Lynne A.M. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection // Journal of Microbiology and Biology Education. – 2011. – Vol. 20, No 1. – P. 51–53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
16. Mudryk Z.J. Decomposition of organic and solubilisation of inorganic phosphorus compounds by bacteria isolated from a marine sandy beach // Marine Biology. – 2004. – Vol. 145. – P. 1227–1234. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1397-4>
17. Nautiyal C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms // FEMS Microbiology Letters. – 1999. – Vol. 170, No 1. – P. 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
18. Pandey S.S., Singh P., Samal B., Verma R.K., Chatterjee S. Xanthoferrin siderophore estimation from the cell-free culture supernatants of different *Xanthomonas* strains by HPLC // Bioprotocol. – 2017. – Vol. 7, No 14. – P. e2410. doi: 10.21769/BioProtoc.2410
19. Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez R., Zamudio-Rivera L.S., Fernández F.J. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection // Journal of Microbiological Methods. – 2007. – Vol. 70, No 1. – P. 127–131. doi: 10.1016/j.mimet.2007.03.023



20. Souza Rd., Ambrosini A., Passaglia L.M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils // *Genetics and Molecular Biology*. – 2015. – Vol. 38, No 4. – P. 401–419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
21. Wang G., Ren Y., Bai X., Su Y., Han J. Contributions of beneficial microorganisms in soil remediation and quality improvement of medicinal plants // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, No 23. – P. 3200. <https://doi.org/10.3390/plants11233200>
22. Yerkhova A., Parnikoza I., Pavlovska M., Yevchun H., Prekrasna-Kviatkovska Y. Microbiomes of Antarctic pearlwort (*Colobanthus quitensis*) of the maritime Antarctic: distinct diversity and core microbes in rhizosphere and endosphere compartments of the plant // *Ukrainian Antarctic Journal*. – 2022. – Vol. 20, № 2(25). – P. 212–240. <https://doi.org/10.33275/1727-7485.2.2022.70>

REFERENCES

1. Bunyak VH. Properties of bacteria isolated from the rhizosphere of *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Deception Island, Maritime Antarctic): qualification work (bachelor's degree). Ivan Franko National University of Lviv, Department of Microbiology. Lviv, 2025; 48 p. [in Ukrainian].
2. Hudz SP, Hnatush SO, Yavorska HV, Bilinska IS, Borsukevych BM. Guidebook on microbiology. – Lviv: LNU imeni Ivana Franka, 2014; 436 p. [in Ukrainian].
3. DSTU 4138–2002. Seeds of agricultural crops: methods for determining quality: valid from 01.01.2004. Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2003; 170 p. [in Ukrainian].
4. Petrovska IR, Salyha YuT, Vudmaska IV. Statistical methods in biological research: a teaching and methodological manual. Kyiv: Ahrarna nauka, 2022; 172 p. [in Ukrainian].
5. Romaniuk ND, Tsvilyniuk OM, Mykiiievych IM, Terek OI. Plant physiology: teaching workshop for students of biological faculty. Lviv: Piramida, 2005; 160 p. [in Ukrainian].
6. Acuña-Rodríguez IS, Hansen H, Gallardo-Cerda J, Atala C, Molina-Montenegro MA. Antarctic Extremophiles: Biotechnological Alternative to Crop Productivity in Saline Soils. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2019;7:22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00022>
7. Ahmed S, Rahman MS, Hasan MM, Paul N, Sajib AA. Microbial degradation of lignocellulosic biomass: discovery of novel natural lignocellulolytic bacteria. *BioTechnologia*. 2018;99(2):137–146. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.75657>
8. Arora NK, Verma M. Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *Biotechnology*. 2017;7:381. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-1008-y>
9. Ausuri J, Dell'Anno F, Vitale GA, Palma Esposito F, Funari V, Franci G, Galdiero M, Della Sala G, Tedesco P, Coppola D, de Pascale D. Bioremediation of multiple heavy metals mediated by Antarctic marine isolated *Dietzia psychrhalcaliphila* J11D. *Journal of Marine Science and Engineering*. 2022;10(11):1669. <https://doi.org/10.3390/jmse10111669>



10. Bhakat K, Chakraborty A, Islam E. Characterization of zinc solubilization potential of arsenic tolerant *Burkholderia* spp. isolated from rice rhizospheric soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2021;37(3):39. doi: 10.1007/s11274-021-03003-8
11. Biliavska L, Iutynska G, Loboda M, Ropotilov B, Skrotskyi S. Diagnostics and bioremediation of soils affected by military operations in Ukraine. *Biological Systems: Theory and Innovation*. 2024;15(3):67–78. <https://doi.org/10.31548/biologiya/3.2024.67>
12. Gang S, Sharma S, Saraf M, Buck M, Schumacher J. Analysis of indole-3-acetic acid (IAA) production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the Salkowski method. *Bio-protocol*. 2019;9(09):e3230. doi: 10.21769/BioProtoc.3230
13. Gómez-Godínez LJ, Aguirre-Noyola JL, Martínez-Romero E, Arteaga-Garibay RI, Ireta-Moreno J, Ruvalcaba-Gómez JM. A look at plant-growth-promoting bacteria. *Plants*. 2023;12(8):1668. <https://doi.org/10.3390/plants12081668>
14. Hasan MdM, Marzan LW, Hosna A, Hakim A, Azad AK. Optimization of some fermentation conditions for the production of extracellular amylases by using *Chryseobacterium* and *Bacillus* isolates from organic kitchen wastes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2017;15(1):59–68. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.02.009>
15. Lougen BC, Haarmann D, Lynne AM. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology and Biology Education*. 2011;20(1):51–53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
16. Mudryk ZJ. Decomposition of organic and solubilisation of inorganic phosphorus compounds by bacteria isolated from a marine sandy beach. *Marine Biology*. 2004;145:1227–1234. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1397-4>
17. Nautiyal CS. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. 1999;170(1):265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
18. Pandey SS, Singh P, Samal B, Verma RK, Chatterjee S. Xanthoferrin siderophore estimation from the cell-free culture supernatants of different *Xanthomonas* strains by HPLC. *Bioprotocol*. 2017;7(14):e2410. doi: 10.21769/BioProtoc.2410
19. Pérez-Miranda S, Cabirol N, George-Téllez R, Zamudio-Rivera LS, Fernández FJ. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods*. 2007;70(1):127–131. doi: 10.1016/j.mimet.2007.03.023
20. Souza Rd, Ambrosini A, Passaglia LM. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*. 2015;38(4):401–419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
21. Wang G, Ren Y, Bai X, Su Y, Han J. Contributions of beneficial microorganisms in soil remediation and quality improvement of medicinal plants. *Plants*. 2022;11(23):3200. <https://doi.org/10.3390/plants11233200>
22. Yerkhova A, Parnikoza I, Pavlovska M, Yevchun H, Prekrasna-Kviatkovska Y. Microbiomes of Antarctic pearlwort (*Colobanthus quitensis*) of the



maritime Antarctic: distinct diversity and core microbes in rhizosphere and endosphere compartments of the plant. *Ukrainian Antarctic Journal*. 2022;20(2(25)):212–240. <https://doi.org/10.33275/1727-7485.2.2022.70>

Стаття надійшла до редакції 05.08.2025 р.



УДК 576.64

**Н. І. Теслюк, К. О. Шульга, Т. В. Іваниця,
К. Я. Жилівська**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
e-mail: natalana@onu.edu.ua

ОПТИМІЗАЦІЯ СХЕМИ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ЕКСПЛАНТІВ ТА ФІТОГОРМОНАЛЬНОГО СКЛАДУ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВВЕДЕННЯ КУКУРУДЗИ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Мета роботи: оптимізувати схему стерилізації експлантів з використанням протигрибкових агентів та виявити вплив фітогормонального складу живильного середовища на регенераційні процеси у кукурудзи в культурі *in vitro*. **Матеріали і методи.** На етапі введення насіння кукурудзи в культуру *in vitro* було протестовано чотири схеми стерилізації з використанням фунгіцидів та без них. Визначали вплив фітогормонів цитокінінового та ауксинового ряду: 6-бензиламінопурину (6-БАП) індолілоцтової кислоти (ІОК) на процеси регенерації кукурудзи в культурі *in vitro*. **Результати.** Виявлено, що найбільший вихід стерильних експлантів у культурі *in vitro* забезпечила обробка препаратами «Хорус» (85,8%) та «Хінозол» (95,2%). За показником життєздатності проростків та довжиною коренів кращі показники були у варіанті з препаратом «Хорус» (на 15% і 45% більше за контроль відповідно). Встановлено, що середовище MS з ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л найкраще впливало на приживлюваність експлантів (84%), на процеси утворення калусу (47%) та на ризогенез (30 %), а на стимуляцію пагоноутворення – MS з 6-БАП 2 мг/л та ІОК 0,5 мг/л. **Висновок.** Оптимальною схемою для стерилізації насіння кукурудзи як експлантів для культури *in vitro* є: промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка відбілювачем «Білизна» (NaOCl 10,5 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистиллятом двічі, обробка препаратом «Хорус» (1,4 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистиллятом тричі. Встановлено, що кращим для процесів введення в стерильну культуру було живильне середовище MS: зі збільшеним вмістом ауксинів (ІОК 2 мг/л) – для індукування калусів і ризогенезу; цитокінінів (6-БАП 2 мг/л) – для стимуляції органогенезу.

Ключові слова: стерилізація експлантів, *Zea mays L.*, фітогормони, живильне середовище, культура *in vitro*.

Україна – потенційний лідер аграрного виробництва. Однією з найперспективніших сільськогосподарських культур є кукурудза (*Zea mays L.*). З кожним роком питання збільшення її виробництва постає все гостріше [14]. Головне джерело підвищення врожайності – ефективне використання нових



гібридів, для створення яких необхідний широкий спектр знань у галузі селекції, та біотехнології.

Останнім часом все більше значення мають рослини, створені та вирощені за допомогою біотехнологічних методів, що базуються на використанні культур *in vitro*. Це дозволяє отримати велику кількість рослин з однорідним генотипом та значно прискорити селекційний процес. Проте приживлюваність у стерильних умовах варіює не лише серед різних рослин, а й у межах одного виду. Головною проблемою є відсутність універсальних протоколів культивування, оскільки необхідна їх оптимізація або розробка нових методик залежно від типу і джерела експлантів, вимог рослинних об'єктів до живильного середовища, потреба у певних концентраціях регуляторів росту [5].

Одним з найважливіших етапів у біотехнології рослин є введення експланта в культуру *in vitro*. На цьому етапі критичним є дотримання стерильності та склад живильного середовища. Перше усуває негативний вплив мікроорганізмів, спотворення ними результатів експерименту та забезпечує оздоровлення рослини. Друге дозволяє контролювати ріст та розвиток рослини, а додавання фітогормонів – дає можливість направити рослинні тканини за певним шляхом регенерації, отримуючи калуси для суспензійних культур або розгалужені пагони для клонального мікророзмноження.

Відомо, що запобігти контамінації в культурі *in vitro* можна завдяки ретельній стерилізації експлантів, обладнання, живильного середовища тощо. Для обробки експлантів підбирають такі концентрації стерилізаційних агентів та час експозиції, щоб забезпечити найменший рівень забруднення при найбільшій приживлюваності у культурі *in vitro* [8].

Для стерилізації насіння кукурудзи найчастіше в наукових публікаціях пропонують використовувати гіпохлорид натрію та етанол у різних співвідношеннях [6; 15]. Однак деякі автори зазначали, що показники схожості насіння та рівні грибового забруднення широко варіювали залежно від генотипу та географічного походження насіння. Тому для деяких експлантів кукурудзи була потреба у довшій схемі стерилізації з додаванням фунгіцидних препаратів [12].

Не менш важливим у процесі введення кукурудзи в культуру *in vitro* є підбір оптимальної концентрації основних фітогормонів у живильному середовищі як для отримання калусної тканини, так і для процесів органогенезу. Відомо, що висока концентрація ауксинів загалом сприяє коренеутворенню, а цитокінінів – сприяє регенерації пагонів. У цей же час баланс обох типів гормонів призводить до розвитку калусів [7]. Було заявлено, що для індукції розвитку калусів у зернових доцільно використовувати комбінації ауксинів із цитокінінами, переважно з вищими концентраціями ауксинів, тоді як для регенерації пагонів ефективними є їх поєднання з переважанням цитокінінів [10; 13].

Так, для культивування кукурудзи *in vitro* найчастіше застосовують ауксин: 2,4-дихлорфеноксіоцтову кислоту (2,4-Д) у концентрації 2–10 мг/л, індолилоцтову кислоту (ІОК) – у вищій дозі через меншу активність; а також цитокінін 6-бензиламінопурин (6-БАП) у межах 0,5–3 мг/л [1; 9]. Рекомендації щодо використання тих чи інших регуляторів росту та їх кількості дуже



різняться, єдиної думки поки що немає, тому дослідження в цьому напрямку потребують відпрацювання та узагальнень.

Метою роботи було оптимізувати схему стерилізації експлантів з використанням фунгіцидних агентів та виявити вплив фітогормонального складу живильного середовища на регенераційні процеси кукурудзи в культурі *in vitro*.

В план досліджень входило:

- оптимізувати схему стерилізації експлантів кукурудзи за допомогою фунгіцидів;
- оцінити вплив фітогормонального складу живильного середовища на стимуляцію калусогенезу та проліферацію пагонів і утворення коренів у культурі *in vitro*;
- встановити ефективні комбінації ауксинів та цитокінінів для стимуляції конкретних шляхів морфогенезу.

Матеріали і методи

Матеріалом для експерименту з пошуку кращої схеми стерилізації експлантів кукурудзи слугувало насіння гібриду «Хайглоу» (TM Syngenta Seeds, Нідерланди). Дослідження проводили на базі Наукового центру морської біології та біотехнології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Для досягнення поставлених завдань було проведено два блоки експериментів:

1. тестування різних схем стерилізації з додаванням фунгіцидних агентів;
2. дослідження впливу різних комбінацій фітогормонів на ріст і розвиток зародків кукурудзи в умовах *in vitro*.

Для виявлення впливу фунгіцидів на вихід стерильних експлантів, життєздатність та розвиток кукурудзи в культурі *in vitro* використовували розчини препаратів «Хорус» (1,4 г/л), «Хінозол» (2 г/л) та «Фундазол» (1 г/л). Концентрації та час експозиції стерилізаційних агентів обирали на основі рекомендацій виробників, а також за Н. В. Титаренко та ін. [4]. Використовували таку схему досліджень:

1. Промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка розведеним розчином відбілювача «Білизна» з концентрацією гіпохлориду натрію NaOCl 10,5 г/л (15 хв), промивка стерильною дистильованою водою двічі, обробка препаратом «Хорус» (1,4 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистиллятом тричі.
2. Промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка засобом «Білизна» (15 хв), промивка стерильним дистиллятом двічі, обробка «Хінозол» (2 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистиллятом тричі.
3. Промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка відбілювачем (15 хв), промивка стерильним дистиллятом двічі, обробка препаратом «Фундазол» (1 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистиллятом тричі.



4. Промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка засобом «Білизна» (15 хв), промивка стерильним дистиллятом двічі – контроль.

Стерильне насіння кукурудзи у ламінарному боксі переносили на живильне середовище Мурасіге і Скуга (MS). Культивували експланти в умовах культуральної кімнати ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря = 60–70%, фото-період 16/8, інтенсивність освітлення = 2500 лк). Приживлюваність та ріст кукурудзи фіксували на 4-ий, 7-ий, 14-ий та 21-ий дні експерименту. У процесі досліджень проводили обліки виходу стерильних експлантів приживлюваності експлантів, довжини пагонів та коренів.

Для виявлення впливу фітогормонального складу живильного середовища на стимуляцію калусогенезу та пагоноутворення у кукурудзи в культурі *in vitro* як експланти використовували ізольовані зародки гібриду DCS 1541, що був наданий агрономом господарства ТОВ Діброва, А.С. Данилюком. Донорні рослини вирощувалися в кліматичних умовах Лісостепової зони на сірих лісових ґрунтах за сумарної кількості позитивних температур $2800\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ізоляцію зародків проводили в ламінар-боксі за допомогою скальпелю та препарувальної голки [2].

У експерименті використовували тверде живильне середовище MS, до якого, згідно з даними наукових джерел, додавали фітогормони цитокінінового та ауксинового ряду. Схема досліджень включала варіанти:

I 6-БАП 2 мг/л та ІОК 0,5 мг/л.

II ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л.

MS k Контроль – без додавання фітогормонів.

Ізольовані зародки поміщали в контрольовані умови культуральної кімнати та вели спостереження на 3-тій, 5-тій, 7-мий та 10-тий день.

Робили облік відсотку приживлюваності, початку проліферації експлантів, утворення калусу, кількості проростків, кількість експлантів, що утворили корені.

Статистичні розрахунки проводили за допомогою програми Microsoft Excel (середнє значення, стандартне відхилення).

Результати досліджень та їх обговорення

Оптимізація схеми стерилізації експлантів з використанням проти-грибкових агентів

Було виявлено, що з четвертого дня дослідів спостерігалось зменшення кількості стерильних експлантів у всіх зразках, крім тих, що були оброблені препаратом «Хінозол». Однак починаючи з сьомого дня зниження за цим показником відбувалось у всіх дослідних варіантах та найбільше забруднення мікроорганізмами під кінець досліджень було встановлено після обробки ініціальних експлантів препаратом «Фундазол» – 40% від початкової кількості введених в культуру експлантів (табл. 1). На 21-й день кількість стерильних експлантів, що перевищували контроль, відмічено у дослідях з використанням препаратів «Хорус» та «Хінозол» — на 16,6% та 26,6% краще відповідно.

За середнім значенням стерильності за весь час дослідів найкращий ефект забезпечила обробка препаратами «Хінозол» та «Хорус» – на 20,8% та



Таблиця 1

Вплив фунгіцидних стерилізаційних агентів на ініціальні експланти кукурудзи
в культурі *in vitro*

Table 1

Effect of antifungal sterilizing agents on the initial maize explants *in vitro* culture

Стерилізаційний агент	Стерильність, %				Середнє значення стерильності за 21 день Σ , %	Життєздатність, %				Середнє значення життєздатності за 21 день Σ , %
	День від початку культивування					День від початку культивування				
	4	7	14	21		4	7	14	21	
Хорус	93.3	86.7	90.0	73.3	85.8	100.0	96.7	90.0	76.7	90.8
Хінозол	100.0	96.7	90.0	83.3	92.5	66.7	56.7	36.7	36.7	49.2
Фундазол	96.7	80.0	66.7	40.0	70.8	96.7	80.0	66.7	46.7	72.5
Контроль	83.3	76.7	70.0	56.7	71.7	96.7	76.7	70.0	60.0	75.8

n = 40

Σ – середнє значення стерильності або життєздатності за 21 день у %.

Σ is the average value of sterility or viability for 21 days in %.

14,1% перевищували контроль відповідно. Оброблені препаратом «Фундазол» та контрольний варіант за даним показником мають різницю менше 1%.

За параметром життєздатності результати не повністю повторюють тенденцію значень стерильності: використання препарату «Хінозол» спричиняло значне зменшення життєздатних експлантів кукурудзи вже на 4-ий день спостережень (66,7%), а на 21-ий день таких експлантів залишилося близько третини від початкової кількості (36,7%). При цьому на останній день спостережень найкращі показники були за обробки препаратом «Хорус» – 76,7% проти 60% у контрольному варіанті.

Стерилізація препаратом «Хінозол» викликала потемніння насінин кукурудзи (рис. 1а), що ймовірно й зумовлювало стрімке зниження життєздатності. Натомість зразки, оброблені препаратом «Хорус», демонстрували розвинену кореневу систему та яскраво зелені листки (рис. 1б).

Спостереження показали, що потемніння ініціальних експлантів виникало тільки при обробці препаратом «Хінозол» та спостерігалось вже з четвертого дня спостережень. Надалі в цьому варіанті візуально спостерігали зміну кольору живильного середовища.

В результаті оцінки динаміки проростання ініціальних експлантів кукурудзи встановлено, що найвищий рівень сумарного проростання за період дослідження (21 день) спостерігався у варіантах контроль (41,67%) та обробки препаратом «Хорус» (42,5%) (табл. 2). Вже на 4-му дні спостереження показник проростання у варіанті з препаратом «Хорус» становив 33,33%, що поступово підвищувався до 53,33% на 7-й день, після чого дещо знижувався. Це свідчить про потенційно нетоксичну дію даного препарату на експланти кукурудзи та можливу стимулювальну активність у ранні терміни культивування. На відміну від цього, при застосуванні препарату «Хінозол» проростання кукурудзи було найнижчим серед усіх варіантів і не перевищувало 20% на фінальному етапі. Середній показник проростання у цьому варіанті склав



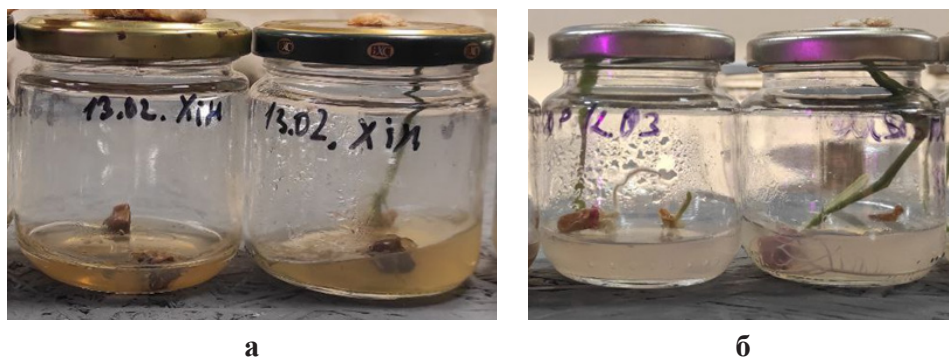


Рис. 1. Проростки кукурудзи в культурі *in vitro*, стерилізовані препаратами «Хінозол» (а) та «Хорус» (б) на 14-ий день

Fig. 1. Maize seedlings *in vitro* sterilized by «Chinozol» (a) and «Horus» (b) on the 14th day

Таблиця 2

Вплив фунгіцидних стерилізаційних агентів на проростання ініціальних експлантів кукурудзи в культурі *in vitro*

Table 2

The effect of antifungal sterilizing agents on the germination of initial maize explants *in vitro* culture

Стерилізаційний агент	Проростання, %				Середнє значення проростання за 21 день, Σ, %
	День від початку культивування				
	4	7	14	21	
Хорус	33.33	53.33	40.00	43.33	42.50
Хінозол	23.33	13.33	20.00	20.00	19.17
Фундазол	26.67	33.33	26.67	23.33	27.50
Контроль	40.00	43.33	40.00	43.33	41.67

n = 40

Σ – середнє значення проростання за 21 день у %.

Σ is the average value of germination for 21 days in %.

лише 19,17%, що вказує на можливу фітотоксичність або пригнічувальну дію активних компонентів препарату «Хінозол» на клітини первинної тканини.

Обробка препаратом «Фундазол» також виявила помірно негативний вплив: середній рівень проростання становив 27,5%, із незначними коливаннями між 4-м і 21-м днем спостереження. Це дозволяє припустити, що препарат частково пригнічує проростання, однак не настільки критично, як препарат «Хінозол».

Наступним етапом дослідження була аналіз динаміки росту кореневої системи проростків, отриманих після обробки різними фунгіцидами, а також показники стерильності експлантів, що є критичними при роботі в умовах *in vitro* (рис.2).



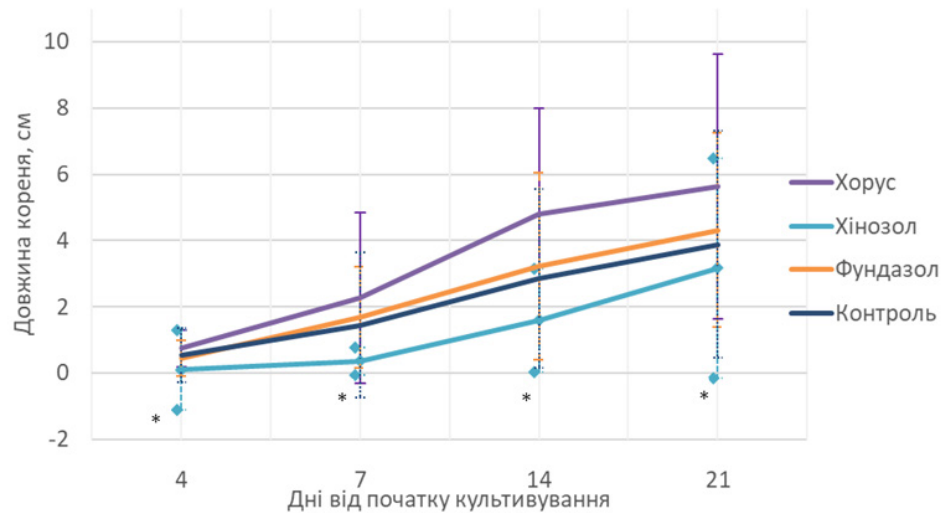


Рис. 2. Динаміка збільшення середньої довжини коренів кукурудзи після стерилізації фунгіцидами в культурі *in vitro*

Примітка – *позначення стандартного відхилення довжини кореня проростків на кожен день спостереження

Fig. 2. Dynamics of increase in average root length of maize after sterilization with fungicides at *in vitro* culture

Note – *marking the standard deviation of the root length of the seedlings for each day of observations

Хоча у досліді з препаратом «Хорус» та контролем рівень проростання був практично однаковим, саме цей препарат продемонстрував статистично значущий позитивний вплив на розвиток кореневої системи. Середня довжина коренів після обробки препаратом «Хорус» перевищувала контрольні значення на 45%. У варіанті з препаратом «Фундазол» було зафіксовано збільшення довжини кореня на 11%, однак загальний рівень проростання залишався нижчим за контроль (23% проти 43%). Навпаки, обробка препаратом «Хінозол» призвела до зменшення довжини коренів на 18,5% у порівнянні з контролем, що узгоджується з раніше виявленим загальним пригніченням проростання. Дослідження показали, що найвищий відсоток стерильних (не контамінованих) експлантів було отримано у варіантах з препаратами «Хорус» (85,8%) та «Хінозол» (95,2%). Проте, незважаючи на високу стерильність, варіант з хінозолом виявився непридатним через виражену фітотоксичність.

Таким чином, оптимальним за комплексом показників (проростання, довжина коренів, життєздатність і стерильність) в умовах даного досліді виявився саме фунгіцид «Хорус».

Виявлення впливу фітогормонів на процеси регенерації кукурудзи

У результаті наших досліджень з використанням живильних середовищ, модифікованих за фітогормональним складом, була проаналізована приживлюваність ізолюваних зародків кукурудзи на 3-тій, 5-тій, 7-мий та 10-тий день від початку культивування (табл. 3).

На 5-й день культивування була виявлена різниця між приживлюваністю експлантів у контрольному варіанті та модифікованих середовищах з ре-



Таблиця 3

Введення експлантів кукурудзи на модифіковані живильні середовища

Table 3

Inoculation of maize explants on modified culture media

Варіант середовища	Приживлюваність, %				Середнє значення приживлюваності за 10 днів Σ, %
	День від початку культивування				
	3	5	7	10	
I	99	75	62	55	72,75 ≤ 73
II	100	84	78	70	82,68 ≤ 83
MS k	92	70	47	30	59,5 ≤ 60

n = 60

 Σ – середнє значення приживлюваності за 10 днів у %.

I – середовище з додаванням 2 мг/л 6-БАП та 0,5 мг/л ІОК; II – середовище з 2 мг/л ІОК та 0,5 мг/л 6-БАП; MS k – контрольне середовище.

 Σ – average survival rate for 10 days in %.

I – medium with the addition of 2 mg/l 6-BAP and 0.5 mg/l IAA; II – medium with 2 mg/l IAA and 0.5 mg/l 6-BAP; MS k – control medium.

гуляторами росту. На контрольному середовищі MS без додавання фітогормонів життєздатними були 70% експлантів, на середовищі з додаванням 6-БАП в концентрації 2 мг/л та ІОК 0,5 мг/л (середовище I) – 75%, на MS з ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л (середовище II) – 84%.

На 5–7 день спостерігали суттєве зниження життєздатності експлантів, що було спричинене контамінацією мікроорганізмами, які чинили негативний вплив на рослинний матеріал. Була вирахована середня приживлюваність експлантів за 10 днів культивування, відповідно до наведених даних (табл. 3) на середовищі II приживлюваність була на 12–13% вищою ніж на середовищі I, та на 22–23% вищою, ніж у контролі.

Було встановлено, що найкращий показник приживлюваності ізольованих зародків дослідного гібриду кукурудзи на 10 день культивування – 70% було зафіксовано середовищі II – MS з 2 мг/л ІОК та 0,5 мг/л 6-БАП.

Утворення калусу – один з параметрів, за яким оцінювали вплив фітогормонів на ініціальні експланти. Починаючи з 3–5 дня культивування відмічали початок процесів дедиференціації тканин та в подальшому утворення калусу (рис. 3).

Візуальні спостереження показали, що калус був білувато-жовтого кольору, іноді напівпрозорий, та з видимими щільними морфогенними зонами.

У процесі культивування спостерігали різницю в утворенні калусних зон між дослідними варіантами середовищ (рис. 4). Так, у середовищі II з високим вмістом ауксинів (ІОК 2 мг/л) відбувалася індукція калусогенезу – 47% від загальної кількості експлантів у даному варіанті. При цьому на контрольному середовищі MS без додавання регуляторів росту калусні тканини не утворювалися, ізольовані зрілі зародки залишалися без змін, або проявляли ознаки пагоноутворення.

Дані результати співпадають та підтверджують стимулювальну роль ауксинів в утворенні калусної тканини [3].



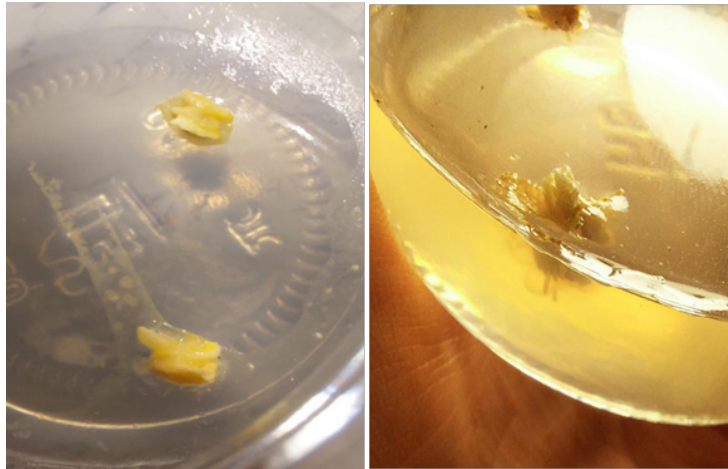


Рис. 3. Утворення калусної тканини з ізольованих зародків кукурудзи на 7-ий день спостережень

Fig. 3. Callus tissue formation from isolated maize germs on the 7th day of observation



Рис. 4. Утворення калусу та пагонів із ізольованих зародків кукурудзи на 7-мий день експерименту

I – середовище з додаванням 2 мг/л 6-БАП та 0,5 мг/л ІОК; II – середовище з 2 мг/л ІОК та 0,5 мг/л 6-БАП; MS k – контрольне середовище.

Fig. 4. Callus and shoot formation from isolated maize germs on the 7th day of the experiment
I – medium with the addition of 2 mg/l 6-BAP and 0.5 mg/l IAA; II – medium with 2 mg/l IAA and 0.5 mg/l 6-BAP; MS k – control medium.

Було зроблено висновок, що середовище MS з додаванням ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л найкраще впливало на приживлюваність експлантів (84%) та на утворення калусу (47%).

Активацію ростових процесів введених експлантів визначав початок набухання та проліферації зародку на 3–4 день експерименту. Розвиток пагонів візуально помітним був на 7-мий день (рис. 5) з найкращими показниками 66% на середовищі I (6-БАП 2 мг/л, ІОК 0,5 мг/л).

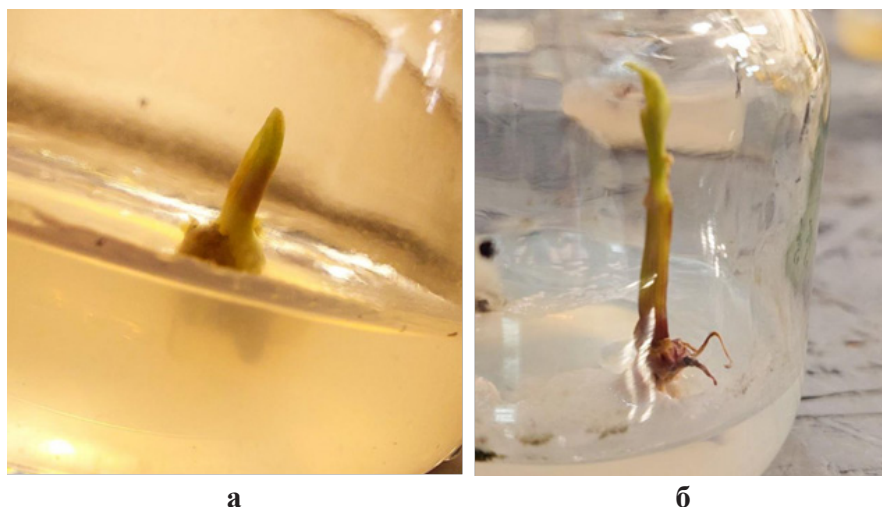


Рис. 5. Розвиток пагонів із зародків на 7-мий (а) та 14-тий (б) день культивування на середовищі І (6-БАП 2 мг/л, ІОК 0,5 мг/л)

Fig. 5. Development of shoots from maize germs on the 7th (a) and 14th (b) day of cultivation on medium I (6-BAP 2 mg/l, IAA 0.5 mg/l)

Пагони, що розвивалися, з перших проявів проліферації мали ознаки органогенезу та з кожним днем культивування набували зеленого насиченого кольору. На контрольному середовищі, згідно середніх даних на 10-ий день культивування, було зафіксовано утворення пагонів лише у 12% ініціальних експлантів (рис. 4). На середовищі II (ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л) було відмічено 23% формування пагонів.

Результати дослідження підтверджують позитивний вплив цитокінінів, зокрема 6-БАП, на стимуляцію утворення пагонів із зародків кукурудзи в умовах *in vitro* [11].

Отже, для отримання калусної тканини найкращим було середовище з високим вмістом ауксинів – ІОК 2 мг/л та зменшеним вмістом цитокінінів 6-БАП 0,5 мг/л. При цьому проростки краще розвивалися на середовищі з підвищеною концентрацією цитокінінів (6-БАП 2 мг/л) та зменшеним вмістом ауксинів (ІОК – 0,5 мг/л).

Було пораховано відсоток експлантів, що утворили корені, від загальної кількості введених екземплярів (рис. 6). Виходячи з наведених даних на 10-ту добу стимуляція коренеутворення відбувалася у варіанті з додаванням до середовища ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л на 11% інтенсивніше ніж при додаванні 0,5 мг/л ІОК та 6-БАП 2 мг/л, та вдвічі інтенсивніше у порівнянні з контролем.

Наші результати узгоджуються з основними положеннями про ключову роль ауксинів в ініціації органогенезу та ризогенезу [1].

У результаті отриманих даних можна зробити висновок про вплив концентрації фітогормонів на процеси росту і розвитку ізолюваних зародків кукурудзи гібриду DCS 1541 у культурі *in vitro*. Вдало підібрана концентрація та співвідношення ауксинів та цитокінінів, в нашому випадку ІОК, та 6-БАП

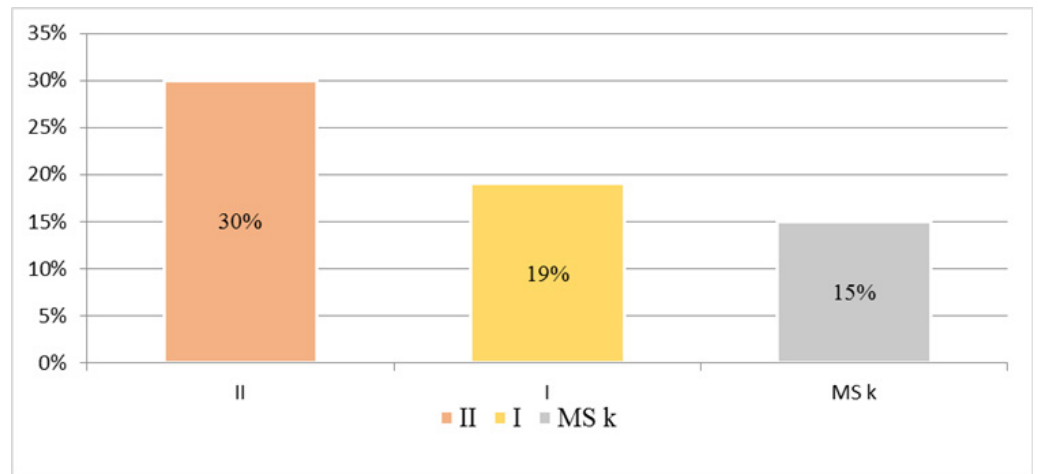


Рис. 6. Кількість експлантів (%), що утворили корені на 10-тий день культивування
 I – середовище з додаванням 2 мг/л 6-БАП та 0,5 мг/л ІОК; II – середовище з 2 мг/л ІОК та 0,5 мг/л 6-БАП; MS k – контрольне середовище.

Fig. 6. Number of explants (%) that formed roots on the 10th day of cultivation
 I – medium with the addition of 2 mg/l 6-BAP and 0.5 mg/l IAA; II – medium with 2 mg/l IAA and 0.5 mg/l 6-BAP; MS k – control medium.

дозволяє отримати рослини-регенеранти з бажаними характеристиками, що будуть вільні від сапрофітної мікробіоти.

У підсумку, результати експериментів дозволили встановити, що найбільший вихід стерильних експлантів кукурудзи культури *in vitro* забезпечило використання фунгіцидів «Хорус» (85,8%) та «Хінозол» (95,2%). За показником життєздатності експлантів та довжиною коренів кращою була обробка фунгіцидом «Хорус» (на 15% і 45% більше за контроль відповідно). Отже, отримані результати дозволяють рекомендувати препарат «Хорус» як перспективний фунгіцид для застосування в *in vitro* стерилізації ініціальних експлантів кукурудзи з урахуванням ефективного контролю контамінації та збереження життєздатності тканин.

Встановлено, що середовище MS з додаванням ІОК 2 мг/л та 6-БАП 0,5 мг/л найкраще впливало на приживлюваність експлантів (84%), на процеси утворення калусу (47%), а також розвиток коренів (30%). Для стимуляції процесів проліферації, утворення пагонів та в подальшому отримання повноцінних мікроклонів кукурудзи *in vitro* кращим було середовище MS з додаванням 6-БАП 2 мг/л та ІОК 0,5 мг/л.

Рекомендовано використання такої схеми для стерилізації насіння кукурудзи як експлантів для культури *in vitro*: промивка мильним розчином (5 хв), промивка проточною водою (5 хв), обробка засобом «Білізна» (NaOCl 10,5 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистилатом двічі, обробка препаратом «Хорус» (1,4 г/л, 15 хв), промивка стерильним дистилатом тричі. А також використання живильних середовищ з збільшеним вмістом ауксинів (ІОК 2 мг/л) для індукування калусів і ризогенезу та цитокінінів (6-БАП 2 мг/л) для стимуляції органогенезу.



N. I. Tesliuk, K. O. Shulha, T. V. Ivanytsia,
K. Y. Zhylovska

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: natalana@onu.edu.ua

OPTIMIZATION OF EXPLANT STERILIZATION PROTOCOL AND PHYTOHORMONAL COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM FOR ESTABLISHMENT OF MAIZE IN VITRO CULTURE

Summary

The **aim** of the study was to optimize the sterilization scheme of explants using antifungal agents and to determine the effect of the phytohormonal composition of the nutrient medium on the stimulation of callus formation and shoot and root proliferation in maize in vitro. **Materials and methods.** At the stage of introducing maize seeds into in vitro culture, four sterilization schemes with and without fungicides were tested. The effect of cytokinin and auxin phytohormones: 6-benzylaminopurine (6-BAP) and indoleacetic acid (IAA) on the regeneration processes of maize in in vitro culture was determined. **Results.** It was found that the highest yield of sterile explants in in vitro culture was provided by treatment with "Horus" (85.8%) and "Hinozol" (95.2%). In terms of seedling viability and root length, the best results were obtained with Horus (15% and 45% higher than the control, respectively). It was established that the MS medium with 2 mg/l IAA and 0.5 mg/l 6-BAP had the best effect on explant survival (84%), callus formation processes (47%) and rhizogenesis (30%), while MS with 6-BAP 2 mg/l and IAA 0.5 mg/l was best for stimulating shoot formation. **Conclusion.** The optimal scheme for sterilizing maize seeds as explants for in vitro culture is: washing with soap solution (5 min), washing with running water (5 min), treatment with "Bleach" (NaOCl 10.5 g/l, 15 min), washing with sterile distillate twice, treatment with "Horus" (1.4 g/l, 15 min), washing with sterile distillate three times. It was found that the best medium for introduction into a sterile culture was MS medium: with an increased content of auxins (IAA 2 mg/l) – for inducing callus and rhizogenesis; cytokinins (6-BAP 2 mg/l) – for stimulating organogenesis.

Key words: explant sterilization, *Zea mays* L., phytohormones, culture medium, in vitro culture.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Горбатюк І.Р., Гнатюк І.С., Банникова М.О., Тараненко А.М., Моргул Б.В. Вплив регуляторів росту на регенераційну здатність калюсу м'якої пшениці сорту Зимоярка // Фізіологія рослин і генетика. – 2015. – С. 1–7.
2. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Бацманова Л.М. Підручник «Фізіологія рослин» // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 775–780.
3. Сатарова Т.М., Піралов Г.Р., Боденко Н.А., Абраїмова О.Є. Калусогенез у ліній кукурудзи на фоні ауксинового навантаження // Бюлетень Інституту зернового господарства. – 2010. – № 12. – С. 5–15.



4. Титаренко Н., Теслюк Н. Використання препаратів фунгіцидної дії для запобігання контамінації під час введення рослин в культуру *in vitro* // Грааль науки. – 2021. – № 7. – С. 131–133.
5. Федоренко Е.М., Алдошин А.В., Черенкова П.Т. Методика виробництва насіння кукурудзи: монографія // Дніпропетровськ: Акцент ПП. – 2013. – 52 с.
6. Hong J.K., Baek J., Park S.R., Lee G.S., Suh E.J. A New Protocol to Mitigate Damage to Germination Caused by Black Layers in Maize (*Zea mays* L.) Seeds // Agriculture, 13, 2147. – 2023.
DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13112147>
7. Huang X.Q., Wei Z.M. High frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays*) // Plant Cell Rep. – 2004. – Vol. 22. – P. 793–800. DOI: 10.1007/s00299-003-0748-9
8. Kranz E. *In vitro* fertilization: Analysis of early post-fertilization development using cytological and molecular techniques // Sex Plant Reprod. – 2008. – Vol. 21. – P. 67–77. DOI: 10.1007/s00497-007-0060-x
9. Krishan K., Alok A., Abhishek K., Bhupender K., Sujay R. *In vitro* regeneration in maize (*Zea mays* L.) // Maize journal. – 2021. – T. 10, № 1. – С. 6–12.
10. Odunayo J., Olawuyi O., Olugbenga D., Olumayowa M. *In vitro* regeneration and proliferation of maize (*Zea mays* L.) genotypes through direct organogenesis // Journal of natural sciences research. – 2019.
DOI: 10.7176/JNSR
11. Ombori O. Gitonga N.M., Mschuka J. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines // Biotechnology. – 2008. – № 7 (2). – P. 224–232.
DOI: 10.3923/biotech.2008.224.232
12. Parnell J. Jacob, Pal Gaurav, Awan Ayesha, Vintila Simina, Houdinet Gabriella, Hawkes Christine V., Balint-Kurti Peter J., Wagner Maggie R., Kleiner Manuel. Effective seed sterilization methods require optimization across maize geno-types // Phytobiomes journal. – 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-12-23-0137-R>
13. Pathi K. Tula S., Huda K., Srivastava V., Tuteja N. An efficient and rapid regeneration via multiple shoot induction from mature seed derived embryogenic and organogenic callus of indian maize (*Zea mays* L.) // Plant signaling & behavior. – Vol. 8, no. 10. – 2013. – P. 40–45.
DOI: 10.4161/psb.25891
14. Wahyudi A.T., Priyanto J.A., Fjirina H., Mariastuti H.D., Nawangsih A.A. *Streptomyces* spp. from rhizosphere soil of maize with potential as plant growth promoter // Biodiversitas. – 2019. – V. 20 (9). – P. 247–255.
DOI: 10.13057/biodiv/d200916
15. Zameer Z., Mohsin S., Hasnain A., Maqbool A., Malik K. A. Influence of explant sources on *in vitro* callogenesis and regeneration in maize (*Zea mays* L.) // Pakistan journal of agricultural research. – 2020. – T. 33, № 4.
DOI: 10.17582/journal.pjar/2020/33.4.917.925



REFERENCES

1. Gorbatyuk IR, Hnatyuk IS, Bannikova MO, Taranenko AM, Morgun BV. Influence of growth regulators on the regeneration capacity of callus of soft wheat cv. Zymoyarka. *Fiziol Roslyn Genet.* 2015;2015(1):1–7 (in Ukrainian).
2. Musiyenko MM, Parshykova TV, Batsmanova LM. Plant physiology. *Ukr Bot Zh.* 2008;65(5):775–780 (in Ukrainian).
3. Satarova TM, Piralov GR, Bodenko NA, Abraimova OYe. Callus formation in maize lines under auxin load. *Bull Inst Grain Farming.* 2010;12:5–15 (in Ukrainian).
4. Tytarenko N, Teslyuk N. Use of fungicidal agents to prevent contamination during the introduction of plants into *in vitro* culture. *Graal Nauky.* 2021;7:131–133 (in Ukrainian).
5. Fedorenko EM, Aldoshyn AV, Cherenkova T. Methodology of maize seed production: monograph. Dnipro: Aktsent PP; 2013. 52 p.
6. Hong JK, Baek J, Park SR, Lee GS, Suh EJ. A new protocol to mitigate damage to germination caused by black layers in maize (*Zea mays* L.) seeds. *Agriculture.* 2023;13:2147.
DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13112147>
7. Huang XQ, Wei ZM. High frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays*). *Plant Cell Rep.* 2004;22:793–800. DOI: 10.1007/s00299-003-0748-9
8. Kranz E, Scholten S. *In vitro* fertilization: analysis of early post-fertilization development using cytological and molecular techniques. *Sex Plant Reprod.* 2008;21:67–77. DOI: 10.1007/s00497-007-0060-x
9. Krishan K, Alok A, Abhishek K, Bhupender K, Sujay R. *In vitro* regeneration in maize (*Zea mays* L.). *Maize J.* 2021;10(1):6–12.
10. Odunayo J, Olawuyi O, Olugbenga D, Olumayowa M. *In vitro* regeneration and proliferation of maize (*Zea mays* L.) genotypes through direct organogenesis. *J Nat Sci Res.* 2019. DOI: 10.7176/JNSR
11. Ombori O, Gitonga NM, Mschuka J. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Biotechnol.* 2008;7(2):224–232.
DOI: 10.3923/biotech.2008.224.232
12. Parnell J, Pal G, Awan A, Vintila S, Houdinet G, Hawkes CV, Balint-Kurti PJ, Wagner MR, Kleiner M. Effective seed sterilization methods require optimization across maize genotypes. *Phytobiomes J.* 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-12-23-0137-R>
13. Pathi K, Tula S, Huda K, Srivastava V, Tuteja N. An efficient and rapid regeneration via multiple shoot induction from mature seed derived embryogenic and organogenic callus of Indian maize (*Zea mays* L.). *Plant Signal Behav.* 2013;8(10):40–45. DOI: 10.4161/psb.25891
14. Wahyudi AT, Priyanto JA, Fijrina H, Mariastuti HD, Nawangsih AA. *Streptomyces* spp. from rhizosphere soil of maize with potential as plant growth promoter. *Biodiversitas.* 2019;20(9):247–255.
DOI: 10.13057/biodiv/d200916



15. Zameer Z, Mohsin S, Hasnain A, Maqbool A, Malik KA. Influence of explant sources on *in vitro* callogenesis and regeneration in maize (*Zea mays* L.). Pak J Agric Res. 2020;33(4). DOI: 10.17582/journal.pjar/2020/33.4.917.925

Стаття надійшла до редакції 26.05.2025 р.



Ye. L. Kurianinov, O. Yu. Zinchenko

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +380689836292, e-mail: eugenkuryaninov@gmail.com

THE ANTIMICROBIAL PROMISE OF CULTIVATED MUSHROOMS: A REVIEW OF THE LAST DECADE'S FINDINGS

*A literature analysis was conducted on the antimicrobial potential of cultivated mushroom species. The review focuses on peer-reviewed studies, primarily from the past decade, that evaluate antimicrobial activity in cultivated edible and medicinal mushrooms. Analysis shows that species from the genera *Pleurotus*, *Agaricus*, *Hericium*, *Flammulina*, and *Cordyceps* produce metabolites effective against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Particular attention is given to metabolites like plectasin and cordycepin, which have demonstrated activity against *Mycobacterium tuberculosis* in experimental models. The findings underscore the promising role of cultivated mushrooms as a source of novel antimicrobial agents and reveal prospects for their practical use in pharmaceutical development.*

Key words: cultivated mushrooms, antibiotic resistance, antimicrobial activity, secondary metabolites.

Antimicrobial resistance (AMR) is one of the key public health threats globally. Numerous reports from international health organizations highlight that the uncontrolled use of antibiotics accelerates their loss of effectiveness, complicating the treatment of infections. It threatens the routine management of infectious diseases, increasing morbidity and mortality. According to the World Health Organization (WHO), bacteria with AMR caused directly 1.27 million deaths and contributed to 4.95 million deaths worldwide in 2019 [47].

Hospitalized patients, particularly those with traumatic injuries and prolonged stays, are at higher risk of colonization and infection by multidrug-resistant organisms (MDROs) – including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, extended-spectrum β -lactamase producers, carbapenem-resistant *Enterobacter* and others. In conflict or mass-casualty situations, this problem is worsened by factors such as high rates of open wounds, frequent antibiotic exposure, disrupted infection-control practices, and patient transfers between facilities. Ukraine in recent years has met with severe pressures on its health system. Several clinical reports and surveillance activities show a higher prevalence of MDROs among wounded patients treated in hospitals.

Another growing concern is tuberculosis (TB). Globally, the World Health Organization estimates that in 2023, there were about 10.8 million new cases of TB and 1.25 million deaths. 2 of 5 cases are multidrug-resistant and extensively drug-resistant forms (MDR/XDR-TB), representing a major public health challenge. In Ukraine, more than 1300 new TB cases are reported monthly in 2025, with around 20–30% of these patients diagnosed with drug-resistant forms, contributing significantly to mortality and treatment complications. A prolonged therapy, the complexity of multidrug antibiotic regimens, and their considerable toxicity highlight the urgent need to explore alternative therapeutic agents against this disease [48, 49].

Antimicrobial activity of fungal metabolites is well-known for many decades but these studies were mostly focused on micromycetes leaving aside mushrooms whose complex life cycle can provide a promising field for the research on metabolites synthesized at different stages of life cycle. Under such conditions, mushrooms can be considered a poorly studied but promising source of bioactive secondary metabolites with antimicrobial activity.

Fungi: classification and metabolic features. Mushrooms are classified by taxonomic characteristics, but for practical purposes, they are often grouped by criteria related to human use. Four main categories are typically distinguished:

1) Edible mushrooms. These mushrooms have a long history of safe consumption, and the fruiting bodies have been part of the human diet for centuries in many cultures. They are considered safe either because they are inherently free of hazardous metabolites or because any potentially harmful compounds are effectively neutralized or removed by culinary processing, such as boiling or frying. Prominent examples are *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) and *Agaricus bisporus* (button mushroom) [35].

2) Poisonous mushrooms. These species contain toxins that can cause severe illness or death even in small doses. Classic examples are *Amanita phalloides* (death cap) and *Galerina marginata* (deadly galerina), both of which produce amatoxins that affect RNA polymerase II, leading to fatal hepatotoxicity [11].

3) Medicinal mushrooms. This group includes species with documented pharmacological properties, including immunomodulatory and anti-inflammatory activity. Polypores such as *Ganoderma lucidum* (Reishi/Lingzhi) are rich in bioactive β -glucans and triterpenoids, which are used in traditional and modern medicine [15, 44].

4) Psychoactive mushrooms. These mushrooms contain neuroactive metabolites that alter perception of reality, cognitive function, and mental activity. *Psilocybe* species produce psilocybin, a tryptamine alkaloid that is currently being investigated in clinical trials for the treatment of psychiatric disorders. In contrast, *Amanita muscaria* (red fly agaric) contains isoxazole derivatives (muscimol and ibotenic acid) that are responsible for its hallucinogenic effects [40, 46].

From a cultivation perspective, fungi are divided into those that reliably form fruiting bodies under artificial conditions (in particular, xylotrophs, such as *Pleurotus*, and saprotrophs, such as *Agaricus*, which dominate global mushroom production), and those that do not form fruiting bodies under artificial conditions. Especially numerous are ectomycorrhizal fungi, whose life cycles require host



plants and complex symbioses. Despite recent advances, the cultivation of the latter remains a challenge and is only just beginning to develop [16, 28].

Fungal metabolism changes significantly at different stages of the life cycle, especially during the transition from vegetative mycelium to reproductive structures. During the mycelial phase, primary metabolic processes, including carbohydrate metabolism and enzyme production, dominate, which supports rapid biomass accumulation and substrate colonization. In contrast, fruiting bodies reorient metabolism towards morphogenesis and accumulation of secondary metabolites. Comparative studies between mycelial and fruiting body tissues of edible mushrooms (*A. bisporus*, *P. ostreatus*, *Lentinula edodes*) demonstrate significant variation in metabolite concentrations, indicating stage-specific biochemical adaptation [5].

The transition to reproductive development is also accompanied by differential gene expression and metabolite profiles. High-throughput transcriptomic analysis of *Lentinula edodes* has shown that thousands of genes are differentially expressed between the mycelium and mature fruiting body phases, with many transcripts associated with secondary metabolism and developmental regulation being upregulated in fruiting bodies [5]. Integrated metabolomic profiling confirms these shifts, documenting a significant accumulation of bioactive secondary metabolites, including terpenoids, phenolic compounds, and polysaccharides in fruiting bodies compared to mycelium, with notable variations even between early and late stages of development [12].

The metabolic diversity of fungi requires the use of various analytical approaches to study their secondary metabolites, since extracts obtained at different stages of development and using different solvents may yield different bioactivity profiles or none at all.

Existing antibiotics of fungal origin. Secondary metabolites of fungi demonstrate a variety of biological effects, serving as the basis for the development of antibiotics, antifungal agents, immunosuppressants, hormones, statins, and compounds for psychiatry and cosmetology in pharmaceuticals. Antimicrobial molecules first discovered in fungi have laid the foundation for a number of families of antibiotics. Despite the difficulties associated with the development of new antimicrobial agents, mushrooms remain a very promising source of antimicrobial compounds that deserve further investigation [6].

To date, a fairly wide range of fungal metabolites is known to have found practical applications. The classical examples are penicillin [10], cephalosporin [25] and fusidic acid [14] produced by micromycetes of genera *Penicillium*, *Cephalosporium* and *Ramularia*. Pleuromutilin produced by *Pleurotus mutilus* is not used directly but served as a base for obtaining several derivatives such as valnemulin [45] and tiamulin [36] used in veterinary medicine and retapamulin, a topical antibiotic for dermatologic application [31].

Antimicrobial activity of metabolites from cultivated mushrooms. To date, data on the spectrum of metabolites produced by cultivated mushrooms remain limited, despite considerable research interest over the past decades. This is largely due to the complexity of their life cycle, the challenges of reproducing all its stages under laboratory conditions, and the need to study metabolism at different stages to obtain a comprehensive picture. These factors necessitate the use

of various methods for extracting biologically active compounds from mushrooms. The most common approaches include obtaining culture filtrates, aqueous biomass extracts, or extraction using organic solvents.

A wide range of solvents are used for the extraction of secondary metabolites from fungi. In many studies, ethyl acetate, ethanol, and methanol are frequently reported as extraction solvents, while water, acetone or other solvents are used less often. Numerous investigations have highlighted differences in the biological activity of extracts, depending on the solvent applied.

Among the most cultivated mushrooms worldwide are *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. Their antimicrobial properties have been investigated in a number of studies. For instance, a study conducted in France reported antimicrobial activity of ethyl acetate and methanol extracts towards *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus epidermidis* [19]. Ethyl acetate extracts from both mushroom species demonstrated inhibitory effects against all tested bacteria, while methanol extracts from *P. ostreatus* showed no significant activity. Notably, in the same study, non-cultivated, non-edible mushrooms such as *Fomitopsis pinicola*, *Lactarius helvus*, *Clitocybe nebularis*, *Scleroderma citrinum* and *Russula lepida* demonstrated stronger antimicrobial activity than cultivated species.

In another study, aqueous, acetone, and ethanol extracts of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor-caju* (currently classified as *Lentinus sajor-caju*) were evaluated. The antimicrobial activity of these extracts was tested towards six bacterial species: *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, *S. aureus*, and *Micrococcus luteus*. In this investigation, all extracts demonstrated inhibitory effects against all tested bacteria [32].

The genus *Pleurotus* is widely cultivated across the world, and various representatives of this genus have been investigated for their antimicrobial activity.

Although *Pleurotus djamor* (pink oyster) and *Pleurotus florida* are primarily cultivated as edible mushrooms, recent studies demonstrate that their fruiting bodies and mycelial extracts possess measurable antimicrobial activity towards a range of Gram-positive and Gram-negative pathogens. Methanolic, ethanolic, and dichloromethane extracts have shown inhibitory effects *in vitro* against species such as *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and others, with several studies reporting notable activity of mycelial dichloromethane extracts and methanolic fruiting-body extracts. These findings are supported by both targeted experimental reports and broader screenings published in the last decade [20, 21].

The complexity of fungal metabolism is well illustrated by the following studies: Andrade et al. demonstrated that the culture filtrate, obtained from submerged cultivation of *Pleurotus eryngii*, showed no detectable antimicrobial activity [4]. But another study [43] reported antimicrobial effects of ethanol, ethyl acetate and acetone extracts, prepared from fruiting bodies.

Polito et al. [33] analyzed ethanol extracts of *P. eryngii* using advanced analytical techniques. The secondary metabolites of these mushrooms included compounds of various classes – peptides, amino acids, carbohydrates, nucleic acids, organic acids, fatty acids, and flavonoids. The extracts demonstrated antimicrobial activity towards the majority of the bacterial test-strains used in the



study: *Clavibacter michiganensis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomonas campestris* and *E. coli*.

The Golden Oyster mushroom (*Pleurotus citrinopileatus*) is recognized for its metabolic activity. From this species, glucosylceramide has been isolated and identified, demonstrating antimicrobial activity towards *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with methanol used as the extraction solvent [27]. Ethyl acetate extracts of *P. citrinopileatus* have also been investigated, showing antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus* [7]. In another study, methanolic extracts of *P. citrinopileatus* obtained from mushrooms cultivated on plant residues exhibited activity towards a wide range of microorganisms, including *Streptococcus mutans*, *Salmonella typhi*, *Candida tropicalis*, *Trichophyton* spp., *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, and *E. coli* [22].

Recent studies have investigated various properties of *Pleurotus pulmonaris*, including antimicrobial, anticancer, and antioxidant activities. In these studies, the mushroom was cultivated on locally available plant residues (*Medicago sativa* L., *Prangos pabularia* Lindl. and *Poplar sawdust*), and methanolic extracts were subsequently prepared from the fruiting bodies to assess different bioactivities. Overall, the extracts demonstrated activity; however, it was noted that the degree of activity correlated with the type of substrate on which the fungus was cultivated: extract of the mushroom grown on *Medicago sativa* L. was the most active towards most Gram-positive and Gram-negative bacterial test-strains as well as dermatophytes [2].

In another investigation, the properties of exopolysaccharides produced by *P. pulmonaris* were examined. The fungus was grown using submerged fermentation in liquid media supplemented with different plant residues (groundnut shell, coconut husk, pineapple peel) and the type of plant substrate was found to influence the yield of secondary metabolites. The metabolites obtained in this manner exhibited antimicrobial properties against a range of bacterial strains such as *Shigella dysenteriae*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, MRSA, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* with the highest activity after cultivation on media containing groundnut shell and pineapple peel [30].

The most widely cultivated species of the *Pleurotus* genus is *Pleurotus ostreatus*. In most studies, ethyl acetate, ethanol, and methanol extracts have demonstrated antimicrobial activity; however, investigations that specifically identify the active compounds remain rare. It is known that the observed antimicrobial effects are associated with phenolic and polysaccharide compounds present in the fruiting bodies [17, 42].

Hericium erinaceus, also known as Lion's mane, has gained popularity relatively recently. Beyond its nutritional value, this mushroom possesses a range of medicinal properties. It produces compounds with neuroprotective and neuroregenerative effects, which are attributed to hericenones and erinacines – two groups of secondary metabolites isolated from *H. erinaceus* [9].

With regard to antimicrobial activity, it has been reported that its bioactive compounds can inhibit the growth of Gram-positive bacteria by disrupting bacterial membranes, preventing biofilm formation, and inhibiting bacterial enzymes. In contrast, its activity against Gram-negative bacteria is considerably lower [9]. Some

studies further suggest that secondary metabolites of this species may enhance the efficacy of existing antibiotics, reversing antibiotic susceptibility of resistant bacterial strains.

Close relatives of *H. erinaceus* – *Hericium coralloides* and *Hericium cirrhatum*, have also been studied. In one experiment examining the antimicrobial activity of culture filtrates and mycelia, all three species demonstrated inhibitory effects against *B. subtilis*, *E. coli*, *M. luteus*, and *P. aeruginosa*, while the activity against *S. aureus* was detected only for *H. coralloides* [26]. The study [29] that assessed ethyl acetate extracts of culture filtrates alongside ethanol mycelial extracts reported that antimicrobial activity varied depending on both the cultivation time of the fungus and the extraction method employed with the highest inhibitory effect on the culture of *S. aureus* after 14 days of mycelium cultivation.

Mushrooms of the genus *Flammulina* are among the most popular fungi in Asian countries. They have been cultivated for a long time and have become not only an integral part of traditional cuisine but also of traditional medicine. *Flammulina velutipes*, also known as Enoki, possesses a broad spectrum of bioactive compounds. Among these are the enokipodins – low-molecular-weight sesquiterpenes with demonstrated antimicrobial activity [23]. In addition, extracts of this mushroom have been reported to exhibit *in vitro* anticancer, immunomodulatory, neuroprotective, and hepatoprotective activities [38]. A close relative, *Flammulina filiformis* (golden enoki), shares similar characteristics. Extracts of this species have also been reported to display antimicrobial activity as well as potential neuroprotective properties [41].

A review article [3] summarizing earlier studies on the antimicrobial activity of various basidiomycetes highlights a wide range of fungi with demonstrated bioactivity. Among them are shiitake (*Lentinus edodes*), the common button mushroom (*Agaricus bisporus*), along with its close relatives (*Agaricus bitorquis*, *Agaricus essettei*), and the honey mushroom (*Armillaria mellea*), among many others. A broad spectrum of extraction solvents was employed in these studies, including acetone, chloroform, ethanol, ethyl acetate, methanol, dichloromethane, ether, xylene, and water.

It is also worth noting the peptide antibiotic plectasin, isolated from the fungus *Pseudoplectania nigrella*, which has demonstrated activity against bacterial strains resistant to conventional antibiotics [3]. A study investigating the antitubercular properties of plectasin and related peptides, in comparison with established antibiotics used in tuberculosis therapy, reported both significant activity and strong therapeutic potential [39]. Researchers have expressed particular optimism regarding this peptide antibiotic. In 2024, a study further elucidated the mechanism of action of plectasin [24]. Belonging to the class of defensins, plectasin targets the bacterial cell-wall precursor lipid II.

Mushrooms of the genus *Cordyceps* deserve special mention. This fungus is cultivated not so much as a food source, but rather as a functional food, for its bioactive compounds. Traditional medicine attributes various medicinal properties to mushrooms of this genus, and modern culture has added to the mushroom's popularity and made it one of the most expensive mushrooms. *C. militaris* is a cultivated species of *Cordyceps*. Its metabolites have been studied and have



been shown to have antiviral, antitumor, immunomodulatory, and antimicrobial properties [34]. In particular, cordycepin (3'-deoxyadenosine) inhibits the growth of *Mycobacterium tuberculosis* bacteria [18]. Another study examined extracts of *C. militaris* and demonstrated antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as antitumor activity [1]. *C. militaris* is also capable of producing statins (e.g., lovastatin), neurotransmitters (e.g., GABA), non-proteinogenic metabolically active amino acids (e.g., ergothioneine), cordycepic acid (D-mannitol), and other active compounds [8]. Further study of the metabolites of this mushroom may improve our capabilities in regenerative medicine and improve quality of life.

Recent advances in exploring antimicrobial potential of cultivated fungi are summarized in table 1.

Presented data demonstrate that in most cases identification of chemical nature of active compounds was not carried out. Nevertheless, the observed inhibitory effect on a broad spectrum of pathogens indicates the relevance of further research. The activity of extracts might be mediated by a cocktail of biologically active compounds which opens broad perspectives for drug development. Moreover, it is not always possible to reproduce all stages of the fungal life cycle under laboratory cultivation conditions, which currently limits the ability to study the full spectrum of biologically active fungal metabolites.

Mushrooms are characterized by a rich diversity of bioactive metabolites, but as a group of organisms they remain poorly studied. Only a small fraction of fungal species can be cultivated under laboratory, domestic, or industrial conditions, and even fewer are capable of reliably producing fruiting bodies. Studies indicate that the production of secondary metabolites can vary substantially across different developmental stages of the fungus. In terms of antimicrobial activity, young fruiting bodies are of particular interest, as fungi tend to accumulate antimicrobial compounds in these structures as a means of defense.

Research demonstrates that the outcomes of antimicrobial assays are highly dependent on multiple parameters, including the choice of solvent (e.g., ethyl acetate, ethanol, or methanol), the cultivation method (e.g., submerged culture, Petri plate culture, or agricultural residues), and the developmental stage of the fungus (e.g., primary mycelium, liquid-culture mycelium, or fruiting body). Only a limited number of studies have advanced beyond demonstrating antimicrobial activity *in vitro* to the comprehensive characterization of fungal metabolites.

Limited studies on the antimicrobial properties of fungi are aimed at identifying compounds active against pathogens of high social significance. Nevertheless, two metabolites – plectasin and cordycepin – have demonstrated activity against *Mycobacterium tuberculosis*.

Another critical issue is the lack of standardized research methodologies. In most publications, extraction methods are described briefly, often omitting essential details. It is well known that many metabolites are heat-sensitive, which can affect the composition of the extracted compounds. Moreover, active substances are frequently present in low concentrations, requiring substantial amounts of fungal biomass and solvent volumes, as well as subsequent concentration steps to achieve sufficient yield. In many cases, failure to account for these factors leads to inconsistent and contradictory results.



Table 1
Antimicrobial activity of cultivated fungi metabolites discovered in the past decade

Mushroom species	Source of extract	Extractant	Active compound	Activity	Reference
1	2	3	4	5	6
<i>Agaricus bisporus</i>	Fruiting body	Ethyl acetate, methanol	N/I	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	[19]
<i>Agaricus bisporus</i>	Fruiting body	Ethanol, acetone, water	N/I	<i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	[32]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fruiting body	Ethyl acetate	N/I	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i>	[19]
<i>Leninus sajor-caju</i> (<i>Pleurotus sajor-caju</i>)	Fruiting body	Ethanol, acetone, water	N/I	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i>	[32]
<i>Pleurotus eryngii</i>	Fruiting body	Ethanol, acetone, ethyl acetate	N/I	<i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i>	[43]
<i>Pleurotus eryngii</i>	Fruiting body	Ethanol	N/I	<i>Clavibacter michiganensis</i> , <i>Pseudomonas viridiflava</i> , <i>E. coli</i>	[33]
<i>Pleurotus djamar</i>	Mycelium	Dichloro-methane	N/I	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Vibrio cholera</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Pichia stipitis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i>	[20]
<i>Pleurotus florida</i>	Mycelium	Dichloro-methane	N/I	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Vibrio cholera</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Pichia stipitis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i>	[20]
<i>Pleurotus djamar</i>	Fruiting body	Methanol	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. typhi</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Trichophyton sp.</i> , <i>C. tropicalis</i>	[21]
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Liquid culture filtrate	Ethyl acetate	N/I	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	[7]
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Fruiting body	Methanol	Glucosyl-ceramide	<i>S. mutans</i> , <i>S. thuyi</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Trichophyton sp.</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	[22]
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Fruiting body	Methanol	N/I	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. mutans</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Epi-dermophyton sp.</i> , <i>Trichophyton sp.</i>	[2]



Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Mycelium	Ethanol	Exopoly-saccharides	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , Methicillin resistant <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>	[30]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fruiting body	Methanol, chloroform, water	N/I	<i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> .	[17]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fruiting body	Methanol	N/I	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ,	[42]
<i>Hericium erinaceus</i>	Mycelium, cultural liquid	Filtration	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> .	[26]
<i>Hericium coralloides</i>	Mycelium, cultural liquid	Filtration	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> .	[26]
<i>Hericium cirrhatum</i>	Mycelium, cultural liquid	Filtration	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> .	[26]
<i>Hericium erinaceus</i>	Mycelium, cultural liquid	Ethanol, ethyl acetate	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	[29]
<i>Hericium coralloides</i>	Mycelium, cultural liquid	Ethanol, ethyl acetate	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	[29]
<i>Hericium cirrhatum</i>	Mycelium, cultural liquid	Ethanol, ethyl acetate	N/I	<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	[29]
<i>Flammulina velutipes</i>	Mycelium	Methanol, chloroform	Enokipodins	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i>	[23]
<i>Leninus edodes</i>	Fruiting body	Methanol, ethanol, chloroform, ethyl acetate.	N/I	<i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus pumilis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	[3]
<i>Cordyceps militaris</i>	Fruiting body	n-hexane	Cordycepin	<i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> , <i>E. coli</i>	[8]

Note: N/I – non identified.



An additional aspect that remains insufficiently addressed is the activity of fungal extracts towards antibiotic-resistant bacterial strains. Hospitals represent a primary reservoir for multidrug-resistant pathogens, and the inclusion of such strains in antimicrobial screening could yield valuable insights and identify promising directions for further drug development.

Despite the encouraging discoveries reported thus far, fungi and their secondary metabolites still require more systematic and in-depth investigation.

Є. Л. Кур'янінов, О. Ю. Зінченко

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
тел.: +380689836292, e-mail: eugenkuryaninov@gmail.com

АНТИМІКРОБНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КУЛЬТИВОВАНИХ ГРИБІВ: ОГЛЯД ДОСЛІДЖЕНЬ ОСТАННЬОГО ДЕСЯТИЛІТТЯ

Резюме

Здійснено аналіз літератури щодо антимікробного потенціалу видів культивованих грибів. Огляд зосереджений на рецензованих наукових публікаціях, переважно за останнє десятиліття, які оцінюють антимікробну активність їстівних і лікарських культивованих грибів. Аналіз показує, що види з родів *Pleurotus*, *Agaricus*, *Hericium*, *Flammulina* та *Cordyceps* продукують метаболіти, ефективні як щодо грампозитивних, так і грамнегативних бактерій. Особливої уваги заслуговують плектацин і кордицепін, які продемонстрували активність щодо *Mycobacterium tuberculosis* в експериментальних моделях. Отримані результати підкреслюють перспективну роль культивованих грибів як джерела нових антимікробних агентів.

Ключові слова: культивовані гриби, антимікробна резистентність, антимікробна активність, вторинні метаболіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Afzal M., Abusalah M.A.H.A., Shehzadi N., et al. Investigation of biometabolites and novel antimicrobial peptides derived from promising source *Cordyceps militaris* and effect of non-small cell lung cancer genes computationally // PLoS One. – 2025. – V. 20 (1). – P. e0310103.
2. Akyüz M., İnci Ş., Kirbag S. Evaluation of antimicrobial, antioxidant, cytotoxic and DNA protective effects of oyster mushroom: *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. // Arab J. Sci. Eng. – 2022. – V. 48. – P. 1–11.
3. Alves M.J., Ferreira I.C., Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado M. A review on antimicrobial activity of mushroom (*Basidiomycetes*) extracts and isolated compounds // Planta Med. – 2012. – V. 78 (16). – P. 1707–1718.
4. Andrade C., Oliveira A., Vieira V., Frazão B., Gurgel R., Oliveira R., Kirsch L. Antimicrobial activity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii* (DC.) Quel grown in liquid medium // Acta Sci. Biol. Sci. – 2021. – V. 43. – P. e58474.



5. Berger R.G., Bordewick S., Krahe N.K., Ersoy F. Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi – a comparison of metabolites // *Microorganisms*. – 2022. – V. 10 (7). – P. 1379.
6. Bills G.F., Gloer J.B. Biologically active secondary metabolites from the fungi // *Microbiol. Spectr.* – 2016. – V. 4 (6). – P. FUNK-0009-2016.
7. Chomcheon P., Kheawkum B., Sriwiset P., Dulsamphan S., Dulsamphan C. Antibacterial activity of crude extracts from edible mushrooms *Pleurotus citrinopileatus* and *Tricholoma crassum* Berk. // *Thai J. Pharm. Sci.* – 2013. – V. 37. – P. 107–111.
8. Chou Y.-C., Sung T.-H., Hou S.-J., et al. Current progress regarding *Cordyceps militaris*, its metabolite function, and its production // *Appl. Sci.* – 2024. – V. 14 (11). – P. 4610.
9. Contato A.G., Conte-Junior C.A. Lion's Mane Mushroom (*Hericium erinaceus*): A neuroprotective fungus with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial potential – a narrative review // *Nutrients*. – 2025. – V. 17 (8). – P. 1307.
10. Correia J., Borges A., Simões M., Simões L.C. Beyond penicillin: the potential of filamentous fungi for drug discovery in the age of antibiotic resistance // *Antibiotics*. – 2023. – V. 12 (8). – P. 1250.
11. Diaz J.H. Amatoxin-containing mushroom poisonings: species, toxidromes, treatments, and outcomes // *Wilderness Environ. Med.* – 2018. – V. 29 (1). – P. 111–118.
12. Du F., Zou Y., Hu Q., Jing Y., Yang X. Metabolic profiling of *Pleurotus tuoliensis* during mycelium physiological maturation and exploration on a potential indicator of mycelial maturation // *Front. Microbiol.* – 2019. – V. 9. – P. 3274.
13. Fang H.Q., Zeng J., Wang S.K., et al. Discovery of novel pleuromutilin derivatives as potent antibacterial agents for the treatment of MRSA infection // *Molecules*. – 2022. – V. 27 (3). – P. 931.
14. Fernandes P. Fusidic acid: a bacterial elongation factor inhibitor for the oral treatment of acute and chronic staphylococcal infections // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2016. – V. 6 (1). – P. a025437.
15. Galappaththi M.C.A., Patabendige N.M., Premarathne B.M., Jayasinghe C.D., Attanayake A.P., Ediriweera M.K., et al. A review of *Ganoderma* triterpenoids and their bioactivities // *Biomolecules*. – 2022. – V. 13 (1). – P. 24.
16. Guerin-Laguette A. Successes and challenges in the sustainable cultivation of edible mycorrhizal fungi – furthering the dream // *Mycoscience*. – 2021. – V. 62 (1). – P. 10–28.
17. Hamad D., El-Sayed H., Ahmed W., Sonbol H., Ramadan M.A.H. GC-MS analysis of potentially volatile compounds of *Pleurotus ostreatus* polar extract: in vitro antimicrobial, cytotoxic, immunomodulatory, and antioxidant activities // *Front. Microbiol.* – 2022. – V. 13. – P. 834525.
18. Huang F., Li W., Xu H., Qin H., He Z.G. Cordycepin kills *Mycobacterium tuberculosis* through hijacking the bacterial adenosine kinase // *PLoS One*. – 2019. – V. 14 (6). – P. e0218449.



19. Huguet C., Bourjot M., Bellanger J.M., Prévost G., Urbain A. Screening for antibacterial activity of French mushrooms against pathogenic and multidrug resistant bacteria // *Appl. Sci.* – 2022. – V. 12 (10). – P. 5229.
20. Illuri R., Eyini M., Kumar M., et al. Bio-prospective potential of *Pleurotus djamor* and *Pleurotus florida* mycelial extracts towards Gram positive and Gram negative microbial pathogens causing infectious disease // *J. Infect. Public Health.* – 2022. – V. 15 (2). – P. 297–306.
21. Inci Ş., Akyüz M., Kirbag S. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and DNA protective properties of the pink oyster mushroom, *Pleurotus djamor* (Agaricomycetes) // *Int. J. Med. Mushrooms.* – 2023. – V. 25 (2). – P. 55–66.
22. Inci Ş., Kirbag S., Akyüz M. Medicinal properties of the golden oyster mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (Agaricomycetes), grown on local agricultural wastes in Turkey // *Int. J. Med. Mushrooms.* – 2022. – V. 24 (5). – P. 33–43.
23. Ishikawa N., Yamaji K., Ishimoto H., et al. Production of enokipodins A, B, C, and D: a new group of antimicrobial metabolites from mycelial culture of *Flammulina velutipes* // *Mycoscience.* – 2005. – V. 46. – P. 39–45.
24. Jekhmane S., Derks M.G.N., Maity S., et al. Host defence peptide plectasin targets bacterial cell wall precursor lipid II by a calcium-sensitive supramolecular mechanism // *Nat. Microbiol.* – 2024. – V. 9 (8). – P. 1778–1791.
25. Lin X., Kück U. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2022. – V. 106 (24). – P. 8007–8020.
26. Lomberg M., Krupodorova T., Krasinko V., Mykchaylova O. The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes from the genus *Hericium* // *Bot. Serb.* – 2023. – V. 47 (2). – P. 241–249.
27. Meng T.X., Ishikawa H., Shimizu K., et al. A glucosylceramide with antimicrobial activity from the edible mushroom *Pleurotus citrinopileatus* // *J. Wood Sci.* – 2012. – V. 58 (1). – P. 81–86.
28. Nakazawa T., Kawauchi M., Otsuka Y., et al. *Pleurotus ostreatus* as a model mushroom in genetics, cell biology, and material sciences // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2024. – V. 108 (1). – P. 217.
29. Narmuratova Z., Bisko N., Mustafin K., et al. Screening of medicinal mushroom strains with antimicrobial activity and polysaccharides production // *Turk J. Biochem.* – 2023. – V. 48, № 3. – P. 290–297.
30. Ogidi C.O., et al. Bioactivity assessment of exopolysaccharides produced by *Pleurotus pulmonarius* in submerged culture with different agro-waste residues // *Heliyon.* – 2020. – V. 6 (12). – P. e05685.
31. Parish L.C., Parish J.L. Retapamulin: a new topical antibiotic for the treatment of uncomplicated skin infections // *Drugs Today (Barc).* – 2008. – V. 2 (44). – P. 91–102. doi: 10.1358/dot.2008.44.2.1153446. PMID: 18389088.
32. Patil S., Kulkarni T., Dhramadhikari N., Girish Pathade B.H. Antimicrobial activity of cultivated edible mushrooms, *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor caju* // *J. Neonatal Surg.* – 2025. – V. 14 (24s). – P. 481–491.
33. Polito F., De Martino L., Mirabile G., et al. Composition and antimicrobial



- activity of hydroalcoholic extracts of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* and *P. eryngii* var. *elaeoselini* // Front. Chem. – 2024. – V. 12. – P. 1498787.
34. Qu S-L., Li S-S., Li D., Zhao P-J. Metabolites and their bioactivities from the genus *Cordyceps* // Microorganisms. – 2022. – V. 10 (8). – P. 1489.
35. Raman J., Jang K.Y., Oh Y.L., Oh M., Im J.H., Lakshmanan H., et al. Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: an overview // Mycobiology. – 2021. – V. 49 (1). – P. 1–14.
36. Sartini I., Vercelli C., Lebkowska-Wieruszewska B., Lisowski A., Fadel C., Poapolathep A., Dessì F., Giorgi M. Pharmacokinetics and antibacterial activity of tiamulin after single and multiple oral administrations in geese // Vet Anim Sci. – 2023. – V. 22. – P. 100317. doi: 10.1016/j.vas.2023.100317. PMID: 37920697; PMCID: PMC1061876.
37. Sovrani V., de Jesus L.I., Simas-Tosin F.F., Smiderle F.R., Iacomini M. Structural characterization and rheological properties of a gel-like β -D-glucan from *Pholiota nameko* // Carbohydr. Polym. – 2017. – V. 169. – P. 1–8.
38. Tang C., Hoo P.C., Tan L.T., et al. Golden Needle Mushroom: A Culinary Medicine with Evidenced-Based Biological Activities and Health Promoting Properties // Front. Pharmacol. – 2016. – V. 7. – P. 474.
39. Tenland E., Krishnan N., Rönnholm A., et al. A novel derivative of the fungal antimicrobial peptide plectasin is active against *Mycobacterium tuberculosis* // Tuberculosis (Edinb). – 2018. – V. 113. – P. 231–238.
40. Winkelman M.J. *Amanita muscaria*: Fly agaric history, mythology and pharmacology // J. Psychedelic Stud. – 2022. – V. 6 (1). – P. 1–4.
41. Wu S., Chen X., Ren J., Liu P., Yan Q., Chen Z. Cuparene-type sesquiterpenes with neuroprotective activities from the edible mushroom *Flammulina filiformis* // Fitoterapia. – 2024. – V. 179. – P. 106235.
42. Yakobi S.H., Mkhize S., Pooe O.J. Screening of antimicrobial properties and bioactive compounds of *Pleurotus ostreatus* extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Neisseria gonorrhoeae* // Biochem. Res. Int. – 2023. – V. 4. – P. 1777039.
43. Yu E.J., Han S.R., Kim K.H., Park B.R., Lim K.O., Oh T.J. Antibacterial and antioxidant activity of *Pleurotus eryngii* extracts // Indian J. Public Health Res. Dev. – 2018. – V. 9. – P. 2206.
44. Zhong Y., Tan P., Lin H., Huang Y., Zhang H., Li D., et al. A review of *Ganoderma lucidum* polysaccharide: preparations, structures, physicochemical properties and application // Foods. – 2024. – V. 13 (17). – P. 2665.
45. Zhu X., Xu S., Lu L., Wang S., Zhao Q., Li D., Li J., Zhao H., Xu B. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of a polymorphic form of valnemulin hydrogen tartrate // J Vet Sci. – 2019. – V. 2 (20). – P. e16. <https://doi.org/10.4142/jvs.2019.20.e16>.
46. <https://nida.nih.gov/research-topics/psilocybin-magic-mushrooms>. 24 January 2024
47. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
48. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
49. <https://www.phc.org.ua/news/statistika-tuberkulozu-v-ukraini-berezen-2025-roku>.



REFERENCES

1. Afzal M, Abusalah MAHA, Shehzadi N, Absar M, Ahmed N, et al. Investigation of biometabolites and novel antimicrobial peptides derived from promising source *Cordyceps militaris* and effect of non-small cell lung cancer genes computationally. PLoS One. 2025;20(1):e0310103. doi:10.1371/journal.pone.0310103.
2. Akyüz M, İnci Ş, Kirbag S. Evaluation of antimicrobial, antioxidant, cytotoxic and DNA protective effects of oyster mushroom: *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. Arab J Sci Eng. 2022;1-11. doi:10.1007/s13369-022-07418-9.
3. Alves MJ, Ferreira IC, Dias J, Teixeira V, Martins A, Pintado M. A review on antimicrobial activity of mushroom (*Basidiomycetes*) extracts and isolated compounds. Planta Med. 2012;78(16):1707-1718. doi:10.1055/s-0032-1315370.
4. Andrade C, Oliveira A, Vieira V, Frazão B, Gurgel R, Oliveira R, Kirsch L. Antimicrobial activity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél grown in liquid medium. Acta Sci Biol Sci. 2021; 43: e58474. doi:10.4025/actascibiolsci.v43i1.58474.
5. Berger RG, Bordewick S, Krahe NK, Ersoy F. Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi – a comparison of metabolites. Microorganisms. 2022;10(7):1379. doi:10.3390/microorganisms10071379.
6. Bills GF, Gloer JB. Biologically active secondary metabolites from the fungi. Microbiol Spectr. 2016;4(6):FUNK-0009-2016. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0009-2016.
7. Chomcheon P, Kheawkum B, Sriwiset P, Dulsamphan S, Dulsamphan C. Antibacterial activity of crude extracts from edible mushrooms *Pleurotus citrinopileatus* and *Tricholoma crassum* Berk. Thai J Pharm Sci. 2013;37:107-111.
8. Chou Y-C, Sung T-H, Hou S-J, Khumsupan D, Santoso SP, Cheng K-C, Lin S-P. Current progress regarding *Cordyceps militaris*, its metabolite function, and its production. Appl Sci. 2024;14(11):4610. doi:10.3390/app14114610.
9. Contato AG, Conte-Junior CA. Lion's Mane Mushroom (*Hericium erinaceus*): A neuroprotective fungus with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial potential – a narrative review. Nutrients. 2025;17(8):1307. doi:10.3390/nu17081307.
10. Correia J, Borges A, Simões M, Simões LC. Beyond penicillin: the potential of filamentous fungi for drug discovery in the age of antibiotic resistance. Antibiotics (Basel). 2023;12(8):1250. doi:10.3390/antibiotics12081250.
11. Diaz JH. Amatoxin-containing mushroom poisonings: species, toxidromes, treatments, and outcomes. Wilderness Environ Med. 2018;29(1):111-8. doi:10.1016/j.wem.2017.10.002. PMID:29325729.
12. Du F, Zou Y, Hu Q, Jing Y, Yang X. Metabolic profiling of *Pleurotus tuoliensis* during mycelium physiological maturation and exploration on a potential indicator of mycelial maturation. Front Microbiol. 2019;9:3274. doi:10.3389/fmicb.2018.03274.
13. Fang HQ, Zeng J, Wang SK, et al. Discovery of novel pleuromutilin derivatives as potent antibacterial agents for the treatment of MRSA infection. Molecules. 2022;27(3):931. doi:10.3390/molecules27030931.



14. Fernandes P. Fusidic acid: a bacterial elongation factor inhibitor for the oral treatment of acute and chronic staphylococcal infections. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(1):a025437. doi:10.1101/cshperspect.a025437.
15. Galappaththi MCA, Patabendige NM, Premarathne BM, Jayasinghe CD, Attanayake AP, Ediriweera MK, et al. A review of *Ganoderma* triterpenoids and their bioactivities. *Biomolecules.* 2022;13(1):24. doi:10.3390/biom13010024.
16. Guerin-Laguette A. Successes and challenges in the sustainable cultivation of edible mycorrhizal fungi - furthering the dream. *Mycoscience.* 2021;62(1):10-28. doi:10.47371/mycosci.2020.11.007.
17. Hamad D, El-Sayed H, Ahmed W, Sonbol H, Ramadan MAH. GC-MS analysis of potentially volatile compounds of *Pleurotus ostreatus* polar extract: in vitro antimicrobial, cytotoxic, immunomodulatory, and antioxidant activities. *Front Microbiol.* 2022;13:834525. doi:10.3389/fmicb.2022.834525.
18. Huang F, Li W, Xu H, Qin H, He ZG. Cordycepin kills *Mycobacterium tuberculosis* through hijacking the bacterial adenosine kinase. *PLoS One.* 2019;14(6):e0218449. doi:10.1371/journal.pone.0218449.
19. Huguet C, Bourjot M, Bellanger JM, Prévost G, Urbain A. Screening for antibacterial activity of French mushrooms against pathogenic and multidrug resistant bacteria. *Appl Sci.* 2022;12(10):5229. doi:10.3390/app12105229.
20. Illuri R, Eyini M, Kumar M, Suresh Babu R, Prema P, Nguyen VH, Bukhari NA, Hatamleh AA, Balaji P. Bio-prospective potential of *Pleurotus djamora* and *Pleurotus florida* mycelial extracts towards Gram positive and Gram negative microbial pathogens causing infectious disease. *J Infect Public Health.* 2022;15(2):297-306. doi:10.1016/j.jiph.2021.10.012.
21. Inci Ş, Akyüz M, Kirbag S. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and DNA protective properties of the pink oyster mushroom, *Pleurotus djamora* (*Agaricomycetes*). *Int J Med Mushrooms.* 2023;25(2):55-66. doi:10.1615/IntJMedMushrooms.2022046706.
22. Inci Ş, Kirbag S, Akyüz M. Medicinal properties of the golden oyster mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (*Agaricomycetes*), grown on local agricultural wastes in Turkey. *Int J Med Mushrooms.* 2022;24(5):33-43. doi:10.1615/IntJMedMushrooms.2022039745.
23. Ishikawa N, Yamaji K, Ishimoto H, et al. Production of enokipodins A, B, C, and D: a new group of antimicrobial metabolites from mycelial culture of *Flammulina velutipes*. *Mycoscience.* 2005;46:39-45. doi:10.1007/s10267-004-0208-6.
24. Jekhmane S, Derks MGN, Maity S, et al. Host defence peptide plectasin targets bacterial cell wall precursor lipid II by a calcium-sensitive supramolecular mechanism. *Nat Microbiol.* 2024;9(8):1778-1791. doi:10.1038/s41564-024-01696-9.
25. Lin X, Kück U. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2022;106(24):8007-20. doi:10.1007/s00253-022-12272-8.
26. Lomberg M, Krupodorova T, Krasinko V, Mykchaylova O. The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes



- from the genus *Herichium*. Bot Serb. 2023;47(2):241-9. doi:10.2298/BOTSERB2302241L.
27. Meng TX, Ishikawa H, Shimizu K, et al. A glucosylceramide with antimicrobial activity from the edible mushroom *Pleurotus citrinopileatus*. J Wood Sci. 2012;58(1):81-86. doi:10.1007/s10086-011-1213-y.
 28. Nakazawa T, Kawauchi M, Otsuka Y, et al. *Pleurotus ostreatus* as a model mushroom in genetics, cell biology, and material sciences. Appl Microbiol Biotechnol. 2024;108(1):217. doi:10.1007/s00253-024-13034-4.
 29. Narmuratova Z, Bisko N, Mustafin K, Al-Maali G, Kerner A, Bondaruk S, Suleimenova Z, Kalieva A, Akhmetsadykov N, Zhakipbekova A, Lomberg M. Screening of medicinal mushroom strains with antimicrobial activity and polysaccharides production. Turk J Biochem. 2023;48(3):290-7. doi:10.1515/tjb-2022-0235.
 30. Ogidi CO, et al. Bioactivity assessment of exopolysaccharides produced by *Pleurotus pulmonarius* in submerged culture with different agro-waste residues. Heliyon. 2020;6(12):e05685. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05685.
 31. Parish LC, Parish JL. Retapamulin: a new topical antibiotic for the treatment of uncomplicated skin infections. Drugs Today (Barc). 2008 Feb;44(2):91-102. doi: 10.1358/dot.2008.44.2.1153446. PMID: 18389088
 32. Patil S, Kulkarni T, Dhramadhikari N, Girish Pathade BH. Antimicrobial activity of cultivated edible mushrooms, *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor caju*. J Neonatal Surg. 2025;14(24s):481-491.
 33. Polito F, De Martino L, Mirabile G, Venturella G, Gargano ML, De Feo V, Elshafie HS, Camele I. Composition and antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* and *P. eryngii* var. *elaeoselini*. Front Chem. 2024;12:1498787. doi:10.3389/fchem.2024.1498787.
 34. Qu S-L, Li S-S, Li D, Zhao P-J. Metabolites and their bioactivities from the genus *Cordyceps*. Microorganisms. 2022;10(8):1489. doi:10.3390/microorganisms10081489.
 35. Raman J, Jang KY, Oh YL, Oh M, Im JH, Lakshmanan H, et al. Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: an overview. Mycobiology. 2021;49(1):1-14. doi:10.1080/12298093.2020.1835142.
 36. Sartini I, Vercelli C, Lebkowska-Wieruszewska B, Lisowski A, Fadel C, Poapolathep A, Dessì F, Giorgi M. Pharmacokinetics and antibacterial activity of tiamulin after single and multiple oral administrations in geese. Vet Anim Sci. 2023 Oct 21;22:100317. doi: 10.1016/j.vas.2023.100317. PMID: 37920697; PMCID: PMC1061876
 37. Sovrani V, de Jesus LI, Simas-Tosin FF, Smiderle FR, Iacomini M. Structural characterization and rheological properties of a gel-like β -d-glucan from *Pholiota nameko*. Carbohydr Polym. 2017;169:1-8. doi:10.1016/j.carbpol.2017.03.093.
 38. Tang C, Hoo PC, Tan LT, et al. Golden Needle Mushroom: A Culinary Medicine with Evidenced-Based Biological Activities and Health Promoting Properties. Front Pharmacol. 2016;7:474. doi:10.3389/fphar.2016.00474.
 39. Tenland E, Krishnan N, Rönholm A, Kalsum S, Puthia M, Mörgelin M, Davoudi M, Otrócka M, Alaridah N, Glegola-Madejska I, Sturegård E,



- Schmidtchen A, Lerm M, Robertson BD, Godaly G. A novel derivative of the fungal antimicrobial peptide plectasin is active against *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis* (Edinb). 2018;113:231-238. doi:10.1016/j.tube.2018.10.008.
40. Winkelman MJ. *Amanita muscaria*: Fly agaric history, mythology and pharmacology. *J Psychedelic Stud*. 2022;6(1):1-4. doi: 10.1556/2054.2022.00216.
41. Wu S, Chen X, Ren J, Liu P, Yan Q, Chen Z. Cuparene-type sesquiterpenes with neuroprotective activities from the edible mushroom *Flammulina filiformis*. *Fitoterapia*. 2024;179:106235. doi:10.1016/j.fitote.2024.106235.
42. Yakobi SH, Mkhize S, Poole OJ. Screening of antimicrobial properties and bioactive compounds of *Pleurotus ostreatus* extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Neisseria gonorrhoeae*. *Biochem Res Int*. 2023;2023:1777039. doi:10.1155/2023/1777039.
43. Yu EJ, Han SR, Kim KH, Park BR, Lim KO, Oh TJ. Antibacterial and antioxidant activity of *Pleurotus eryngii* extracts. *Indian J Public Health Res Dev*. 2018;9:2206. doi:10.5958/0976-5506.2018.02191.5.
44. Zhong Y, Tan P, Lin H, Huang Y, Zhang H, Li D, et al. A review of *Ganoderma lucidum* polysaccharide: preparations, structures, physicochemical properties and application. *Foods*. 2024;13(17):2665. doi:10.3390/foods13172665.
45. Zhu X, Xu S, Lu L, Wang S, Zhao Q, Li D, Li J, Zhao H, Xu B. Preparation, characterization, and *in vivo* evaluation of a polymorphic form of valnemulin hydrogen tartrate. *J Vet Sci*. 2019 Mar;20(2):e16. <https://doi.org/10.4142/jvs.2019.20.e16>
46. National Institute on Drug Abuse. Psilocybin (magic mushrooms) [Internet]. Bethesda (MD): National Institute on Drug Abuse; 2024 Jan 24. Available from: <https://nida.nih.gov/research-topics/psilocybin-magic-mushrooms>
47. World Health Organization. Antimicrobial resistance [Internet]. Geneva: WHO;. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
48. World Health Organization. Tuberculosis [Internet]. Geneva: WHO;. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
49. Public Health Center of the Ministry of Health of Ukraine. Statistics of tuberculosis in Ukraine, March 2025 [Internet]. Kyiv: PHC; 2025 Mar 29. Available from: <https://www.phc.org.ua/news/statistika-tuberkulozu-v-ukraini-berezen-2025-roku>

Стаття надійшла до редакції 14.09.2025 р.



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсиори, діагностикуми, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядові та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом до 18 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів);
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);



- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти).

- Реферат англійською мовою:

- назва статті великими літерами;
- прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація;
- місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти);

- Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додається реферат мовою оригіналу статті та українською/англійською мовою.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки;
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;
- компактним (200–250 слів);
- ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті указати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.

Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.



Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то аббревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

Розділ «Матеріали і методи»:

- Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.
- Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.
- Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.
- Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).
- Молекулярну масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмольх використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммольх/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.
- Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).
- Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.

Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

До рисунків мають бути підписи не згруповані з ним і не вставлені в об'єкт рисунка.

Позначення на рисунку мають бути інтегровані в нього, тобто копіюватися разом з рисунком, а не окремими частинами.

Всі ілюстрації мають бути розміщені в файлі рукопису, також обов'язково додані до електронного варіанту у вигляді файлів формату JPEG.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.

Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.



Список використаної літератури

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (References), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль оформлення – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послугуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань References (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилання літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англійські джерела)

На монографії

Андреюк К. І., Козлова І. П., Коптева Ж. П., Піляшенко-Новохатний А. І., Заніна В. В., Пуріш Л. М. Мікробна корозія підземних споруд. Київ: Наукова думка. – 2005. – 258 с.

Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів: монографія / В. О. Іваниця, Т. В. Гудзенко, Б. М. Галкін, О. В. Волювач, О. Г. Горшкова – Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020 – 135 с.

Капельяніц Л. В., Йоргачова О. Г. Функціональні продукти. – Одеса, 2003. – С. 229–237.

Гвоздяк Р. І., Пасічник Л. А., Яковлева Л. М., Мороз С. М., Литвинчук О. О. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 2020. – 364 p.

На журнальні статті

Страшнова І. В., Потапенко К. С., Коротаєва Н. В., Лісютін Г. В., Метеліцина І. П. Антагоністичні властивості чорноморських стрептоміцетів, виділених із обростань черепашнику і мідій // Мікробіологія і біотехнологія – 2022. – № 3(56). – Р. 6–23. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)



Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Ouhdouch Y. et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review // Microbiological Research. – 2022. – Vol. 261. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>

Булигіна Т. В., Варбанець Л. Д., Пасічник Л. А., Житкевич Н. В. Резистентність до антимікробних препаратів бактерій *Pantoea agglomerans* // Мікробіологія і біотехнологія. – 2016. – № 1. – С. 68–75.

На тези доповідей

Мацелюх Б. П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину Е // Міжнародна наук. конф. „Мікробні біотехнології” (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: „Астропринт”, 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

Защинська О. С. Мікробні сидерофори як можливі фактори антагонізму бактерій *Bacillus megaterium* щодо патогенних *Agrobacterium* spp. // Збірка матеріалів наукового товариства студентів, аспірантів і молодих учених. – Одеса: Репозитарій наукової бібліотеки ОНУ імені І. І. Мечникова, 2019. – С. 17–18.

На стандарти

ДСТУ 7355:1213 Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначення кількості біфідобактерій. – 14 с.

Державна служба статистики України. Посівні площі сільськогосподарських культур за їх видами. Доступ онлайн: <http://www.ukrstat.gov.ua/> [цитовано 28 берез. 2021].

На патенти

Патент України № 90119, МПК C02F 1/24. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Волювач О. В., Горшкова О. Г., Беляєва Т. О., Конуп І. П., Баранов О. О. (Україна). – N 90119; заявл. 24.12.2013; опубл. 12.05.2014, Бюл. N 9.

Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48. Спосіб одержання кондитерського антиоксидантного продукту, власник Одес. нац. технол. Університет / Пилипенко Л. М., Рогова Н. В., Килименчук О. О., Крусір Г. В., Севастьянова О. В., Біленька І. Р. Заявка на винахід No а 2022 03697 Україна, заявл. 04.10.22. Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48.

На автореферати дисертацій

Білявська Л. О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рос-лин : дис. ... док. біол. наук : 03.00.07. Київ, 2018. – 485 с.

Зразки посилань літератури, транслітерованих латиницею

References

Стиль оформлення для списку джерел латиницею – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005;10(2):49-53.

Статті в журналах:

Shtenikov MD, Strashnova IV, Korotaieva NV, Tytarenko NV et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic



activity. *Biosyst. Divers.* 2023;31(4):451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>

Qi D, Liu Q, Zou L, Zhang M, Li K et al. Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi. *Front. Microbiol.* 2024;15:1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>

Матеріали з їздів, конференцій:

Strashnova I, Andriuschenko O, Vasylieva N, Shtnenikov M, Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. *Absract book of 9th International Weigl Conference*, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024:53–54.

Dikova B, Djournanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: *Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study»*. Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.

Yin R, Francis F, Bragard C, Liu Y, Chen J. Study on transmission efficiency of CMV transmitted by *Myzus persicae* from different places. In: *Proceedings of 9th International Symposium on Aphids*, Beijing, China. 2013:49–50.

Дисертаційні роботи:

Koreneva AA. Biological properties of medicinal plants viruses. PhD thesis, Taras Shevchenko National University of Kyiv, 2009:22.

Збірники:

Zinchenko OYu, Shmatkova NV, Seyfullina IY Evaluation of antiviral activity 4-dimethylaminobenzaldehyde 2-hydroxybenzoyl-, nicotinoyl- and isonicotinoylhydrazones and their chelates with SnCl_4 on "phage-host" model. *«MODERN ASPECTS OF SCIENCE», 21th volume of the international collective monograph* / Publishing Group «Vědecká perspektiva». 2022:62-73.

Dunich A, Mishchenko L. Heavy metals content in virus infected purple coneflower plants. *Bull T Shevchenko Nat Univ Kyiv Ser Biol.* 2013;65(3):22–26.

Патенти, заявки:

Patent Ukraïny na vynahid № 116299. Method of defenolization of industrial effluents / Ivanycja V.O., Gorshkova O.G., Gudzenko T.V., Voljuvach O.V., Konup I.P., Bjelajeva T.O. Nomer zajavky № a201608635 vid 25.07.2016 r. Opubl. 26.02.2018, Bjul. № 4. [in Ukrainian].

Patent Ukraïny na vynahid №116058. Method of biological treatment of surface water / Gvozdyak P.I., Kaparnyk A.I., Dombrovs'kyj K.O., Ryl's'kyj O.F., Bolgova O.S. Opubl. 25.01.2018., Bjul. №2. [in Ukrainian].

Статті з електронних журналів

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005;10 (2):49-53, available at:www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2/

За наявності в статті DOI (Digital Object Identifier), яка є міжнародним ISO стандартом (<http://www.doi.org/>), в списку літератури вказати її ідентифікатор, наприклад:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005;10 (2):49-53. Cited 2 times. doi: 10.1134/S1023193508080077



Датою надходження статті вважають день, коли до редколегії надійшов перший варіант тексту статті.

Після одержання коректури статті автор повинен виправити лише помилки і терміново відіслати статтю на адресу редколегії або повідомити про свої правки по телефону чи електронною поштою.

У разі затримки редакція, додержуючись графіка, залишає за собою право здати коректуру до друкарні (у виробництво) без авторських правок.

Підпис автора у кінці статті означає, що автор передає права на видання своєї статті редакції. Автор гарантує, що стаття оригінальна; ні стаття, ні рисунки до неї не були опубліковані в інших виданнях.



Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.
Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 20.09.2025 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 5,77. Наклад 100 пр.
Зам. № 3054.

Видавець:

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
вул. Університетська, 12, м. Одеса, 65082, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua

Виготовлювач: