

РЕФЕРАТ РОБОТИ

«МІКРОБНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ БІОРЕМЕДІАЦІЇ ТА ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ АГРОЕКОСИСТЕМ»

Представлено Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного Національної академії наук України у складі авторів:
к.б.н., н.с. Златогурської Марини Анатоліївни,
доктора філософії, м.н.с., Лободи Марії Іванівни
аспірантки, пров. інж., Гаврилюк Олесі Анатоліївни
аспірантки, пров. інж., Дімової Марії Іванівни

Актуальність теми. Мікробіоценоз ґрунту представлений різними фізіологічними групами мікроорганізмів, які беруть участь в біогеохімічних циклах. Широке використання хлорорганічних та металовмісних пестицидів призвело до накопичення токсичних сполук у ґрунтах, наслідком чого є неконтрольований розвиток фітопатогенів та порушення функціонування екосистем. Це є суттєвою екологічною проблемою і вимагає створення дієвих підходів для її вирішення. Одним із них є впровадження мікробних біотехнологій для відновлення продуктивності виснажених та контамінованих ґрунтів. Тому дослідження мікробіоценозу ґрунту, скринінг резистентних до дії токсичних сполук штамів, а також дослідження біосинтетичної здатності перспективних продуцентів біологічно-активних речовин є підґрунтям для розробки біотехнологій для збереження, біоремедіації та підвищення продуктивності природних та агроекосистем.

Метою роботи є розробка наукових основ і практична реалізація мікробних і молекулярно-генетичних біотехнологій, спрямованих на збереження екологічного стану і підвищення продуктивності сучасних агроекосистем в умовах техногенного навантаження. **Відповідно до поставленої мети, сформульовано наступні завдання:**

1. Проаналізувати адаптаційний потенціал мікробіоценозів ґрунтів в умовах техногенного навантаження. Визначити вплив забруднення гексахлорбензолом (ГХБ) на еколого-трофічні групи мікроорганізмів різних типів ґрунтів. Виділити та ідентифікувати толерантні до хлорорганічного забруднення штами бактерій. Визначити деструкційний потенціал до ГХБ у

нововиділених штамів та запропонувати шляхи їх застосування для біодеструкції токсичних пестицидів.

2. Обґрунтувати оптимальні шляхи мікробної детоксикації Cu^{2+} як підґрунтя біоремедіаційних біотехнологій і провести скринінг природних екосистем на наявність купрумрезистентних мікроорганізмів. З'ясувати кількісні показники стійкості мікроорганізмів природних біоценозів до сполук токсичного Cu^{2+} .

3. Ізолювати екологічно перспективні штами мікроорганізмів, що є стійкими до важких металів, а також володіють метаболічними шляхами їх детоксикації у водних та ґрунтових біоценозах. Застосовуючи біоінформатичні підходи, виявити та охарактеризувати генетичні детермінанти їх стійкості до важких металів.

4. Визначити кількісні закономірності акумуляції сполук токсичних металів з контамінованих ґрунтів рослинами *Nicotiana tabacum* L.

5. Дослідити окремі аспекти біосинтетичної здатності ґрунтового стрептоміцета *Streptomyces netropsis* IMVAc-5025 і з'ясувати взаємозв'язок шляхів біосинтезу полієнових антибіотиків з іншими біологічно активними речовинами штам. Дослідити ефективність мікробних біопрепаратів на основі метаболітів ґрунтових стрептоміцетів для збереження, підвищення і покращення продуктивності агроекосистем.

6. Охарактеризувати структурну та функціональну організацію геномів помірних фагів 49 і 59 *E. horticola* як факторів горизонтального переносу генів стійкості бактерії-хазяїна.

Дослідження мікробних угруповань чорноземного, темно-каштанового, дерново-підзолистого ґрунтів у інтенсивних агроценозах виявили чутливість до гексахлорбензолного (ГХБ) забруднення у дозах від 10 до 10000 гранично допустимої концентрації. Найбільш чутливими індикаторами виявились фосфатмобілізувальні бактерії і стрептоміцети, які можуть бути використані у моніторингу ґрунтів на забруднення хлорорганічними пестицидами. Встановлено, що у ґрунтах, забруднених ГХБ, порушується структура мікробного угруповання, знижується загальна біологічна активність –

швидкість базального (на 28,5– 62,7 %) і субстрат-індукованого (у 2–3 рази) дихання і накопичення мікробної біомаси (у 1,5 – 4,3 рази). Основний вплив на дисперсію чисельності мікроорганізмів чинить забруднення ГХБ (61–95 %), у той час вплив типу ґрунту є незначним (1–24 %). Виділено та ідентифіковано 2 стійких до хлорорганічного забруднення штами *Comamonas testosteroni* УКМ В-400 та УКМ В-401, які є перспективним деструкторами гексахлорбензолу. Досліджено і продемонстровано фітостимулювальний та протекторний ефект до фітопатогенів штамів *C. testosteroni* УКМ В-400 та УКМ В-401 на розвиток рослин томатів сорту «Лагідний». Показано, що внесення у ґрунт культуральної рідини *C. testosteroni* УКМ В-400 покращує ріст і розвиток рослин кукурудзи в умовах хлорорганічного забруднення.

На основі методу термодинамічного прогнозування теоретично обґрунтовано та експериментально досліджено інтегральні шляхи мікробної трансформації сполук токсичного Cu(II) . Використано діаграми Пурбе та рівняння Нернста для визначення взаємозв'язку між рН, розчинністю сполук Cu(II) , а також редокс-потенціалом (Eh). Ці розрахунки дали можливість спрогнозувати шляхи взаємодії мікроорганізмів з сполуками Cu(II) при надвисоких концентраціях, навіть при одномолярній, тобто 63546 мг/л Cu(II) . Експериментально досліджено мікробні угруповання п'яти географічних регіонів (України, Антарктики, Арктики, Ізраїлю та Південної Америки). Встановлено, що у досліджуваних зразках ґрунту, глини і піску у значній кількості ($n \times 10^2$ до $n \times 10^4$ КУО/г) присутні мікроорганізми, стійкі до Купруму у надвисоких концентраціях (1000 – 15500 мг/л). Виділено 10 купрумрезистентних штамів мікроорганізмів і встановлено, що вони здатні взаємодіяти з Cu(II) за механізмами акумуляції в клітинах, мобілізації, а також іммобілізації (відновлення та осадження). Визначено таксономічне положення досліджуваних культур сукупності їх культурально-морфологічних і фізіолого-біохімічних властивостей та результатів філогенетичного аналізу нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК. В результаті було отримано такі купрумрезистентні штами: *Pseudomonas lactis* UKR1, *P. panacis* UKR 2, *P. veronii* UKR 3 і UKR4, *Rhodotorula mucilaginosa* UKR 5, *Staphylococcus*

succinus Cop98, *Pantoea agglomerans* Cop101, *Bacillus mycoides* Cop102, *B. megaterium* Cop99, *B. velezensis* Cop41. Для найбільш резистентних штамів побудовано філогенетичну дендрограму, що ілюструє їх зв'язок серед близькоспоріднених видів. Було секвеновано геноми штамів *P. lactis* UKR1, *P. panacis* UKR2, *P. veronii* UKR3, *P. veronii* UKR4. Геноми були збережені у системі DDBJ/ENA/GenBank з номером біопроекту PRJNA565195. Початковий скринінг геномів показав наявність генетичних детермінант, що кодують стійкість до Купруму – білки *A*, *B*, *D*, купрум-експортуюча АТФаза *copA3*, мідний шаперон *copZ*, а також двокомпонентна регуляторна система *cusRS*.

З ризосфери пшениці, що була вирощена у забрудненому токсичним кадмієм ґрунті, було ізольовано шість кадмієрезистентних бактеріальних штамів. Було проаналізовано геноми та визначено таксономічне положення досліджуваних штамів. Їх було віднесено до *Brevundimonas vesicularis* USM1, *Pseudarthrobacter oxydans* USM 2, *P. lini* USM 3, *P. putida* USM 4, *Cupriavidus gilardii* USM 5, та *Cupriavidus taiwanensis* USM 6. Подальший аналіз їх геномів показав наявність генетичних детермінант резистентності до кадмію. Було показано високу ефективність іммобілізації Cu^{2+} неадаптованим до Купруму облігатно-анаеробним штамом *Clostridium butyricum* 92, що становила 88–99,2% за 9 годин ферментації за вихідної концентрації 50 – 200 мг/л Cu^{2+} .

Експериментально показано можливість акумуляції Купруму, Хрому, Кобальту, Нікелю та Кадмію з контамінованих ґрунтів рослинами тютюну справжнього (*Nicotiana tabacum* L.).

Важливою складовою мікробіоценозу ґрунту є актинобактерії, зокрема, представники роду *Streptomyces* – продуценти широкого спектру біологічно активних речовин (БАР), які покращують фітосанітарний стану ґрунту і забезпечують праймінг-ефект щодо рослин. Серед вторинних метаболітів стрептоміцетів важливо досліджувати полієнові антибіотики оскільки багато аспектів щодо їх структури і біосинтезу є нез'ясованими, вони не впливають на референтні штами, а у мікроорганізмів-мішеней рідко формується стійкість. На сьогодні не досліджено вплив БАР на біосинтез полієнових антибіотиків.

Отримані знання будуть корисними в розумінні метаболічних взаємозв'язків в клітині стрептоміцетів і розробці ефективних мікробних біотехнологій.

Досліджено раніше нез'ясовані аспекти біосинтетичної здатності *S. netropsis* ІМВ Ас-5025. Вперше виявлено кореляційні взаємозв'язки в біосинтезі стрептоміцетом полієнових антибіотиків з іншими БАР – ауксинами, цитокінінами, абсцизовою кислотою, стеролами. Доведено можливість використання факторного аналізу як методу теоретичного прогнозування для підбору оптимальних умов культивування стрептоміцета і накопичення корисних метаболітів за рахунок внесення екзогенних сполук. Встановлено переваги використання органічного поживного середовища для накопичення полієнових антибіотиків, фітогормонів і стеролів за глибинного культивування продуцента. Вперше показано можливість застосування метаболітів ґрунтових стрептоміцетів для отримання в умовах *in vitro* рослин-регенерантів томату з пролонгованою стійкістю до фітонематод і фітопатогенів, з'ясовано їх роль в праймінг-ефекті у рослин. *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 накопичує найбільшу кількість полієнових антибіотиків в біомасі в стаціонарну фазу (на 7-му добу) за глибинного культивування, а саме: 0,387 мг/г АСБ в синтетичному і 2,318 мг/г АСБ в органічному поживних середовищах. Вперше виявлено, що полієнові антибіотики накопичуються вже на 1 добу культивування, що свідчить про їх структурну роль в метаболізмі стрептоміцетів. Тому для з'ясування впливу екзогенних речовин на біосинтез полієнових антибіотиків і інших БАР штамом доцільно вносити ці речовини в стаціонарну фазу.

Факторний аналіз показав, що біосинтез полієнових антибіотиків *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 має найбільший відсоток кореляції із біосинтезом цитокініну – ізопентеніладенозином, ауксину – індол-3-карбінолом і стерольною сполукою – β -ситостеролом. На підставі отриманих даних було сформульовано гіпотезу про можливе регулювання біосинтезу полієнових антибіотиків стрептоміцетом за рахунок внесення екзогенних БАР.

Результати дослідження розширюють спектр застосування метаболічного біопрепарату Фітовіт (продуцент – *S. netropsis* ІМВ Ас-5025), розробленого у відділі загальної і ґрунтової мікробіології, Інституту мікробіології і вірусології

ім. Д.К. Заболотного НАН України. Застосування Фітовіту у рослинництві включає механізми адаптивних можливостей рослин на молекулярному, клітинному і організменному рівнях. Вперше показано ефективність метаболітів *S. netropsis* IMB Ac-5025 для отримання в умовах *in vitro* рослин-регенерантів *Lycopersicon esculentum* Mill. сорту Лагідний, стійких до нематодних інвазій і уражень фітопатогенами з пролонгованим ефектом. Запропоновано схеми вирощування агрокультур з використанням Фітовіту, за яких отримано 13 % приросту урожаю по соняшнику гібриду НК Конді і 23,4 % по кукурудзі гібриду ДКС-4082 за посушливого сезону, що підтверджується відповідними актами виробничих випробувань.

У зв'язку з підвищенням попиту на безпечну агропродукцію в Україні і Світі, необхідним є застосування інтегральних підходів, які базуються на мікробних біотехнологіях. Одним із перспективних і екологічно спрямованих напрямків, який вартий уваги, є анаеробне зброджування мікроорганізмами харчових відходів. Органічні субстрати після мікробної ферментації стають безпечними, в них збільшується кількість агрономічно корисних бактерій, а ферментаційні залишки можна використовувати в агроекосистемах для підвищення родючості виснажених ґрунтів. Так, виявлено, що лігноцелюлозний субстрат, отриманий після зброджування харчових відходів, на 40 % підвищував сходження насіння рослин *Raphanus sativus* L. (редька посівна). Внесення модифікованої лігнінцелюлози сприяло підвищенню кількості амоніфікаторів та вільноживучих гетеротрофів і діазотрофів, які постачають мінеральний азот для живлення рослин у посушливих умовах.

Аналізуючи поширення детермінант резистентності в межах мікробіоценозу ґрунту, слід враховувати роль мобільних генетичних елементів та механізми, що визначають їх рухливість. Гени стійкості до токсичних речовин можуть поширюватися за допомогою горизонтальних механізмів передачі генів плазмідами та фагами. В цьому аспекті, вивчення структурно-функціональної організації помірних фагів як переносників детермінант стійкості до певних сполук, є важливим етапом вивчення стійкості мікробних угруповань агробіоценозу в умовах техногенного навантаження.

У зв'язку з цим була вивчена геномна організація помірних фагів 49 і 59, що беруть участь у фаг-фагових та фаго-бактеріальних взаємодіях в системі бактерії *Erwinia horticola*. В результаті дослідження встановлено, що вони є новими унікальними представниками лямбдоїдної групи фагів. Аналіз даних повногеномного секвенування показав, що для фагів 49 і 59 розмір геномів складає 46,835 і 47,116 т.п.н., відповідно. Вони мають близький G+C склад (50,40% і 50,57%, відповідно), а також однакову кількість відкритих рамок зчитування (80). Порівняльний геномний аналіз встановив, що геноми фагів 49 і 59 мають модульну організацію і при попарному порівнянні демонструють 47% подібності, кодуючи ідентичні білки морфогенезу капсида, упаковки ДНК та лізису бактерії-хазяїна. Крім того, було встановлено, що геноми даних ервініофагів несуть ряд генів, що беруть участь у формуванні стійкості бактерії-хазяїна до дії несприятливих умов.

Відомості щодо циклічної пермутації віріонних ДНК фагів 49 і 59 було уточнено та доповнено. Завдяки порівнянню даних експериментального рестрикційного аналізу з результатами рестрикції *in silico* здійснено локалізацію *KpnI*-рестрикційних фрагментів ДНК фага 49 і *SmaI*-рестриктів фага 59. Також було встановлено, що віріонній ДНК фага 59 притаманна модифікація сайтів розпізнавання для ендонуклеази *KpnI*.

Описано структурну гетерогенність популяції фага 59 при розмноженні на мутантному штамі *E. horticola* 450 His3, для якого характерна наявність двох варіантів фагових часток з різним діаметром капсида та кількісним перерозподілом основних структурних білків. Окрім цього було показано, що взаємодія фага 49 з резидентним профагом культури *E. horticola* 450(59) призводить до розвитку абортівної інфекції, що проявляється в зменшенні ефективності висіву і виходу фага в результаті порушення його морфогенезу.

Встановлено, що продукція помірних фагів 49 і 59 відбувається в результаті взаємодії клітин *E. horticola* 450 і 60 з каротоворіцинами типу фагових хвостових відростків *Pectobacterium carotovorum*, а також фагами T2 і T4 *Escherichia coli*. Доведено, що фаги 49 і 59 мають розглядатися як віруси *E. horticola*, а не *P. carotovorum*. На основі отриманих даних було

запропоновано нове явище в бактеріофагії, яке отримало назву фаг-фагової індукції. Його суть полягає в провокуванні виходу ендогенних фагів з бактеріальної псевдолізогенної клітини під дією екзогенних неспоріднених бактеріофагів.

Наукова новизна. Вперше оцінено резистентність мікробних угруповань основних типів ґрунтів України до забруднення хлорорганічним токсикантом. Виділено нові штами мікроорганізмів, здатних метаболізувати гексахлорбензол (ГХБ), визначено їх таксономічну належність до *C. testosteroni* УКМ В-400 та *C. testosteroni* УКМ В-401. Показано рістстимулювальний ефект та підвищення стійкості до фітопатогенів штамами *C. testosteroni* УКМ В-400 і УКМ В-401 на рослини томатів сорту «Легідний». Досліджено позитивний ефект культуральної рідини *C. testosteroni* УКМ В-400 на ріст рослин кукурудзи в забрудненому ґрунті. Теоретично обґрунтовано оптимальні шляхи біовилучення сполук токсичної міді з розчинів та ґрунтів. Вперше з природних екосистем ізольовано бактеріальні штами, що стійкі до сполук Купруму у надвисокій одномолярній (1 моль/л) концентрації. Секвеновано геноми стійких до Купруму та Кадмію штамів, що допоможе на молекулярному рівні визначити молекулярно-генетичні шляхи мікробної детоксикації екологічно-небезпечних металів-окисників. З'ясовані нові аспекти біосинтетичної здатності *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 і обґрунтовано застосування на основі метаболітів ґрунтових стрептоміцетів біопрепаратів з рістрегулювальними, фітозахисними і адаптогенними властивостями. Вперше секвеновано та охарактеризовано геноми помірних ервініофагів 49 і 59; здійснено аналіз фагових генів, що мають відношення до стійкості та вірулентності бактерії-хазяїна.

Практичне значення отриманих результатів. Нові виділені та ідентифіковані штами *C. testosteroni* УКМ В-400 та *C. testosteroni* УКМ В-401, які здатні розкладати ГХБ, складової частини хлорорганічного забруднення, є основою для подальшої розробки технології біоремедіації ґрунтів.

Сформульовані термодинамічні положення є підґрунтям для розробки природоохоронних біотехнологій очищення контамінованих водних та

ґрунтових екосистем від сполук токсичної Cu(II) у високих концентраціях. Здатність ізольованих штамів мікроорганізмів та рослин тютюну взаємодіяти зі сполуками важких металів (акумуляувати та іммобілізувати) свідчить про можливість їх застосування у природоохоронних біотехнологіях. Показано, що внесення у ґрунт залишків лігнінцелюлози, продукту зброджування органічних харчових відходів, стимулюють розвиток діазотрофів і амоніфікаторів, що є важливим для відновлення виснажених ґрунтів.

З'ясовано кореляційні взаємозв'язки біосинтезу полієнових антибіотиків, фітогормонів і стеролів *S. netropsis* ІМВ Ас-5025, що дає можливість використовувати факторний аналіз як метод теоретичного прогнозування біосинтезу метаболітів. Показано переваги використання органічного поживного середовища для накопичення полієнових антибіотиків продуцентом і можливість біохімічного регулювання біосинтезу корисних метаболітів. Результати фундаментальних досліджень впроваджені в навчальний процес у викладання дисциплін «Метаболізм мікроорганізмів» і «Агромікробіологія» Інституту біомедичних технологій Університету розвитку людини «Україна». Доведено ефективність застосування біопрепаратів на основі метаболітів ґрунтових стрептоміцетів для отримання в умовах *in vitro* рослин-регенерантів томату *Lycopersicon esculentum* Mill. сорту Лагідний, стійких до фітопаразитичних нематод і фітопатогенів і з покращеною урожайністю з пролонгованою дією. Запропоновано схеми вирощування соняшнику гібриду НК Конді і кукурудзі гібриду ДКС-4082 з використанням біопрепаратів, за яких збільшився урожай і зменшились витрати на агроприйоми за посушливого сезону. Отримані результати підтверджені актами виробничих випробувань в агрогосподарствах ДП МНТЦ «Агробіотех» і ТОВ ІК «Біоінвест-Агро», а також охоронними документами (патенти на винахід і корисну модель).

Отримані дані щодо структурної та функціональної організації геномів помірних ервініофагів 49 і 59 можуть бути корисними у розробці молекулярно-генетичних біотехнологій для конструювання нових штамів мікроорганізмів, що мають здатність до елімінації токсичних сполук з ґрунту.

Висновки. Мікробіоценози ґрунтів України потребують розробки біотехнологій їх збереження та біоремедіації. Виділені резистентні до хлорорганічних пестицидів та токсичних металів штами є перспективні для мікробної біоремедіації ґрунтів. З'ясовано шляхи метаболічного регулювання ґрунтовим стрептоміцетом *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 біосинтезу біологічно активних речовин, що дозволяє в одному біотехнологічному процесі регулювати накопичення практично цінних метаболітів. Доведено ефективність застосування біопрепаратів на основі ґрунтових стрептоміцетів у польових і вегетаційних умовах. Досліджено геномну організацію помірних ервініофагів 49 і 59 та виявлено гени, що можуть приймати участь в формуванні стійкості бактерії-хазяїна до несприятливих чинників оточуючого середовища.

Загальна кількість публікацій за темою. За темою роботи опубліковано 75 наукових робіт, серед них – 23 статті у фахових виданнях (з яких 5 – у міжнародних англійськомовних журналах з імпаکت-фактором), 1 методична рекомендація та 51 тез доповідей українських та міжнародних конференцій. Результати підтверджені актами виробничих випробувань в агрогосподарствах ДП МНТЦ «Агробіотех» і ТОВ ІК «Біоінвест-Агро». Кількість діючих патентів України: 2 (з яких 1 патент на винахід і 1 патент на корисну модель).

Загальна кількість посилань на публікації авторів: 4 (Web of Science), 14 (Scopus), 30 (Google Scholar). **h-index:** 1 (Web of Science), 2 (Scopus), 3 (Google Scholar).

Виконавці:

к.б.н., н.с.

доктор філософії, м.н.с.

аспірантка, пров. інж.

аспірантка, пров. інж.

Марина Златогурська

Марія Лобода

Олеся Гаврилюк

Марія Дімова

Список публікацій,

СТАТТІ

1. Zlatohurska M., Gorb T., Romaniuk L., Korol N., Faidiuk Y., Kropinski A., Kushkina A., Tovkach F. Complete genome sequence analysis of temperate *Erwinia* bacteriophages 49 and 59. *Journal of Basic Microbiology*. 2019. Vol. 59, No 7. P. 754–764. DOI: 10.1002/jobm.201900205
2. Zlatohurska M.A., Khlibiichuk Y.Y., Muchnyk F.V., Romanyuk L.V., Tovkach F.I. Characteristics of abortive infection in lysogenic system of *Erwinia horticola*. *Mikrobiologichny Zhurnal*. 2017. Vol. 79, No 3. P. 98–105. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj79.03.098>
3. Златогурская М.А., Товкач Ф.И. Структура вирионных ДНК умеренных эрвиниофагов 49 и 59. *Микробиология и Биотехнология*. 2017. № 4(40). С. 56–64. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4\(40\).118161](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4(40).118161)
4. Златогурская М.А., Товкач Ф.И. Геномика и структура вирионных ДНК умеренных эрвиниофагов 49 и 59. *Доповіди НАН України*. 2017. № 6. С. 82–87. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.06.082>
5. Tovkach F, Zlatohurska M. The phenomenon of phage mediated phage induction in *Erwinia horticola* and the origin of bacteriophages 49 and 59. *Mikrobiologichny Zhurnal*. 2017. Vol. 79, No 1. P. 114–126. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj79.01.114>
6. Zlatohurska M., Tovkach F. Morphological heterogeneity of temperate erwiniaphage 59. *Mikrobiologichny Zhurnal*. 2016. Vol. 78, No 1. P. 70–82. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj78.01.071>
7. Лобода М., Войчук С., Білявська Л. Кореляційна залежність біосинтезу антибіотичних сполук і інших біологічно активних речовин у ґрунтових стрептоміцетів. *Мікробіологічний журнал*. 2019. № 81(5). С. 36–47. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.036>
8. Loboda M., Biliavska L., Iutynska G. Biosynthesis of polyene antibiotics and phytohormones by *Streptomyces netropsis* IMV Ac-5025 under the action of exogenous indole-3-carbinol. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2020. Vol. 27, No 2. P. 136–142.
9. Loboda M., Biliavska L., Iutynska G. Biosynthesis of polyene antibiotics and phytohormones by *Streptomyces netropsis* IMV AC-5025 under the action of exogenous isopentenyladenosine. *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. 2021. Vol. 83, No 2. P. 32–41.
10. Hovorukha V., Havryliuk O., Gladka G., Kalinichenko A., Sporek M., Stebila J., Mavrodi D., Mariychuk R., Tashyrev O. Detoxification of Copper and Chromium via Dark Hydrogen Fermentation of Potato Waste by *Clostridium butyricum* Strain 92. *Processes*. 2022, Vol. 10, No. 1., 170. <https://doi.org/10.3390/pr10010170>.
11. Havryliuk O., Hovorukha V., Savitsky O., Trilis V., Kalinichenko A., Dołhanczuk- Sródka A., Janecki D., Tashyrev O. Anaerobic Degradation of Environmentally Hazardous Aquatic Plant *Pistia stratiotes* and Soluble Cu(II) Detoxification by Methanogenic Granular Microbial Preparation. *Energies*. 2021, Vol. 14, No. 13, P. 3849. <https://doi.org/10.3390/en14133849>.
12. Havryliuk O., Hovorukha V., Sachko A., Gladka G., Bida I., Tashyrev O. Bioremoval of hazardous cobalt, nickel, chromium, copper and cadmium compounds from contaminated soil by *Nicotiana tabacum* plants and associated microbiome. *Biosyst. Diversity*. 2021, Vol. 29, No. 2, P. 88–93. <https://doi.org/10.15421/012112>.
13. Hovorukha V., Bhattacharyya A., Iungin O., Tashyreva H., Romanovska V., Havryliuk O., Bielikova O., Blackwell C., Burks B., Cothorn C., Elliott J., Hoover J., Jones A., Leise C., Lowmiller L., Mohamed A., Mullen T., Nettleton E., Polk K., Tran B., Tran T., Vega M., Ware L., Welch E., Williams L., Woodard M., Young K., Mavrodi O., Tashyrev O., Mavrodi D. Draft Genome Sequences of Six Strains Isolated from the Rhizosphere of Wheat Grown in Cadmium-Contaminated Soil. *Microbiol Resource Announcment*. 2020. Vol. 9, No 34. P. e00676-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00676-20> e00676-20.
14. Havryliuk O. A., Hovorukha V. M., Sachko A. V., Gladka G. V., Tashyrev O. B. Quantitative indicators of copper-resistant microorganisms distribution in natural ecosystems. *Biotechnology Acta*, 2021, Vol 14, No.1. P. 69–80. <https://doi.org/10.15407/biotech14.01.69>.
15. Havryliuk O., Hovorukha V., Patrauchan M., Youssef N. H., Tashyrev O. Draft whole genome sequence for four highly copper resistant soil isolates *Pseudomonas lactis* strain UKR1,

Pseudomonas panacis strain UKR2, and *Pseudomonas veronii* strains UKR3 and UKR4. *Current Research in Microbial Sciences*. 2020. Vol. 1. P. 44–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.06.002>.

16. Tashyrev O.B, Matvieieva N.A, Hovorukha V.M, Tashyreva H.O, Bielikova O.Iu, Havryliuk O.A., Duplij V.P. Application of lignocellulosic substrate obtained after hydrogen dark fermentation of food waste as biofertilizer. *Industrial Biotechnology*. 2018. Vol. 14, No 6. P. 315–322. DOI: <https://doi.org/10.1089/ind.2018.0008>

17. Hovorukha VM, Tashyrev OB, Matvieieva NA, Tashyreva HO, Havryliuk OA, Bielikova OIu, Sioma IB. Integrated approach for development of environmental biotechnologies for treatment of solid organic waste and obtaining of biohydrogen and lignocellulosic substrate. *Environmental Research, Engineering and Management*. 2018. Vol. 74, No 4. P. 31–42. DOI: <http://dx.doi.org/10.5755/j01.erem.74.4.20723>

18. Гаврилюк О.А., Говоруха В.М., Таширев О.Б. Стійкість мікроорганізмів чорноземного ґрунту до розчинних сполук міді. *Колекції наукових робіт “Фактори експериментальної еволюції організмів”*. 2018. № 23. С. 273–279. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.1027>

19. Hovorukha V., Havryliuk O., Tashyreva H, Tashyrev O., Sioma I. Thermodynamic substantiation of integral mechanisms of microbial interaction with metals. *Ecological Engineering and Environmental Protection*. 2018. No 2. P. 55–63. DOI: <http://dx.doi.org/10.32006/eeper.2018.2.5563>

20. Yamborko N.A., Dimova M.I., Iutynska G.O. Influence of Hechachlorobenzene on Microbiota of Chernozem Soil. *Mikrobiologichny Zhurnal*. 2019. Vol. 81, No 5, P. 27–35. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.027>

21. Dimova M.I., Yamborko N.A., Iutynska G.O. Hexachlorobenzene effect on microbiocenoses of different soil types. *Mikrobiologichny Zhurnal*. 2020. Vol. 82, No 4, P. 13–22. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.04.013>

22. Dimova M., Dankevych L., Yamborko N., Iutynska G. Polyphasic taxonomy analyse of *Comamonas testosteroni* resistant to hexachlorobenzene. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 2021. P. e4711. <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/4711/425>

23. Dimova M., Iutynska G., Sergiienko V., Yamborko N., Ovsienko M. Potentially Beneficial *Comamonas testosteroni* Bacteria for Plants Growing in HCB-Polluted Soil. *Open Access Journal of Microbiology and Biotechnology* 2021. Vol. 6, No. 4, P. 1–7. <https://doi.org/10.23880/oajmb-16000208>

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Іутинська Г.О., Білявська Л.О., Бабич О.А., Бабич А.Г., Лобода М.І., Скроцький С.О. Новітні метаболічні біопрепарати та технологія їх отримання: науково-методичні рекомендації. Київ: НУБіП, 2018. 34 с.

ПАТЕНТИ НА ВИНАХІД

1. Білявська ЛО, Іутинська ГО, Лобода МІ, Бабич ОА, Бабич АГ. Поліфункціональний біопрепарат АВЕРСТІМ для обробки рослин. Патент України 20688. 2018 р. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=search>

ПАТЕНТИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

1. Білявська ЛО, Іутинська ГО, Лобода МІ, Бабич ОА, Бабич АГ. Поліфункціональний біопрепарат АВЕРСТІМ для обробки рослин. Патент України 135174. 2018 р. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=search>

ТЕЗИ

1. Zlatohurska M., Gorb T., Romaniuk L., Korol N., Faidiuk Y., Kropinski A.M., Kushkina A., Tovkach F. Comparative genomics of *Erwinia* phages 49 and 59. *Bioresources and Viruses*: abstr. of the IX inter. conf. (Kyiv, September 9–11, 2019). Kyiv, 2019. P. 20.

2. M. Zlatohurska, Gorb T., Romaniuk L., Korol N., Faidiuk Y., Kropinski A.M., Kushkina A.,

- Tovkach F. *Erwinia horticola* and its two temperate related bacteriophages 49 and 59. *Biocontrol 19*: abstr. of the 4th int. symp. (Vitebro, July 9–11, 2019). Vitebro, 2019. P. 54–55.
3. Лебединська Ю.В., Златогурська М.А. Віруси прокаріот та їх використання для біоконтролю бактерій роду *Erwinia*. *Біотехнологія XXI століття*: матеріали XIII всеукр. наук.-практик. конф. (м. Київ, 19 квіт. 2019 р.). Київ, 2019. С. 20.
 4. Юрченко О.А., Златогурська М.А. Організація віріонної ДНК бактеріофагів. *Біотехнологія XXI століття*: матеріали XIII всеукр. наук.-практик. конф. (м. Київ, 19 квіт. 2019 р.). Київ, 2019. С. 32.
 5. Zlatohurska M., Kropinski A.M, Tovkach F. Complete genome sequences of *Erwinia horticola* temperate bacteriophages 49 and 59. *Viruses of Microbes 2018*: abstr. book of inter. conf. (Wroclaw, July 09–13, 2018). Wroclaw, 2018. P. 425.
 6. Златогурська М., Хлібійчук Ю., Романюк Л., Товкач Ф. Ідентифікація основного білка капсида фага 49. Матеріали XV з'їзду Тов. мікробіол. України ім. С.М. Виноградського. (м. Одеса, 11–15 вер. 2017 р.). Одеса, 2017. С. 109.
 7. Zlatohurska M., Tovkach F. The phenomenon of phage mediated phage induction in *Erwinia "horticola"* and the origin of bacteriophage 49 and 59. *Centennial Celebration of Bacteriophage Research*: abstr. book inter. conf. (Tbilisi, June 26–29, 2017). Tbilisi, 2017. P. 117.
 8. Хлібійчук Ю., Златогурська М., Товкач Ф. Структурна організація віріонної ДНК помірних ервініофагів 49 і 59. *Молодь і поступ біології*: зб. тез XIII міжнар. наук. конф. (м. Львів, 19–21 квіт. 2017 р.). Львів, 2017. С. 200–201.
 9. Хлібійчук Ю., Златогурська М., Товкач Ф. Попередній біоінформатичний аналіз геномів ервініофагів 49 і 59. *Шевченківська весна: досягнення біологічної науки / BioScience Advances*: матеріали XV міжнар. наук. конф. (м. Київ, 2017). Київ, 2017. С. 48–50.
 10. Zlatohurska M., Tovkach F. Morphological heterogeneity of temperate erwiniophage 59. *Bioresources and Viruses*: abstr. of the VIII inter. conf. (Kyiv, Sept 12–14, 2016). Kyiv, 2016. P. 164–166.
 11. Златогурська М., Морфологічна гетерогенність помірного ервініофага 59. *Біотехнологія: звернення і надії*: зб. тез V всеукр. наук.-практ. конф. (м. Київ, 12–13 травня 2016 р.). Київ, 2016. С. 102–103.
 12. Златогурська М. Популяційна різноманітність помірного ервініофага 59. *Молодь і поступ біології*: зб. тез XII міжнар. наук. конф. (м. Львів, 19–21 квіт. 2016 р.). Львів, 2016. С. 233–234.
 13. Zlatohurska M., Tovkach F. Lysogeny in *Erwinia "horticola"* with participation of bacteriophage 59. *Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century*: abstr. book of the II inter. scien. conf. (Kyiv, April 14–15, 2016). Kyiv, 2016. P. 56–57.
 14. Zlatohurska M. Comparative study of erwiniophage 49 and 59 based on restriction analysis of their genomes. *Actual problems of Microbiology and Biotechnology*: abstr. of the inter. conf. (Odesa, June 1–4, 2015). Odesa, 2015. P. 68.
 15. Loboda M., Biliavska L., Iutynska G. Lectins biosynthesis by soil streptomycetes – antagonists of phytopatogenes. *Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century*: abstr. book of the III inter. scien. conf. (Kyiv, April 19–20, 2018). Kyiv, 2018. P. 193.
 16. Білявська Л., Лобода М., Литовченко А., Бабич О., Іутинська Г. Новітні біотехнології на основі ґрунтових мікроорганізмів для аграрного органічного виробництва. *Органічне виробництво і продовольча безпека*: матеріали VI міжнар. наук.-практ. конф. (м. Житомир, 24–25 трав. 2018 р.). Житомир, 2018. С. 607.
 17. Biliavska L., Loboda M., Burtseva S., Iutynska G. Actynobacteria of the genus *Streptomyces* and its metabolites in bioregulation of plants. *Microbial Biotechnology*: abstr. of the 4rd inter. conf. (Chisinau, Moldova, October 11–12, 2018). Chisinau, 2018. P. 127.
 18. Лобода М., Білявська Л., Іутинська Г. Стійкість регенерантів томатів, отриманих за дії біопрепарату Фітовіт до нематодих інвазій. *Актуальні питання сільськогосподарської мікробіології*: матеріали всеукр. наук.-практ. конф. (м. Чернігів, 4–5 вер. 2019 р.). Чернігів, 2019. С. 142.
 19. Лобода М., Білявська Л. Дослідження впливу екзогенного цитокінінового фітогормону ізопентиніладенозину на синтез полієнових антибіотиків штамом *Streptomyces*

netropsis IMB Ac-5025. XII Український біохімічний конгрес: матеріали XII укр. біохім. конгресу (м. Тернопіль, 11-13 жов. 2019). Тернопіль, 2019. С. 209.

20. Loboda M. Obtaining of the resistant plants lines against phytopathogens and nematode invasion by the action of new microbial bioformulation Fytopvit. *The 6 th Ukrainian Congress for Cell Biology*. (Yaremche, Ukraine, June 18-21, 2019.). Yaremche, 2019. P. 149.

21. Loboda M., Bilyavskaya L., Iutynska G. *Smart Bio*: abstr. book of the 3rd inter. conf. on Life, Environmental Sciences and STEM Education Smart. (Kaunas, Lithuania, May 02-04, 2019). Kaunas, 2019. P. 275.

22. Білявська Л., Лобода М., Іутинська Г. Новітні інноваційні мікробні біотехнології для перехідного періоду до органічного виробництва. *Органічне виробництво і продовольча безпека*: матеріали VII міжнар. наук.-практ. конф. (м. Житомир, 5 трав. 2019 р.). Житомир, 2019 С. 262–267.

23. Белявская Л., Лобода М., Иутинская Г. Антимикробные свойства биологически активные вещества почвенного стрептомицета *Streptomyces netropsis* IMB AC-5025. *Состояние и перспективы разработки, использования биологически активных соединений в научной и практической деятельности*: сборник материалов междунар. науч.-практ. конф. (г. Брест, Беларусь, 4-5 окт 2018 г.). Брест, 2018. С. 3

24. Loboda M., Biliavska L. Biosynthesis of polyene antibiotics by *Streptomyces netropsis* IMV Ac-5025 under the action of exogenous indole-3-carbinol. *Youth and modern problems of microbiology and virology*: materials of the young sci. conf. (Kyiv, Ukraine, Nov 12-14, 2019.), Kyiv, 2019. P. 23.

25. Loboda M., Biliavska L. Polyene antibiotics and growth regulating substances biosynthesis by *Streptomyces netropsis* IMV AC-5025 under the action of exogenous β -sitosterol. *Youth and modern problems of microbiology and virology*: materials of the II young sci. conf. (Kyiv, Ukraine, Nov 23-26, 2020.), Kyiv, 2019. P. 23.

26. Loboda MI, Biliavska LO editors. Polyene antibiotics and growth regulating substances biosynthesis by *Streptomyces netropsis* IMV Ac-5025 under the action of exogenous β -sitosterol. Proceedings of the Young scientists conference Youth and modern problems of microbiology and virology; 2020 Nov 23-26; Kyiv, UA: Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine. P.23.

27. Loboda MI, Biliavska LO, Iutynska GO. Biosynthesis of polyene antibiotics and phytohormones under the action of exogenous β -sitosterol by soil streptomycete *Streptomyces netropsis* IMV Ac-5025. Proceedings of the Modern biotechnologies – solutions to the challenges of the contemporary world; 2021 20-21; Chisinau, MDA: Institute of Microbiology and biotechnology. P.143.

28. Loboda MI. Biliavska LO. Polyene antibiotics and phytohormones biosynthesis by *Streptomyces netropsis* IMV AC-5025 under the complex action of exogenous indole-3-carbinol and β -sitosterol. Proceedings of the Young scientists conference Youth and modern problems of microbiology and virology; 2021 Nov 09- 11; Kyiv, UA: Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine.

29. Havryliuk O., Bida I., Danko Y., Gladka G., Hovorukha V., Mariychuk R., Tashyrev O. Accumulation of Copper by Lawn Grass. Proceedings of the International Forum on Climate Change and Sustainable Development: *New Challenges of the Century*, (Mykolaiv, Ukraine, Sep, 9–11, 2021). Mykolaiv, PMBSNU, 2021. P. 29.

30. Havryliuk O., Hovorukha V., Gladka G.V., Yastremska L., Tashyrev O. Bioremoval of toxic soluble copper(II) compounds by strict anaerobic bacterial strain *Clostridium butyricum* GMP1. *Latest achievements of biotechnology*: materials of the IV inter. sci. conf. (Kyiv, Ukraine, Sep 23, 2020). Kyiv, 2020. P. 6-7.

31. Гаврилюк О.А., Говоруха В.М., Таширев О.Б., Сачко А.В. Закономірності кількісного розповсюдження мідь резистентних мікроорганізмів у природних екосистемах. *Екологія. Людина. Суспільство*: матеріали XXI міжн. наук.-практ. конф. (м. Київ, 21-22 трав. 2020 р.). Київ, 2020. С. 35.

32. В. Путівський, О.А. Гаврилюк, В.М. Говоруха, О.Б. Таширев. Вплив сполук токсичної міді(II) на мікробіоми природних екосистем Екватору та печери «Оптимістична». *Екологія*.

Людина. Суспільство: матеріали XXI міжн. наук.-практ. конф. (м. Київ, 21-22 трав. 2020 р.). Київ, 2020. С. 81.

33. Putivskiy I., Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O. The effect of toxic copper(II) compounds on retro microbiome of “Optymistychna” cave. *Youth and Progress of Biology: materials of the IV inter. sci. conf.* (Lviv, Ukraine, April 27-29, 2020). Lviv, 2020. P. 167–168.

34. Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O., Gladka G.V. Bioremoval of toxic copper(II) in strict anaerobic and aerobic conditions by two environmentally promising microbial strain *Pseudomonas lactis* UKR1 and *Clostridium butyricum* GMP2. *Youth and modern problems of microbiology and virology: abstr. book of young sci. conf.* (Kyiv, Nov 23-26, 2020). Kyiv, 2019. P. 17.

35. Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O. Thermodynamic prognosis to search for super resistant to copper(II) microorganisms as the basis for environmental biotechnologies. *Youth and modern problems of microbiology and virology: abstr. book of young sci. conf.* (Kyiv, Nov 12-14, 2019). Kyiv, 2019. P. 18.

36. Bakhmatska D., Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O., Yastremska L. The isolation of copper-resistant retro microbiome from eco-friendly ecosystem of “Atlantida” karst cave. *Youth and modern problems of microbiology and virology: abstr. book of young sci. conf.* (Kyiv, Nov 12-14, 2019). Kyiv, 2019. P. 8.

37. Putivskiy I., Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O. The resistance of Ecuador soil microbiome to toxic copper(II) compounds. *Youth and modern problems of microbiology and virology: abstr. book of young sci. conf.* (Kyiv, Nov 12-14, 2019). Kyiv, 2019. P. 30.

38. Havryliuk O., Hovorukha V., Tashyrev O. Novel methodological approach to discover super resistant to copper(II) microorganisms as the base for environmental biotechnologies. *Smart Bio: abstr. book of the 3rd inter. conf. on Life, Environmental Sciences and STEM Education Smart.* (Kaunas, Lithuania, May 02-04, 2019). Kaunas, 2019. P. 57.

39. Hovorukha V., Tashyrev O., Matvieieva N., Tashyreva H., Havryliuk O., Bielikova O., Sioma I. Development of universal biotechnologies for simultaneous treatment of organic waste and valuable products obtaining on the base of thermodynamic prediction. *Advances in Microbiology and Biotechnology: abstr. book for inter. conf.* (Lviv, Ukraine, Oct 29-31, 2018). Lviv, 2018. P. 22.

40. MI Dimova, NA Yamborko, GO Iutynska. Influence of *Pseudomonas* spp. 46–hexachlorobenzene destructor on plants under pesticide contaminated conditions. *daRostim 2020. Biologically active preparations for plant growing: Scientific background – Recommendations: the papers of the XIV inter. sci. and pract. conf.* (Minsk, Belarus, October 22, 2020). Minsk, 2020. P. 64–66.

41. Dimova M., Yamborko N. Sensitivity of microbiocenosis to hexachlorobenzene in different soil types. *Youth and modern problems of microbiology and virology: abstr. book of young sci. conf.* (Kyiv, Nov 12-14, 2019). Kyiv, 2019. P.13

42. Дімова М. І., Ямборко Н. А. Фітотоксичність чорноземного ґрунту, забрудненого гексахлорбензолом. *Актуальні питання сільськогосподарської мікробіології: матеріали всеукр. наук.-практ. конф.* (м. Чернігів, 4-5 вер. 2019 р.). Чернігів, 2019. С.46–48.

43. Овсієнко М. Р., Дімова М. І., Ямборко Н. А. Вплив гексахлорбензолу на структуру мікробіоценозу чорноземного ґрунту. *Шевченківська весна: досягнення біологічної науки / BioScience Advances: матеріали XVII міжнар. наук. конф.* (м. Київ, 23-25 квіт. 2019 р.). Київ, 2019. С. 18–19.

44. Дімова М.І., Ямборко Н. А., Овсієнко М. Р. Вплив гексахлорбензолу на мікробіоценоз темно-каштанового ґрунту. *Priority directions of science development: abstr. of the 3rd inter. sci. and pract. conf.* (Lviv, Ukraine, Dec 28-29, 2019). Lviv, 2019. P. 39–43.

45. Дімова М.І., Ямборко Н. А. Вплив гексахлорбензолу на еколого-трофічні групи мікроорганізмів дерново-підзолистого ґрунту. *Topical issues of the development of modern science: abstr. of the 4th inter. sci. and pract. conf.* (Sofia, Bulgaria, Dec 11-13, 2019). Sofia, 2019. P. 853–857.

46. Dimova M. I. Toxic impact of hexachlorobenzene on microbial ecology-trophic groups of the most spreading soils in Ukraine. *Topical issues of the methods of teaching natural sciences: proc. of inter. sci. and pract. conf.* (Lublin, Poland, Dec 27-28, 2019). Lublin, 2019. P. 67–70.

47. Dimova M., Dankevich L., Yamborko N. Soil bacteria resistant to hexachlorobenzene loading. *Youth and modern problems of microbiology and virology*: abstr. book of young sci. conf. (Kyiv, Nov 23-26, 2020). Kyiv, 2019. P. 13.
48. М. І. Дімова, Н. А. Ямборко. Фітотоксичний ефект темно-каштанового ґрунту, забрудненого гексахлорбензолом. *Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві*: матеріали XIV наук. конф. мол. вчених (м. Чернігів, 27–28 жов. 2020 р.). Чернігів, 2020. С. 86–88.
49. Dimova M.I. Bioaugmentation effect of *Comamonas testosteroni* in HCB-loading soil. Conference materials of the III young scientists conference “*YOUTH AND MODERN PROBLEMS OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY*” (Kyiv, 9-11 November 2021). Kyiv, 2021. P. 10.
50. Dimova M.I., Dankevych L.A., Yamborko N.A. Phylogenetic analysis of HCB-resistant soil bacteria. *XV IMBG all-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation*. Biopolymers and Cell. 2021. Vol. 37. N 3. P. 53.
51. Dimova M.I., Dankevych L.A., Iutynska G.O., Yamborko N.A. Fatty acid composition of cell lipids of bacterial strains resistant to hexachlorobenzene. *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы XII Междунар. науч. конф., посвящ. 55-летию Ин-та микробиологии НАН Беларуси* (Минск, 7–11 июня 2021 г.). Минск: Беларуская навука, 2021. С. 217–218.