

erence and clinical strains of target microorganisms, which are leading pathogens of wounds and burns. Reference and clinical strains of *A.baumannii* show the greatest susceptibility to samples with decamethoxin (№ 1-3 DCM), as well as to biomaterials Suprasorb® and Guanpolisept® based on polyhexanide. Biomaterials with decamethoxin №1, №2 and №3, Suprasorb®, Guanpolisept® and Bétadine® were determined to be the most effective against reference and clinical strains of *K.pneumoniae*. Reference and clinical strains of *P.aeruginosa* are most susceptible to biomaterials with decamethoxin №1, №2 and №3 and Bétadine®.

Conclusions. The developed biomaterials were not inferior to modern effective wound dressings based on cationic detergents and silver-containing wound dressings, they actively inhibited the growth of reference and clinical strains of *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, and were often the most active. The effectiveness of silver-containing wound dressings in vitro was inferior to the effectiveness of dressings with cationic detergents and iodophors.

Key words: antimicrobial biomaterials, *K.pneumoniae*, *A .baumannii*, *P.aeruginosa*, antiseptics.

ORCID and contributionship:

Denysko T. V.: <https://orcid.org/0000-0002-2188-2001> ^{ABCDEF}

Corresponding author

Denysko Tetyana Valeriyivna
National Pirogov Memorial Medical University
Ukraine, 21018, Vinnytsia, 56 Pyrohova str.
Tel.: +380969358394
E-mail: tanya.denisko@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 27.09.2023

Accepted 01.03.2024

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-363-371

UDC 579.264 +579.64

Drehval O. A., Lesychna A. V., Drehval I. V., Sklyar T. V.

INFLUENCE OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON BIOMASS YIELD AND FUNGISTATIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA VIRIDE* KMB-F-15

Oles Honchar Dnipro National University (Dnipro, Ukraine)

dregigor24@gmail.com

Micromycetes of the Trichoderma genus are the most common biological agents used in agriculture today to control plant mycoses. Using biological products allows us to produce environmentally friendly agricultural products and reduce the chemical burden on the environment. When choosing carbon and nitrogen sources as a basic base for developing the optimal composition of the nutrient medium for deep cultivation of microorganisms, it is necessary to consider their genus and strain characteristics.

In this study, we investigated the effect of carbon and nitrogen sources on the biomass accumulation and fungistatic activity of Trichoderma viride strain KMB-F-15, an antagonist of a wide range of phytopathogenic fungi. The fungistatic activity was determined by inhibition of growth of the phytopathogenic fungus Fusarium culmorum IMB-F-50716 when the filtrate of T. viride KMB-F-1 culture fluid was added to the dense medium. It was found that glycerol and green molasses at a concentration of 20 g/l resulted in the highest yield of dry biomass of T. viride KMB-F-15 (5.0 g/l and 4.9 g/l, respectively). The most favourable nitrogen sources for the fungus growth at a concentration of 5 g/l were yeast autolysate (dry biomass yield – 4.4 g/l) and ammonium chloride (3.3 g/l). The fungistatic activity of T. viride KMB-F-15, regardless of the carbon source, was high (94.7-100%). The manifestation of fungistatic activity was influenced by the source of nitrogen nutrition. The highest percentage of growth inhibition of the phytopathogen was observed when corn extract, yeast autolysate, L-glutamic acid, ammonium chloride or ammonium sulfate were used (88.5-100%).

Key words: Trichoderma, submerged cultivation, accumulation of biomass, antagonistic properties, phytopathogenic fungi.

Connection of publication with planned research works.

The article is a fragment of the research work of the Department of Microbiology, Virology and Biotechnology of Oles Honchar Dnipro National University: "Antagonistic and synergistic relationships in microbial associations" (state registration number 0122U001456).

Introduction.

Today, the chemical method prevails in protecting agricultural plants from pests. Compared to other pesticides, fungicides are considered less threatening to non-target organisms, but some are also banned as evidence of their negative impact on biota is accumulated [1]. In addition, the widespread use of fungicides creates se-

lective pressure on pathogens and leads to the emergence of resistant populations. For example, resistance of the phytopathogenic fungi *Phytophthora infestans* to metalaxyl and *Venturia inaequalis* to dodine has been reported [2].

An alternative to the chemical method of plant protection is biofungicides, among which biological products based on micromycetes of the genus *Trichoderma* are particularly promising. Due to the high growth rate and synthesis of chitinolytic enzymes and metabolites with antifungal activity, this genus's representatives can effectively show antagonistic properties against phytopathogenic fungi. According to Savchuk Y.I. and co-authors, out of 100 studied strains of the genus *Trichoderma*, almost three-quarters (71%) showed a high level of antifungal activity, and 35% showed activity against a wide range of plant mycoses [3]. The high efficacy of various *Trichoderma* isolates against *Rhizoctonia solani* on legumes in greenhouse conditions has been reported [4]. Introducing a consortium of 4 different *Trichoderma* strains into the soil effectively suppressed the causative agent of fusarium wilt of cucumbers, *Fusarium oxysporum*, in the field [5]. Based on the consortium of *Trichoderma* strains, a biological product was developed that showed inhibition of the complex of phytopathogens *Botrytis* sp., *Verticillium* sp., *Colletotrichum* sp. and *Phytophthora* sp. in experiments of artificial infection of raspberry plants under controlled conditions of the phytotron [6].

In addition to the antagonistic effect on phytopathogens, fungi of the genus *Trichoderma* effectively colonise plant roots, accelerate their development, increase the absorption of minerals, as well as plant resistance through the activation of defence mechanisms (formation of reactive oxygen species, superoxide dismutase, oxylipin, phytoalexin) [7, 8]. For example, treatment of potato tubers with a suspension of *T. harzianum* spores with simultaneous application of peat to the soil significantly increased leaf area, plant biomass (above-ground and underground) and root length compared to control plants [8]. The antagonist strain of *T. viride* IMB F-100076, which has a high activity of the cellulolytic enzyme complex, increased maize yield when applied to the soil together with wheat straw [9].

There are two main methods of industrial cultivation of *Trichoderma* fungi: surface and submerged. Surface solid-phase cultivation allows the use of various agro-industrial wastes and requires less investment, but this process is difficult to scale [10]. Whereas the advantages of submerged cultivation include short cultivation time, less labour intensity, ease of management and the possibility of automation [11, 12].

When developing the technology for producing biofungicides based on *Trichoderma* strains by the submerged method, selecting the composition of the culture medium is important. Modified Chapek's Dox medium, malt extract-based medium, molasses as a carbon source, and yeast extract or peptone as nitrogen sources were evaluated for the production of *T. asperellum* biomass and preservation of its viability in the peat formulation [13]. The selection and optimisation of the medium composition, initial pH and cultivation time have been reported to increase the yield of chlamydospores [14]. However, there is a lack of literature data on the effect of the composition of the culture medium

for submerged cultivation on the manifestation of fungistatic activity of *Trichoderma* strains. In addition, when choosing carbon and nitrogen sources as a basic base for developing the optimal composition of the culture medium, it is necessary to consider the genus and strain characteristics of microorganisms.

The aim of the study.

To determine the effect of different carbon and nitrogen nutrition sources on the accumulation of biomass and fungistatic activity of *T. viride* KMB-F-15 when grown in submerged conditions.

Object and research methods.

The object of the study was the biomass yield of *Trichoderma viride* KMB-F-15, depending on the composition of the nutrient medium and the fungistatic activity of the filtrate of the fungal culture fluid against the phytopathogen *Fusarium culmorum* IMB-F-50716. The strain *Trichoderma viride* KMB-F-15, isolated from common chernozem, exhibits high fungistatic activity against a wide range of phytopathogenic fungi and is stored in the collection of microorganism cultures of the Department of Microbiology, Virology and Biotechnology of Oles Honchar Dnipro National University.

Sucrose, glucose, fructose, maltose, glycerol, green flow and corn extract at a concentration of 20 g/l were used to determine the effect of different carbon sources on the biomass accumulation and fungistatic activity of *T. viride* KMB-F-15. To determine the effect of different nitrogen sources on the biomass accumulation and fungistatic activity of the studied strain, we used rhizobial autolysate and corn extract, sodium nitrate, potassium nitrate, ammonium sulfate, ammonium chloride, ammonium nitrate, L-glutamic acid and arginine hydrochloride at a concentration of 5 g/l. The medium used was (g/l): sucrose – 20; NH_4NO_3 – 5; K_2HPO_4 – 5; KCl – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 2; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; pH 6,0–6,5. Nitrogen- and carbon-containing compounds were introduced instead of sucrose and ammonium nitrate, respectively.

Inoculation in an amount of 1% by volume was carried out with a suspension of conidia of the fungus grown on agarified Chapek-Dox medium for seven days. The concentration of conidia in the inoculum was 2.5×10^7 per 1 ml, which was determined by counting in a Goryaev shaker (200 rpm) at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ for 72 hours.

The effect of the nutrient medium's composition on the growth of the trichoderma was assessed by the yield of the total biomass by the weight method. For filtration, ash-free filters (blue tape) were used, previously dried to a constant weight. After filtration, the fungal biomass was dried at 85°C to a constant weight. The dry biomass was weighed on an analytical scale.

To determine the fungistatic activity of the fungus, 5% of the filtrate of the trichoderma culture fluid was added to the molten nutrient agar medium of Chapek-Dox and poured into 20 ml Petri dishes. After solidification of the medium, a block of the seven-day culture of *Fusarium culmorum* IMB-F-50716 was placed in the centre of the dish. The medium without filtrate served as a control. The diameter of the colony of the phytopathogenic fungus was determined on the 3rd and 6th day of incubation at 26°C in experimental and control samples. The percentage of inhibition of fungal growth was calculated by the formula:

$$\frac{(D_c - D_e)}{D_c} \times 100$$

where De is the diameter of the fungal colony in the experimental samples, mm; Dc is the diameter of the fungal colony in the control sample, mm [15].

All experiments were performed in triplicate. Statistical data processing was performed using Statgraphics Centurion XV version 15.01.02. The arithmetic mean and the error of the arithmetic mean were determined, and differences between the means were tested using the multiple Tukey test. All differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

Research results and their discussion.

During the experiments, it was found that *T. viride* KMB-F-15 can assimilate various carbon compounds (table 1).

Using glycerol resulted in the highest biomass yield of 5 g/l, which is more than twice the biomass content in the initial medium with sucrose. Using green molasses and corn extract as the only carbon source showed slightly lower results.

The test of fungistatic activity of filtrates of culture fluids obtained from media with different carbon sources showed that the inhibition of *F. culmorum* IMB-F-50716 growth against the control on day 3 was in the range of 55.9-70%, but no significant difference was found between the mean values of experiments in which different carbon sources were used (table 2).

As for the fungistatic activity on day 6, the inhibition of phytopathogen growth was in the range of 94.7-100%, which is associated not only with the presence of metabolites with antagonistic activity, but also with the germination of chlamydospores contained in the filtrate, mycelial growth and the formation of surface conidia. In most experiment variants, *T. viride* KMB-F-15 completely colonised the surface of the medium and grew on the phytopathogen colony (figure).

As a result of the studies, it was found that the fungus *T. viride* KMB-F-15 can assimilate various sources of nitrogen (table 3), but the highest biomass yield was observed when using yeast autolysate (4.4 g/l). Other tested sources of organic nitrogen – L-glutamic acid and corn extract – gave lower biomass yields (1.9 g/l and 2.7 g/l, respectively), and L-arginine hydrochloride gave the lowest result (1 g/l). Among the inorganic nitrogen compounds, ammonium chloride resulted in the highest fungal biomass yield (3.3 g/l).

Testing of fungicidal activity of filters of *T. viride* KMB-F-15 culture liquid against phytopathogen *F. culmorum* IMB-F-50716 showed that the greatest inhibition of growth was observed when using a medium with autolysate of yeast, corn extract or L-glutamic acid as the only sources of nitrogen nutrition – 100%, 100% and 97.8% of growth inhibition, respectively (table 4). When using inorganic sources of nitrogen nutrition, a high percentage of growth inhibition of the phytopathogen was noted when growing the strain of *Trichoderma* on media containing ammonium salts, namely ammonium chloride and ammonium sulfate (94% and 88.5%, respectively).

Table 1 – Impact of carbon compounds on the yield of *T. viride* KMB-F-15 biomass

Carbon source	Dry biomass, g/l
Sucrose	2,1±0,1 ^a
Glucose	2,7±0,1 ^{ab}
Fructose	3,1±0,3 ^{ab}
Maltose	1,9±0,3 ^a
Glycerin	5,0±0,5 ^d
Green molasses	4,9±0,3 ^{cd}
Corn extract	3,60±0,1 ^{bc}

Notes: different letters in the row indicate a significant difference in the means (Tukey's test, $P < 0.05$).

Table 2 – Impact of carbon sources on the fungicidal activity of *T. viride* KMB-F-15 against *F. culmorum* IMB-F-50716

Carbon source	3 day		6 day	
	Diameter of column, mm	Growth inhibition, %	Diameter of column, mm	Growth inhibition, %
Control	48,3±6,0 ^a		89,0±0 ^a	
Sucrose	14,5±2,1 ^b	70	0±0 ^b	100
Maltose	19,2 ± 2,2 ^b	60,2	0±0 ^b	100
Fructose	20,5 ± 2,3 ^b	57,6	0±0 ^b	100
Green molasses	16,5±1,8 ^b	65,8	0±0 ^b	100
Glucose	20,2±3,1 ^b	58,2	0±0 ^b	100
Glycerin	21,3±2,7 ^b	55,9	4,7±4,7 ^b	94,7
Corn extract	18,3±3,6 ^b	62,1	0±0 ^b	100

Notes: different letters in the row indicate a significant difference in the means (Tukey's test, $P < 0.05$).

Table 3 – Impact of nitrogen sources on biomass yield of *T. viride* KMB-F-15

Nitrogen sources	Dry biomass, g/l
Sodium nitrate	1,8±0,1 ^{abc}
Potassium nitrate	1,3±0,1 ^{ab}
Ammonium nitrate	2,4±0,5 ^c
Ammonium chloride	3,3±0,3 ^d
Ammonium sulphate	1,9±0,1 ^{abc}
Autolysate of rhizomes	4,4±0,3 ^e
Corn extract	2,7±0,2 ^{cd}
L-glutamic acid	1,9±0,5 ^{bc}
L-arginine hydrochloride	1,0±0,1 ^a

Notes: different letters in the row indicate a significant difference in the means (Tukey's test, $P < 0.05$).

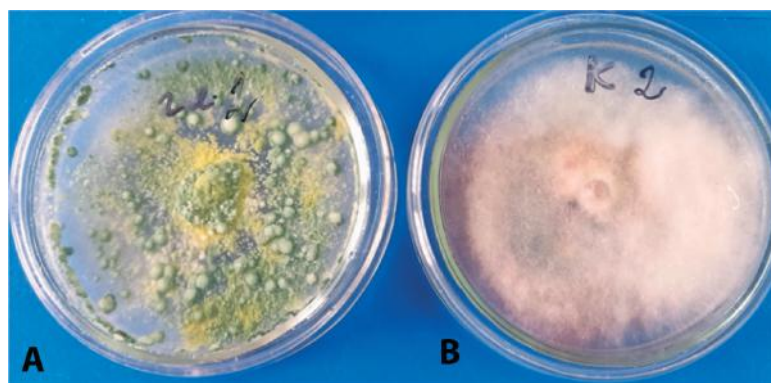


Figure – Inhibition of *F. culmorum* IMB-F-50716 growth by filtrate of *T. viride* KMB-F-15 culture fluid obtained in glucose medium: A – experiment, B – control (without filtrate).

Table 4 – Impact of nitrogen sources on the fungicidal activity of *T. viride* KMB-F-15 against *F. culmorum* IMB-F-50716

Nitrogen source	3 day		6 day	
	Diameter of column, mm	Growth inhibition, %	Diameter of column, mm	Growth inhibition, %
Control	45,5±1,5 ^e		89,0±0 ^d	
NaNO ₃	24,0±1,0 ^{cd}	47,5	14,2±3,0 ^c	84,0
KNO ₃	30,0±5,9 ^d	34,1	11,3±6,6 ^{bc}	87,3
NH ₄ NO ₃	16,0±1,5 ^{ab}	64,8	14,3±0,3 ^c	83,9
NH ₄ Cl	15,5±1,0 ^a	65,9	5,3±5,3 ^{abc}	94,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	14,2±2,2 ^a	68,8	10,2±5,1 ^{bc}	88,5
Autolysate of yeast	23,5±5,0 ^{bcd}	48,4	0±0 ^a	100
Corn extract	21,0±0,5 ^{abc}	53,8	0±0 ^a	100
L-glutamic acid	18,8±0,2 ^{abc}	58,7	2,0±2,0 ^{ab}	97,8
L-arginine hydrochloride	18±0 ^{abc}	60,4	15,9±4,7 ^c	85,6

Notes: different letters in the row indicate a significant difference in the means (Tukey's test, P<0.05).

Thus, the manifestation of fungistatic activity of *T. viride* KMB-F-15 depends on the source of nitrogen nutrition. For submerged cultivation of the test strain to obtain a biological product against phytopathogenic fungi, it is advisable to use glycerol as a carbon source and yeast autolysate or ammonium chloride as a nitrogen source, which provides a high yield of biomass and a high level of fungicidal activity.

When comparing various inorganic nitrogen sources, researchers noted that ammonium nitrogen salts provided a higher biomass yield than nitrate salts [16], which is consistent with our data. It has also been shown that significant growth of mycelium of various *Trichoderma* strains occurred when cultivated in media

containing organic nitrogen sources, such as yeast extract [17] or peptone [16]. Yeast autolysate was considered an inexpensive and accessible source of nitrogen nutrition for obtaining a high yield of *Trichoderma asperellum* microsclerotia in submerged cultivation [11]. There is evidence that the nitrogen source affects the assimilation of crude glycerol: *Trichoderma reesei* QM9414 absorbed it better in the presence of yeast extract than ammonium sulfate. The use of glycerol as a carbon source can also have an additional advantage in the storage of drugs. For example, the addition of glycerol at a concentration of 3% and 6% to the production medium of *Trichoderma harzianum* increased the shelf life of the preparation, where talc was the filler, to 7 and 12 months, respectively, compared to 4-5 months in compositions without glycerol [18].

Conclusions.

Based on the results of the experiments on the selection of the composition of the medium, it can be concluded that for the submerged cultivation of *T. viride* KMB-F-15 to obtain a biological product against phytopathogenic fungi, it is advisable to use glycerol or green molasses as a carbon source, and yeast autolysate or ammonium chloride as a nitrogen source, which provide a high yield of biomass and a high level of fungicidal activity.

Prospects for further research.

The obtained data can serve as a basis for optimisation of the quantitative composition of the nutrient medium for submerged cultivation of *T. viride* KMB-F-15 by mathematical methods of experiment planning.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-363-371

УДК 579.264 +579.64

Дрегваль О. А., Лесична А. В., Дрегваль І. В., Скляр Т. В.

ВПЛИВ ДЖЕРЕЛ ВУГЛЕЦЕВОГО ТА АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ НА ВИХІД БІОМАСИ ТА ФУНГІСТАТИЧНУ АКТИВНІСТЬ *TRICHODERMA VIRIDE* KMB-F-15

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро, Україна)

dregigor24@gmail.com

Мікроміцети роду *Trichoderma* – найпоширеніші біологічні агенти, які на сьогоднішній день використовуються в сільському господарстві для контролю за збудниками мікозів рослин. Використання біопрепаратів дозволяє отримувати екологічно чисту сільськогосподарську продукцію, а також знижувати хімічне навантаження на навколишнє середовище. При виборі джерел вуглецю та азоту, як базової основи для розробки оптимального складу поживного середовища для глибинного культивування мікроорганізмів, необхідно враховувати їх видові та штамові особливості.

В даній роботі досліджували вплив джерел вуглецевого та азотного живлення на накопичення біомаси та фунгістатичну активність штаму *Trichoderma viride* KMB-F-15, антагоніста широкого кола фітопатогенних грибів. Фунгістатичну активність визначали за інгібуванням росту фітопатогенного гриба *Fusarium culmorum* IMB-F-50716 при додаванні до щільного середовища фільтрату культуральної рідини *T. viride* KMB-F-1. Встановлено, що гліцерин та зелена патока в концентрації 20 г/л призводили до найбільшого виходу сухої біомаси *T. viride* KMB-F-15 (5,0 г/л та 4,9 г/л, відповідно). Найбільш сприятливими для росту гриба джерелами азоту в концентрації 5 г/л виявилися автолізат дріжджів (вихід сухої біомаси – 4,4 г/л) та амоній хлористий (3,3 г/л). Фунгістатична активність *T. viride* KMB-F-15 не залежно від джерела вуглецю була високою (94,7-100%). На прояв фунгістатичної активності впливало джерело азотного живлення. Найбільший відсоток інгібування росту фітопатогена спостерігався при застосуванні кукурудзяного екстракту, автолізату дріжджів, L-глутамінової кислоти, амонію хлористого або амонію сірчанокислого (88,5-100%).

Ключові слова: *Trichoderma*, глибинне культивування, накопичення біомаси, антагоністичні властивості, фітопатогенні гриби.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Стаття є фрагментом НДР кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара: «Антагоністичні та синергетичні взаємовідносини в мікробних асоціаціях» (державний реєстраційний номер – 0122U001456).

Вступ.

На сьогодні у захисті сільськогосподарських рослин від шкідливих організмів переважає хімічний метод. Фунгіциди, порівняно з іншими пестицидами, вважаються менш загрозливими для нецільових організмів, але на деякі з них також вводиться заборона на використання в міру накопичення даних їх негативного впливу на біоту [1]. Крім того, широке застосування фунгіцидів створює селективний прес на патогени і призводить до появи стійких до них популяцій. Так, повідомлялося про резистентність фітопатогенних грибів *Phytophthora infestans* до металаксу та *Venturia inaequalis* до додину [2].

Альтернативою хімічному методу захисту рослин є використання біофунгіцидів, серед яких особливо перспективними є біопрепарати на основі мікроміцетів роду *Trichoderma*. Завдяки високій швидкості росту, синтезу хітинолітичних ферментів, метаболітів з антифунгальною активністю представники цього роду здатні дуже ефективно проявляти антагоністичні властивості відносно фітопатогенних грибів. За даними Савчук Я.І. та співавт. із 100 досліджуваних штамів роду *Trichoderma* майже три чверті (71%) проявили високий рівень антифунгальної активності, 35% – показали активність до широкого кола збудників мікозів рослин [3]. Повідомлялося про високу ефективність застосування в умовах теплиці різних ізолятів *Trichoderma* по відношенню до *Rhizoctonia solani* на бобових рослинах [4]. Внесення в ґрунт консорціуму з 4 різних штамів *Trichoderma* ефективно пригнічувало збудника фузаріозного в'янення огірків *Fusarium oxysporum* у польових умовах [5]. На основі консорціуму штамів *Trichoderma* розроблено біопрепарат, який показав пригнічення комплексу фітопатогенів *Botrytis sp.*, *Verticillium sp.*, *Colletotrichum sp.* та *Phytophthora sp.* в експериментах штучного зараження рослин малини в контрольованих умовах фітотрона [6].

Крім антагоністичного ефекту на фітопатогени, гриби роду *Trichoderma* ефективно колонізують корені рослин, прискорюють їх розвиток, підвищують засвоєння мінеральних речовин, а також резистентність рослин через активацію захисних механізмів (утворення реактивних видів кисню, супероксиддисмутази, оксиліпіну, фітоалексину) [7, 8]. Так, обробка бульб картоплі суспензією спор *T. harzianum* з одночасним внесенням торфу в ґрунт значно підвищило площу листя, біомасу рослин (надземної та підземної) та довжину кореня, порівняно з контрольними рослинами [8]. Штам-антагоніст *T. viride* IMB F-100076 з високою активністю комплексу целюлозолітичних ферментів підвищував врожайність кукурудзи за внесення в ґрунт разом із пшеничною соломою [9].

Існує два основні способи промислового культивування грибів роду *Trichoderma*: поверхневий та глибинний. Поверхнєве твердофазне культивування дозволяє використовувати різні агропромислові

відходи і потребує менших капіталовкладень, проте такий процес складно масштабувати [10]. Тоді як до переваг глибинного культивування відносяться короткий час культивування, менша трудомісткість, простота управління та можливість автоматизації [11, 12].

Під час розробки технології отримання біофунгіцидів на основі штамів *Trichoderma* глибинним способом важливими є підбір складу поживного середовища. Модифіковане середовище Чапека-Докса, середовища на основі солодового екстракту, меляси як джерела вуглецю та дріжджового екстракту або пептону як джерел азоту оцінювалися відносно отримання біомаси грибу *T. asperellum* та зберігання його життєздатності в торф'яній формі препарату [13]. Повідомлялося про підбір та оптимізацію складу середовища, початкового значення рН та часу культивування з метою підвищення виходу хламідоспор [14]. Проте недостатньо даних літератури щодо впливу складу поживного середовища для глибинного культивування на прояв фунгістатичної активності штамів *Trichoderma*. Крім того, при виборі джерел вуглецю та азоту як базової основи для розробки оптимального складу поживного середовища, необхідно враховувати видові та штамові особливості мікроорганізмів.

Мета дослідження.

Визначити вплив різних джерел вуглецевого та азотного живлення на накопичення біомаси та фунгістатичну активність *T. viride* KMB-F-15 при вирощуванні в глибинних умовах.

Об'єкт і методи дослідження.

Об'єктом дослідження був вихід біомаси *Trichoderma viride* KMB-F-15, залежно від складу поживного середовища та фунгістатична активність фільтрату культуральної рідини гриба по відношенню до фітопатогена *Fusarium culmorum* IMB-F-50716. Штам *Trichoderma viride* KMB-F-15, виділений із чорнозему звичайного, проявляє високу фунгістатичну активність до широкого кола фітопатогенних грибів, зберігається в колекції культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ДНУ імені Олеся Гончара.

Для визначення впливу різних джерел вуглецю на накопичення біомаси та фунгістатичну активність *T. viride* KMB-F-15 використовували сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу, гліцерин, зелену патоку та кукурудзяний екстракт у концентрації 20 г/л. Для визначення впливу різних джерел азоту на накопичення біомаси та фунгістатичну активність досліджуваного штаму використовували автолізат дріжджів, кукурудзяний екстракт, натрій азотнокислий, калій азотнокислий, амоній сірчано-азотнокислий, амоній хлористий, амоній азотнокислий, L-глутамінову кислоту та аргінін солянокислий у концентрації 5 г/л. За основу використовували середовище (г/л): сахароза – 20; NH_4NO_3 – 5; K_2HPO_4 – 5; KCl – 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; рН 6,0-6,5. Азот- та вуглець-вмісні сполуки вводили замість сахарози та амонію азотнокислого, відповідно.

Засів у кількості 1% від об'єма здійснювали суспензією конідій гриба, вирощеного на агаризованому середовищі Чапека-Докса упродовж 7 діб. Концентрація конідій в інокуляті складала $2,5 \times 10^7$ в 1 мл, яку визначали підрахунком у камері Горяєва.

Вирощування гриба здійснювали на мікробіологічній качалці (200 об/хв) при 26±1°C упродовж 72 годин.

Вплив складу поживного середовища на ріст триходерми оцінювали за виходом сухої біомаси ваговим методом. Для фільтрування використовували попередньо висушені до постійної ваги обеззолені фільтри (синя стрічка). Після фільтрування біомасу гриба висушували за температури 85°C до постійної ваги. Суху біомасу зважували на аналітичних вагах.

Для визначення фунгістатичної активності грибу в розплавлене поживне агаризоване середовище Чапека-Докса вносили 5% від об'єму фільтрату культуральної рідини триходерми та розливали у чашки Петрі по 20 мл. Після застигання середовища у центр чашки поміщали блок семидобової культури *Fusarium culmorum* IMB-F-50716. Контролем слугувало середовище без фільтрату. Визначали діаметр колонії фітопатогенного гриба на 3 та 6 добу інкубації за 26°C в дослідних та контрольному зразках. Розраховували відсоток інгібування росту гриба за формулою:

$$\frac{(D_k - D_d)}{D_k} \times 100,$$

де D_d – діаметр колонії гриба в дослідних зразках, мм; D_k – діаметр колонії гриба в контрольному зразку, мм [15].

Усі досліди були виконані у 3 повторностях. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statgraphics Centurion XV version 15.01.02. Визначали середнє арифметичне та помилку середнього арифметичного, відмінності між середніми були перевірені за допомогою множинного критерію Тьюкі. Всі відмінності вважали статистично значущими за $P < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

У ході проведення експериментів встановлено, що *T. viride* KMB-F-15 здатна засвоювати різні вуглецевмісні сполуки (табл. 1).

Використання гліцерину призвело до найвищого виходу біомаси – 5 г/л, що більш, ніж вдвічі перевищує вміст біомаси у вихідному середовищі з сахарозою. Використання зеленої патоки та кукурудзяного екстракту як єдиного джерела вуглецю показало трохи нижчі результати.

Перевірка фунгістатичної активності фільтратів культуральних рідин, отриманих від середовищ із різними вжерелами вуглецю, показала, що інгібування росту *F. culmorum* IMB-F-50716 відносно контролю на 3 добу було у межах 55,9-70%, проте достовірної різниці між середніми значеннями дослідів, в яких застосовувались різні джерела вуглецю, виявлено не було (табл. 2).

Таблиця 1 – Вплив сполук вуглецю на вихід біомаси *T. viride* KMB-F-15

Джерело вуглецю	Суха біомаса, г/л
Сахароза	2,1±0,1 ^a
Глюкоза	2,7±0,1 ^{ab}
Фруктоза	3,1±0,3 ^{ab}
Мальтоза	1,9±0,3 ^a
Гліцерин	5,0±0,5 ^d
Зелена патока	4,9±0,3 ^{cd}
Кукурудзяний екстракт	3,60±0,1 ^{bc}

Примітки: різні літери у рядку вказують на достовірну різницю середніх (за критерієм Тьюкі, $P < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив джерел вуглецю на фунгістатичну активність *T. viride* KMB-F-15 відносно *F. culmorum* IMB-F-50716

Джерело вуглецю	3 доба		6 доба	
	Діаметр колонії, мм	Інгібування росту, %	Діаметр колонії, мм	Інгібування росту, %
Контроль	48,3±6,0 ^a		89,0±0 ^a	
Сахароза	14,5±2,1 ^b	70	0±0 ^b	100
Мальтоза	19,2 ± 2,2 ^b	60,2	0±0 ^b	100
Фруктоза	20,5 ± 2,3 ^b	57,6	0±0 ^b	100
Зелена патока	16,5±1,8 ^b	65,8	0±0 ^b	100
Глюкоза	20,2±3,1 ^b	58,2	0±0 ^b	100
Гліцерин	21,3±2,7 ^b	55,9	4,7±4,7 ^b	94,7
Кукурудзяний екстракт	18,3±3,6 ^b	62,1	0±0 ^b	100

Примітки: різні літери у рядку вказують на достовірну різницю середніх (за критерієм Тьюкі, $P < 0,05$).

Таблиця 3 – Вплив джерел азоту на вихід біомаси *T. viride* KMB-F-15

Джерела азоту	Суха біомаса, г/л
Натрій азотнокислий	1,8±0,1 ^{abc}
Калій азотнокислий	1,3±0,1 ^{ab}
Амоній азотнокислий	2,4±0,5 ^c
Амоній хлористий	3,3±0,3 ^d
Амоній сірчаноокислий	1,9±0,1 ^{abc}
Автолізат дріжджів	4,4±0,3 ^e
Кукурудзяний екстракт	2,7±0,2 ^{cd}
L-глутамінова кислота	1,9±0,5 ^{bc}
L-аргінін солянокислий	1,0±0,1 ^a

Примітки: різні літери у рядку вказують на достовірну різницю середніх (за критерієм Тьюкі, $P < 0,05$).

Щодо фунгістатичної активності на 6 добу, то інгібування росту фітопатогена було у межах 94,7-100%, що пов'язано не тільки з наявністю метаболітів з антагоністичною активністю, а й із проростанням хламідоспор, які містилися у фільтраті, ростом міцелію та утворенням поверхневих конідій. У більшості варіантів дослідів *T. viride* KMB-F-15 повністю колонізувала поверхню середовища та наростала на колонію фітопатогена (рисунок).

У результаті проведених досліджень встановлено, що гриб *T. viride* KMB-F-15 здатний засвоювати різні джерела азоту (табл. 3), але найбільший вихід біомаси спостерігався при використанні автолізату дріжджів (4,4 г/л). Інші перевірені джерела органічного азоту – L-глутамінова кислота та кукурудзяний екстракт – давали менший вихід біомаси (1,9 г/л та 2,7 г/л, відповідно), а L-аргінін солянокислий призводив до найнижчого результату (1 г/л). Серед неорганічних сполук азоту амоній хлористий призводив до найвищого виходу біомаси гриба (3,3 г/л).

Перевірка фунгістатичної активності фільтратів культуральної рідини *T. viride* KMB-F-15 відносно фітопатогена *F. culmorum* IMB-F-50716 показала, що найбільше пригнічення росту відмічалось при використанні середовища з автолізатом дріжджів, кукурудзяним екстрактом або L-глутаміновою кислотою як єдиних джерел азотного живлення – 100%, 100% та 97,8% інгібування росту, відповідно (табл. 4). При використанні неорганічних джерел азотного живлення високий відсоток інгібування росту фітопатогена відмічено при вирощуванні штаму

триходерми на середовищах, до складу яких входили солі амонію, а саме амоній хлористий та амоній сірчаноокислий (94% та 88,5%, відповідно).

Таким чином, прояв фунгістатичної активності *T. viride* KMB-F-15 залежить від джерела азотного живлення. Для глибинного культивування досліджуваного штаму з метою отримання біопрепарату проти фітопатогенних грибів як джерело вуглецю доцільно використовувати гліцерин, а як джерело азоту – автолізат дріжджів або амоній хлористий, які забезпечують високий вихід біомаси та високий рівень фунгістатичної активності.

При порівнянні різних неорганічних джерел азоту дослідники відмічали, що більш високий вихід біомаси забезпечували амонійні солі азоту, ніж нітратні [16], що узгоджується з отриманими нами даними. Також показано, що значний ріст міцелію різних штамів *Trichoderma* відбувався при культивуванні в середовищах, що містять органічні джерела азоту – дріжджовий екстракт [17] або пептон [16]. Дріжджовий автолізат розглядався як недороге і доступне джерело азотного живлення для отримання високого виходу мікросклероцій *Trichoderma asperellum* в умовах глибинного культивування [11]. Існують відомості, що джерело азоту має значення на засвоєння сирого гліцерину: *Trichoderma reesei* QM9414 краще засвоювала його в присутності дріжджового екстракту, ніж сірчаноокислого амонію. Використання гліцерину як джерела вуглецю може мати також додаткову перевагу при зберіганні препаратів. Так, додавання до виробничого середовища *Trichoderma harzianum* гліцерину в концентрації 3% та 6% збільшувало тривалість зберігання препарату, де наповнювачем був тальк, до 7 та 12 місяців відповідно, порівняно з 4-5 місяцями в композиціях без застосування гліцерину [18].

Висновки.

За результатами проведених дослідів щодо підбору складу поживного середовища можна зробити

Таблиця 4 – Вплив джерел азоту на фунгістатичну активність *T. viride* KMB-F-15 відносно *F. culmorum* IMB-F-50716

Джерело азоту	3 доба		6 доба	
	Діаметр колонії, мм	Інгібування росту, %	Діаметр колонії, мм	Інгібування росту, %
Контроль	45,5±1,5 ^e		89,0±0 ^d	
NaNO ₃	24,0±1,0 ^{cd}	47,5	14,2±3,0 ^c	84,0
KNO ₃	30,0±5,9 ^d	34,1	11,3±6,6 ^{bc}	87,3
NH ₄ NO ₃	16,0±1,5 ^{ab}	64,8	14,3±0,3 ^c	83,9
NH ₄ Cl	15,5±1,0 ^a	65,9	5,3±5,3 ^{abc}	94,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	14,2±2,2 ^a	68,8	10,2±5,1 ^{bc}	88,5
Автолізат дріжджів	23,5±5,0 ^{bcd}	48,4	0±0 ^a	100
Кукурудзяний екстракт	21,0±0,5 ^{abc}	53,8	0±0 ^a	100
L-глутамінова кислота	18,8±0,2 ^{abc}	58,7	2,0±2,0 ^{ab}	97,8
L-аргінін солянокислий	18±0 ^{abc}	60,4	15,9±4,7 ^c	85,6

Примітки: різні літери у рядку вказують на достовірну різницю середніх (за критерієм Тьюкі, P<0,05).

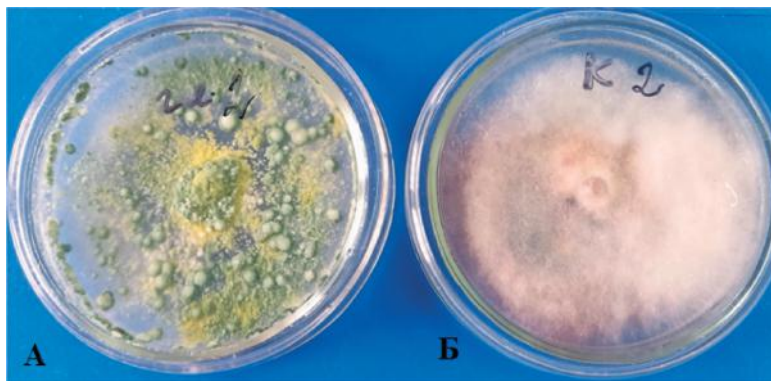


Рисунок – Інгібування росту *F. culmorum* IMB-F-50716 фільтратом культуральної рідини *T. viride* KMB-F-15, отриманої у середовищі з глюкозою: А – дослід, Б – контроль (без фільтрату).

висновок, що для глибинного культивування штаму *T. viride* KMB-F-15 з метою отримання біопрепарату проти фітопатогенних грибів як джерело вуглецю доцільно використовувати гліцерин або зелену патоку, а як джерело азоту – автолізат дріжджів або амоній хлористий, які забезпечують високий вихід біомаси та високий рівень фунгістатичної активності.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані дані можуть слугувати основою для проведення оптимізації кількісного складу поживного середовища для глибинного культивування *T. viride* KMB-F-15 математичними методами планування експериментів.

References / Література

1. Rozhkova TO, Bilyavs'ka LO. Antagonistychna aktyvnist' hrybiv Gliocladium sp. v umovakh in vitro. Sil's'kohospodars'ka mikrobiologiya. 2022;36:55-63. [in Ukrainian].
2. Singh A, Shukla N, Kabadwal BC, Tewari AK, Kumar J. Review on plant-*Trichoderma*-pathogen interaction. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2018;7(2):2382-2397.
3. Savchuk YI, Yurieva OM, Syrchin SO, Naconechna LT, Tuhai TI, Tuhai AV, et al. *Trichoderma* strains – antagonists of plant pathogenic micromycetes. Microbiol. jour. 2022;84(1):24-38.
4. Asad SA, Ali N, Hameed A, Khan SA, Ahmad R, Bilal M, et al. Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. Polish Journal of Microbiology. 2014;63(1):95-103.
5. Hao D, Lang B, Wang Y, Wang X, Liu T, Chen J. Designing synthetic consortia of *Trichoderma* strains that improve antagonistic activities against pathogens and cucumber seedling growth. Microbial Cell Factories. 2022;21:234.
6. Oszust K, Pylak M, Frac M. *Trichoderma*-based biopreparation with prebiotics supplementation for the naturalization of raspberry plant rhizosphere. Int J Mol Sci. 2021;22:6356.
7. Ruocco M, Lanzuise S, Lombardi N, Woo SL, Vinale F, Marra R, et al. Multiple roles and effects of a novel *Trichoderma* hydrophobin. Mol Plant Microbe Interact. 2015;28(2):167-79.
8. Galindo M, Rueda D, Romero P, Medina M, Bangeppagari M, Gangireddygar VSR, et al. Evaluation of the interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* in the development and nutrition of potato plants (*Solanum phureja*). Asian J Agri & Biol. 2018;6(3):403-416.

9. Pavlenko AA, Kopylov YP, Tsekhmister HV. Efektyvnist' zastosuvannya shtamu *Trichoderma viride* z vysokoyu antahonistychnoyu ta tselyulolizitchnoyu aktivnistyu. Sil's'kohospodars'ka mikrobiologiya. 2021;33:88-95. [in Ukrainian].
10. Rayhane H, Josiane M, Gregoria M, Yiannis K, Nathalie D, Ahmed M. From flasks to single used bioreactor: Scale-up of solid state fermentation process for metabolites and conidia production by *Trichoderma asperellum*. Journal of environmental management. 2019;252:109496.
11. Locatelli OL, Pimentel MF, Bueno LA, Lobo Junior, Mascarin GM, Finkler CL. Production of microsclerotia by *Trichoderma asperellum* through submerged liquid fermentation using low-cost nitrogen and carbon sources. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2022;44:102455.
12. Senkovs M, Dzierkale MT, Rimkus A, Grigs O, Nikolajeva V. Application of a posttreatment to improve the viability and antifungal activity of *Trichoderma asperellum* biomass obtained in a bioreactor during submerged cultivation. Biology. 2022;11(11):1610.
13. Rimkus A, Namina A, Dzierkale MT, Grigs O, Senkovs M, Larsson S. Impact of growth conditions on the viability of *Trichoderma asperellum* during storage. Microorganisms. 2023;11(4):1084.
14. Li Y, Song K, Li Y, Chen J. Statistical culture-based strategies to enhance chlamydospore production by *Trichoderma harzianum* SH2303 in liquid fermentation. J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol). 2016;17(8):619-627.
15. Yeremenko AO, Drehval OA, Cherevach NV, Vinnikov AI. Antahonistychna aktivnist' gruntovykh. Mikrobiologiya I biotekhnologiya. 2017;1:73-84. [in Ukrainian].
16. Onilude AA, Adebayo-Tayo BC, Odeniyi AO, Banjo D, Garuba EO. Comparative mycelial and spore yield by *Trichoderma viride* in batch and fed-batch cultures. Ann Microbiol. 2013;63:547-553.
17. Rossi-Rodrigues BC, Brochetto-Braga MR, Tauk-Tornisiolo SM, Carmona EC, Arruda VM, Netto JC. Comparative growth of *Trichoderma* strain in different nutritional sources, using bioscreen automated system. Brazilian Journal of Microbiology. 2009;40:404-410.
18. Sriram S, Roopa KP, Savitha MJ. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. Crop Protection. 2011;30(10):1334-1339.

ВПЛИВ ДЖЕРЕЛ ВУГЛЕЦЕВОГО ТА АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ НА ВИХІД БІОМАСИ ТА ФУНГІСТАТИЧНУ АКТИВНІСТЬ *TRICHODERMA VIRIDE* KMB-F-15

Дрегваль О. А., Лесична А. В., Дрегваль І. В., Скляр Т. В.

Резюме. Альтернативою хімічному методу захисту рослин є використання біофунгіцидів, серед яких особливо перспективними є біопрепарати на основі мікроміцетів роду *Trichoderma*. Завдяки високій швидкості росту, синтезу хітинолітичних ферментів, метаболітів з антифунгальною активністю представники цього роду здатні дуже ефективно проявляти антагоністичні властивості відносно фітопатогенних грибів.

Мета дослідження – визначити вплив різних джерел вуглецевого та азотного живлення на накопичення біомаси та фунгістатичну активність *Trichoderma viride* KMB-F-15 при вирощуванні в глибинних умовах.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження був вихід біомаси *T. viride* KMB-F-15 залежно від складу поживного середовища та фунгістатична активність фільтрату культуральної рідини гриба по відношенню до фітопатогена *Fusarium culmorum* IMB-F-50716. Як джерела вуглецю використовували сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу, гліцерин, зелену патоку та кукурудзяний екстракт у концентрації 20 г/л, як джерела азоту – автолізат дріжджів, кукурудзяний екстракт, натрій азотнокислий, калій азотнокислий, амоній сірчаноокислий, амоній хлористий, амоній азотнокислий, L-глутамінову кислоту та аргінін солянокислий у концентрації 5 г/л. Вплив складу поживного середовища на ріст триходерми оцінювали за виходом сухої біомаси ваговим методом. Фунгістатичну активність визначали за рівнем пригнічення росту *F. culmorum* на щільному середовищі з додаванням фільтрату культуральної рідини *T. viride*.

Результати. Встановлено, що гліцерин та зелена патока призводили до найбільшого виходу біомаси *T. viride* KMB-F-15 (5,0 г/л та 4,9 г/л, відповідно). Визначення фунгістатичної активності фільтратів культуральних рідин, отриманих від поживних середовищ із різними джерелами вуглецю, показало, що інгібування росту *Fusarium culmorum* IMB-F-50716 відносно контролю на 3 добу було у межах 55,9-70% та досягало 94,7-100% на 6 добу. Проте достовірної різниці між середніми значеннями дослідів, в яких застосовувались різні джерела вуглецю, не виявлено. Найбільш сприятливими для росту гриба джерел азоту виявилися автолізат дріжджів, при якому вихід сухої біомаси становив 4,4 г/л та амоній хлористий (3,3 г/л). Фунгістатична активність *T. viride* KMB-F-15 залежала від джерела азотного живлення. Найбільший відсоток інгібування росту фітопатогена спостерігався при вирощуванні в середовищі з органічними джерелами азоту: кукурудзяним екстрактом, автолізатом дріжджів або L-глутаміною кислотою (інгібування росту 48,4-58,7% та 97,8-100% на 3 та 6 добу, відповідно). З неорганічних джерел азоту прояву фунгістатичної активності сприяли амоній хлористий та амоній сірчаноокислий (65,9% та 68,8% на 3 добу, 94% та 88,5% на 6 добу, відповідно).

Висновки. Для глибинного культивування *T. viride* KMB-F-15 з метою отримання біопрепарату проти фітопатогенних грибів як джерело вуглецю доцільно використовувати гліцерин або зелену патоку, а як джерело азоту – автолізат дріжджів або амоній хлористий, які забезпечують високий вихід біомаси та високий рівень фунгістатичної активності.

Ключові слова: *Trichoderma*, глибинне культивування, накопичення біомаси, антагоністичні властивості, фітопатогенні гриби.

INFLUENCE OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON BIOMASS YIELD AND FUNGISTATIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA VIRIDE* KMB-F-15

Drehval O. A., Lesychna A. V., Drehval I. V., Sklyar T. V.

Abstract. An alternative to the chemical method of plant protection is the use of biofungicides, among which biological preparations based on micromycetes of the genus *Trichoderma* are particularly promising. Due to the high growth rate, synthesis of chitinolytic enzymes, metabolites with antifungal activity, representatives of this genus can very effectively show antagonistic properties against phytopathogenic fungi.

The aim of the study is to determine the impact of different carbon and nitrogen sources on biomass accumulation and fungistatic activity of *Trichoderma viride* KMB-F-15 under submerged cultivation conditions.

Object and research methods. The object of the study was the biomass yield of *T. viride* KMB-F-15 depending on the composition of the nutrient medium and the fungistatic activity of the fungal culture filtrate against the phytopathogen *Fusarium culmorum* IMB-F-50716. Sucrose, glucose, fructose, maltose, glycerine, green molasses and corn extract at a concentration of 20 g/l were used as carbon sources, and yeast autolysate, corn extract, sodium nitrate, potassium nitrate, ammonium sulphate, ammonium chloride, ammonium nitrate, L-glutamic acid and arginine hydrochloride were used as nitrogen sources in a concentration of 5 g/l. The influence of the composition of the nutrient medium on the growth of *Trichoderma* was assessed by the yield of dry biomass using the weight method. Fungistatic activity was determined by the level of growth inhibition of *F. culmorum* on a dense nutrient medium by adding the filtrate of the *T. viride* culture liquid.

Results. It was found that glycerine and green molasses resulted in the highest biomass yield of *T. viride* KMB-F-15 (5.0 g/l and 4.9 g/l, respectively). Determination of the fungistatic activity of filtrates of culture liquids obtained from nutrient media with different carbon sources showed that the growth inhibition of *F. culmorum* IMB-F-50716 compared to the control on 3rd day was in the range of 55.9-70% and reached 94.7-100% on 6th day. However, no significant difference was found between the mean values of the experiments using different carbon sources. The most favourable nitrogen sources were yeast autolysate, in which the yield of dry biomass was 4.4 g/l and ammonium chloride (3.3 g/l). The fungistatic activity of *T. viride* KMB-F-15 depends on the source of nitrogen nutrition. The highest percentage of phytopathogen growth inhibition was observed when cultivated in a medium with organic nitrogen sources: maize extract, yeast autolysate, or L-glutamic acid (growth inhibition of 48.4-58.7% and 97.8-100% at 3 and 6 days, respectively). Among the inorganic nitrogen sources, ammonium chloride and ammonium sulphate contributed to the manifestation of fungistatic activity (65.9% and 68.8% on the 3rd day, 94% and 88.5% on the 6th day, respectively).

Conclusions. For submerged cultivation of *T. viride* KMB-F-15 aimed at obtaining a biocontrol agent against phytopathogenic fungi, it is advisable to use glycerol or green syrup as a carbon source and yeast autolysate or ammonium chloride as a nitrogen source, which ensure high biomass yield and a high level of fungistatic activity.

Key words: *Trichoderma*, submerged cultivation, accumulation of biomass, antagonistic properties, phytopathogenic fungi.

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Drehval O. A.: <https://orcid.org/0000-0002-0560-5514> ^{DE}

Lesychna A. V.: <https://orcid.org/0009-0007-2710-1636> ^{BD}

Drehval I. V.: <https://orcid.org/0000-0001-6272-2082> ^{CD}

Sklyar T. V.: <https://orcid.org/0000-0003-0224-2460> ^{AF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm that they have no conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Drehval Igor Volodymyrovych / Дрегваль Ігор Володимирович

Oles Honchar Dnipro National University

Ukraine, 49000, Dnipro, 9 Naukova str. / Адреса: Україна, 49000, м. Дніпро, вул. Наукова 9

Tel.: +380677566537 / Тел.: +380677566537

E-mail: dregigor24@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті

Received 20.09.2023 / Стаття надійшла 20.09.2023 року

Accepted 01.03.2024 / Стаття прийнята до друку 01.03.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-371-380

UDC 579.2

Sklyar T. V., Bohatova O. D., Gavryliuk V. G., Lavrentieva K. V., Kurahina N. V.

GENETIC TRANSFORMATION OF *ESCHERICHIA COLI* CELLS WITH DIFFERENT DEGREES OF COMPETENCE WITH R-PLASMIDS

Oles Honchar Dnipro National University (Dnipro, Ukraine)

microviro@ukr.net

This work investigates various methods of obtaining competent cells for transforming bacteria with plasmid DNA. The ability to transform is determined by the degree of competence of microbial cells, and the ability to transfer plasmids that contain resistance determinants is an important factor for the acquisition of selective advantages by individual cells in a population of microorganisms. Many species of bacteria lack natural competence or show it at a low level, but they can also be transformed under the action of certain physical and chemical inducers. Therefore, it was