**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

# ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ РОСЛИННО-МІКРОБНИХ ВЗАЄМОДІЙ ЯК ОСНОВА РИЗОСФЕРНИХ ТА ЕКОСИСТЕМНИХ ПРОЦЕСІВ

**ОЛІЙНИК Ольга Олександрівна -** к.с.-г.н., завідувач лабораторії біотехнології та клітинної інженерії кафедри екобіотехнології та біорізноманіття НУБіП України

**БОРКО Юлія Петрівна** - к.с.-г.н., старший науковий співробітник відділу агроґрунтознавства і ґрунтової мікробіології ННЦ «Інститут землеробства НААН»

**ЦЕХМІСТЕР Ганна Вікторівна** - к.с.-г.н., старший науковий співробітник лабораторії рослинно-мікробних взаємодій Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

**СУБІН Олександр Володимирович** - начальник відділу мікробіологічних лабораторних досліджень ДП «Державний центр сертифікації і експертизи сільськогосподарської продукції»

Київ-2021

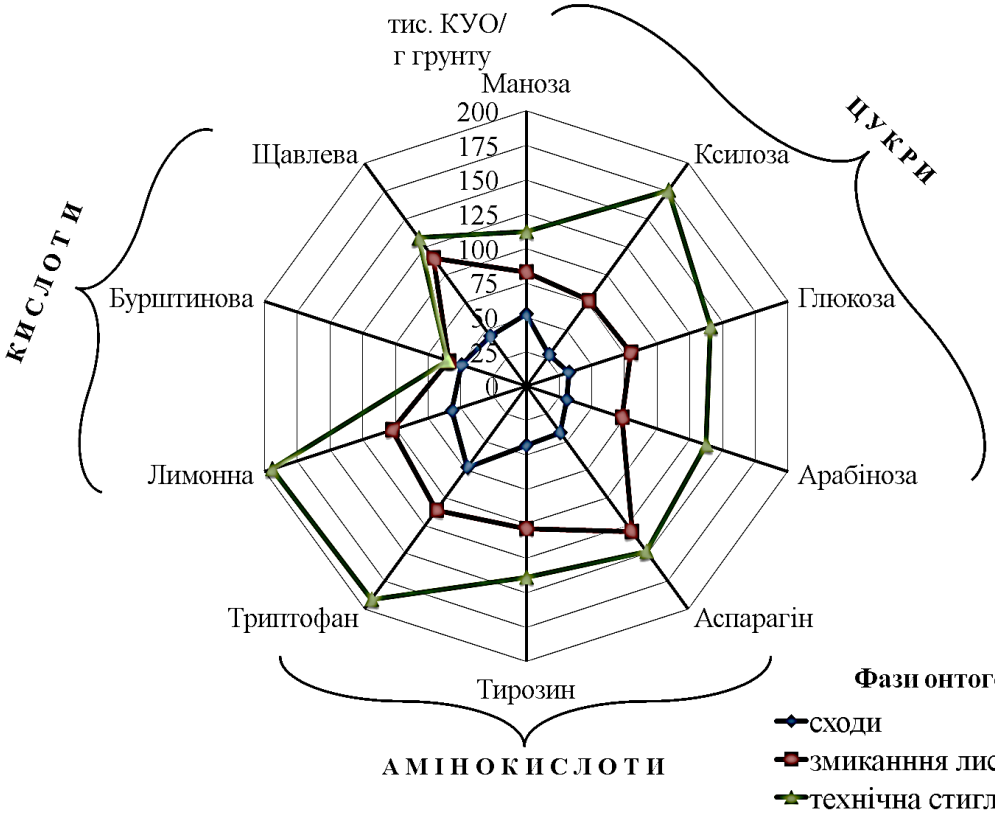
**Мета роботи** - розкриття особливостей формування рослинно-мікробного адаптивного потенціалу агрофітоценозів у системі ризосфери з метою підвищення продуктивності і стійкості сільськогосподарських рослин до біотичних, антропогенних чинників.

**Завдання**:

1. оцінити особливості формування мікробних комплексів у ризосфері рослин на рівні різних фізіологічних і функціонально-значущих груп під впливом кореневих ексудатів на прикладі *Beta Vulgaris* (протягом онтогенезу);
2. дослідити структуру, різноманіття, таксономічний склад метагеному прокаріотів ґрунту класичними і молекулярно-біологічними (піросеквенування) методами;
3. визначити загальну біологічну активність мікроорганізмів ризосфери рослин за вмістом активної біомаси, емісією $CO_2$ з ґрунту, інтенсивністю продукування ферментів та оцінити спрямованість мікробіологічних процесів трансформації органічних речовин ґрунту;
4. провести порівняльний аналіз видового складу мікобіоти філоплани, ризоплани та ризосфери рослин при обробці розчинами хітозанів на прикладі *Fragaria ananassa* Duch;
5. встановити якісний склад, визначити динаміку акумуляції фенольних сполук та специфіку реакцій рослин за дії розчинів хітозанів різного біологічного походження;
6. проаналізувати вплив саліцилової кислоти на морфометричні показники, метаболоміку та антиоксидантний потенціал *Fragaria ananassa* Duch в умовах *in vitro*;
7. дослідити вплив анатомічної пластичності сортів на регенераційний потенціал пагонів рослин на прикладі *Rosa damascena* Mill. у культурі *in vitro* та встановити вплив складу живильного середовища на морфогенез та антиоксидантний потенціал модельних культур в умовах *in vitro*;
8. побудувати циклічні моделі мікроклонального розмноження рослин для оптимізації біотехнологічного процесу вирощування;
9. виявити особливості приживлюваності рослин-регенерантів на етапі адаптації до умов відкритого ґрунту;
10. ідентифікувати *Acremonium sp.* 502, визначити його гістотропну локалізацію у коренях та дослідити сортову чутливість рослин на прикладі *Cucumis sativus* L.;
11. дослідити фіто-, цито- та генотоксичність культуральної рідини *A. cucurbitacearum* 502;
12. провести скринінг мікроорганізмів-антагоністів гриба *A. cucurbitacearum* 502, відібрати найбільш перспективний штам та визначити біологічну ефективність відібраного мікроорганізму за передпосівної обробки насіння.

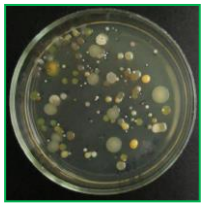
# Структурно-функціональна організація мікробного комплексу ризосфери рослин на прикладі *Beta Vulgaris*

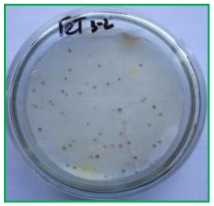
**Чисельність мікроорганізмів функціональних груп у ризосфері *Beta Vulgaris*, які використовують різні вуглець-вмісні субстрати**

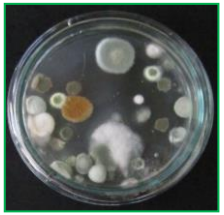



**Чисельність мікроорганізмів фізіологічних груп у ризосфері *Beta Vulgaris*,**
млн КУО/г ґрунту (* – тис. КУО/г ґрунту)

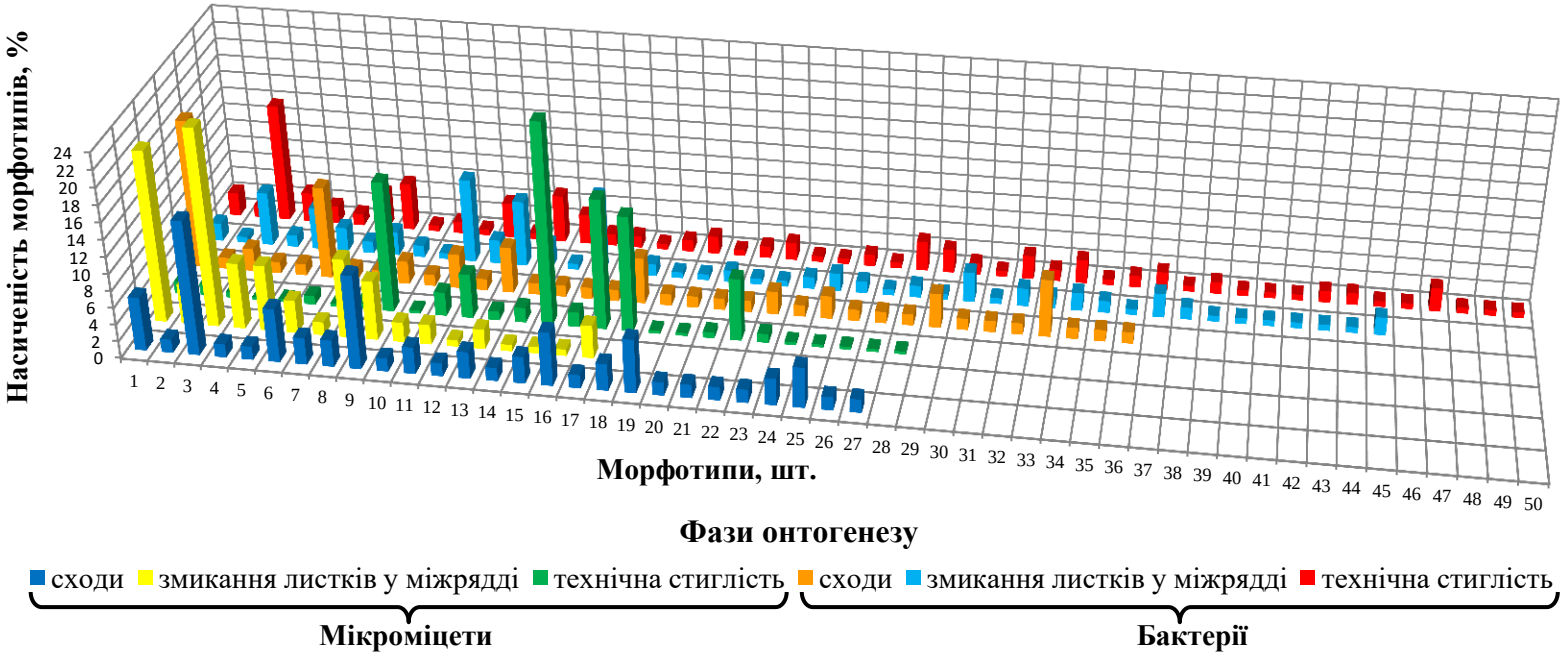
| Фізіологічні групи мікроорганізмів | Фази онтогенезу рослин | | |
|---|---|---|---|
| | сходи | змикання листків у міжрядді | технічна стиглість |
| бактерії на ГПА | 9,06±0,75 | 16,08±1,03 | 18,86±1,00 |
| амоніфікувальні | 6,99±0,32 | 22,41±1,46 | 26,90±1,35 |
| використовують мінеральний азот | 6,47±0,38 | 21,47±1,22 | 24,70±0,89 |
| педотрофні | 5,32±0,53 | 18,65±1,05 | 20,39±1,62 |
| оліготрофні | 4,16±0,24 | 11,06±0,76 | 15,00±1,05 |
| фосфатмобілізівні | 4,87±0,29 | 17,11±1,00 | 19,77±0,74 |
| олігонітрофільні | 4,65±0,37 | 11,92±1,11 | 19,39±1,12 |
| актиноміцети | 1,07±0,05 | 1,26±0,10 | 1,09±0,04 |
| спороутворюючі | 1,44±0,09 | 2,58±0,12 | 3,81±0,13 |
| целюлозоруйнівні* | 68,77±5,49 | 78,57±4,81 | 39,98±2,50 |
| мікроміцети* | 30,35±1,56 | 20,73±1,59 | 76,03±6,00 |

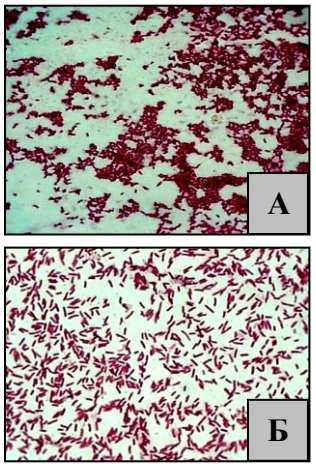






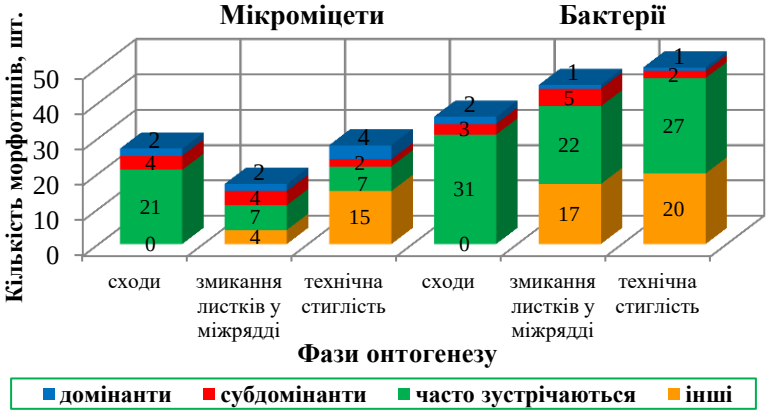
# Якісний склад бактеріальної і грибної мікробіоти ризосфери *Beta Vulgaris* (класичні мікробіологічні методи)

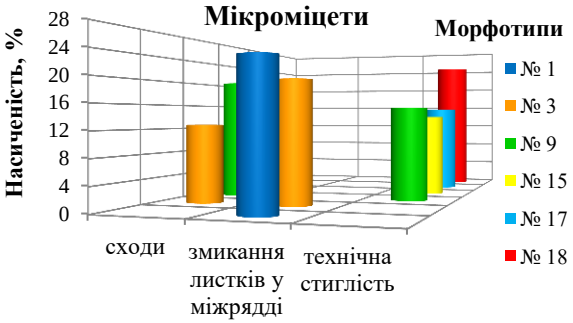


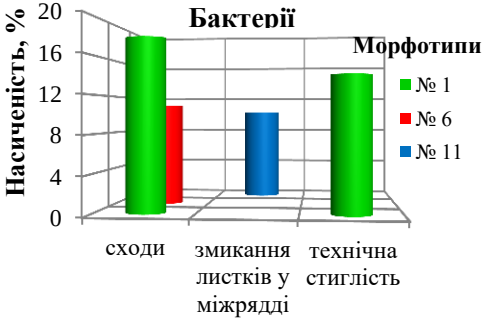




**Мікроскопія домінуючих морфотипів бактерій:**
А – *Achromobacter*,
Б – *Pseudomonas*

## Структура якісного складу мікроміцетів і бактерій ризосфери *Beta Vulgaris*




**Розподіл виявлених морфотипів бактеріальної та грибної мікробіоти у ризосфері *Beta Vulgaris***

**Розподіл домінуючих морфотипів бактерій та мікроміцетів ризосфери *Beta Vulgaris***

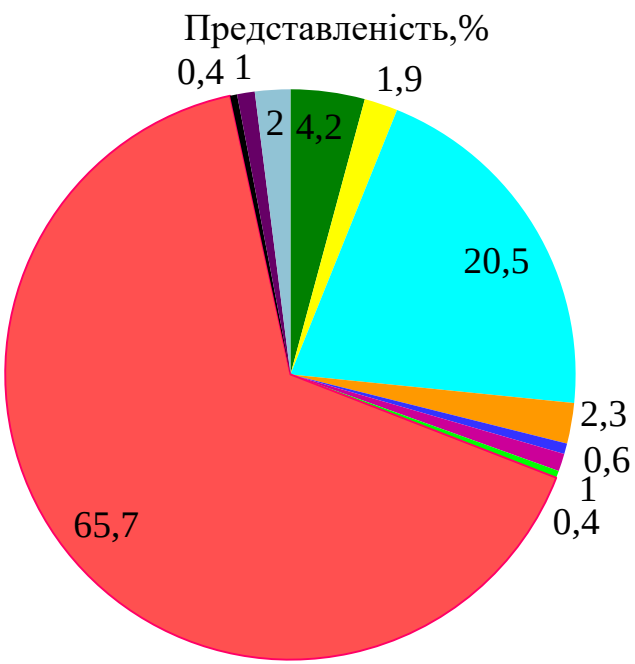
# Таксономічний склад метагеному прокаріотів в агроценозі *Beta Vulgaris*

**Екологічні індекси різноманіття та домінування мікробіоти ризосфери *Beta Vulgaris*, визначені класичним мікробіологічним методом* і піросеквенуванням****

| Мікроорганізми | Індекс Шеннона | Індекс Сімпсона |
|---|---|---|
| бактерії* | 1,39 | 0,06 |
| мікроміцети* | 1,02 | 0,12 |
| прокаріоти** | 5,36 | 0,87 |

**Розподіл основних філ мікробного комплексу ґрунту на рівні:**

**порядків**




**Таксони прокаріотів**

- *Crenarchaeota* - *Archaea*
- *Acidobacteria*
- *Actinobacteria*
- *Chloroflexi*
- *Firmicutes*
- *Gemmatimonad*
- *Planctomycetes*
- *Proteobacteria*
- *Verrucomicrobia*
- не відомі науці
- не культивуються

*Bacteria*

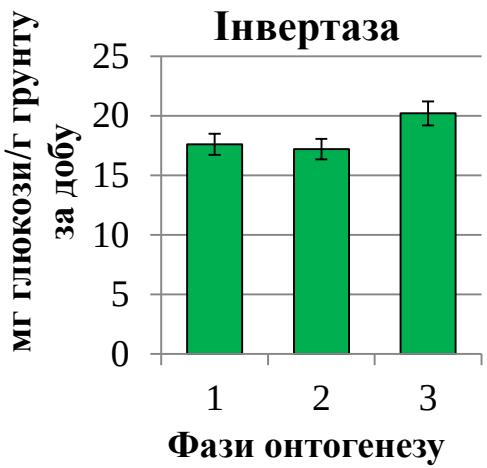
**родин**

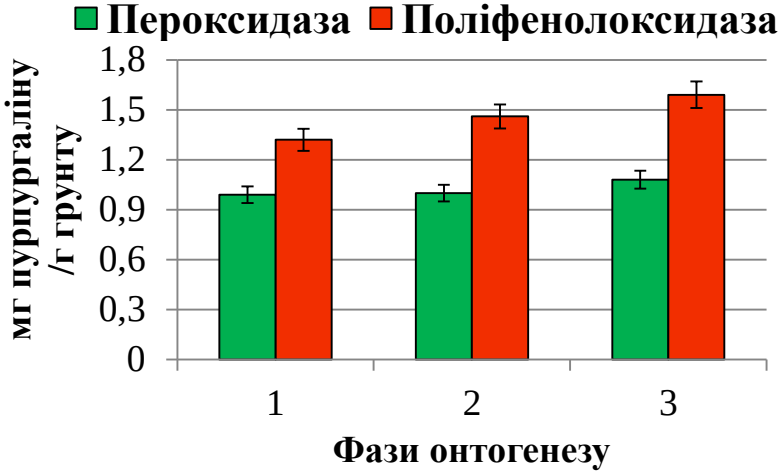
| Родина мікроорганізмів | % |
|---|---|
| *Alcaligenaceae* | 37,9 |
| *Pseudomonadaceae* | 20,1 |
| *Gaiellaceae* | 5,7 |
| *Nitrososphaeraceae* | 4,2 |
| *Sinobacteraceae* | 0,8 |
| *Solirubrobacteraceae* | 1,0 |
| *Micrococcaceae* | 1,0 |
| *Syntrophobacteraceae* | 0,6 |
| *Nocardioidaceae* | 0,6 |
| *Streptomycetaceae* | 0,5 |
| *Comamonadaceae* | 0,5 |
| інші | 8,1 |
| не культивуються на середовищі | 4,7 |
| не відомі науці | 14,3 |

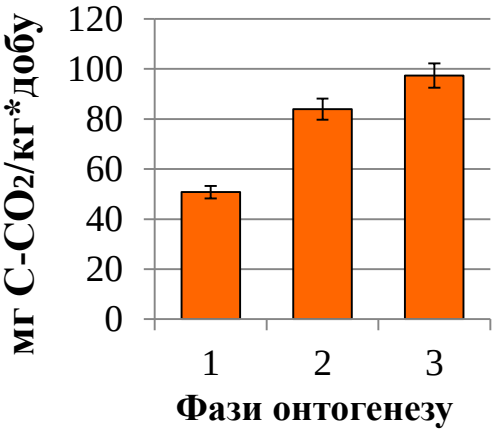
**родів**

| Рід мікроорганізмів | % |
|---|---|
| *Achromobacter* | 31,5 |
| *Pseudomonas* | 19,9 |
| *Candidatus Nitrososphaera* | 4,2 |
| *Bacillus* | 0,4 |
| *Rubrobacter* | 0,4 |
| *Streptomyces* | 0,3 |
| *Pseudonocardia* | 0,2 |
| *Steroidobacter* | 0,2 |
| *Aeromicrobium* | 0,2 |
| *Thermomonas* | 0,2 |
| *Agromyces* | 0,2 |
| інші | 8,9 |
| не культивуються на середовищі | 10,1 |
| не відомі науці | 23,3 |

**Біологічна активність ґрунту та спрямованість мікробіологічних процесів у ризосфері *Beta Vulgaris* протягом онтогенезу:**
1 – сходи, 2 – змикання листків у міжрядді, 3 – технічна стиглість



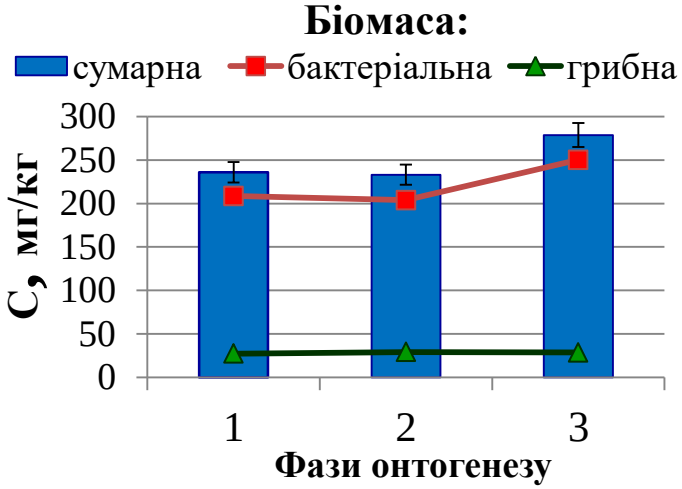




**Інтенсивність продукування ґрунтовими мікроорганізмами ферментів**

**Інтенсивність емісії $CO_2$**

**Коефіцієнти спрямованості мікробіологічних процесів у ґрунті**

| Коефцієнт | Фази онтогенезу рослин | | |
|---|---|---|---|
| | сходи | змикання листків у міжрядді | технічна стиглість |
| мікробний метаболічний | 0,27 | 0,32 | 0,28 |
| гуміфікації | 1,33 | 1,46 | 1,48 |
| іммобілізації-мінералізації | 0,95 | 0,95 | 0,93 |
| педотрофності | 0,77 | 0,83 | 0,75 |
| оліготрофності | 0,34 | 0,24 | 0,28 |
| трансформації органічної речовини грунту | 14,70 | 46,4 | 56,51 |

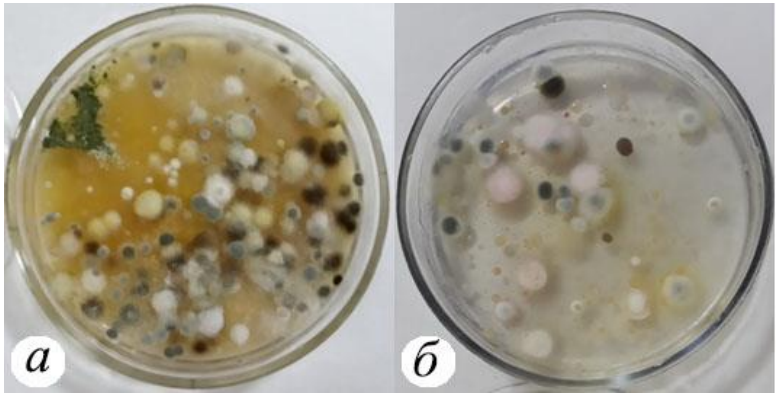



**Вміст активної мікробної біомаси у ризосфері**

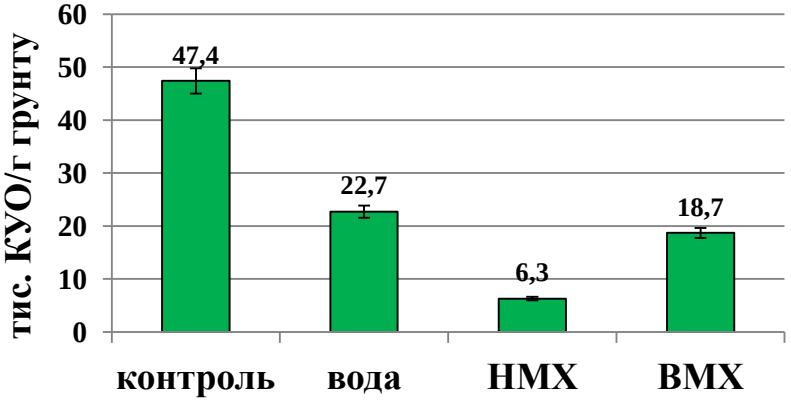
## Вплив хітозану грибного і тваринного походження на мікобіоту ґрунту

### Видовий склад мікроміцетів ризоплани *Fragaria ananassa* після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанами

| Види мікроміцетів | Варіант досліду | | | | | | | Частота траплян-ня, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | контроль | вода | | НМХ | | ВМХ | | |
| | 0 год | 12 год. | 48 год. | 12 год. | 48 год. | 12 год. | 48 год. | |
| | Коефіцієнт заселення, % | | | | | | | |
| *Alternaria tenuissima* (Nees) Wiltshire | - | - | - | 25,0 | 12,5 | - | - | 28,6 |
| *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten | 12,5 | 25,0 | 12,5 | 37,5 | 25,0 | - | 12,5 | 85,7 |
| *Fusarium oxysporum* Schltdl. | - | - | - | - | 37,5 | - | 12,5 | 28,6 |
| *Mortierella isabellina* Oudem. | - | - | 50,0 | - | - | - | - | 14,3 |
| *Penicillium* sp. | 25,0 | - | 25,0 | - | 12,5 | - | 25,0 | 57,1 |
| *Phoma herbarum* Westend. | - | - | - | - | 12,5 | - | - | 14,3 |
| *Rhizoctonia* sp. | 12,5 | 12,5 | - | - | - | - | - | 28,6 |
| *Trichoderma viride* Pers. | - | 12,5 | - | - | - | - | - | 14,3 |
| Всього видів | 3 | 3 | 3 | 2 | 5 | 0 | 3 | |



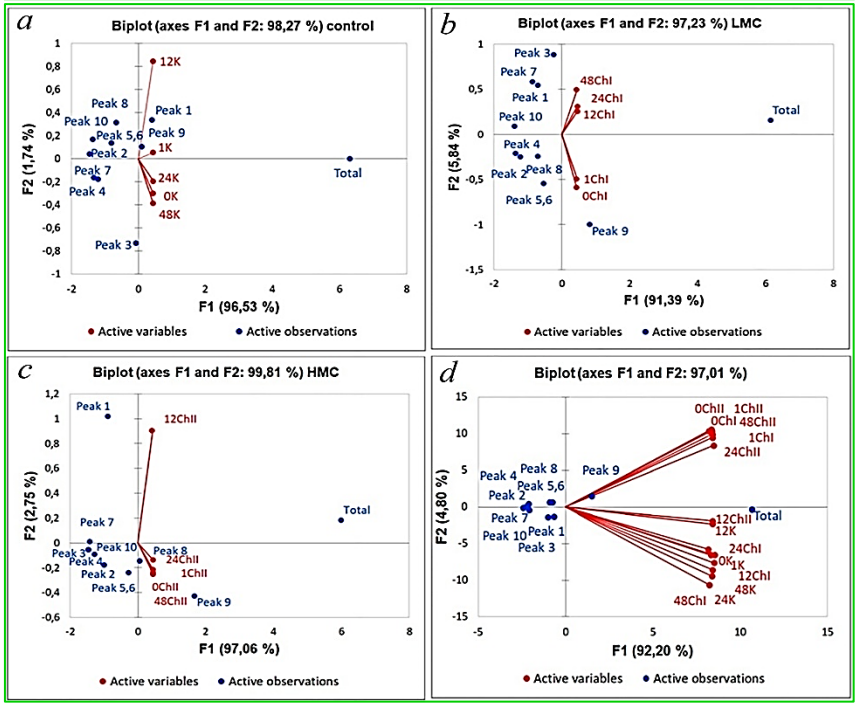

**Зміна чисельності мікроміцетів у ґрунті до (*а*) та після (*б*) обробки НМХ** (с. Чапека)



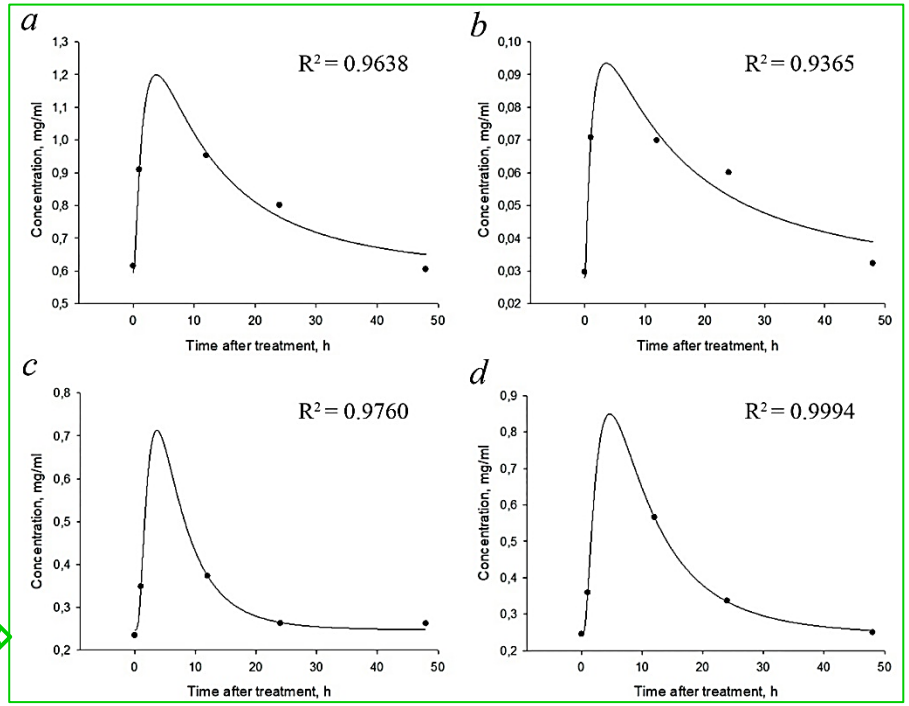

**Чисельність *Penicillium* sp. у ґрунті через 48 год після обробки НМХ і ВМХ**

# Специфіка захисних реакцій рослин модельних культур у відповідь на обробку хітозанами грибного і тваринного походження

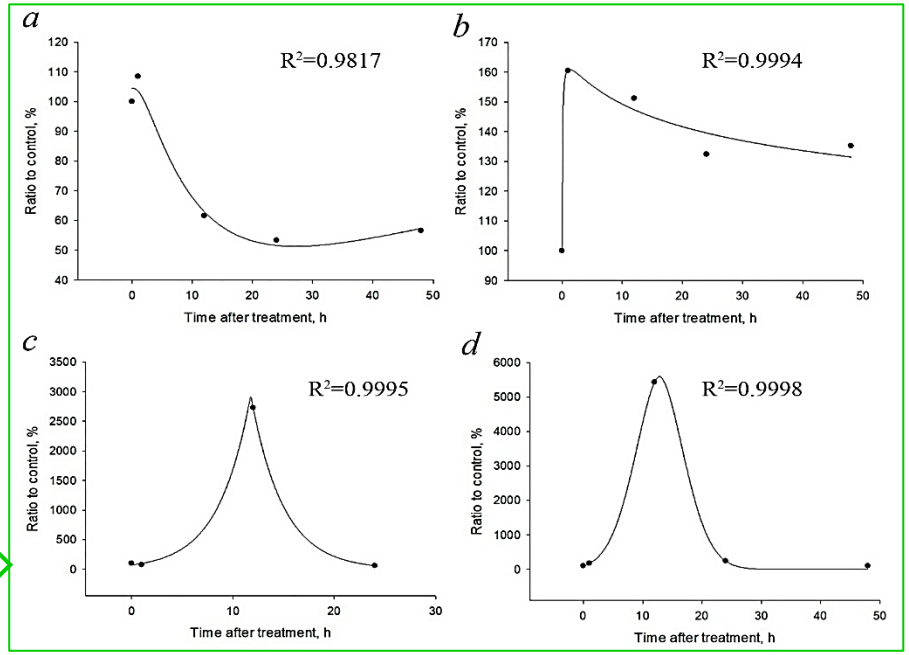
**Biplot-аналіз головних компонентів по показникам вмісту фенольних речовин у листках *Fragaria ananassa* Duch.:** a) контроль; b) НМХ; c) ВМХ; d) зведені дані (К – контроль; ChI – НМХ; ChII – ВМХ).



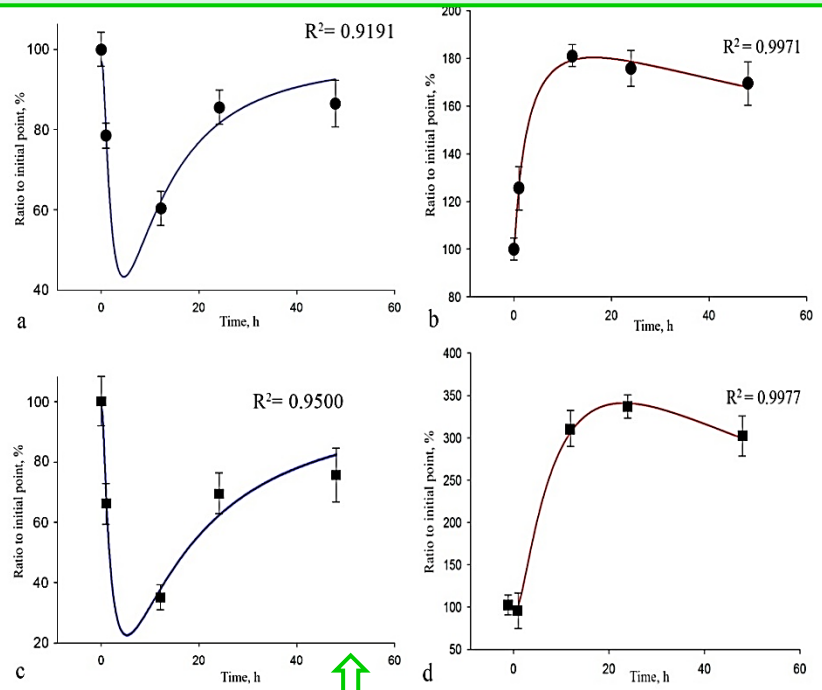

**Динаміка вмісту ГГДФ-глюкози** (a), **галоїлхінної кислоти** (b), **пентозида елагової кислоти, глікозиду кемпферола** (c) **та елагової кислоти** (d) **в листках *Fragaria ananassa* Duch**



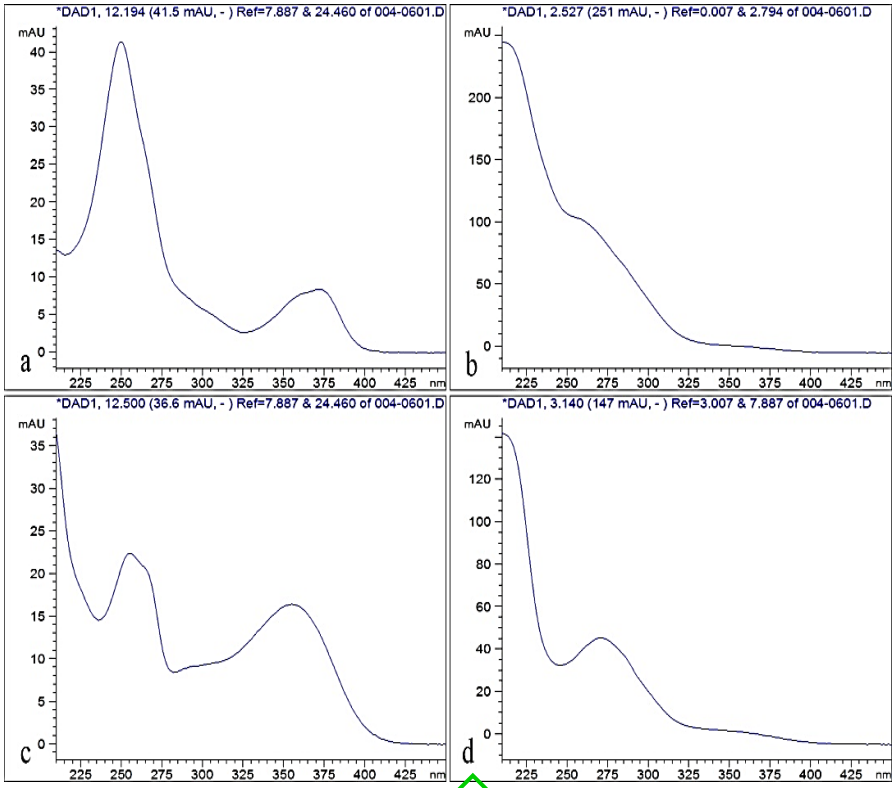

**Динаміка вмісту елагової кислоти** (a, b) **та ГГДФ-глюкози** (c, d) **в листках *Fragaria ananassa* після обробки НМХ** (a, c) **та ВМХ** (b, d).



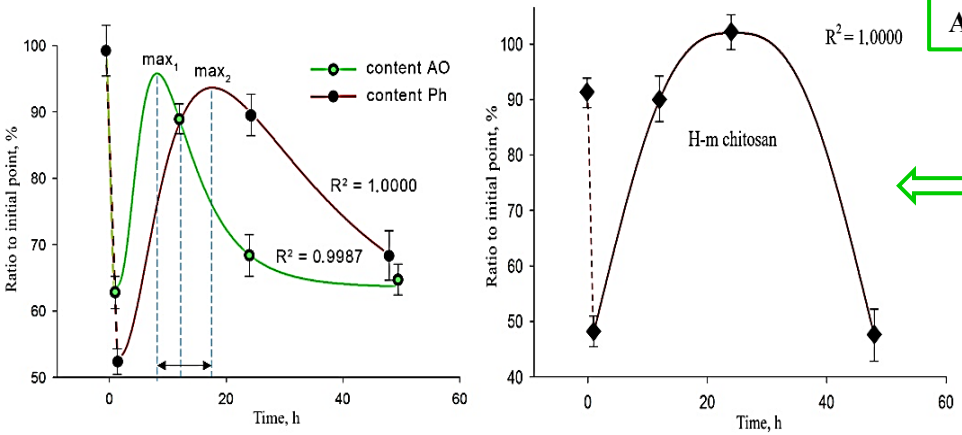
# Специфіка захисних реакцій рослин модельних культур у відповідь на обробку хітозанами грибного і тваринного походження




**Динаміка вмісту в листках *Fragaria ananassa* Duch. фенольних сполук (a, b) та антиоксидантної активності (c, d) після обробки:** a, c – водою (контроль); b, d – НМХ. Початковий показник (до обробки) дорівнює 100%.

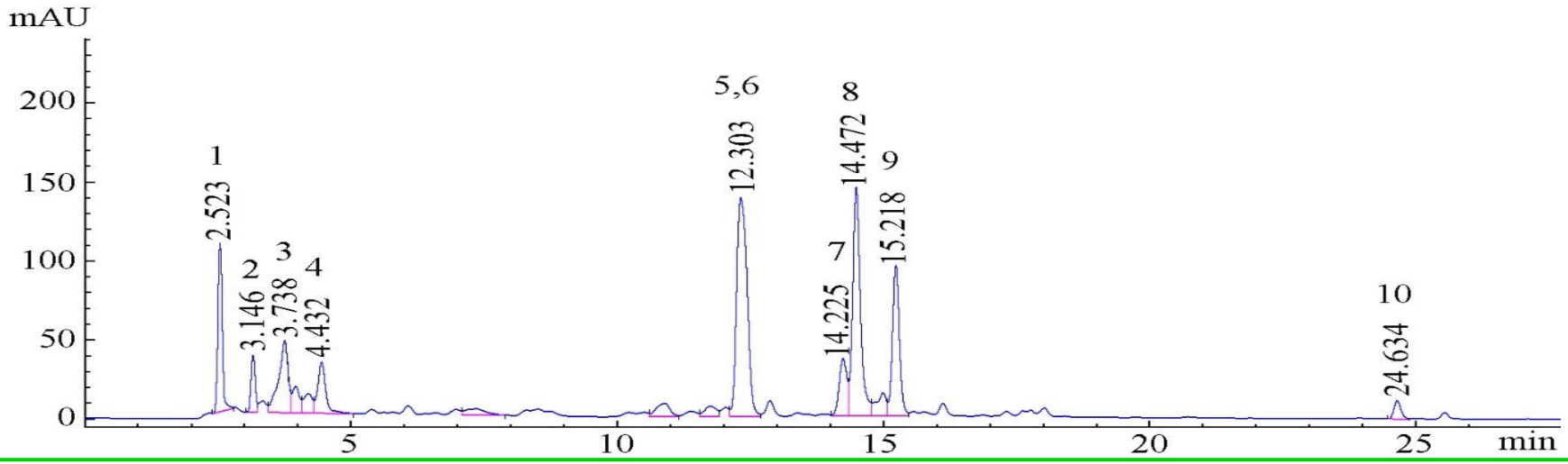



**УФ-спектри базових фенольних сполук *Fragaria ananassa* сорту Аліна на стадії адаптації до умов *in vivo***




**Синхронізований вміст фенольних сполук, антиоксидантів та катехінів у листках *Fragaria ananassa* Duch. після обробки ВМХ:** Ph – вміст фенольних сполук (співвідношення до початкового показника, %); AO – антиоксидантна активність (співвідношення до початкового показника, %).

# Специфіка захисних реакцій рослин модельних культур у відповідь на обробку хітозанами

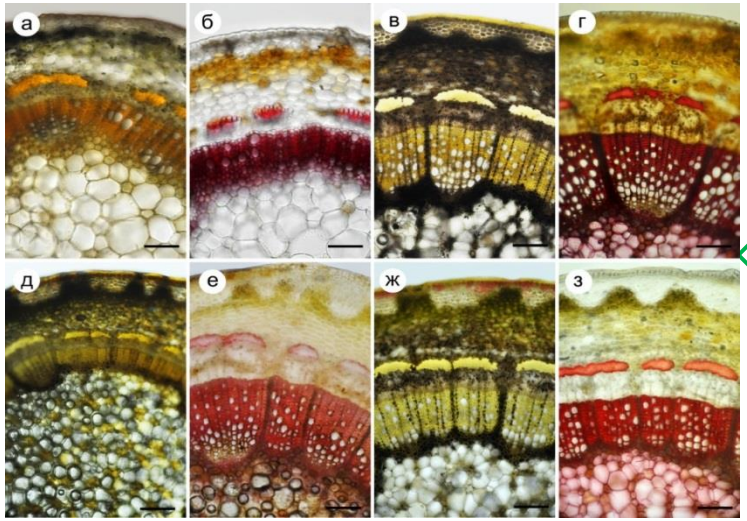



**ВЕРХ-профіль листків суниці садової до обробки хітозаном:** 1 – ГГДФ-глюкоза; 2 – Галоїлхінна кислота; 3 – Елаготанін; 4 – Елаготанін; 5, 6 – Пентозид елагової кислоти та глікозид кемпферола; 7 – Елаготанін; 8 – Елагова кислота; 9 – Глікозид кемпферола, 10 – Тілірозид.

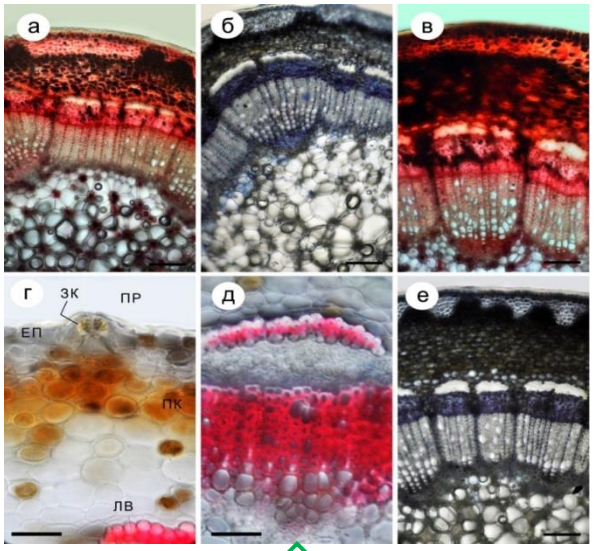
## PCA-аналіз для виявлених фенольних речовин у листках *Fragaria ananassa* Duch.

| № | Compound | Контроль | | НМХ | | ВМХ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Factor scores | | | | | |
| | | F1 | F2 | F1 | F2 | F1 | F2 |
| Пік 1 | ГГДФ-глюкоза | 0,426 | 0,334 | **-0,701** | 0,545 | **-0,888** | **1,017** |
| Пік 2 | Галоїлхінна кислота | **-1,443** | 0,037 | **-1,212** | -0,255 | **-0,983** | -0,182 |
| Пік 3 | Елаготанін | -0,056 | **-0,738** | -0,226 | **0,886** | **-1,439** | -0,056 |
| Пік 4 | Елаготанін | **-1,183** | -0,180 | **-1,351** | -0,213 | **-1,274** | -0,096 |
| Пік 5,6 | Пентозид елагової кислоти, глікозид кемпферола | **-0,811** | 0,131 | -0,519 | -0,547 | -0,270 | -0,238 |
| Пік 7 | Елаготанін | **-1,328** | -0,166 | **-0,866** | 0,584 | **-1,423** | 0,004 |
| Пік 8 | Елагова кислота | -0,669 | 0,313 | -0,696 | -0,242 | 0,065 | -0,145 |
| Пік 9 | Глікозид кемпферола | 0,104 | 0,106 | **0,814** | **-0,997** | **1,657** | -0,426 |
| Пік 10 | Тілірозид | **-1,355** | 0,167 | **-1,390** | 0,083 | **-1,455** | -0,060 |
| Заг. к-ть | | **6.315** | -0,005 | 6,145 | 0,157 | 6,010 | 0,182 |

# Анатомічна пластичність сортів як показник регенераційного потенціалу пагонів у культурі *in vitro*

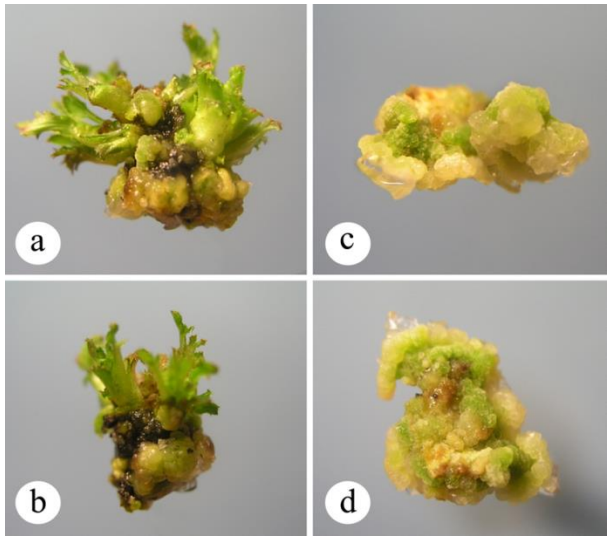



**Локалізація крохмалю (а, в, д, ж) і М-лігніну (б, г, е, з) в тканинах стебла сортів *Rosa damascena* Mill:** Лань (а–г), Лада (д–е); Радуга (ж – з): рослина-регенерант в умовах *in vitro* (а, б) (лінійка – 150 мкм).



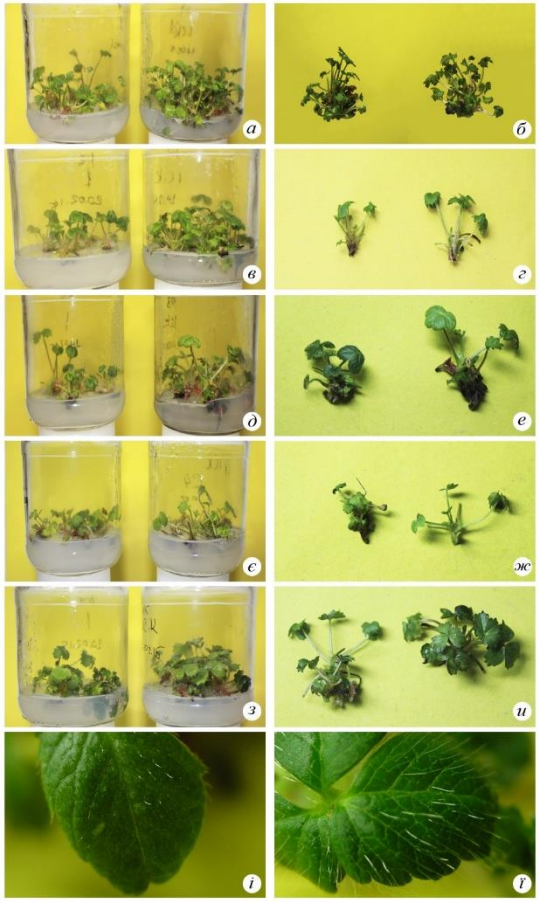

**Гістогенез і локалізація катехінів (а, в) і білку (б, е) у тканинах стебла *Rosa damascena* Mill:** а-б – сорт Лада, в-е – сорт Радуга; г – формування продиху на стеблі росини-регенеранту в умовах *in vitro*: (лінійка: а – в, е – 150 мкм; г, д – 50 мкм).

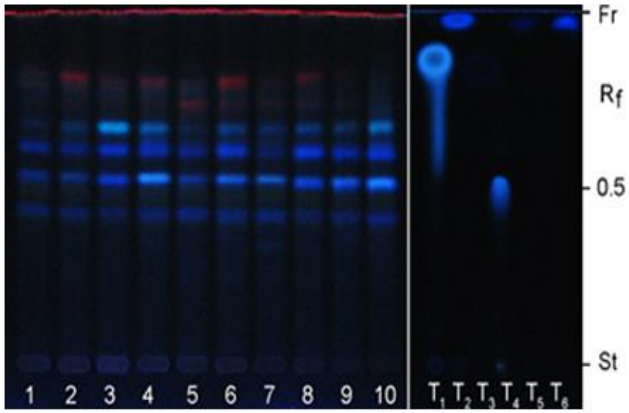
## Формування морфогенних структур у калюсній тканині



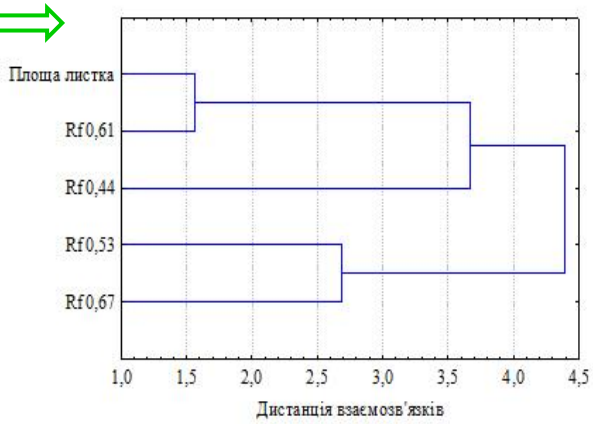

**Морфогенний калюс на середовищі ½ МС з додаванням 0,150 мг/л ТДЗ та 0,05 мг/л НОК на різних стадіях формування аксіальних структур**: a, b – первинні регенеранти на морфогенному калюсі; c, d – формування морфогенних структур у калюсній тканині.

# Вплив екзогенної саліцилової кислоти (СК) на активність морфо-фізіологічних процесів *Fragaria ananassa* в умовах *in vitro*

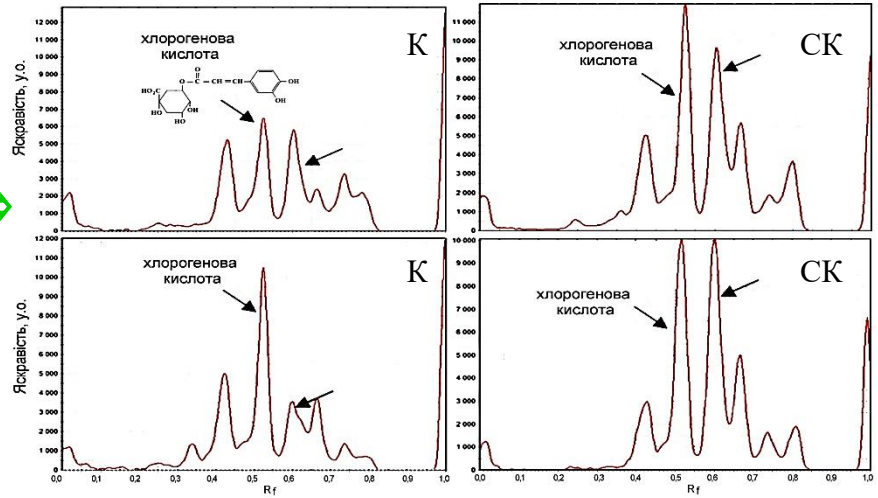



**Автофлуоресценція оксикоричних кислот рослин-регенерантів *Fragaria ananassa* на хроматограмі і результати кластерного аналізу можливих зв'язків між рівнем їх накопичення і площею листків:** 1, 2 – сорт Берегиня, 3, 4 – Факел, 5, 6 – Голосіївська рання, 7, 8 – Аліна, 9, 10 – Дашенька київська, які вирощені на живильному середовищі без і з СК відповідно; стандарти фенолкарбонових кислот: $T_1$ – кавова; $T_2$ – ферулова; $T_3$–$T_4$ – хлорогенова (5-QCA); $T_5$ – р-кумарова; $T_6$ – ванілінова

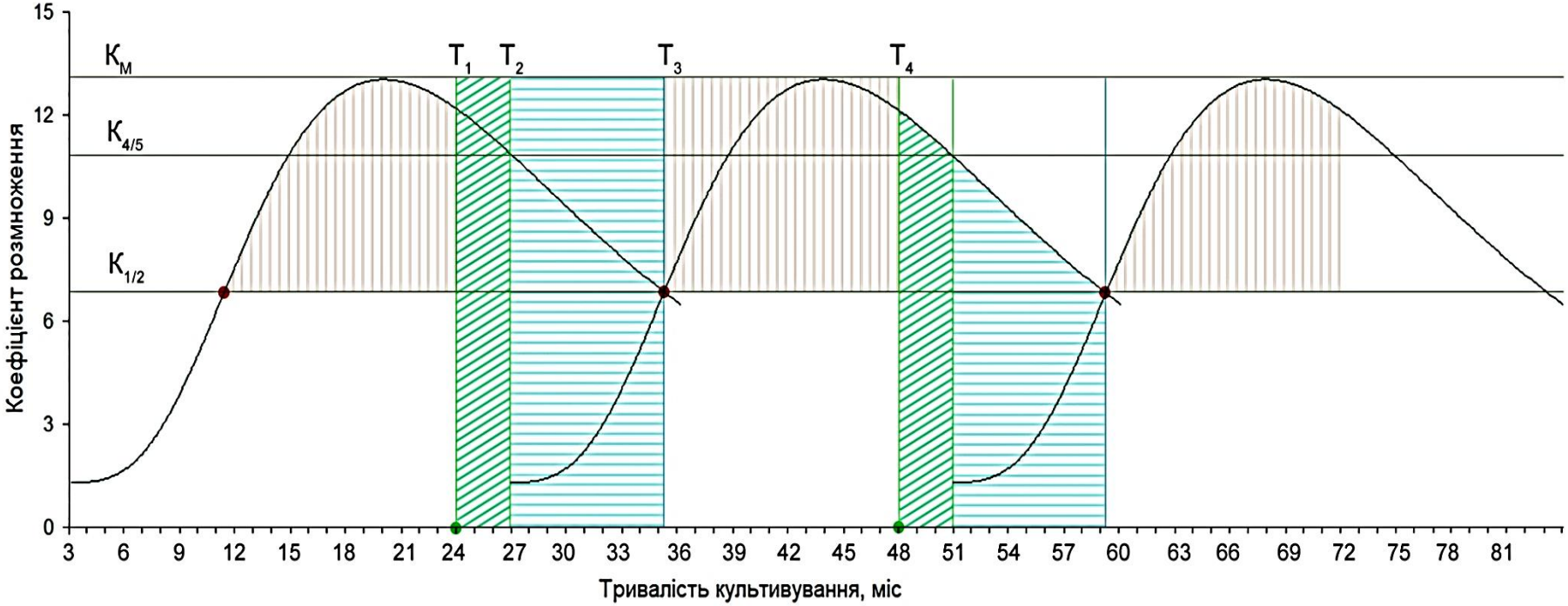



**Фотоденситограма хроматограми рослин-регенерантів суниці садової**: а, б – сорт Голосіївська рання, в, г – сорт Аліна (К – контроль; СК – саліцилова кислота)




**Сортоспецифічність впливу СК на органогенез *Fragaria ananassa* в культурі *in vitro*:** а, б – сорт Берегиня; в, г – Факел; д, е – Голосіївська рання; є, ж – Аліна; з, и – Дашенька київська; мало опушена (СК), (і) густо опушена, (ї) адаксиальна поверхня листка сорту Голосіївська рання. *Зліва – контроль; Справа – СК 25 мг/л*

## Модель циклічного введення у культуру *in vitro Rosa damascena* Mill




**Модель циклічного процесу мікроклонального розмноження рослин-регенерантів *Rosa damascena* Mill на прикладі сорту Лань**

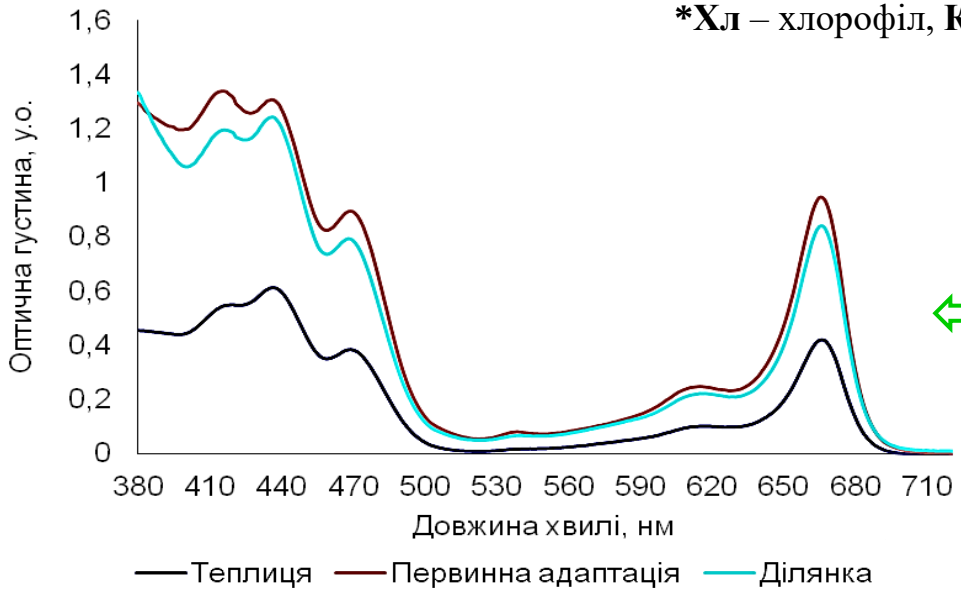
$T_1$ - введення первинних експлантатів з рослин-донорів у культуру *in vitro;*
$T_2$ – початок активізації регенераційного процесу пагонів з формуванням міжвузлів;
Інтервал часу між $T_2$ і $T_3$ - період сумісного росту попередньої і нової генерацій;
$T_3$ – $T_4$ максимальний ріст, сумарний коефіцієнт попередньої і нової генерації.

## Біохімічне профілювання вторинних метаболітів та пігментних комплексів адаптованих рослин *Rosa damascena* Mill

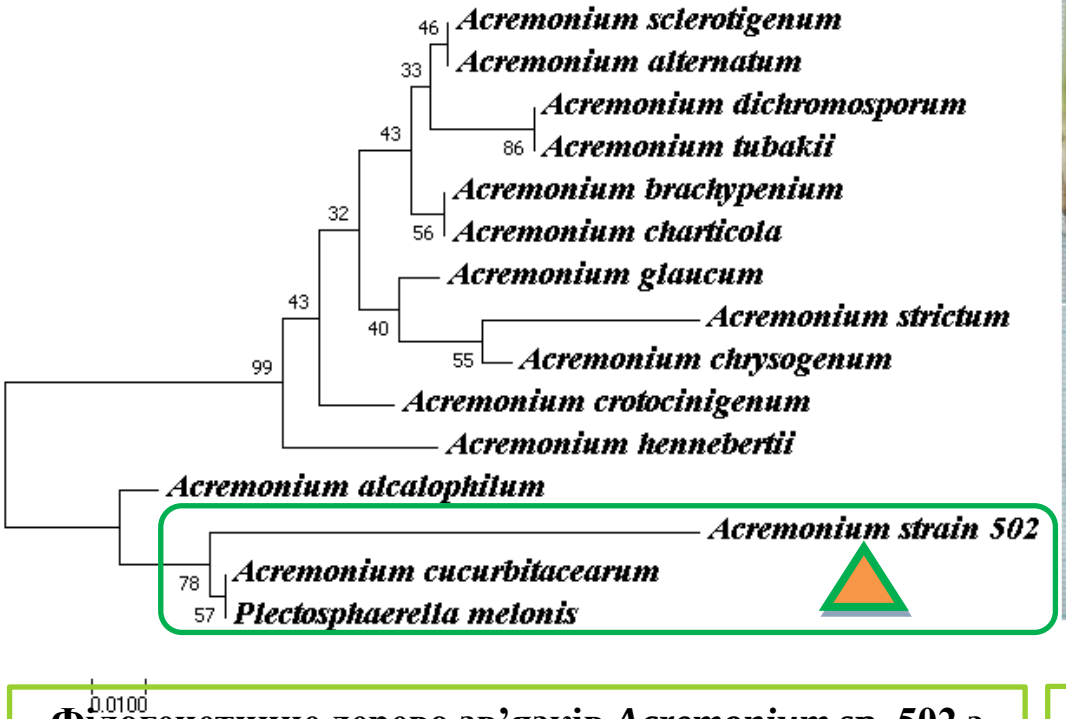
| Пігменти та їх співвідношення | Т | ПА | Д |
|---|---|---|---|
| Хл *a*, мг/г | 3,7±0,10 | 8,4±0,02 | 7,4±0,02 |
| Хл *b*, мг/г | 1,2±0,04 | 3,3±0,01 | 2,7±0,03 |
| Хл (*a* + *b*) | 4,9±0,3 | 11,7±0,05 | 10,1±0,06 |
| Хл*a* / *b* | 3,1 | 2,5 | 2,7 |
| Кр, мг/г | 1,5±0,02 | 2,8±0,02 | 3±0,02 |
| Хл (*a* + *b*) /Кр | 3,3 | 4,2 | 3,4 |

| Умови адаптації | Феноли, мг/г | Флавоноїди, мг/г | Катехіни, мг/г | АА |
|---|---|---|---|---|
| Т* | 5,3±0,15 | 1,1±0,05 | 3,1±0,07 | 40,5±2,2 |
| ПА | 18,0±0,90 | 3,4±0,14 | 9,1±0,04 | 160,4±2,5 |
| Д | 32,0±0,25 | 3,4±0,17 | 21,3±0,23 | 279,7±3,4 |

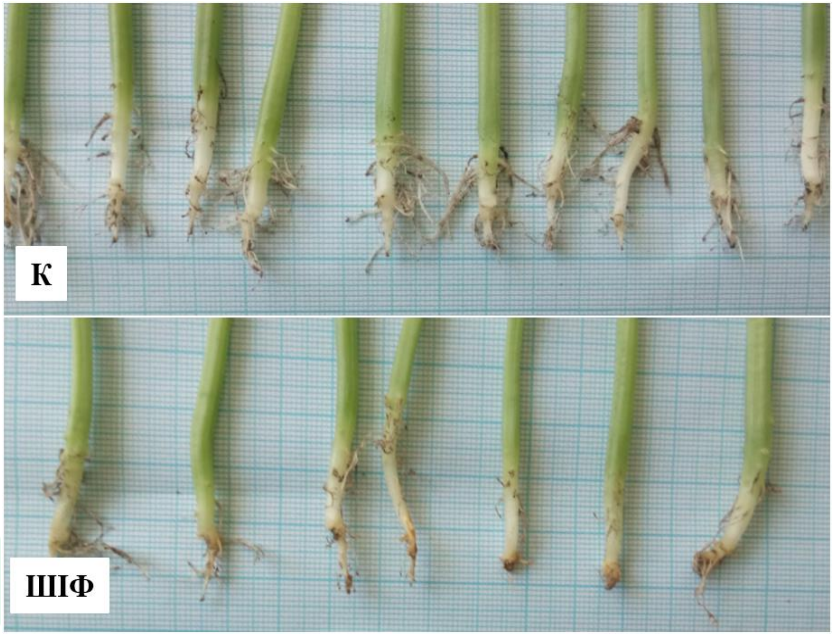
***Хл** – хлорофіл, **Кр** – каротиноїди; **АА** – антиоксидантна активність;
**Т** – тепличні умови, **ПА** – первинна адаптація,
**Д** – в умовах дрібної ділянки; $p \leq 0,05$



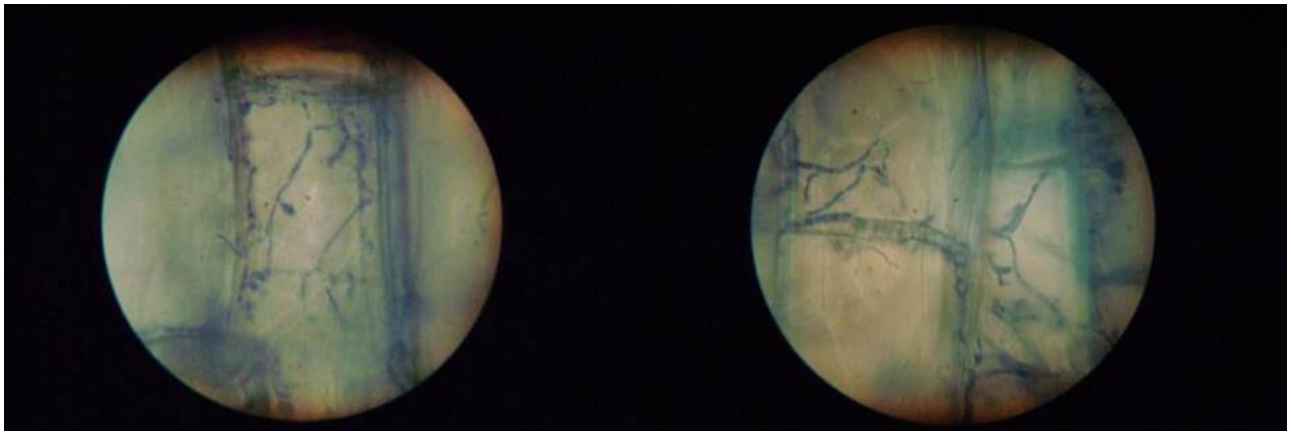

**Електронні спектри хлорофілів і каротиноїдів *Rosa damascena* Mill *in vitro* при адаптації в умовах закритого і відкритого ґрунту**



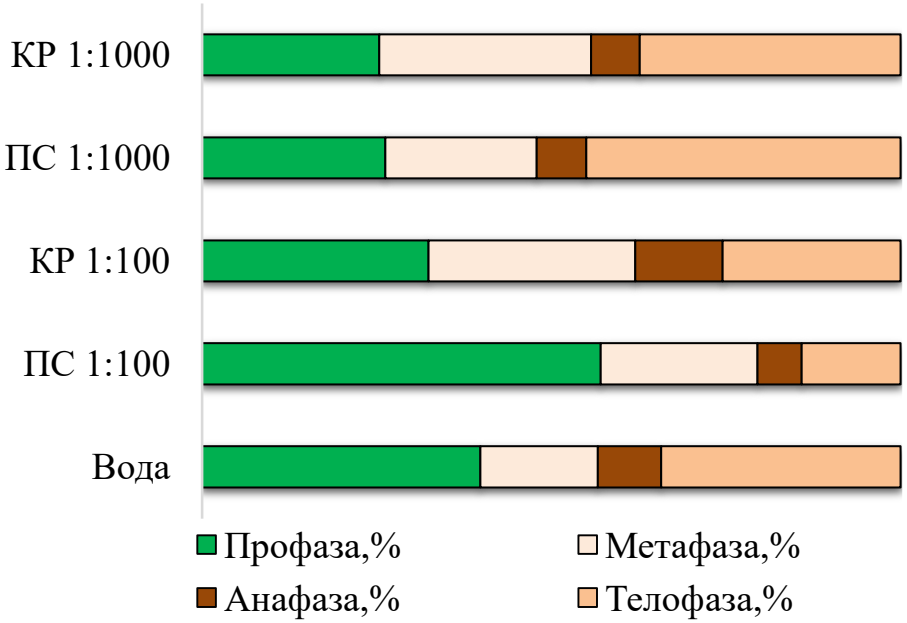

**Філогенетичне дерево зв'язків *Acremonium* sp. 502 з представниками роду *Acremonium*, побудоване на основі нуклеотидних послідовностей гена 5.8S рРНК**

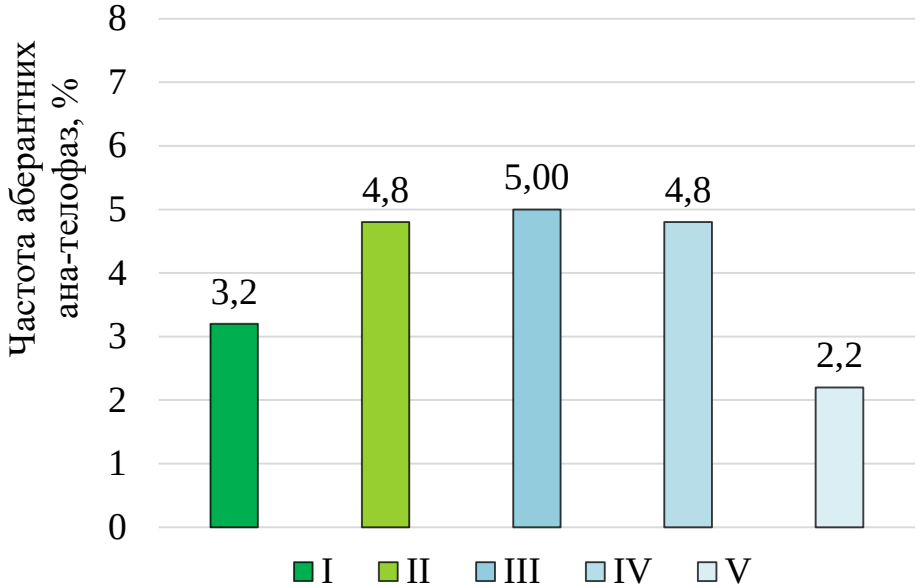



**Ураженість коренів рослин *Cucumis sativus* L. фітопатогеном *A. cucurbitacearum*:**
К – контрольні, ШІФ – уражені



**Структури *A. cucurbitacearum* 502 в епідермісі кореня рослин *Cucumis sativus* L.**



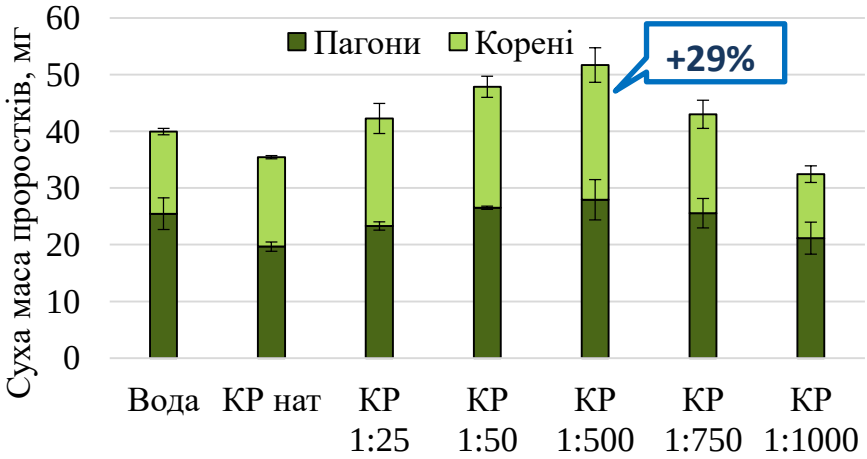




**Тривалість фаз мітозу та частота аберантих хромосом за впливу культуральної рідини *A. cucurbitacearum* 502**

| Варіант досліду | Мітоточний індекс, ‰ |
|---|---|
| I - Контроль ($H_2O$) | 56,5 ± 9,0 |
| II - Поживне середовище (ПС) Ролена – Тома 1:100 | 66,9 ± 5,0 |
| III - Поживне середовище Ролена – Тома 1:1000 | 84,1 ± 8,5 |
| IV - Культуральна рідина (КР) *A. cucurbitacearum* 502 (1:100) | 64,5 ± 4,0 |
| V - Культуральна рідина *A. cucurbitacearum* 502 (1:1000) | 56,8 ± 6,7 |

**Ефективність застосування передпосівної обробки насіння рослин *Cucumis sativus* L. сорту Ніжинський 12 грибом *T. viride* 017**

**Гіперпаразитизм *Trichoderma* на міцелії фітопатогена *A. cucurbitacearum***




**Вплив культуральної рідини *T. viride* на міцелії фітопатогена *A. cucurbitacearum***

Головні наукові результати роботи викладені у наступних **висновках**:

1. Протягом онтогенезу рослин, на прикладі *Beta Vulgaris*, за рахунок інтенсивності продукування рослинами кореневих ексудатів, підвищувалась трофічна активність мікробіоти, що супроводжувалось зростанням чисельності мікроорганізмів більшості фізіологічних та функціонально-значимих груп у 1,8-4,2 раза і свідчить про підтримання еколого-трофічних зв'язків у ризосфері.

2. Різноманіття бактерій у ризосфері було вищим у середньому на 31,7 % порівняно з мікроміцетами та характеризувалося більш рівномірним розподілом та невисоким ступенем домінування. Застосування методу піросеквенування дало змогу виявити високий рівень мікробного різноманіття ($I_{Ш}$ = 5,36) та більшою мірою його дослідити. Ідентифіковано 214 таксономічних одиниць, серед яких 10,1 % – форми, що не культивуються на поживних середовищах, 23,3 % - не відомі науці, і саме вони є функціонально значущими у ризосфері. Найбільш чисельними на рівні родин були *Alcaligenaceae, Pseudomonadaceae, Gaiellaceae, Nitrososphaeraceae*; на рівні роду - *Achromobacter* і *Pseudomonas*, що узгоджується із результатами методів класичної мікробіології.

3. Протягом онтогенезу *Beta Vulgaris* у результаті інтенсифікації кореневої ексудації, а також вуглеводного обміну між рослинами та мікроорганізмами відбувалося зростання вмісту активної мікробної біомаси (до 19,3 %), емісії $CO_2$ за рахунок мікробного дихання ґрунту (до 91,8 %), рівня мікробного продукування інвертази, пероксидази і поліфенолоксидази (на 8,0-20,4 %), що обумовлювало інтенсифікацію метаболічних процесів трансформації органічних сполук (у т.ч. рослинних решток) ґрунтовою мікробіотою.

4. Встановлено, що у ризосфері *Beta Vulgaris* процеси синтезу органічної речовини переважали над деструкцією ($К_{ГУМ.}$ = 1,33–1,48, $К_{М.-І.}$ = 0,93–0,95), що зумовлено накопиченням органічних сполук у ґрунті ($К_{О.}$ = 0,24–0,34), підвищенням забезпеченості рослин і мікроорганізмів легкозасвоюваними поживними речовинами ($К_{П.}$ = 0,77–0,83) та свідчить про екологічну збалансованість агроценозу. Інтенсивність мікробної трансформації органічної речовини, темпів синтезу та накопичення гумусових сполук у ґрунті підвищувалась протягом онтогенезу культури.

5. Мікобіота філоплани, ризоплани і ризосфери *Fragaria ananassa* по різному реагує на розчини хітозану, про що свідчить динаміка їхнього видового складу (8-13 видів), зміни рівня заселення (для низькомолекулярного хітозану (НМХ) - 11,1-50,0 %, для високомолекулярного (ВМХ) - 12,5-37,5 %) та частоти трапляння видів (7,7-92,3 % - у філоплані, 14,3-85,7 % - у ризоплані та ризосфері). Підтверджено, що міцелій переважної більшості грибів є малочутливим до розчинів хітозану та його похідних, тому застосування біополімеру для захисту рослин доцільно проводити у період інтенсивного спороношення фітопатогенів, які є значно чутливішими до його впливу.

6. У рослин *Fragaria ananassa* показані істотні відмінності дії хітозану грибного і тваринного походження на фенілпропаноїдний синтез. З'ясовано, що НМХ індукує збільшення вмісту фенолів і підвищення антиоксидантного потенціалу тканин листків у 1,9 і 3,2 рази відповідно, що свідчить про мобілізацію протекторних систем рослинного організму в умовах розвитку окиснювального стресу. На відміну від НМХ, розчин ВМХ викликав у листках зниження вмісту вільних і слабкозв'язаних з клітинними стінками фенольних сполук, зокрема катехінів та проантоціанідинів майже у 2 рази по відношенню до контролю, що дозволяє зробити припущення про зовсім іншу стратегію запуску власних захисних реакцій рослин проти фітопатогенів.

7. Виявлені добові коливання показників вмісту фенольних сполук, зокрема елаготанінів і флавоноїдів у листках *Fragaria ananassa*. Найбільш вираженим було збільшення вмісту в листках ГГДФ-глюкози (0,6-0,95 мг/мл), галоїлхінної кислоти (0,03-0,07 мг/мл), пентозиду елагової кислоти (0,23-0,37 мг/мл), глікозиду кемпферола (0,23-0,37 мг/мл) та елагової кислоти (0,25-0,57 мг/мл) у ранкові години з подальшим зниженням у вечірній і нічний час доби. Сполуки цього класу підвищують стійкість рослин проти фітопагенів. Виявлені результати збігаються з реакцією рослин на хітозан, що свідчить про універсальність захисних реакцій незалежно від природи їхньої індукції.

8. Регенераційну здатність інтактних рослин на прикладі *Rosa damascena* Mill. в умовах *in vitro* відзначено експлантатами на початку вегетації, коли загальний пул фенольних сполук у листках є найнижчим.

9. Для промислового мікроклонального розмноження і отримання рослин-регенерантів сорту Лань зі стійким адаптивним потенціалом застосовано поживне середовище МС + 0,5 мг/л бензиламінопурину + 0,01 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти, сорту Радуга – середовище Андерсона з подвійним вмістом $Fe^{2+}$ + 2,0 мг/л бензиламінопурину і сорту Лада – QL + 2,0 мг/л бензиламінопурину. Ризогенез мікропагонів проявлявся на середовищі ½ МС без додавання регуляторів росту. Додавання саліцилової кислоти (СК) в живильне середовище у концентрації 25 мг/мл значно прискорює процеси пагоноутворення. За умови використання екзогенної СК визначено обернену залежність (r = - 0,90) між площею листків і вмістом флавоноїдів. Під впливом СК відбувається перебудова вторинного метаболізму, яка супроводжується синтезом біологічно активних сполук, зокрема терпеноїдів та кон'югатів оксикоричних кислот з властивостями регуляторів росту.

10. Сортоспецифічні цикли культивування рослин-регенерантів залежать від генотипів *Rosa damascena* Mill. і складу живильних середовищ. Найкоротший цикл (50 діб) характерний для сорту Лань, а найтриваліший (90 діб) – для сорту Лада.

11. Розроблено математичну модель циклічного біотехнологічного процесу мікроклонального розмноження рослин на прикладі сортів *Rosa damascena* Mill., яка ґрунтується на інтегральних фізіологічних ознаках і дозволяє оптимізувати технологію безперервного отримання якісного садивного матеріалу.

12. Підібрано оптимальну композицію субстратної суміші для адаптації рослин-регенерантів сортів *Rosa damascena* Mill. до умов закритого ґрунту. Оптимізовано технологічні заходи ступінчатої адаптації сортів рослин на твердих субстратах (2 : 1 торф-перліт) в умовах *ex situ*, що дозволяє отримувати контейнерні культури з ефективністю адаптації 92 %. У процесі адаптації у листках і стеблах рослин-регенерантів поступово накопичувались фенольні сполуки, зокрема катехіни, просторовий розподіл яких в тканинах однорічних пагонів супроводжувався утворенням захисних гістохімічних бар′єрів.

13. Показано здатність фітопатогенного гриба *A. cucurbitacearum* 502 проникати у тканини кореня рослин (на прикладі *Cucumis sativus* L.), утворюючи внутрішньоклітинний міцелій. Уражуються, в основному, тканини кортекса (епідермальна і паренхіматозна). Провідні тканини (ксилема і флоема) не колонізуються. Рослини сортів Ніжинський 12, Льоша, Журавльонок, Конкурент і Роднічок різняться по чутливості щодо гриба *A. cucurbitacearum* 502, зокрема найбільш уражалися сорти Ніжинський 12 і Льоша.

14. Культуральна рідина *A. cucurbitacearum* 502 у розведенні 1:10, 1:100 та 1:1000 не проявляє фітотоксичної активності щодо *Cucumis sativus* L., *Triticum aestivum* L. і *Lepidium sativum* L. та не змінює проліферативну активність клітин апікальної меристеми первинних корінців *Triticum aestivum* L., але порушує динаміку клітинного циклу, стимулюючи метафазу, анафазу (культуральна рідина в розведенні 1:100) та телофазу.

15. Для захисту рослин від акремоніозу, спричиненого *A. cucurbitacearum*, пропонується штам *T. viride* 017, який характеризується найшвидшим ростом і активним гіперпаразитизмом. Культуральна рідина *T. viride* 017, розбавлена у співвідношенні 1:50 та 1:500, стимулювала суху масу проростків на 20 і 29 % відповідно. Найбільш ефективним навантаженням на 1 насінину є 70 тис. КУО, біологічна ефективність 68 %.

Вцілому, завдяки унікальному комплексному поєднанні різносторонніх сучасних світових напрямів та методів досліджень, робота колективу авторів дозволила розкрити механізми ефективних адаптивних взаємодій рослин з мікроорганізмами у ризосфері, що дозволить оптимізувати нові екологічно обґрунтовані агрозаходи на фоні збереження гомеостазу екосистем.

**Кількість публікацій за роботою –** 60, у тому числі 32 статті (5 – Scopus, 2 - Web of Science, з них – 4 у зарубіжних виданнях), 1 монографія, 2 методичні рекомендації, 1 патент на корисну модель та 24 тези доповідей.

**Загальна кількість посилань на публікації та h-індекс за темою роботи:** 54/3 (Google Scholar), 5/1 (Scopus).