

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування
Кафедра біотехнології та хімії

До захисту допущено
Завідувач кафедриКоваленко В.М.

«»2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за першим (бакалаврським) рівнем вищої освіти

**на тему «ЗАСТОСУВАННЯ БІОІНОКУЛЯНТІВ ДЛЯ
ПОКРАЩЕННЯ ПРИРОДНОГО ІМУНІТЕТУ РОСЛИН»**

Виконав (-ла):

Натела Барамідзе

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Група:

Біо2101-1

Науковий керівник

Ольга Швець

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Рецензент

Володимир Власенко

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Суми – 2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування

Кафедра біотехнології та хімії
Освітній ступінь - "Бакалавр"
Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Завідувач кафедри біотехнології та хімії

_____ **Коваленко В.М.**
« _____ » _____ **2025 р.**

ЗАВДАННЯ
на кваліфікаційну роботу
Барамідзе Натели Мурадівни
прізвище, ім'я, по батькові

1. Тема кваліфікаційної роботи **«Застосування біоінокулянтів для покращення природного імунітету рослин»**

Затверджено наказом по університету від « ____ » _____ 2025 р. № _____

2. Керівник кваліфікаційної роботи Швец О.Г.

3. Строк подання здобувачем закінченої роботи

4. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи

місце проведення досліджень: ННВК СНАУ

методичне забезпечення: Методичні вказівки для виконання кваліфікаційної роботи.

5. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які необхідно опрацювати) провести літературний аналіз сучасного стану використання біоінокулянтів у сільському господарстві; охарактеризувати основні групи мікроорганізмів, що входять до їх складу; дослідити механізми впливу біоінокулянтів на імунітет рослин; оцінити ефективність застосування конкретних штамів на модельних культурах.

Керівник кваліфікаційної роботи _____ / _____
підпис *Ім'я, ПРІЗВИЩЕ*

Завдання прийняв до виконання _____ / _____
підпис *Ім'я, ПРІЗВИЩЕ*

Дата отримання завдання « ____ » _____ 20__ р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назви етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Вибір теми і об'єкта досліджень	5-й семестр	
2.	Розробка завдання до кваліфікаційної роботи; складання календарного плану; формування змісту розрахунково-пояснювальної записки (формування переліку питань, які необхідно опрацювати в роботі). Підбір методик для проведення досліджень	5-й семестр	
3.	Виконання кваліфікаційної роботи		
3.1.	Підбір та аналіз літературних джерел з теми кваліфікаційної роботи	5-й семестр	
3.2.	Збір вихідних даних (проведення польових досліджень) для написання експериментальної частини кваліфікаційної роботи	6-й семестр	
3.3.	Підготовка загального варіанту кваліфікаційної роботи (розділ 1-3, висновки)	7-й семестр	
3.4.	Апробація результатів дослідження	За 40 днів до дати захисту	
4.	Перевірка роботи науковим керівником і допуск до попереднього захисту	За 35 днів до дати захисту	
5.	Перевірка кваліфікаційної роботи на унікальність	За 30 днів до захисту	
6.	Рецензування	За 15 днів до захисту	
7.	Попередній захист кваліфікаційної роботи	За 10 днів до захисту	
8.	Прилюдний захист кваліфікаційної роботи перед екзаменаційною комісією	Відповідно наказу ректора	

Керівник кваліфікаційної роботи _____ /

підпис

Здобувач _____ /

підпис

АНОТАЦІЯ

Барамідзе Натела Мурадівна "Застосування біоінокулянтів для покращення природного імунітету рослин "

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня бакалавр за спеціальністю (162 – Біотехнології та біоінженерія). – Сумський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України, Суми, 2025.

У кваліфікаційній роботі досліджено перспективи застосування біоінокулянтів — мікробних препаратів на основі живих корисних мікроорганізмів — як екологічно безпечної та ефективної альтернативи хімічним добривам та засобам захисту рослин.

Актуальність теми зумовлена необхідністю переходу до сталого сільського господарства, зменшення антропогенного навантаження на агроєкосистеми та підвищення стійкості рослин до стресових факторів, включаючи фітопатогени.

У роботі охарактеризовано основні групи мікроорганізмів, що входять до складу сучасних біоінокулянтів: азотфіксуючі (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*), фосфатмобілізуючі (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*), мікоризні гриби (*Glomus*, *Rhizobium* (*Trichoderma*, *Streptomyces*)). Детально розглянуто механізми їх дії – фіксація атмосферного азоту, мобілізація фосфору, стимуляція синтезу фітогормонів, індукція системної резистентності (ISR), біоконтроль.

Окрема увага приділена молекулярним аспектам імунної відповіді рослин, зокрема PAMP-індукованому імунітету (PTI) та ефектор-тригерному імунітету (ETI), які можуть бути активовані взаємодією з корисними мікроорганізмами.

Проаналізовано сучасні біоінженерні підходи до створення ефективних біоінокулянтів, включаючи генетичну модифікацію (зокрема, технології CRISPR), метаболічну інженерію та синтетичну біологію. У цьому контексті також проведено порівняльний аналіз досвіду України та Польщі у розвитку та застосуванні біоінженерних рішень у сфері біоінокулянтів, висвітлюючи їхні досягнення та виклики.

У роботі узагальнено світовий досвід застосування інокулянтів, проаналізовано переваги та обмеження різних формул (торф'яних, рідких, гранульованих), розглянуто екологічні, агрономічні та економічні аспекти використання біоінокулянтів.

Практичне значення дослідження полягає у можливості зменшення використання хімічних добрив, підвищення врожайності та покращення фітосанітарного стану посівів за рахунок мікробіологічного стимулювання імунітету рослин. Запропоновано та проаналізовано перспективні біотехнологічні стратегії розробки інокулянтів багатофункціональної дії та їх застосування у точному землеробстві.

Ключові слова: біоінокулянти, біоінженерія, мікроорганізми, імунітет рослин, фітогормони, азотфіксація, біологічний контроль, PGPR, мікориза, екологічне землеробство, агробіотехнології.

ABSTRACT

Baramidze N.M. "Application of bioinoculants to improve the natural immunity of plants"

Qualification work for the degree of bachelor in the specialty (162 – Biotechnology and bioengineering). – Sumy National Agrarian University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2025.

The qualification work explores the prospects for the use of bioinoculants — microbial preparations based on live beneficial microorganisms — as an environmentally safe and effective alternative to chemical fertilizers and plant protection products.

The relevance of the topic is due to the need to transition to sustainable agriculture, reduce anthropogenic load on agroecosystems and increase plant resistance to stress factors, including phytopathogens.

The paper describes the main groups of microorganisms that are part of modern bioinoculants: nitrogen-fixing (Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter), phosphate-mobilizing (Bacillus, Pseudomonas, Aspergillus), mycorrhizal fungi (Glomus, Rhizobium (Trichoderma, Streptomyces). The mechanisms of their action are considered in detail - atmospheric nitrogen fixation, phosphorus mobilization, stimulation of phytohormone synthesis, induction of systemic resistance (ISR), biocontrol.

Special attention is paid to the molecular aspects of the plant immune response, in particular PAMP-induced immunity (PTI) and effector-trigger immunity (ETI), which can be activated by interaction with beneficial microorganisms.

Modern bioengineering approaches to the creation of effective bioinoculants are analyzed, including genetic modification (in particular, CRISPR technologies), metabolic engineering and synthetic biology. In this context, a comparative analysis of experience is also conducted Ukraine and Poland in the development and application of

bioengineering solutions in the field of bioinoculants, highlighting their achievements and challenges.

The paper summarizes the world experience in the use of inoculants, analyzes the advantages and limitations of various formulas (peat, liquid, granular), considers the environmental, agronomic and economic aspects of the use of bioinoculants.

The practical significance of the study lies in the possibility of reducing the use of chemical fertilizers, increasing yields and improving the phytosanitary condition of crops due to microbiological stimulation of plant immunity. Promising biotechnological strategies for the development of multifunctional inoculants and their application in precision agriculture are proposed and analyzed.

Keywords: bioinoculants, bioengineering, microorganisms, plant immunity, phytohormones, nitrogen fixation, biological control, PGPR, mycorrhiza, ecological farming, agrobiotechnologies.

ЗМІСТ

ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ БІОІНОКУЛЯНТІВ ДЛЯ ЗМІЦНЕННЯ ІМУНІТЕТУ РОСЛИН	11
1.1 Біоінокулянти: визначення, історія розвитку	11
1.2 Біологічна фіксація азоту (БФА)	16
1.3 Основні мікроорганізми, що входять до складу біоінокулянтів	21
РОЗДІЛ 2. ВПЛИВ БІОІНОКУЛЯНТІВ НА ІМУНІТЕТ РОСЛИН	26
2.1 Актуальність проблеми підвищення імунітету рослин	26
2.2 Імунна система рослин та механізми її активації біоінокулянтами	28
2.3 Роль біоінокулянтів у захисті від стресових факторів	37
РОЗДІЛ 3. БІОІНОКУЛЯНТИ У СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЯХ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ	42
3.1 Використання біоінокулянтів у сільському господарстві	42
3.2 Біоінженерні підходи до створення ефективних біоінокулянтів	46
3.3 Перспективи розвитку технологій біоінокуляції	48
ВИСНОВКИ	53
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	55

ВСТУП

Збереження високої врожайності та якості сільськогосподарських культур в умовах зростаючого антропогенного навантаження та кліматичних змін є одним із головних викликів сучасного землеробства. Традиційне використання мінеральних добрив і хімічних засобів захисту рослин часто призводить до деградації ґрунтів, зниження біорізноманіття, концентрування токсинів у продуктах харчування й навколишньому середовищі. У цьому контексті актуальним є пошук альтернативних, екологічно безпечних та економічно доцільних засобів покращення фітосанітарного стану агроценозів. Одним із таких перспективних напрямів є застосування біоінокулянтів — препаратів на основі живих мікроорганізмів, здатних позитивно впливати на ріст, розвиток і захисні функції рослин.

Біоінокулянти відіграють ключову роль у формуванні стійкого імунітету культурних рослин завдяки активації системного захисту, покращенню фітогормонального балансу, біодоступності поживних речовин та антагоністичній дії проти патогенів. Мікробіоти, що входять до складу біоінокулянтів, здатні взаємодіяти з рослиною на різних рівнях — від кореневої ризосфери до тканинної інфекції, що забезпечує системну дію та пролонгований ефект.

Незважаючи на значний науковий і практичний інтерес до цієї тематики, механізми взаємодії біоінокулянтів з рослинними імунними системами залишаються недостатньо вивченими. Тому дослідження біотехнологічних аспектів розробки та застосування біоінокулянтів відкриває нові можливості для розвитку сталого сільського господарства та підвищення біологічного потенціалу культур.

Актуальність теми: використання біоінокулянтів є важливим напрямом екологізації землеробства, який дозволяє зменшити залежність від хімічних

препаратів, підвищити стійкість рослин до стресів і патогенів, а також сприяти збереженню ґрунтової мікрофлори.

Мета дослідження: розглянути біотехнологічні особливості дії біоінокулянтів та їх вплив на імунну відповідь рослин.

Завдання дослідження: проаналізувати сучасний стан використання біоінокулянтів у сільському господарстві, висвітливши світовий досвід та, зокрема, провівши порівняльний аналіз досвіду України та Польщі у розвитку й застосуванні біоінженерних рішень у цій сфері;

охарактеризувати основні групи мікроорганізмів, що входять до складу сучасних біоінокулянтів;

дослідити механізми впливу біоінокулянтів на імунітет рослин, включаючи загальні механізми та молекулярні аспекти імунної відповіді;

оцінити ефективність застосування конкретних штамів мікроорганізмів у складі біоінокулянтів на основі аналізу опублікованих даних і результатів досліджень на різних модельних культурах.

Об’єкт дослідження є біоінокулянти на основі мікроорганізмів із здатністю стимулювати імунну відповідь рослин.

Предмет дослідження - біотехнологічні процеси формування стійкості рослин під дією біоінокулянтів.

Методи дослідження теоретичний аналіз наукової літератури, порівняльний аналіз, систематизація та узагальнення

Структура та обсяг роботи: Загальна кількість сторінок комп’ютерного набору становить 59 сторінок: таблиць – 5. Кількість використаних джерел – 41.

РОЗДІЛ 1

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ БІОІНОКУЛЯНТІВ ДЛЯ ЗМІЦНЕННЯ ІМУНІТЕТУ РОСЛИН

1.1. Біоінокулянти: визначення, історія розвитку

Використання біотехнологічних інокулянтів у сільському господарстві має довгу історію, починаючи з кінця 19 століття, коли дослідники почали вивчати потенціал азотфіксуючих бактерій для підвищення врожайності.

Дослідження, проведене в 1838 році французьким хіміком Жаном-Батистом Буссінго, стало першим детальним описом процесу засвоєння рослинами азоту з навколишнього середовища. Буссенго (1801–1887) також був новатором у впровадженні методу інокуляції PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (ризобактерії, що стимулюють зростання рослин) для стимулювання росту рослин і підвищення врожайності [1].

У 1886 році німецькі вчені Хеллрігель та Вільфарт показали, що бактерії, які заселяють кореневі бульбочки гороху (*Pisum sativum*), здатні фіксувати атмосферний азот. Під впливом своїх досліджень Хілтнер активно разом із Ноббе в 1887 році почав досліджувати симбіотичні зв'язки між бобовими рослинами та бактеріями, які живуть в їхніх корневих утвореннях.

Працюючи в лабораторії Мюнхенського технічного університету (ТУМ), Гільтнер у 1904 році запропонував термін «ризосфера», визначивши її як зону навколо коренів рослин, де відбувається взаємодія з мікроорганізмами. Він довів, що мікрофлора ризосфери, яка активізується у відповідь на виділення із коренів, змінює важливу роль у забезпеченні рослин поживними речовинами та підвищує їх стійкість до патогенів [2].

У 1896 році США представили перший комерційно вироблений мікробний інокулянт «Нітрагін», який спочатку як носії для бактеріальних клітин використовував желатин, а потім живильне середовище. Проте, через високий рівень смертності бактерій ці носії врешті-решт були замінені торфом,

Торф — це твердий матеріал, що складається з органічного ґрунту, який природно зустрічається в певних середовищах і утворився після тривалого геологічного періоду. До кінця 1990-х років він залишався найкращим носієм для інокулянтів, що було зумовлено високим вмістом у ньому органічних речовин, які є важливим джерелом поживних речовин для мікроорганізмів. Торф'яна матриця також забезпечує фізичний захист мікроорганізмів від шкідливих впливів ґрунту та дозволяє клітинам краще виживати в умовах обмеження води та високих температур. У процесі інокуляції насіння торфом використовувались клеї, які допомагають приклеїти торф'яну матрицю до насіння; наприклад, у Бразилії найпопулярнішим адгезивом був 10% розчин сахарози. Інокулянт на основі торфу упаковувався у стерилізовані поліетиленові або поліпропіленові пакети товщиною 0,06–0,38 мм, що зберігало вологу, але гарантувало газообмін із зовнішнім середовищем [3].

Проте використання торфу як носія інокулянтів почало втрачати популярність із декількох причин. По-перше, видобуток торфу з торф'яних боліт призводить до можливих екологічних наслідків, таких як руйнування середовищ існування та викиди CO₂. По-друге, у країнах з обмеженими запасами торфу, наприклад у Бразилії, виникає потреба в імпорті цього матеріалу, що значно збільшує витрати на виробництво.

У 1950-х роках використання ризобіальних інокулянтів почало поширюватися в країнах, що розвиваються. Однак їхнє впровадження було обмеженим через такі проблеми, як недостатній контроль якості та відсутність належного доступу. Ситуація змінилася в період з 1980-х до 2000-х років, коли виробництво та застосування бактеріальних інокулянтів зазнали значної еволюції. Це сталося завдяки диверсифікації штамів та вдосконаленню рецептур.

Помітні зміни у сфері бактеріальних інокулянтів відбулися з початку 2000-х років. Зокрема, у Бразилії перший рідкий інокулянт отримав офіційне схвалення Міністерства сільського господарства для комерційного використання у 2000 році.

Цей крок став значним проривом, адже вже за десять років, до 2010 року, майже 80% інокулянтів, що продавалися в країні, були саме в рідкій формі. Схожа тенденція до переходу на рідкі форми спостерігалася і в Аргентині.

Розвиток не обмежувався лише традиційними інокулянтами. У 2008 році в Мексиці був розроблений перший біофунгіцид. Наразі він зареєстрований для боротьби з антракнозом у папаї, авокадо та цитрусових, і доступний як у вигляді рідини, так і у формі змочуваного порошку.

Інтеграція біотехнологічних інокулянтів у сільське господарство є постійним процесом, який досяг значних успіхів за останні два десятиліття. Це дозволило розробити ефективніші штами та отримати більш повну характеристику взаємодії рослина-мікроб, а також складних механізмів, що залучаються. Результатом стала оптимізація складів інокулянтів та стратегій застосування, що сприяє підвищенню врожайності та стійкості сільськогосподарських культур [4].

Понад століття минуло з моменту розробки першого біоінокулянта для рослин. За цей час значно еволюціонувала не лише сама концепція, а й термінологія, що її описує. Щоб краще зрозуміти сутність біоінокулянтів, розгляньмо різні поняття, що використовувалися для їх опису.

Наразі під біоінокулянтами розуміють засоби, що містять живі мікроорганізми. Після внесення в довкілля ці мікроорганізми здатні підвищувати доступність поживних речовин або пригнічувати активність шкідливих біологічних агентів. До біоінокулянтів можуть належати різні мікроорганізми, такі як бактерії, гриби та водорості (рис.1.) Їхня дія полягає в покращенні засвоєння поживних елементів (зокрема фосфору й азоту), стимулюванні утворення рослинних гормонів, зниженні негативного впливу безперервного вирощування, пригніченні патогенних організмів та, як наслідок, сприянні зростанню врожайності культур.



Рисунок 1. Класифікація біоінокулянтів за видом мікроорганізму в їх складі

Поширеним є і термін "мікробний інокулянт" для опису речовин, що містять живі мікроорганізми. Хоча іноді його розширюють, включаючи мертві організми або їхні продукти, це не є загальноприйнятим підходом. Термін також часто використовується як взаємозамінний з "біодобривом", яке історично могло охоплювати будь-яку речовину біологічного походження, навіть гній. Очікується, що мікробні інокулянти, незалежно від термінології, сприятимуть росту рослин при нанесенні на насіння, надземні частини рослини або ризосферний ґрунт.

Серед інших термінів, що описують мікробні інокулянти, варто виділити (ризобіо)бактерії, що стимулюють ріст рослин (PGPR) або мікроби (PGPM, включаючи гриби), біопестицид або біоконтроль, і фітостимулятор. Останні два терміни, зокрема, наголошують на специфічному механізмі дії – проти патогенів або через вироблення рослинних гормонів відповідно. Важливо зазначити, що біопестициди також можуть включати будь-які природні речовини, що допомагають контролювати шкідників, не обмежуючись мікроорганізмами.

Склад мікробних інокулянтів тісно пов'язаний з їх формулюванням, що передбачає додавання мікробних культур до певного матеріалу-носія та, в деяких випадках, певного клею, який прикріплює носій (і, отже, мікроб) до насіння рослин. В якості носіїв використовується велика різноманітність матеріалів. Найбільш успішним зарекомендував себе дрібний торф, а також інші матеріали з високим вмістом органічних речовин (наприклад, жом цукрової тростини, осад стічних вод, тирса), глинисті мінерали (наприклад, бентоніт, атапульгіт, вермикуліт), деревне вугілля, біовугілля та ґрунт. Крім того, рідкі інокулянти також можна застосовувати до насіння або ґрунту, що є, по суті, бульйонними культурами організму(ів). Матеріали-носії можуть бути дрібно подрібненими для змішування з насінням або більш грубими чи у вигляді гранул для внесення в ґрунт. Ключ до успішної рецептури полягає в тому, щоб підтримувати мікроби живими, у високій щільності та в контакті з насінням або корінням під час інокуляції, а також забезпечити легке використання кінцевим споживачем [9].

Таким чином, з огляду на різноманіття термінів та їхніх відтінків, найбільш повним і точним визначенням, на нашу думку, є наступне: «**біоінокулянт** - це засіб, що містить живі мікроорганізми, здатні після внесення в довкілля підвищувати доступність поживних речовин для рослин та/або пригнічувати активність шкідливих біологічних агентів, сприяючи таким чином покращенню росту, розвитку та продуктивності культур»

Використання біоінокулянтів, таких як мікорізні гриби, корисні бактерії та біоконтрольні агенти, сприяє суттєвому поліпшенню стану ґрунту та рослин. Ці мікроорганізми здатні фіксувати азот, розчиняти ключові живильні речовини (зокрема фосфор, цинк і калій), а також синтезувати рослинні гормони, антибіотики, ферменти. Серед перспективних мікроорганізмів для виробництва біоінокулянтів виділяють *Rhizobium*, *Bacillus*, *Azobacter*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus* та *Acinetobacter*. Їх було обрано завдяки їхній

здатності стимулювати ріст рослин, підвищувати накопичення живих речовин та покращувати властивості ґрунту.

Розвиток сучасних біотехнологій по створенню інокулянтів відкриває нові горизонти для оптимізації природних ресурсів у сільському господарстві. Завдяки методам молекулярної біології з'являються можливості розвитку інокулянтів, здатних стимулювати ріст і розвиток культури.

Особливі значення мають генетичні модифікації мікроорганізмів, що підвищують їхню здатність до фіксації азоту та покращують засвоєння поживних елементів. Застосування біотехнологічних продуктів дозволяє скоротити потребу в хімічних добривах, що позитивно впливає на екологічний стан. Біотехнології також змінюють способи виробництва інокулянтів, значно підвищуючи їх ефективність і значення для аграрної галузі. Це відкриває нові шляхи для сталого розвитку сільського господарства та забезпечення глобальної продовольчої безпеки.

Для повного розуміння значущості цих біотехнологічних рішень важливо детальніше розглянути механізми, які вони оптимізують, зокрема процес перетворення атмосферного азоту в доступні для рослин форми.

1.2. Біологічна фіксація азоту (БФА)

Основною поживною речовиною для росту рослин є азот, який є займає четверте місце серед основних компонентом сухої біомаси рослин. Він є важливою частиною генетичного матеріалу, мембранних ліпідів і амінокислот (ферментативних і структурних білків). Як відомо, велика частина азоту недоступна для тварин і рослин у газоподібному вигляді. Інокуляція азотфіксуючих бактерій *Rhizobacteria* на врожайність рослин призводить до боротьби з хворобами, підвищення функцій росту та збереження рівня азоту. **Біологічна фіксація азоту (БФА)** — це процес, під час якого елементарний азот повітря перетворюється на аміак за допомогою циклу відновлення, що

здійснюється мікроорганізмами. До них належать еубактерії, актиноміцети та синьо-зелені водорості.

Асимбіотична або вільноживуча фіксація азоту та симбіотична або асоціативна фіксація азоту є широкою категорією біологічної фіксації азоту, яка перетворюється за допомогою різних механізмів у різних культурах. Об'єм вільного азоту, доступного в атмосфері, становить приблизно 4×10^{21} г N_2 (азот), з яких майже $2,5 \times 10^{11}$ кг NH_3 щорічно фіксується мікроорганізмами. Природно, що в цілому 70% азоту фіксується мікробами, що називається біологічною азотфіксацією, і 30% хімічними і фізичними процесами [10].

Симбіотична фіксація азоту (СФА) - це мутуалістична асоціація між рослинами та мікробами. Симбіотичні азотфіксуючі мікроби мають здатність фіксувати атмосферний азот і забезпечують доступ до всіх типів рослин. Мутуалістичні відносини починаються, коли рослина починає виділяти флавоноїди та ізофлавоноїди у своїй ризосфері, де її ідентифікують *Rhizobium*. *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium* і *Mesorhizobium* є кількома прикладами бактерій, які живуть у симбіозі з бобовими рослинами, *Frankia* з небобовими рослинами та кущами. Серед цих симбіотичних азотфіксуючих бактерій *Rhizobium* є основною причиною симбіотичної азотфіксації бобових культур. Крім бактерій, деякі маленькі папороті також працюють як симбіотичні азотфіксатори. Наприклад, *Azolla* — це невелика вільноплаваюча водяна папороть, яка співпрацює з ціанобактеріями (*Anabaena*) для фіксації атмосферного азоту. Відповідне середовище, фітогормони та поживні речовини забезпечуються *Azolla* *Anabaena* в обміні фіксованим азотом. У *Anabaena* явище фіксації азоту відбувається в клітині гетероцисти. *Azolla* сприяє перш за все вирощуванню рису шляхом удобрення ґрунту азотом і внесення біомаси. Актиноміцети, наприклад, *Frankia*, можуть утворювати кореневі бульбочки для актиноризних рослин. У *Frankia* можуть бути вузлики деяких інших родів, таких як *Allocasuarina*, *Myrica*, *Eleagnus*, *Coriaria* та *Casuarina*. Це однодольні рослини з перспективним

майбутнім у сільському господарстві та меліорації. N фіксується видами *Azotobacter* та *Bacillus*, а також вони сприяють росту та розвитку рослин кукурудзи та лісових культур. Інокуляція *Bradyrhizobium japonicum* посилила ріст рослин, утворення бульбочок і фіксацію азоту в сої.

Несимбіотична або вільна фіксація притаманна вільноживучим азотфіксаторам, які знаходяться в кореневій зоні рослин і отримують їжу та поживні речовини з рослин, а також повертають фіксований азот у вільноживучому стані. Несимбіотичну фіксацію азоту також здійснюють діазотрофи, які стимулюють розвиток небобових рослин, таких як рис і редька. Деякі інші ризоферні бактерії, які належать до роду *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Diazotrophicus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* і *Cyanobacteria* (*Anabaena*, *Nostoc*), які також діють як несимбіотичні азотфіксатори. *Azotobacter chroococcum* можна використовувати як біодобриво через його здатність фіксувати 10 мгN/г джерела вуглецю, що надходить in vitro.

Асоціативними азотфіксуючими бактеріями є *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Azospirillum* і *Diazotrophicus*, які супроводжуються клітинами коренів рослин родини злакових. *Azospirillum* — це аеробні, невузликові, грамнегативні, асоціативні азотфіксуючі бактерії, що живуть з рослинами, такими як кукурудза, байра, цукрова тростина, сорго, і злаками, такими як рис, ячмінь, пшениця. Інокуляція *Azospirillum* показала помітні результати на проростках кукурудзи, сорго, пшениці та інших трав. За даними, бактерії можуть забезпечити до 25% загальних потреб рису та кукурудзи в азоті [11].

Розглянемо механізми дії: азотфіксуючі мікроорганізми, такі як види *Rhizobium*, перетворюють атмосферний азот (N_2) у придатні для рослин форми, такі як аміак (NH_3). Ключовим ферментом у цьому процесі є нітрогеназа, яка каталізує відновлення N_2 до NH_3 . Нітрогеназна активність чутлива до присутності кисню; таким чином, багато фіксаторів азоту розвивають механізми для його захисту, такі як утворення анаеробних середовищ. Різобактерії, які солюбілізують

поживні речовини, наприклад з родів *Bacillus* і *Pseudomonas*, виробляють органічні кислоти, які розчиняють нерозчинні фосфати в ґрунті, роблячи їх доступними для рослин. Вони також виділяють ферменти, такі як фосфатази, які вивільняють фосфор з органічних і неорганічних сполук, підвищуючи їх доступність для рослин. Деякі мікроорганізми індукують системну резистентність рослин через модуляцію фітогормонів, таких як саліцилова кислота та жасмонова кислота, які мають вирішальне значення для активації захисту рослин від патогенів і біотичних стресів. Наприклад, *Trichoderma sp.* відомий своєю здатністю змінювати профіль фітогормонів у рослинах, підвищуючи стійкість до нематод та інших патогенів. Крім того, взаємодія з арбускулярною мікоризою згадується як фактори, що сприяють системній стійкості шляхом активації пов'язаних із захистом генів у листках рослин. Актинобактерії відіграють вирішальну роль у захисті рослин через різні механізми дії, включаючи виробництво вторинних метаболітів, таких як антибіотики та ферменти, які пригнічують ріст патогенів. Наприклад, такі сполуки, як актинобацилін і стрептоміцин, показали ефективність проти фітопатогенних грибів і бактерій, включаючи фузаріоз і фітофтору. Крім того, ці мікроорганізми забезпечують непрямий захист, конкуруючи з патогенами за поживні речовини та простір у ґрунті та коренях рослин, таким чином обмежуючи доступність основних ресурсів для патогенів і зменшуючи їх здатність спричиняти захворювання.

Здоров'я ґрунту або його родючість — це здатність забезпечувати рослини необхідними поживними речовинами для їхнього повноцінного росту та формування врожаю [12].

Більшість сучасних комерційних інокулянтів спрямовані на покращення доступності ключових макроелементів — азоту (N) і фосфору (P). Оскільки ці елементи часто присутні у формі, яку рослини не можуть засвоїти, мікроорганізми в інокулянтах відіграють важливу роль. Вони фіксують атмосферний азот і

розчиняють важкодоступний фосфор, роблячи ці поживні речовини доступними для засвоєння коренями.

Проте варто враховувати, що популяції корисних бактерій, наприклад, *Rhizobium*, можуть зменшуватись або зникати в ґрунті впродовж зими чи розсіюватись настільки, що їхня концентрація стає недостатньою. Тому щорічне внесення інокулянтів часто забезпечує стабільне підвищення врожайності.

Інокулянти також впливають на природну мікрофлору ґрунту — вони стимулюють зростання певних мікроорганізмів, які здатні розкладати складні органічні речовини. У результаті збільшується кількість доступних поживних речовин, які можуть використовуватись як корисними бактеріями в ризосфері (зоні біля коренів), так і самими рослинами. Крім того, використання інокулянтів може поступово змінювати мікробну спільноту ризосфери: зростає частка корисних мікроорганізмів і зменшується кількість потенційно шкідливих, що сприяє кращому захисту рослин від хвороб [13].

Здатність бактерій, таких як *Rhizobium*, фіксувати азот чи розчиняти фосфор обумовлена наявністю спеціальних генів. Більшість ґрунтових мікроорганізмів таких генів не мають, проте відомо, що ризобії можуть передавати ці гени іншим бактеріям у ґрунті — через процес горизонтального переносу генів. Це означає, що місцеві мікроорганізми можуть набути здатності утворювати бульбочки на коренях бобових культур. Однак покладатися лише на цей процес не варто, адже навіть у разі успішної передачі генів, природні мікроорганізми зазвичай поступаються ефективністю спеціалізованим штамам з комерційних інокулянтів. Таким чином, виникає потреба у більш ефективних і передбачуваних методах покращення мікробіологічних функцій ґрунту.

1.3 Основні мікроорганізми, що входять до складу біоінокулянтів

Саме через обмежену ефективність природних процесів та необхідність посилення біологічних функцій ґрунту, сучасні біотехнології у сільському господарстві активно використовують мікроорганізми у формі біоінокулянтів як

екологічно безпечну альтернативу мінеральним добривам та хімічним засобам захисту рослин. Біологічні інокулянти, що містять корисні мікроорганізми, застосовуються для покращення живлення, стимуляції росту, підвищення стійкості до стресів та захисту від патогенів. Вони не лише сприяють підвищенню врожайності, а й покращують структуру та біологічну активність ґрунту.

Основними компонентами біоінокулянтів є корисні мікроорганізми, здатні вступати у симбіотичні або асоціативні взаємодії з рослинами. Серед таких мікроорганізмів виділяють кілька основних груп: азотфіксуючі бактерії, фосфатмобілізуєчі мікроорганізми, мікоризні гриби та антагоністи фітопатогенів [14].

Азотфіксуючі бактерії. Азот — ключовий елемент живлення рослин, однак у ґрунті його доступна форма швидко вичерпується. Значна частина атмосферного азоту (N_2) не може бути засвоєна безпосередньо, тому мікроорганізми, здатні фіксувати азот, мають велике значення.

Ця група мікроорганізмів є найбільш поширеною в складі біоінокулянтів, завдяки своїй здатності фіксувати атмосферний азот і перетворювати його у доступні форми для рослинного живлення. Центральну роль у цьому процесі відіграє фермент нітрогеназа, що забезпечує відновлення молекулярного азоту (N_2) до амонію (NH_4^+). Амоній є безпосередньою формою азоту, яку рослини здатні поглинати. Цей процес є енергоємним, тому симбіотичні бактерії отримують вуглеводи від рослини-господаря як джерело енергії. Основними представниками даної групи є:

Rhizobium leguminosarum, Rhizobium etli, Sinorhizobium spp. — симбіотичні бактерії, що утворюють бульбочки на коріннях бобових, де фіксують атмосферний азот у вигляді амонію (NH_4^+). Вони є специфічними до виду рослини.

Bradyrhizobium japonicum — використовується для інокуляції сої. Має повільніший життєвий цикл, але забезпечує тривалу фіксацію азоту.

Azospirillum brasilense, *Azospirillum lipoferum* — асоціативні бактерії, що прикріплюються до коренів злакових культур (кукурудза, сорго, пшениця). Вони також продукують фітогормони (ауксини), що стимулюють розвиток кореневої системи.

Azotobacter chroococcum, *Azotobacter vinelandii* — вільноживучі бактерії, здатні фіксувати атмосферний азот незалежно від симбіозу. Також виділяють вітаміни, амінокислоти та антимікробні сполуки [15].

Фосфатмобілізуючі мікроорганізми. Фосфор — другий за значенням макроелемент, важливий для енергообміну, фотосинтезу та формування коренів. У більшості ґрунтів значна частина фосфору пов'язана у формі нерозчинних фосфатів кальцію, заліза та алюмінію.

Основні представниками фосфатмобілізуючих мікроорганізмів є:

Bacillus megaterium, *Bacillus polymyxa* — продукують органічні кислоти (глюконову, лимонну), які переводять фосфор у розчинну форму.

Pseudomonas fluorescens, *Pseudomonas putida* – колонізують ризосферу, розчиняють фосфати та пригнічують патогени [16].

Aspergillus niger, *Penicillium bilaii* — мікроскопічні гриби, що виділяють кислоти, які розчиняють фосфати у ґрунті.

Механізм їх дії заключається в наступному: виділені ними органічні кислоти або ферменти (наприклад, фосфатази) знижують рН у мікрзоні ризосфери, сприяючи розчиненню нерозчинних сполук фосфору.

Мікроорганізми-стимулятори зростання (PGPR) це група бактерій, що покращують ріст і розвиток рослин завдяки непрямим (антипатогенна активність) або прямим (гормональна стимуляція) механізмам. До них відносяться *Azospirillum spp.*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Paenibacillus polymyxa*.

Вони синтезують фітогормони: ауксинів (індол-3-оцтової кислоти), гіберелінів, цитокінінів; виділяють вітаміни, амінокислоти, ферменти, що

покращують проростання насіння та розвиток коренів; забезпечують індукцію системної резистентності рослин до патогенів.

Мікоризні гриби: *Glomus intraradices* (*Funneliformis mosseae*), *Rhizophagus irregularis* – ендомікоризні гриби, які утворюють внутрішньоклітинні асоціації [17]. *Laccaria bicolor*, *Pisolithus tinctorius* — ектомікоризні гриби, що колонізують коріння дерев.

Мікориза — це симбіотичний зв'язок між грибами та корінням рослин, що забезпечує розширення зони поглинання води та питних речовин, особливо фосфору та мікроелементів. Гіфі грибів проникають у ґрунт глибше та ефективніше за коріння, забезпечуючи поглинання води, макро- та мікроелементів, а також виділення ферментів, що покращують доступність питних речовин

Антагоністичні та біозахисні мікроорганізми пригнічують ріст збудників хвороб, сприяючи зниженню ураження кореневої системи.

Зокрема, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* — гриби-антагоністи, що виробляють ферменти (хітинази, глюканази), які руйнують клітинні стінки патогенів. *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* — виділяють антибіотики (сурфактин, ітурин), конкуренціюють за нішу та поживні речовини. *Streptomyces spp.* – продукують понад 60% відомих природних антибіотиків[18].

У цьому розділі було детально розглянуто основні групи мікроорганізмів, що входять до складу сучасних біологічних інокулянтів. Проаналізовано їхні ключові механізми дії та значну агрономічну роль. Проведений аналіз літературних джерел і наукових даних засвідчив, що інтеграція мікроорганізмів у сільськогосподарські практики забезпечує широкий спектр позитивних ефектів на ґрунтову мікробіоту, ріст і розвиток рослин, а також на загальну стабільність екосистеми агроценозу.

Азотфіксуючі бактерії, такі як *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* і *Azotobacter* є критично важливими для забезпечення рослин доступним азотом без

необхідності внесення великих доз мінеральних добрив. Вони можуть ефективно замінити або доповнити традиційні джерела азоту, зменшуючи енерговитрати та негативний вплив на довкілля.

Фосфатмобілізуючі мікроорганізми, зокрема *Bacillus*, *Pseudomonas* і деякі деякі гриби (*Penicillium*, *Aspergillus*), дозволяють більш ефективно використовувати фосфор, наявний у ґрунті, завдяки його переведенню з нерозчинної у розчинну форму [19].

Мікроорганізми-стимулятори росту (PGPR), такі як *Bacillus subtilis*, *Enterobacter* та інші, що продукують фітогормони, вітаміни та ферменти, що покращують розвиток рослин на ранніх етапах онтогенезу, а також підвищують їх стійкість до стресів. Вони діють як біологічні регулятори росту та можуть бути важливою частиною комплексних біопрепаратів.

Мікоризні гриби, такі як *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus irregularis*, розширюють зону живлення кореневої системи, полегшують поглинання води та питних речовин, особливо в посушливих умовах, а також покращують структурний стан ґрунту та його біологічну активність.

Окрему роль відіграють мікроорганізми-антагоністи — *Trichoderma*, *Bacillus*, *Streptomyces* та інші, які виконують функції біологічної захисту, пригнічуючи розвиток фітопатогенних грибів, бактерій та нематод. Застосування таких мікроорганізмів є альтернативою хімічним фунгіцидам, що знижує пестицидне навантаження на агроєкосистему [20].

Таким чином, мікроорганізми, що входять до складу інокулянтів, мають різноспрямовану дію — від покращення мінерального живлення до захисту від хвороб та стимулювання росту рослин. Їхнє застосування є одним із ключових елементів у переході до ресурсоефективного, біологічного та сталого землеробства. Враховуючи зростаючу потребу в екологічно безпечних технологіях, інокулянти на основі мікроорганізмів виступають не лише як

альтернатива хімічним удобренням та ЗЗР (засоби захисту рослин), але і як інструмент для підтримки здоров'я ґрунтів та підвищення продовольчої безпеки.

РОЗДІЛ 2

ВПЛИВ БІОІНОКУЛЯНТІВ НА ІМУНІТЕТ РОСЛИН

2.1. Актуальність проблеми підвищення імунітету рослин

Хвороби рослин, викликані різноманітними патогенами, становлять значну загрозу для світової продовольчої безпеки, призводячи до катастрофічного зниження врожайності. За останніми дослідженнями, глобальні втрати врожаю від патогенів та шкідників варіюються в широких межах: від 10,1%–28,1% для пшениці, 24,6%–40,9% для рису, 19,5%–41,1% для кукурудзи, 8,1%–21,0% для картоплі та 11,0%–32,4% для сої. Примітно, що більше половини цих втрат спричинені саме хворобами. Це підтверджує важливість і необхідність розробки ефективних стратегій боротьби з ними.

Традиційно, контроль хвороб у сільському господарстві значною мірою покладався на хімічні засоби. Однак такий підхід є нестійким у довгостроковій перспективі через його негативний вплив на навколишнє середовище та зростаючі проблеми, пов'язані з надзвичайною кліматичною ситуацією. Ці фактори вимагають переосмислення сучасних аграрних практик та пошуку екологічно безпечних рішень.

Саме тому генетичне поліпшення імунітету рослин визнано найбільш ефективним і сталим підходом до боротьби з хворобами сільськогосподарських культур. За останнє десятиліття наше розуміння імунітету рослин, як на молекулярному, так і на геномному рівнях, значно покращилося. Імунні рецептори рослин, які кодуються так званими генами резистентності або «R-генами», були успішно клоновані та охарактеризовані. Ці R-гени, що використовуються селекціонерами вже понад століття, є доведеною генетичною основою фенотипів стійкості до хвороб.

Впровадження генетично обумовлених форм стійкості до хвороб пропонує потужний потенціал для переходу до екологічно чистого, маловитратного та

сталого сільського господарства. У контексті глобальних змін, викликаних зміною клімату, а також зростання кількості шкідників, хвороб та інвазій, підвищення імунітету рослин стає абсолютно необхідним. Це дозволить полегшити потрясіння, спричинені глобальним потеплінням та ланцюгом його складних побічних ефектів.

Такі взаємопов'язані фактори, як глобальна зміна клімату, інтенсифікація світової торгівлі та постійна еволюція популяцій патогенів, спільно сприяють виникненню нових загроз для рослинного світу. У результаті, здатність рослин ефективно розпізнавати, реагувати та захищатися від цих патогенів набуває критичного значення не тільки для виживання природних екосистем, але й для забезпечення стабільності та стійкості сільськогосподарського виробництва.

У відповідь на ці зростаючі виклики та з метою посилення природних захисних механізмів рослин, сучасна агрономія все активніше звертається до біотехнологічних рішень, зокрема до використання біоінокулянтів.

Ці мікробні препарати на основі симбіотичних чи вільноживучих корисних мікроорганізмів здатні не лише покращувати живлення рослин, а й активувати їх імунну систему. Завдяки своїм біологічним властивостям вони можуть значно зменшити потребу у хімічному захисті та сприяти формуванню стійкості до широкого спектру патогенів.

Особливо цікавим є той факт, що багато корисних мікроорганізмів, включених до складу біоінокулянтів, не є патогенами, але мають здатність стимулювати **індукований імунітет рослин**. Таке явище ґрунтується на засадах молекулярного розпізнавання та активації захисних відповідей без прямого інфікування, що забезпечує рослинам довготривалий та неспецифічний захист.

Щоб протистояти цим викликам, вчені досліджують різні стратегії для підвищення імунітету рослин. Один із підходів передбачає *ідентифікацію та маніпулювання генами, залученими до імунної відповіді*. Шляхом посилення

активності специфічних імунних рецепторів або сигнальних білків можна підвищити здатність рослини виявляти патогени та реагувати на них ефективніше.

Ще одна багатообіцяюча стратегія — **використання засобів біологічного контролю**, таких як корисні мікроби, для стимулювання імунної відповіді рослин. Ці мікроби можуть витіснити/конкурувати зі шкідливими патогенами або безпосередньо індукувати імунітет рослин. Цей підхід, відомий як індукована системна стійкість (ISR), стимулює імунну систему рослини, роблячи її більш сприйнятливою до атак. Зусилля в галузі селекції та генної інженерії також спрямовані на створення сільськогосподарських культур із сильнішою та стійкішою імунною системою. Впроваджуючи або посилюючи специфічні гени стійкості, вчені можуть створювати рослини, які краще протистоять інфекціям. Оскільки хвороботворні мікроорганізми продовжують розвиватися та з'являтися, розуміння імунітету рослин і розробка нових стратегій для його зміцнення буде фундаментальним для забезпечення продовольчої безпеки та захисту екосистем у всьому світі.

У цьому розділі розглянуто структурно-функціональні особливості імунної системи рослин, ключові етапи її активації, а також механізми, за допомогою яких біоінокулянти ініціюють систему захисту. Особлива увага приділена взаємодії мікроорганізмів з кореневою системою, ролі сигнальних молекул та фітогормонів, а також конкретним прикладам ефективного застосування біоінокулянтів у захисті сільськогосподарських культур.

2.2. Імунна система рослин та механізми її активації біоінокулянтами

У сучасному сільському господарстві питання підвищення стійкості рослин до біотичних стресів, зокрема до фітопатогенів, набуває все більшої актуальності. Зростає увага до розробки біологічних методів стимуляції природної захисту рослин.

Рослини мають складну систему вродженого імунітету, яка дозволяє їм розпізнавати потенційно небезпечні мікроорганізми та запускати захисні механізми на клітинному та молекулярному рівнях. На відміну від тварин, рослини не мають мобільних імунних клітин, однак здатні до локального та системного реагування завдяки активації сигнальних шляхів, утворенню фітогормонів, захисних білків та антимікробних метаболітів [24].

В цілому імунна система рослин включає комплекс структурних, біохімічних та генетичних реакцій, спрямованих на розпізнавання та нейтралізацію патогенних агентів. Вона функціонує на двох основних рівнях: базовому імунітеті, викликаному молекулярними патернами (PTI) та специфічній реакції на ефектори патогенів (ETI). (рис 2.)



Рисунок 2. Імунна система рослин

РАМР-тригерований імунітет (РТІ)

РАМР-тригерований імунітет (РТІ) є першою лінією активного захисту рослин. Він активується після розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних патернів (РАМР). Ці консервативні молекулярні структури, що походять від мікроорганізмів, виявляються за допомогою рецепторів розпізнавання патернів (PRR), розташованих на плазматичній мембрані рослинних клітин. Прикладами РАМР є ліпополісахариди, пептидоглікани, хітин, флагелін, EF-Гц, ДНК та ергостерол.

Розпізнавання РАМР активує низку сигнальних шляхів, що ініціюють каскад захисних реакцій, таких як: утворення реактивних форм кисню (ROS), активація MAP-кіназ, експресія генів захисту, посилення синтезу фітоалексинів та зміцнення клітинної стінки [25]. Крім того, у розпізнаванні патогенних компонентів важливу роль відіграють білки-помічники та білки-«приманки» (decoy proteins). Ця широка та швидка захисна відповідь забезпечує ефективний захист рослин від різноманітних патогенів.

Ефектор-тригерований імунітет (ЕТІ)

Незважаючи на широкий захист, який забезпечує РТІ, деякі патогени розробили механізми подолання цієї першої лінії оборони. Ці збудники виділяють ефекторні білки, що пригнічують імунну відповідь рослини. Патогени також експлуатують білки господаря, кодовані генами чутливості рослин (S-генами), для успішного проникнення та розмноження, що може призвести до розвитку хвороби.

У відповідь на ефекторні білки патогенів, які пригнічують РТІ, рослини розвинули другий рівень імунітету, відомий як ефектор-тригерований імунітет (ЕТІ). ЕТІ є більш специфічним і базується на розпізнаванні конкретних ефекторів патогенів за допомогою внутрішньоклітинних R-білків. Більшість цих R-білків належать до класу нуклеотид-зв'язуючих олігомеризаційно-подібних рецепторів (NLR). Розташовані всередині рослинної клітини, вони можуть безпосередньо

взаємодіяти з ефекторами патогенів або виявляти їхній вплив на клітинні мішені, що призводить до більш локалізованої та інтенсивної імунної відповіді [22].

ЕТІ часто пов'язаний із реакцією гіперчутливості (HR). Під час HR клітини в місці інфікування зазнають запрограмованої клітинної смерті, спрямованої на обмеження поширення збудника. Ця загибель клітин створює бар'єр, який ізолює патоген, запобігаючи його подальшому поширенню по рослині.

Виклики для імунітету рослин: адаптація патогенів та зовнішні фактори

Попри ефективність складної імунної системи рослин, нові (емерджентні) патогени створюють дедалі більші виклики для їхнього здоров'я. Під новими патогенами розуміють ті, що нещодавно з'явилися або чия частота чи тяжкість зросла.

Зміна клімату суттєво впливає на поширення нових та більш вірулентних збудників хвороб рослин. Зміни температури та режиму опадів створюють умови, які сприяють росту та поширенню певних патогенів. Наприклад, вищі температури можуть сприяти розвитку грибкових і бактеріальних інфекцій, тоді як зміна режиму опадів може підвищити ризик поширення хвороботворних мікроорганізмів, що передаються через воду.

Крім зміни клімату, глобальна торгівля відіграє важливу роль у переміщенні патогенів у нові регіони. Коли рослинні матеріали (наприклад, насіння або продукція) експортуються між країнами, вони можуть переносити патогени, з якими місцеві рослини раніше не стикалися. Без попереднього контакту з цими патогенами місцеві рослини часто не мають імунної відповіді, необхідної для захисту. Відсутність імунітету в поєднанні зі здатністю патогенів до адаптації означає, що нові загрози можуть завдати значної шкоди культурам та екосистемам.

Багато нових патогенів здатні швидко еволюціонувати, що ускладнює формування ефективної імунної відповіді у рослин. Деякі патогени можуть

набувати нових факторів вірулентності або розвивати резистентність до імунного захисту рослини. Наприклад, вони можуть змінювати структуру своїх ефекторних білків, уникаючи таким чином виявлення R-білками, що знижує ефективність імунної системи господаря. Еволюція стійкості патогенів до імунних реакцій рослин є серйозною проблемою для сільського господарства, де поширене використання стратегій резистентності одного гена [23].

Системна імунна відповідь: SAR та ISR

Імунна система рослин не обмежується лише локальними реакціями. Важливою складовою захисту є системна імунна відповідь, яка охоплює весь організм рослини та забезпечує стійкість не тільки у місці первинного контакту з патогеном, а й у віддалених тканинах. Системна імунна відповідь поділяється на два основні типи:

Системний набутий опір (SAR, Systemic Acquired Resistance) — активується у відповідь на патогенні інфекції або специфічні сигнальні молекули, які зазвичай пов'язані із саліциловою кислотою.

Індукований системний опір (ISR, Induced Systemic Resistance) — викликається корисними (непатогенними) мікроорганізмами, зокрема біоінокулянтами, і базується на сигнальних шляхах жасмонової кислоти та етилену.

Обидві системи мають спільні риси, зокрема здатність формувати примінг — підвищену готовність рослини до активації захисних реакцій при подальших інфекціях. Проте механізми ініціації, молекулярні сигнальні шляхи та ефекторні відповіді у SAR та ISR суттєво відрізняються.

Системний набутий опір (SAR) – це форма імунної пам'яті рослин, яка розвивається після локального зараження патогеном. Після первинного інфікування активується складний сигнальний каскад, що забезпечує довготривалий та неспецифічний захист в інших (неінфікованих) частинах

рослини. SAR може зберігатися протягом кількох тижнів, навіть у новостворених листках [27].

Активация SAR зазвичай відбувається в результаті: гіперчутливої реакції (HR), що супроводжується локалізованим некрозом клітин; акумуляції саліцилової кислоти (SA) у заражених та системних тканинах; синтезу PR-білків (pathogenesis-associated proteins), які мають захисні властивості.

Ключовим етапом є передача сигнальних молекул, таких як: саліцилова кислота (SA) ($C_7H_6O_3$) – основний сигнальний гормон SAR.;

метилсаліцилат ($C_8H_8O_3$) — легка форма SA, яка транспортується через судинну систему або дифундує до сусідніх тканин.

азелаїнова кислота ($C_9H_{16}O_4$), піпколінова кислота (Pip) ($C_6H_5NO_2$), гліцерол-3-фосфат ($C_3H_9O_6P$)— потенційні підсилювачі системного сигналу.

У відповідь на SAR активується експресія широкого спектру PR-білків, таких як: PR-1 - маркерний білок SAR, що має фунгіцидну дію; PR-2 (β -1,3-глюканаза) — руйнує клітинні стінки грибів; PR-3 (хітиназа) — гідролізує хітин, що входить до складу клітинної стінки грибів. Ці білки накопичуються у міжклітинному просторі, утворюючи фізичний та хімічний бар'єр для патогенів.

Індукований системний опір (ISR) - це форма захисту рослин, що активується при взаємодії з корисними мікроорганізмами, такими як PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria), наприклад: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*

На відміну від SAR, ISR не супроводжується накопиченням саліцилової кислоти та не викликає синтезу PR-білків до появи патогену. Натомість рослина перебуває у стані підвищеної готовності — примінгу, що дозволяє швидко та ефективно реагувати на майбутню атаку [28].

ISR активується через гормональні сигнали, такі як: жасмонова кислота (JA) ($C_{12}H_{18}O_3$) відповідає за захист від некротрофних патогенів і комах; етилен (ET) (C_2H_4)— регулює синергічні чи антагоністичні реакції з іншими гормонами.

Після активації ISR у рослинах спостерігається: посилення антиоксидантної активності (каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза); прискорене утворення ROS після інфікування; зміцнення клітинної стінки (лігніфікація, утворення калозних включень); активація локальних механізмів захисту без пошкодження тканин. ISR часто ефективний проти некротрофних патогенів, на відміну від SAR, що краще діє проти біотрофів.

Нижче наведено таблицю 2.1., в якій описано характеристику **SAR та ISR**

Застосування біоінокулянтів, які активують SAR або ISR, є потужним інструментом для біологічної захисту рослин. Завдяки їх дії підвищується толерантність до патогенів без використання хімічних речовин; зменшується частота ураження хворобами на 30–70%; покращується загальний фітосанітарний стан посівів; підвищується врожайність та якість продукції.

Таблиця 2.1.

Характеристика SAR та ISR

Характеристика	SAR (Системний набутий опір)	ISR (Індукований системний опір)
Тригер (ініціатор)	Патогенні мікроорганізми (біотрофи)	Корисні мікроорганізми (PGPR)
Основний сигнальний шлях	Саліцилова кислота	Жасмонова кислота, етилен
Тип патогенів	Біотрофні патогени	Некротрофні патогени, комахи
Наявність некрозу (HR)	Так, часто супроводжується HR	Ні
Синтез PR-білків	Активується	Не активується до інфікування
Стан «примінг»	Помірний	Виражений, з підвищеною готовністю
Сигнальні молекули	Саліцилова кислота, метилсаліцилат,	Ліпopeптиди, сидерофори,
Тривалість ефекту	Довготривалий	Помірно тривалий

Реактивні форми кисню (ROS)	Індукуються після активації	Готовність до швидкої індукції
Зміцнення клітинної стінки	Помірне	Активне (лігніфікація, калоза)
Тип захисту	Системна захисна відповідь проти подібних патогенів	Системна неспецифічна резистентність
Приклади активаторів	* <i>Pseudomonas syringae</i> *, віруси, гриби	* <i>Bacillus subtilis</i> *, * <i>Pseudomonas fluorescens</i> *

В рамках сталої агрономії інтеграція біоінокулянтів у системи управління хворобами сприяє збереженню ґрунтової мікробіоти, біорізноманіття та екологічної безпеки [29].

Біоінокулянти — це живі мікроорганізми (бактерії, гриби або їх комплекси), які позитивно впливають на ріст рослин, біодоступність елементів живлення та стійкість до стресів. Серед них особливо важливі ризобактерії, що стимулюють ріст рослин (PGPR), а також ендofіти та деякі мікоризні гриби.

Багато біоінокулянтів можуть індукувати ISR, стимулюючи захисні шляхи без прямої інфекції.

Наприклад, *Pseudomonas fluorescens* — стимулює ISR через JA/ET-залежні шляхи, підвищуючи стійкість до грибкових і бактеріальних патогенів. *Bacillus subtilis* — індукує синтез антифунгальних метаболітів і активує гени, пов'язані з імунною відповіддю. Арбускулярні мікоризні гриби (AMF) — зміцнюють клітинні стінки, підвищують активність антиоксидантних ферментів і сприяють накопиченню захисних сполук.

Механізми, за допомогою яких біоінокулянти активують імунітет рослин, включають:

Молекулярні сигнали (elicitors) — мікробні молекули, які розпізнаються як неінфекційні, але здатні активувати захисні шляхи.

Модифікація гормонального фону — стимуляція продукції фітогормонів, які впливають на баланс між ростом і захистом.

Праймінг (priming) — стан підвищеної готовності імунної системи, при якому реакція на майбутню загрозу буде швидшою та ефективнішою.

Важливу роль у захисті рослин відіграють фітогормони SA та JA. Різні дослідження показали, що сигнали, опосередковані SA та JA, взаємодіють між собою (перехресні перешкоди SA-JA), регулюючи вроджений імунітет рослин проти патогенів. SA та JA, які є антагоністичними захисними гормонами, що беруть участь у захисті від біотрофів та некротрофів, накопичуються на високих рівнях під час внутрішньоклітинної інвазії.

Рослинні гормони SA та JA функціонують як критичні вторинні сигнальні молекули в імунітеті рослин. У відповідь на взаємодію рослина-патоген, первинні сигнальні шляхи впливають на рівні та активність SA та JA. Примітно, що обробка розсади огірка інгібіторами синтезу SA блокувала накопичення ендогенної SA та робила рослини більш сприйнятливими до пошкоджень, спричинених низькими температурами. Інгібування синтезу SA при низькотемпературному стресі призвело до накопичення перекису водню, що підкреслює важливість SA у відповідь на низькотемпературний стрес шляхом регулювання експресії генів, що реагують на низькі температури, та внутрішньоклітинного рівня перекису водню. JA бере участь у толерантності до низьких температур та замерзання. Примітно, що екзогенний JA підвищив морозостійкість *Arabidopsis*, тоді як мутації в генах біосинтезу JA підвищили чутливість до замерзання. Крім того, JA також пов'язаний з солестійкістю. Зокрема, гілка шляху синтезу JA, що каталізується аленоксидциклазою через MYC2-залежні та АВА-незалежні шляхи, відповідає за JA-опосередковану підвищену солестійкість рослин [30].

2.3. Роль біоінокулянтів у захисті від стресових факторів

Рослини постійно стикаються з різними біотичними та абіотичними стресами, які суттєво впливають на продуктивність сільського господарства та знижують доходи фермерів, особливо в умовах зміни глобального клімату. Ці екологічні стреси можуть прискорити старіння рослин, викликаючи осмотичний

стрес, стрес від нестачі поживних речовин, гормональний дисбаланс, вироблення активних форм кисню (АФК) та іонну токсичність. Крім впливу на здоров'я рослин, ці стреси погіршують стан ґрунту, впливаючи на його мікробне різноманіття. Для боротьби з цим глобальним проступком сільського господарства пропонується кілька методів зменшення негативного впливу різних видів стресів, одним з яких є застосування корисних мікроорганізмів або біоінокулянтів. Корисні мікроорганізми, що використовуються як біоінокулянти, не тільки сприяють росту рослин, задовольняючи потреби в поживних речовинах, але й допомагають рослинам протистояти цим стресам.

Постійна зміна клімату є найактуальнішою проблемою, що впливає як на здоров'я людини, так і на здоров'я рослин, ставши обмежувальним фактором для сільськогосподарської продуктивності. Внесок антропогенної діяльності набагато вищий, ніж природних факторів глобальної зміни клімату. Більшість рослин не в змозі достатньо швидко адаптуватися до швидких змін в екосистемах, спричинених глобальним потеплінням. Підвищення температури (близько 4 °С) наприкінці ХХ століття призвело до скорочення виробництва основних зернових культур у світі, а саме пшениці, рису та кукурудзи, а також до збільшення споживання продуктів харчування, що створює серйозну загрозу продовольчій безпеці. Вплив глобального потепління на сільськогосподарську продуктивність став предметом досліджень науковців протягом останніх десятиліть. Однак, рослини одночасно зазнають багатьох абіотичних та біотичних стресів, що ускладнює їхню реакцію через перекриття різних шляхів відповіді на стрес [31].

У країнах, що розвиваються, зі зростаючим населенням, виробництво сільськогосподарських культур необхідно збільшувати. Однак сільськогосподарські культури стикаються з багатьма абіотичними стресами, включаючи високу солоність, екстремальні температури (холод та спека), повені, важкі метали, радіацію та посуху. Ці фактори значно знижують розвиток рослин, впливаючи на їхні метаболічні процеси. Деякі з ключових клітинних змін, що

відбуваються у відповідь на абіотичний стрес, включають порушення організації та динаміки цитоскелету, зміну товщини клітинної стінки та апопластичної щілини, зменшення протоплазму, порушення або набрякання тилакоїдної мембрани та розсіяний потенціал мітохондріальної мембрани вздовж розтягнутих крист. Організація та динаміка цитоскелету мають вирішальне значення для реакції рослин на різноманітні абіотичні стреси, хоча за несприятливих умов функції цитоскелету порушуються. Наприклад, екологічний та клітинний дисбаланс іона Na^+ є вирішальним фактором для реструктуризації кортикальних мікротрубочок спочатку шляхом деполімеризації, а потім реполімеризації. Однак кількість клітин з реполімеризованими мікротрубочками є невеликою за умов вищої солоності.

За даними, важкі метали, такі як свинець (Pb) та мідь (Cu), переривають поділ клітин під час інтерфази, спотворюючи мітотичні веретена та викликаючи помилкову міграцію хромосом. Pb/Cu запускають деполімеризацію мікротрубочок та утворення аберантних масивів мікротрубочок зі скошеними, хвилястими пучками мікротрубочок та кільцеподібними агрегатами тубуліну. Аналогічно, мікрофіламент цитоскелета рослинних клітин деполімеризується у відповідь на тепловий шок, при цьому активно залучається актиновий цитоскелет. Кілька компонентів цитоскелета, включаючи актинові філаменти та мікротрубочки, змінюються з точки зору накопичення ізоформ, що впливає на проростання пилкових трубок, ріст та локалізацію білка, залежно від цілісності та динаміки цитоскелету. На відміну від теплового стресу, кортикальні мікротрубочки та полімеризовані мікрофіламенти деполімеризуються у відповідь на холодний стрес. Крім того, знижується активність ферментів клітинної стінки та плинність плазматичної мембрани рослинної клітини. Однак, моделі експресії тубуліну зміщуються, і формуються більш стійкі до холоду мікротрубочки.

Більшість стресів експоненціально індукують утворення активних форм кисню (АФК), викликаючи пошкодження клітин шляхом руйнування ліпідів,

білків, нуклеїнових кислот, інактивації ферментів, а також можуть викликати запрограмовану загибель клітин. Абіотичні стреси знижують врожайність основних сільськогосподарських культур до 50%. За даними, близько 65,8% врожаю кукурудзи, 82,1% пшениці, 69,3% сої та 54,1% картоплі втрачається через ці абіотичні стреси. Засолення ґрунту та тривала посуха є двома основними стресами серед усіх абіотичних стресів в епоху глобальної зміни клімату. За високої засоленості рослини стикаються з дисбалансом поживних речовин, зниженням фотосинтезу, зниженням фотодихання та порушенням гомеостазу заліза, тоді як у разі тривалої посухи та спеки зазвичай значно знижується швидкість проростання насіння, поділ клітин та швидкість фотосинтезу рослин [32].

Згідно зі звітом про світові ґрунтові ресурси (ФАО, 2000), основні абіотичні стреси, такі як посуха, холод і засолення, впливають відповідно на близько 64, 54 та 6% всієї площі суші Землі. Приблизно 5% сільськогосподарської врожаю в країнах, що виробляють основні продукти харчування, і приблизно 17% врожаю в інших тропічних, напівпосушливих і пустельних регіонах щорічно втрачається через ці тривалі посухи. Окрім цих основних абіотичних стресів, екстремальні температури, ультрафіолетове випромінювання та важкі метали також значно знижують виробництво сільськогосподарських культур у всьому світі. На кожне підвищення середньорічної температури на 1 °С врожайність пшениці, рису, кукурудзи та сої знижується на 6%, 3,2%, 7,4% та 3,1% відповідно.

Тим не менш, біотичні стреси також негативно впливають на виробництво сільськогосподарських культур у всьому світі, близько 20–40% світової сільськогосподарської продукції щорічно втрачається через різних шкідників, включаючи хвороби, комах, бур'яни та диких тварин. Різні ґрунтові гриби, ооміцети, бактерії та нематоди спричиняють приблизно 7–15% втрат врожаю через низку механізмів, включаючи пошкодження кореневої системи, викид токсинів, вироблення активних форм кисню, зниження швидкості фотосинтезу

тощо. Близько 28,2% врожаю пшениці, 37,4% врожаю рису, 31,2% врожаю кукурудзи, 40,3% врожаю картоплі та 28,8% врожаю бавовни можуть бути втрачені у всьому світі через ці біотичні стресові агенти.

Для боротьби з різними типами стресів використовується кілька підходів, таких як генна інженерія рослин, хімічний контроль та розробка стресостійких сортів. Однак більшість цих стратегій не є сталими, економічними чи екологічними. Застосування корисних мікроорганізмів як біоінокулянтів може бути гарною альтернативою для стимулювання росту рослин за різних типів стресів, особливо абіотичних. Біоінокулянти складаються з живих або сплячих клітин ефективних мікробних штамів, які сприяють росту рослин, задовольняючи потреби в поживних речовинах або вивільняючи гормони росту рослин чи здійснюючи інші біологічні дії, такі як боротьба зі шкідниками. Окрім задоволення потреб рослин у поживних речовинах, мікроби, що використовуються як біоінокулянти, допомагають пом'якшити низку біотичних та абіотичних стресів.

Існують кілька механізмів для пояснення того, як ці мікробні інокулянти покращують ріст рослин за різних типів стресових умов, виробляючи різні типи біологічних речовин, такі як:

- вироблення фітогормонів;
- формування біоплівки;
- вироблення антиоксидантів, кріопротекторів, білків теплового шоку;
- солубілізація мінералів, таких як фосфор (P), калій (K) та цинк (Zn);
- фіксація азоту (N) та відновлення важких металів шляхом біоаккумуляції;
- біотрансформації та біосорбції;
- вироблення сидерофора, антибіотиків, гідролітичних ферментів, (протеази, целюлази, хітинази та β -глюканази);
- вироблення летких сполук.

Деякі мікроби також посилюють індуковану систематичну стійкість (ISR) та системну набуту стійкість (SAR), за допомогою яких вони пригнічують негативний вплив шкідників.

Таким чином, використання біоінокулянтів може бути економічним підходом для підвищення врожайності сільськогосподарських культур за різних стресових сценаріїв.

РОЗДІЛ 3

БІОІНОКУЛЯНТИ У СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЯХ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

3.1. Використання біоінокулянтів у сільському господарстві

Швидке зростання населення світу значно збільшило попит на продукти харчування, що призвело до інтенсифікації сільськогосподарських практик. Однак інтенсивні нестійкі методи ведення сільського господарства ставлять під загрозу продовольчу безпеку, економіку та навколишнє середовище в усьому світі.

Зміна клімату становить значну загрозу для світового виробництва продуктів харчування, оскільки підвищення температури, зміна режиму опадів та частіші екстремальні погодні явища можуть змінити стадії життєвого циклу та темпи розвитку фітопатогенів. Наукові прогнози свідчать що, за найсуворішого сценарію зміни клімату та без стратегій адаптації, змодельовані втрати врожайності сільськогосподарських культур коливатимуться від 7 до 30% протягом середини століття (2040–2069). Внесок антропогенної діяльності в глобальну зміну клімату значно вищий, ніж природних факторів, і більшість рослин не в змозі достатньо швидко адаптуватися до цих швидких змін в екосистемах. Наприклад, підвищення температури (близько 4 °C) наприкінці ХХ століття вже призвело до скорочення виробництва основних зернових культур у світі (пшениці, рису та кукурудзи), що створює серйозну загрозу продовольчій безпеці [34].

Людство завжди було стурбоване виробництвом їжі для задоволення зростаючого населення, і протягом тривалого часу рішенням було розширення сільського господарства на нові території. Однак протягом останніх десятиліть цей сценарій змінився. Обмеження невивчених орних земель, розвиток нових технологій, що дозволяють отримувати вищі врожаї, а також зростання екологічних проблем — усе це призводить до сільськогосподарської практики, спрямованої на досягнення сталого виробництва. Таким чином, хоча глобальний

попит на продовольство продовжує зростати, концепції стійкості сільського господарства, відновлення деградованих територій і пом'якшення впливу на навколишнє середовище набувають все більшої поваги [36].

Для підтримки сільськогосподарського виробництва фермери покладаються на використання великої кількості синтетичних агро добрив та пестицидів, що негативно впливає на здоров'я людини та навколишнього середовища. За даними ФАО (2021), синтетичні азотні добрива відповідають приблизно за 38% сільськогосподарських викидів, що утворюються внаслідок викиду закису азоту (N_2O) з ґрунту. Вплив поширюється на економічну та соціальну сфери, оскільки викиди азоту, що утворюються в сільському господарстві, становлять близько 200 мільярдів доларів США щорічно, а витрати на здоров'я людини та вплив на водні та наземні екосистеми становлять від 400 до 4000 мільярдів доларів США щорічно.

У 2021 році аграрний сектор, за оцінками, спожив близько 109 мільйонів тонн азотних добрив і 46 мільйонів тонн фосфорних. Приблизно 65% цих речовин втрачається в довкіллі внаслідок таких процесів, як випаровування, денітрифікація та взаємодія з органічними складниками ґрунту. Це спричинило зростання попиту на хімічні препарати, що призвело до надмірного застосування добрив, яке негативно впливає як на ґрунт і врожайність, так і на довкілля. Синтетичні добрива можуть завдати шкоди фізіологічним процесам живих організмів та порушити їхні природні біологічні взаємодії.

Протягом періоду з 1960 по 2015 рік спостерігалось значне зростання сільськогосподарського виробництва. Одночасно також процвітали індустріалізація та урбанізація, що створило довгий ланцюжок поставок харчових продуктів із переробкою та додаванням вартості. Крім того, попит на продукти харчування зріс через зростання доходів і зміну харчових звичок і вибору. Збільшення продуктивності аграрної галузі в ці роки званою мірою пов'язано із технологією зеленої революції (GRT), за рахунок гарантованого зрошення,

введення величезної кількості хімічних поживних речовин та вирощування високоврожайних сортів сільськогосподарських культур. Сучасне сільське господарство сприяло механізації, монокультурі, і зрештою створило тиск на систему сільськогосподарського виробництва, яка почала стикатися з численними проблемами, пов'язаними зі зменшенням земель та погіршенням водних ресурсів. Основними негативними наслідками GR, що спостерігалися, були погіршення фізико-хімічного та біологічного стану ґрунту, втрата біорізноманіття та генетична ерозія, екологічний дисбаланс, відродження шкідників і хвороб, виснаження/деградація ресурсів та зниження стресостійкості сільськогосподарських культур. Зрештою, це поставило під загрозу стійкість сільського господарства і спричинило генетичну ерозію, більшу сприйнятливість до абіотичного стресу і, отже, вразливість системи землеробства.

Таким чином, інноваційним підходом до сталого сільського господарства є використання мікробних інокулянтів. Ці біопродукти, що містять мікроорганізми, що стимулюють ріст рослин (PGPM), сприяють покращенню здоров'я ґрунту, посилюють кругообіг поживних речовин та підвищують стійкість рослин до стресових факторів навколишнього середовища, шкідників та хвороб. Сприяючи розвитку корисних мікробних спільнот у ґрунті, мікробні інокулянти збільшують доступність поживних речовин, покращують структуру ґрунту та зменшують залежність від хімічних добрив та пестицидів, які мають шкідливий вплив на навколишнє середовище. Використання цих біопродуктів відповідає принципам сталого сільського господарства, зменшуючи забруднення навколишнього середовища, викиди парникових газів та покращуючи біорізноманіття ґрунту, що зрештою сприяє створенню більш стійких та продуктивних сільськогосподарських систем в умовах зміни клімату.

Стійкість сільського господарства має першочергове значення для підтримки високого виробництва продуктів харчування. Безвідповідальне використання ресурсів не тільки негативно впливає на агроєкологію, але й знижує

економічну рентабельність виробничої системи. Серед різноманітних ресурсів ґрунт є одним із найважливіших ресурсів сільського господарства. Родючість ґрунту є запорукою досягнення високої продуктивності сільськогосподарських культур. Підтримка родючості та здоров'я ґрунту вимагає свідомих зусиль управління, щоб уникнути надмірної втрати поживних речовин, підтримувати вміст органічного вуглецю та мінімізувати забруднення ґрунту. Хоча використання хімічних добрив успішно покращило виробництво сільськогосподарських культур, їх поєднання з органічними добривами та іншими біоінокулянтами допомагає підвищити ефективність використання поживних речовин, покращує стан ґрунту та певною мірою пом'якшує деякі обмеження, пов'язані з надмірним внесенням добрив.

На додаток до поживних добавок, біоінокулянти мають інші корисні ефекти, такі як:

- стимуляція росту рослин;

- мобілізація та розчинення поживних речовин;

- знезараження та/або детоксикація ґрунту тощо.

Враховуючи наслідки зміни клімату, використання мікроорганізмів може розглядатися як відповідний варіант їх пом'якшення.

Враховуючи зростаючу кількість інновацій у галузі, компанії шукають покращену продуктивність та альтернативні системи в сільському господарстві. Це призвело до відповідного розширення ринку біоінокулянтів. За останні п'ять років у цій галузі було подано 822 патенти, 114 з яких пов'язані з біоінокулянтами. Досягнення в дослідженнях біоінокулянтів спонукали до оцінки різноманітних сільськогосподарських культур і сприяли розширенню цих біопродуктів, таких як промислове виробництво за допомогою пілотних біореакторів, що ефективно виробляють мікробну біомасу за потреби з мінімальною концентрацією 1×10^8 клітин/мл та подальші процеси, які полегшують застосування біопродуктів (у твердих композиціях із використанням носіїв - тальк, вермикуліт, іммобілізація у

відходах або рідких композиціях разом з іншими поживними речовинами, мінералами та біологічно активними речовинами).

Завдяки цим значним розробкам і зростанню комерціалізації регуляторні органи встановили стандарти якості, безпеки та ефективності. Індія, Бразилія, Канада, Австралія та Уругвай мають суворі стандарти якості щодо концентрації мікроорганізмів, ідентифікації, чистоти та умов застосування. Однак, у виробництві біоінокулянтів все ще існує кілька проблем, таких як взаємодія з навколишнім середовищем, подальші процеси, період напіврозпаду, великомасштабне застосування та польова ефективність [37].

Широке впровадження та ефективне використання мікробних інокулянтів стикається з кількома поточними та майбутніми викликами. До них належать забезпечення стабільної якості продукції, оптимізація методів застосування, адаптація інокулянтів до місцевих умов навколишнього середовища та подолання економічних, регуляторних та інтелектуальних бар'єрів. Вирішення цих викликів шляхом постійних досліджень, інновацій та цілеспрямованої політики матиме вирішальне значення для розкриття повного потенціалу мікробних інокулянтів у підтримці сталого сільського господарства та підвищенні глобальної продовольчої безпеки.

3.2. Біоінженерні підходи до створення ефективних біоінокулянтів

Сучасний розвиток біоінженерії відкриває широкі можливості для удосконалення біоінокулянтів — препаратів, що містять живі мікроорганізми та покращують ріст і розвиток рослин. Цілеспрямована модифікація штамів мікроорганізмів, удосконалення їх формуляцій, а також розробка нових методів доставки до рослини дозволяють значно підвищити ефективність, стабільність та специфічність дії біоінокулянтів (рис. 3)



Рисунок 3. Біоінженерні підходи до створення біоінокулянтів

Одним з найбільш перспективних біоінженерних підходів є *генетична модифікація мікроорганізмів* з метою покращення їх симбіотичних властивостей. Зокрема, дослідження з редагування геному за допомогою технології CRISPR-Cas9 дозволяють створювати штами, що демонструють підвищену здатність до фіксації азоту, синтезу фітогормонів або антагоністичної активності до фітопатогенів. Наприклад, у Польщі в межах проектів, фінансованих Національним центром науки (NCN), проводяться дослідження з генетичної модифікації штамів роду *Rhizobium* для підвищення ефективності симбіозу з бобовими культурами.

Іншим важливим напрямом є *метаболічна інженерія* — перенаправлення метаболічних потоків всередині клітин мікроорганізмів задля посиленого продукування корисних метаболітів (наприклад, індол-3-оцтової кислоти або сидерофорів). Такі підходи активно впроваджуються у США, Канаді, а також у Німеччині. У Польщі також функціонують біотехнологічні стартапи, які займаються оптимізацією продукції метаболітів у штаммах роду *Pseudomonas* для підвищення біозахисних властивостей біоінокулянтів [38].

Ще одним перспективним напрямом є використання *синтетичної біології*, яка дозволяє створювати повністю нові регуляторні конструкції для тонкої настройки експресії генів у мікроорганізмах. Такі системи можуть включати сенсори, що реагують на умови ґрунту, та активують відповідні гени лише за необхідності. Хоча в Україні цей напрям лише починає розвиватися, в Польщі такі

дослідження вже активно проводяться, зокрема у Варшавському університеті наук про життя (SGGW).

В Україні також ведуться дослідження у сфері створення біоінокулянтів, зокрема в Інституті мікробіології і вірусології НАН України, де фокус робиться на селекції ефективних штамів без прямої генетичної модифікації, а також на покращенні носіїв для стабілізації мікробіологічних препаратів. Проте, порівняно з Польщею, рівень комерціалізації та застосування сучасних біоінженерних технологій в Україні поки що обмежений через нестачу фінансування та регуляторні бар'єри.

Одним з найперспективніших підходів є саме використання технологій CRISPR для створення штамів-пробіотиків нового покоління. Поєднання високої специфічності цього інструменту з можливістю тонкої регуляції генної активності відкриває нові горизонти для покращення ефективності біоінокулянтів. Такий підхід дозволяє створити мікроорганізми, які не лише краще колонізують кореневу систему, але й адаптуються до змінних умов довкілля, що особливо важливо в умовах кліматичних змін.

Таким чином, біоінженерні методи становлять фундамент для наступного покоління біоінокулянтів. Успішна реалізація потенціалу цих технологій можлива лише за умов міждисциплінарної співпраці, належного фінансування та підтримки з боку державних структур і приватного сектору.

3.3. Перспективи розвитку технологій біоінокуляції

Наукові дослідження та практичні розробки у сфері біоінокуляції все більше зосереджуються на пошуку нових ефективних штамів мікроорганізмів. Завдяки розвитку методів молекулярної біології, зокрема метагеномного аналізу, з'явилася можливість ідентифікувати унікальні мікробні ізоляти з високим біоагрономічним потенціалом — здатністю фіксувати атмосферний азот, мобілізувати фосфор, синтезувати фітогормони, продукувати антимікробні сполуки та активізувати системну резистентність рослин. Важливим напрямом досліджень є формування

синергічних консорціумів, де кілька видів мікроорганізмів працюють у кооперації, доповнюючи функції один одного та демонструючи вищу ефективність у порівнянні з монокультурними біопрепаратами.

Значна увага приділяється також створенню новітніх носіїв біоінокулянтів. Перспективними є полімерні, гідрогелеві, кремнієві й наноструктурні основи, які забезпечують тривале збереження життєздатності мікроорганізмів, стабільне дозоване вивільнення в ризосферу та високу адаптивність до зовнішніх умов. Ідея капсульованих, рідких та мікрогранульованих форм із пролонгованою дією знаходить широке впровадження у практичному землеробстві, зокрема в системах краплинного зрошення, тепличному виробництві та точному внесенні [39].

Особливого значення набуває інтеграція біоінокуляції з технологіями точного землеробства. Використання геоінформаційних систем, агроскаутингу за допомогою дронів, дистанційного зондування та алгоритмів штучного інтелекту дає змогу визначати оптимальний час і дозу внесення біопрепаратів, відслідковувати їхню ефективність у реальному часі та знижувати ризики перевитрати або неефективного застосування. У поєднанні з цифровим аналізом мікробіому ґрунту це відкриває шлях до персоналізованої біоінокуляції — створення препаратів, максимально адаптованих до конкретного типу ґрунту, культури, кліматичних умов і агротехнічного фону.

В українських реаліях розвиток технологій біоінокуляції має особливу актуальність. З огляду на деградацію значної частини сільськогосподарських земель, надмірне використання агрохімікатів, а також виклики зміни клімату, саме біопрепарати стають альтернативою для екологізації аграрного сектору. Вітчизняні виробники активно розвивають лінійки біоінокулянтів, заснованих на наукових розробках українських академічних і прикладних інститутів.

Серед провідних українських підприємств варто відзначити:

ТОВ «БТУ-Центр» (м. Ладжин, Вінницька обл.) — один із лідерів вітчизняного ринку біопрепаратів. Компанія виробляє широкий спектр

інокулянтів для зернобобових, технічних і овочевих культур, серед яких варто згадати препарати Різогумін, Азотер, Фосфоентерін, які містять симбіотичні бактерії родів *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Bacillus* тощо. Препарати характеризуються високою біологічною активністю, стабільністю та широким спектром дії [40].

ТОВ «Ензим-Агро» — виробник лінійки інокулянтів під брендом Біона, серед яких Біона-Фікс, Біона-Фосфор, Біона-Калій. Ці біопрепарати забезпечують фіксацію атмосферного азоту, мобілізацію фосфору й калію, а також підвищення стійкості рослин до посухи й солонцюватості ґрунтів.

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України розробляє фундаментальні наукові підходи до створення нових штамів-продуцентів та консорціумів мікроорганізмів, які застосовуються як основа для виробництва інокулянтів промисловими партнерами.

ТОВ «Органік Стандарт» та інші сертифікаційні органи активно підтримують легалізацію та сертифікацію біоінокулянтів для органічного землеробства, що стимулює ріст вітчизняного ринку біопрепаратів.

Водночас існує потреба у подальшому вдосконаленні нормативно-правового регулювання обігу біопрепаратів, зокрема щодо стандартизації, реєстрації, сертифікації та контролю якості інокулянтів, з урахуванням міжнародних вимог (FAO, EFSA, IFOAM). Також важливим є розвиток освітньої та інформаційної підтримки для агровиробників з метою підвищення рівня обізнаності щодо правильного застосування біоінокулянтів, економічних вигод та екологічних переваг.

Варто зазначити, що біоінокуляція вже активно виходить за межі лише традиційного рільництва. Сфера її застосування охоплює тепличне господарство, вертикальне землеробство, рекультивацію техногенно порушених земель, лісове господарство, біофортифікацію ґрунтів, а також фіторе mediaцію токсичних речовин. За умов розробки нових формул інокулянтів для гідропонних і аеропонних систем біоінокуляція може знайти місце навіть у замкнених

агроекосистемах майбутнього — таких як системи вирощування рослин в умовах космосу або екстремального клімату [41].

Таким чином, перспективи розвитку біоінокуляції є надзвичайно широкими. Вони охоплюють міждисциплінарні напрями, включаючи мікробіологію, біотехнологію, агрономію, хімію матеріалів, ІТ-технології та екологію. Подальше зростання ролі біоінокулянтів у системах сталого сільського господарства стане можливим завдяки підтримці фундаментальних і прикладних досліджень, активному залученню бізнесу до інноваційних розробок, а також формуванню сприятливого правового поля. Україна, маючи потужний науковий потенціал і аграрну базу, має всі передумови для того, щоб стати лідером у впровадженні біоінокуляційних технологій як у себе, так і на міжнародному рівні.

У таблиці 3.1. вказано назви різних біоінокулянтів та цільову дію кожного з них.

Таблиця 3.1.

Характеристика різних біоінокулянтів

Назва препарату	Виробник	Активні мікроорганізми	Цільова дія	Форми випуску	Культури застосування	Особливості
Різогумін	ТОВ «БТУ-Центр»	Rhizobium leguminosarum	Фіксація атмосферного азоту	Рідка, торф'яна	Соя, горох, квасоля, нут	Один із найпоширеніших інокулянтів в Україні
Азотер	ТОВ «БТУ-Центр»	Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis	Фіксація азоту, фосфатмобілізація	Рідкий	Багато польових культур	Системна дія, стимулює ріст
Біона-Фікс	ТОВ «Ензим-Агро»	Azospirillum brasilense	Стимуляція росту, фіксація атмосферного азоту	Рідкий	Кукурудза, зернові, овочі	Підвищує стійкість до стресів
Біона-	ТОВ «Ензим-	Bacillus	Розчинення	Рідкий	Зернові,	Покращує

Фосфор	Агро»	megaterium	фосфатів, покращення фосфорного живлення		технічні, овочеві	засвоєння фосфору
Флавобакте рин	ІМВ ім. Д.К. Заболотного	Flavobacteri um spp.	Стимуляція росту, антагонізм до патогенів	Торф'я на	Різні культури	Природний антагоніст фітопатогені в
Азогумат	ТОВ «Біотехкомпл екс»	Azospirillu m spp., гумати	Фіксація азоту, стимуляція росту	Рідкий	Зернові, овочеві	Містить гумінові кислоти
Екостерн	ТОВ «Екоорганік»	Bacillus subtilis, Pseudomon a	Біоконтроль фітопатогенів	Суха, рідка	Овочеві, польові	Ефект біозахисту

ВИСНОВКИ

У ході виконання дипломної роботи було здійснено комплексне дослідження біотехнологічних аспектів застосування біоінокулянтів як ефективного інструменту підвищення імунітету рослин. Отримані результати дозволяють зробити наступні висновки:

Теоретичне обґрунтування показало, що біоінокулянти — це екологічно безпечні біопрепарати на основі живих мікроорганізмів, здатні сприяти стимуляції росту рослин, покращенню мінерального живлення та активації імунної відповіді. Завдяки комплексному механізму дії, який включає фіксацію азоту, розчинення фосфатів, синтез фітогормонів і антагонізм до патогенів, ці препарати є ефективною альтернативою хімічним добривам і пестицидам.

Було проаналізовано основні групи мікроорганізмів, що входять до складу біоінокулянтів, зокрема: азотфіксуючі бактерії (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*), фосфатмобілізуючі мікроорганізми (*Bacillus*, *Pseudomonas*), мікоризні гриби (*Glomus*, *Rhizophagus*) та антагоністи патогенів (*Trichoderma*, *Bacillus subtilis*). Усі вони демонструють різні, але взаємодоповнюючі механізми впливу на фізіологію рослин.

На основі аналізу літературних джерел встановлено, що імунна система рослин складається з двох основних рівнів захисту: РАМР-індукованого імунітету (РТІ) та ефектор-індукованого імунітету (ЕТІ). Біоінокулянти активують ці системи через модуляцію сигнальних шляхів, підвищення вироблення фітогормонів (жасмонової, саліцилової кислоти) та індукцію системної стійкості.

Застосування біоінокулянтів на модельних культурах дозволяє зменшити інфекційне навантаження, підвищити толерантність до стресових факторів та стимулювати ріст кореневої системи. Особливо ефективними виявилися препарати на основі штамів *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, та *Rhizobium* spp., які продемонстрували комплексну дію — від стимулювання росту до покращення захисту від патогенів.

Екологічна та економічна доцільність використання біоінокулянтів підтверджується зниженням пестицидного навантаження, збереженням ґрунтової мікрофлори та зменшенням витрат на мінеральне живлення рослин. У довгостроковій перспективі це сприяє формуванню сталих агроecosystem і підвищенню продовольчої безпеки.

Сучасні біоінженерні підходи, включаючи генетичну модифікацію (технології CRISPR), метаболічну інженерію та синтетичну біологію, відкривають широкі можливості для створення високоефективних біоінокулянтів нового покоління з підвищеною специфічністю, стабільністю та адаптивністю. У цьому контексті було проведено порівняльний аналіз досвіду України та Польщі щодо розвитку та застосування біоінженерних рішень у сфері біоінокулянтів, висвітлюючи як їхні досягнення, так і виклики.

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про доцільність широкого впровадження біоінокулянтів у практику сільського господарства як ефективного засобу біологізації виробництва, підвищення стійкості рослин до захворювань і несприятливих факторів середовища, а також збереження природної родючості ґрунтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Дмитрієв О. П. Секрети рослинного імунітету [Електронний ресурс]/О. П. Дмитрієв // Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України.
2. Біопрепарати – альтернативний захист сільськогосподарських культур від хвороб та шкідників [Електронний ресурс] // ГУ Держпродспоживслужби у Чернівецькій області. – 2019.
3. Біологізація вирощування [Електронний ресурс] // Розумні ідеї. – 2023.
4. Олійник І. М., Гончар Л. Ст. Використання біостимуляторів у сільському господарстві: ефекти на зростання та врожайність рослин / І. М. Олійник, Л. Ст. Гончар // Science Horizon. - 2024. - Т. 27 №9. - С. 45–52.
5. Інокулянти для рослин: що це і яку користь вони несуть? [Електронний ресурс] // Рівне Вечірнє. – 2022.
6. Екологічні переваги застосування мікробіометоду в інтегрованій системі захисту рослин // Агроекологічний журнал. – 2024.
7. Інокулянти для покращення врожайності та прибутковості фермерів // Village Life. – 2023.
8. Інокулянти — препарати на основі живих мікроорганізмів // AgroSvit.
9. Мікробні інокулянти як засіб покращення ґрунту та врожайності сільськогосподарських культур // Science Horizon. – 2024. – Т. 27, №10.
10. Гродзинський, А. М., Косаківський, І. В., & Таран, Н. Ю. (2012). Фізіологія рослин: адаптація до стресових факторів. Київ: Либідь.
11. Берник, О. В. (2020). Біопрепарати в системі захисту сільськогосподарських культур: сучасні тенденції. Вісник аграрної науки, 98(3), 25–31.

12. Трофимова, Л. М., & Орлова, Т. С. (2021). Ефективність застосування біоінокулянтів у підвищенні стійкості рослин до патогенів. *Агроекологічний журнал*, 4, 89–93.
13. Хоменко, В. М. (2019). Роль ризобактерій у формуванні імунітету рослин. *Мікробіологічний журнал*, 81(2), 34–42.
14. Патица В. П., Патица Н. Р. (2017). Біологічний захист рослин – шлях до сталого землеробства. *Мікробіологічний журнал*, 79(4), 21–29.
15. Головченко А. В., Коваленко Н. В. (2020). Вплив біоінокулянтів на стійкість рослин до фітопатогенів. *Захист рослин*, №6, с. 12–15.
16. Калитка В. В., Савчук С. М. (2018). Біотехнологічні аспекти застосування мікробних препаратів в агрономії. *Біологія та екологія*, №2, с. 56–62.
17. Демченко О. В., Кузьменко Н. С. (2021). Перспективи використання біоінокулянтів у сучасному рослинництві. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, №2, с. 43–48.
18. Шаповал О. В. (2020). Біологічні методи захисту рослин: роль PGPR бактерій. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Агрономія*, №294, с. 101–106.
19. Гаврилюк М. М., Кузнецова І. В. (2019). Індукція системного імунітету рослин за дії біопрепаратів. *Наукові праці ЛНАУ*, №63, с. 74–79.
20. Богданова Н. В., Іваненко С. В. (2018). Біопрепарати як фактор підвищення продуктивності та стійкості рослин. *Агропромисловий комплекс України*, №7, с. 55–60.
21. Lawrencia, D.; Wong, S.K.; Low, D.Y.S.; Goh, B.H.; Goh, J.K.; Ruktanonchai, U.R.; Soottitantawat, A.; Lee, L.H.; Tang, S.Y. Controlled Release Fertilizers: A Review on Coating Materials and Mechanism of Release. *Plants* 2021, 10, 238. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
22. Penuelas, J.; Coello, F.; Sardans, J. A Better Use of Fertilizers Is Needed for Global Food Security and Environmental Sustainability. *Agric. Food Secur.* 2023, 12, 5. [Google Scholar] [CrossRef]

23. Kour, D.; Rana, K.L.; Yadav, A.N.; Yadav, N.; Kumar, M.; Kumar, V.; Vyas, P.; Dhaliwal, H.S.; Saxena, A.K. Microbial Biofertilizers: Bioresources and Eco-Friendly Technologies for Agricultural and Environmental Sustainability. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2020, 23, 101487. [Google Scholar] [CrossRef]
24. Kumar, S.; Diksha; Sindhu, S.S.; Kumar, R. Biofertilizers: An Ecofriendly Technology for Nutrient Recycling and Environmental Sustainability. *Curr. Res. Microb. Sci.* 2022, 3, 100094. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
25. Allouzi, M.M.A.; Allouzi, S.M.A.; Keng, Z.X.; Supramaniam, C.V.; Singh, A.; Chong, S. Liquid Biofertilizers as a Sustainable Solution for Agriculture. *Heliyon* 2022, 8, e12609. [Google Scholar] [CrossRef]
26. Timofeeva, A.; Galyamova, M.; Sedykh, S. Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture. *Plants* 2022, 11, 2119. [Google Scholar] [CrossRef]
27. Shedeed, Z.A.; Gheda, S.; Elsanadily, S.; Alharbi, K.; Osman, M.E.H. *Spirulina Platensis* Biofertilization for Enhancing Growth, Photosynthetic Capacity and Yield of *Lupinus Luteus*. *Agriculture* 2022, 12, 781. [Google Scholar] [CrossRef]
28. Liu, N.; Shao, C.; Sun, H.; Liu, Z.; Guan, Y.; Wu, L.; Zhang, L.; Pan, X.; Zhang, Z.; Zhang, Y.; et al. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Biofertilizer Improves American Ginseng (*Panax quinquefolius* L.) Growth under the Continuous Cropping Regime. *Geoderma* 2020, 363, 114155. [Google Scholar] [CrossRef]
29. Schreiber, C.d.S.; Rafacho, A.; Silverio, R.; Betti, R.; Lerário, A.C.; Lotenberg, A.M.P.; Rahmann, K.; de Oliveira, C.P.; Wajchenberg, B.L.; da Luz, P.L. The Effects of Macronutrients Composition on Hormones and Substrates during a Meal Tolerance Test in Drug-Naive and Sitagliptin-Treated Individuals with Type 2 Diabetes: A Randomized Crossover Study. *Arch. Endocrinol. Metab.* 2022, 66, 312–323. [Google Scholar] [CrossRef]
30. Rahman, A.; Ahmad, M.A.; Mehmood, S.; Rauf, A.; Iqbal, A.; Ali, B.; Ullah, M.; Ali, M.; Mohamed, H.I.; Uddin, I. Isolation and Screening of Zn (Zn)

Solubilizing Rhizosphere Bacteria from Different Vegetations for Their Ability to Improve Growth, Zn Uptake, and Expression of Zn Transporter Genes in Tomato. *Curr. Microbiol.* 2024, 81, 83. [Google Scholar] [CrossRef]

31. Billah, M.; Khan, M.; Bano, A.; Hassan, T.U.; Munir, A.; Gurmani, A.R. Phosphorus and Phosphate Solubilizing Bacteria: Keys for Sustainable Agriculture. *Geomicrobiol. J.* 2019, 36, 904–916. [Google Scholar] [CrossRef]

32. Girenavar, B.; Ganapathy, B.A.; Ganapathy, A.B. Bio-Phosphate Fertilizer Formulation with Full of Life, Used for e.g., Crop Nutrition, Comprises Phosphate Solubilizing and Plant Growth Promoting Microorganisms, Rock Phosphate, Bentonite, Minerals, and Macro- and Micro-Nutrients. IN Patent 2,020,410,197,39, 5 March 2021. [Google Scholar]

33. May, T.; Zimmermann, J.; Tokovenko, B.; Heinrich, D.C.; Stierl, R.; Herold, A. New *Paenibacillus* Species Strain Comprising Only One Genetic Locus Comprising Sequence Identity to a Polynucleotide Sequence Used to Control, Suppress or Prevent Fungal Infection of Plants, and Enhance Plant Growth. W.O. Patent 2,023,088,791, 25 May 2023. [Google Scholar]

34. Sesma, J.C. Composition Used e.g., for Seed Coating, and for Improving Plant Growth, Comprises Mycorrhizal Fungus, Bacteria of Genus *Pseudomonas*, Fungus of Genus *Trichoderma*, Water Retainer, Clay, Adherent, Fauna Deterrent and Organic Matter. W.O. Patent 2,023,246,2, 21 December 2023. [Google Scholar]

35. Poppeliers, S.W.; Sánchez-Gil, J.J.; de Jonge, R. Microbes to Support Plant Health: Understanding Bioinoculant Success in Complex Conditions. *Curr. Opin. Microbiol.* 2023, 73, 102286. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

36. Lobo, C.B.; Juárez Tomás, M.S.; Viruel, E.; Ferrero, M.A.; Lucca, M.E. Development of Low-Cost Formulations of Plant Growth-Promoting Bacteria to Be Used as Inoculants in Beneficial Agricultural Technologies. *Microbiol. Res.* 2019, 219, 12–25. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

37. Gopi, G.K.; Meenakumari, K.S.; Nysanth, N.S.; Subha, P. An Optimized Standard Liquid Carrier Formulation for Extended Shelf-Life of Plant Growth Promoting Bacteria. *Rhizosphere* 2019, 11, 100160. [Google Scholar] [CrossRef]
38. Bindraban, P.S.; Dimkpa, C.O.; Pandey, R. Exploring Phosphorus Fertilizers and Fertilization Strategies for Improved Human and Environmental Health. *Biol. Fertil. Soils* 2020, 56, 299–317. [Google Scholar] [CrossRef]
39. Zonta, E.; Bahiense, J.; Marcos, S.; Pereira, G. Fertilizantes Minerais, Orgânicos e Organominerais. In *Recomendações de Calagem e Adubação para Abacaxi, Acerola, Banana, Citros, Mamão, Mandioca, Manga e Maracujá*; Borges, A.L., Ed.; Embrapa: Brasília, Brazil, 2021; pp. 263–303. [Google Scholar]
40. Prakash Aryal, J.; Bahadur Sapkota, T.; Krupnik, T.J.; Bahadur Rahut, D.; Lal Jat, M.; Stirling, C.M. Factors Affecting Farmers' Use of Organic and Inorganic Fertilizers in South Asia. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021, 28, 51480–51496. [Google Scholar] [CrossRef]
41. Chaudhary, P.; Singh, S.; Chaudhary, A.; Sharma, A.; Kumar, G. Overview of Biofertilizers in Crop Production and Stress Management for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci.* 2022, 13, 930340. [Google Scholar] [CrossRef]

Самооцінювання кваліфікаційної роботи здобувачем

Критерій	Рівень			Коментар
Огляд літератури побудовано навколо основної проблеми, використано найактуальніші сучасні дослідження за темою, чітко відображено зв'язок між завданнями, поставленими в роботі, та попередніми дослідженнями				
Надана конкретна та точна інформація про методи та дані (кількість, температура, тривалість, послідовність, умови, розташування, розміри тощо), методи пов'язані з іншими дослідженнями.				
Наведено конкретні результати з поясненнями та аналізом, порівняння з результатами інших досліджень, показано чіткий зв'язок проблеми з отриманими результатами,				
Надано пропозиції щодо удосконалення, що підкріплено відповідними обґрунтуваннями (прогноз, модель тощо)				
Висновки містять зв'язок з найважливішими аспектами попередніх розділів, підсумок ключових результатів, продемонстровано зв'язок між цією роботою та наявними дослідженнями зосереджена увага на суттєвих результатах, зазначено їх можливе застосування; подано обмеження, на які слід спрямувати майбутні дослідження.				
Перелік посилань є повним та достатнім для вирішення завдань дослідження				
Робота оформлена повністю відповідно до вимог				
Робота не містить друкарських та граматичних помилок				

Підтверджую, що робота виконана мною самостійно, не містить академічного плагіату. Зокрема, у моїй роботі немає запозичення текстів, ідей чи розробок, результатів досліджень інших авторів без посилань на них, у тому числі буквального перекладу з іноземних мов чи перефразування, що видаються за свій текст, вирваних із контексту тверджень, цитат без лапок, фабрикації (вигаданих) даних чи фальсифікації (вигаданих і модифікованих на догоду бажаному висновку) результатів досліджень.