

ДИНАМІКА ВИДОВОГО СКЛАДУ МІКОБІОТИ ФІЛОПЛАНИ ТА РИЗОСФЕРИ *FRAGARIA ANANASSA* DUCH. ПІД ДІЄЮ РОЗЧИНІВ ХІТОЗАНУ

Н. М. ВОЛОЩУК¹, А. Ф. ЛІХАНОВ², О. В. СУБІН²

¹ Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК
08162, вул. Машинобудівників, 7, с.м.т. Чабани, Київська обл., Україна
e-mail: voloshchuk_m_nataliia@ukr.net

² Національний університет біоресурсів і природокористування України
03041, вул. Героїв оборони 15, Київ, Україна
e-mail: subin.oleksandr@gmail.com

Робота присвячена дослідженню впливу хітозанів різного походження, молекулярної маси та ступеня деацетилювання на динаміку видового складу філоплани та ризосфери суниці садової. Встановлено, що хітозани мають різний вплив на грибні угруповання філоплани та ризосфери *Fragaria ananassa*, про що свідчать динаміка їхнього видового складу, зміни рівня заселення та частоти трапляння. Так, досліджувані форми хітозану мали стимулюючий ефект на домінуючі роди мікроміцетів філоплани та викликали ріст їхнього рівня заселення листків суниці після обробки. Проте, видова структура грибів-епіфітів суниці садової відрізнялася через 48 годин після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) розчинами хітозанів. Показано, що мікобіота ризосфери має різну чутливість до розчинів НМХ та ВМХ. Найбільший інгібуєчий ефект обох форм хітозану спостерігали на пеніциліях, кількість КУО яких в ґрунті виявилась меншою порівняно із контрольним. Так, до обробки, кількість *Penicillium* sp. становила 47,4 тис. КУО/г ґрунту, а після застосування низькомолекулярного хітозану - 4,9 і 6,3 тис. КУО/г ґрунту через 12 і 48 год. після внесення відповідно. Для роду *Fusarium*, навпаки, спостерігалось збільшення чисельності у всіх варіантах внесення. Це можна пояснити тим, що гриби роду *Fusarium* у ґрунті знаходяться переважно у вигляді гіф міцелію і є більш стійким до впливу хітозанів. Отримані дані демонструють, що окрім фізіологічної активності та функціональних властивостей, які залежать від молекулярної маси, не менш важливим для ефективності хітозану є час інкубації та середовище, в яке він вноситься.

Ключові слова: хітозан, мікобіота, філоплана, ризосфера, *Fragaria ananassa*

Вступ. Підвищення рівня виробництва та якості готової рослинної продукції в сучасних екологічних умовах потребує розробки нових альтернативних способів захисту рослин за рахунок індукованої стійкості до фітопатогенів із максимальним використанням адаптивних можливостей самих рослин. Одним із таких підходів є стимулювання власної стійкості рослин за допомогою впливу певних речовин (індукторів або еліситорів), які запускають захисні реакції, зокрема проти біотичних стресових чинників середовища (Дмитриєв, 2003; Жук, Дмитрієв, 2015). Своєчасна індукція захисних реакцій і підвищення резистентності рослин до інфікування патогенами, є визначальним фактором у поширенні та розвитку хвороб. Швидкість відповідних реакцій в період інфікування та розвитку інфекції обумовлює результат взаємодії в системі «патоген-рослина» (Atkinson and Urwin, 2012).

Актуальною є оцінка сполук перспективних для підвищення стійкості рослин до фітопатогенів, які водночас не впливають на навколишнє середовище та якість урожаю (Silva Junior et al., 2014). Однією з таких речовин є

хітозан та його похідні. Володіючи унікальним хімічним складом та біологічними властивостями, такими як: нетоксичність, біодеградація, біосумісність, його можна розглядати, як потенційного агента в боротьбі із збудниками хвороб рослин (El Hadrami et al., 2010).

Хітозан – це природний полісахарид, який складається із двох субодиниць: D-глюкозаміну та N-ацетил-D-глюкозаміну, що зв'язані між собою 1,4-глікозидними зв'язками. При цьому, враховуючи специфіку отримання даного біополімеру з різних природних джерел, слід звернути увагу, що йому притаманна структурна неоднорідність за багатьма параметрами (Скрябин и др., 2002).

Вплив хітозану на мікроорганізми, зокрема фітопатогени, слід розглядати в двох аспектах: як елісатора та пряму біоцидну дію.

Біологічна активність хітозану та його похідних, як індуктора (елісатора) хворобостійкості рослин визначається його властивістю запускати захисні реакції: лігніфікацію (Pearce, Ride, 1982), зміну потоку йонів, цитоплазматичне окиснення,

деполяризацію мембран, фосфорилізацію протеїнів, активацію хітинази і глюканаз (зокрема, β 1,3-глюканаз належить до PR-білків 2 типу), синтез фітоалексинів, генерацію активних форм кисню, біосинтез жасмонової кислоти та експресію унікальних «ранніх» генів захисту у відповідь на стрес як в однодольних, так і в дводольних видів (Köhle et al., 1984; El Ghaouth et al., 1992; Kong et al., 2010; Попова и др., 2017). Крім того хітозан здатний індукувати формування калоз та інгібіторів протеїназ у багатьох дводольних рослин (Тютєрев, 2002).

Механізм прямої біоцидної дії хітозану пов'язують із порушенням структури клітинної стінки грибів, яке призводить до змін морфології міцелію, розміру спор та пошкодження цілісності грибної цитоплазматичної мембрани (Тютєрев, 2002).

Біоцидна активність хітозану посилюється при більш низькому рН, коли його молекули набувають властивості полікатиона (Fei Liu et al., 2001). Позитивний заряд біополімеру дозволяє йому зв'язуватися з аніонними компонентами клітинних структур, зокрема фосфоліпідними мембранами грибів, за рахунок електростатичних сил. А підвищення його заряду сприяє більш міцному зв'язуванню молекули хітозану на поверхні клітин мікроорганізмів (Куликов и др., 2010; Тютєрев, 2014).

Хітозан, на відміну від класичних речовин з фунгістатичними властивостями, не має єдиної мішені для своєї дії, а його антигрибний ефект є сукупністю декількох можливих механізмів, які в комплексі призводять до загибелі клітин мікроорганізмів (Куликов, Варламов, 2008).

Ключовими фізико-хімічними параметрами хітозану, які впливають на його пряму фунгістатичну дію, є молекулярна маса (ММ) та ступінь деацетилювання (СД). Також його фунгістатична дія залежить від виду мікроорганізму. Більш чутливими до даного біополімеру є гриби та ооміцети, які містять невелику кількість хітозану в клітинній стінці. Зигоміцети характеризуються великим його вмістом у своїй структурі і є стійкими до нього. Ентомопатогенні гриби з високою хітинолітичною активністю, також характеризуються стійкістю до прямої дії хітозану (Тютєрев, 2014).

За результатами дослідження процесу інгібування хітозанами із різною молекулярною масою 9 фітопатогенів *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum f.sp cubense*, *Colletotrichum capsici*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium oryzae*, and *Sphaceloma ampelinum* встановлено, що

низькомолекулярні біополімери проявляють більшу ступінь інгібування міцелію, ніж високомолекулярні форми (Singburadom et al., 2011; Hassan, Chang, 2017). Вивчення біоцидної дії хітозана на *Rhizopus stolonifer* показало, що низькомолекулярні форми ефективніше пригнічують міцеліальний ріст, а високомолекулярні – утворення спор та їх проростання (Hernandez-Lauzardo et al., 2011). В низці досліджень продемонстровано, що хітозан здатен стримувати ріст, спричиняти пошкодження клітинної структури *Botrytis cinerea* та утворювати непроникний бар'єр навколо клітини незалежно від ММ біополімера при однаковому СД (80%) (Park et al., 2008; Rahman et al., 2014, Xing et al., 2015). Verlee et al. (2018) стверджують, що хітозани з більшою ММ та більшим низьким СД (<85%) проявлять високу фунгістатичну активність (Verlee et al., 2018). Протилежні результати представлені в роботі Карпової (2019), в якій показано, що низькомолекулярні форми хітозану (СД 85%) повністю пригнічують ріст *Botrytis cinerea* на відміну від високомолекулярних форм з СД 60 та 90% (Карпова и др., 2019).

Незважаючи на велику кількість наукових даних про фунгістатичну дію хітозану і його похідних, складно провести оцінку оптимальної молекулярної маси і ступеня деацетилювання через розбіжності в способах визначення основних параметрів біополімера.

Мета роботи – дослідження впливу хітозанів різного походження, молекулярної маси та ступеня деацетилювання на динаміку видового складу філоплани та ризосфери суниці садової.

Матеріали та методи. Характеристика форм хітозану. Перша форма хітозану (НМХ) була отримана нами методом ферментативного гідролізу з плодів тіл *Agaricus bisporus*. Друга форма хітозану (ВМХ) – комерційний хітозан із покриттів ракоподібних (Sigma-Aldrich).

Визначення фізико-хімічних властивостей хітозану. Ступінь деацетилювання хітозану визначався кислотно-лужним титруванням 0,1М розчином гідроксидом натрію (NaOH). Ступінь деацетилювання (DA) визначається за формулою:

$$DA = 2,03 \cdot \frac{V_2 - V_1}{m + 0,0042 \times (V_2 - V_1)}$$

де m – маса зразка,

V1, V2 – об'єм 0,1М розчину NaOH, витраченого на титрування, який відповідає точкам перегину;

0,0042 – коефіцієнт різниці молекулярних мас мономерів хітину та хітозану;

2,03 – коефіцієнт молекулярної маси мономеру хітину.

Ступінь деацетилювання для хітозану грибного походження (НМХ) склав 80,39 %, для хітозану із покривів ракоподібних (ВМХ) – 90,69 %.

Кінематична в'язкість визначалась за допомогою віскозиметра ВПЖ-1 (діаметр капіляра 0,86). Хітозан розчиняли в 1% оцтовій кислоті, в якості калібровки використовувалась також 1% оцтова кислота. Вимірювання проводились тричі для кожного розчину. Значення перераховувались в сантипуази (сП).

Кінематична в'язкість розчину визначається за формулою:

$$V = \frac{g}{9,807} \cdot T \cdot K,$$

де R – постійна віскозиметра – 0,03169;

V – кінематична в'язкість рідини в мм²/сек;

T – час витікання рідини в секундах;

g – прискорення вільного падіння в місці вимірювання в м/с² (g = 9,81).

Для грибного хітозану значення склало 111 сП, що характеризує його, як низькомолекулярну форму. Для хітозану із покривів ракоподібних значення склало 3003 сП – високомолекулярний хітозан.

Обробка рослин та відбір проб. В експерименті, для кожного варіанту обробки, використовували 4 повторності (4 рослини суниці садової на 1 повторність). Для обробки рослин суниці садової та ґрунту використовували 0,4% розчину хітозану. Контрольні рослини та ґрунт обробляли стерильною водою. Частини рослин та зразки ґрунту відбирали до обробки та через 12, 24, 48 год після обробки. Для стимуляції розвитку грибів та подальшої їх ідентифікації, частини листків з кожної рослини поміщали у вологу камеру. Для виділення та визначення видів грибів ризосфери застосовували метод послідовних розведень ґрунтової суспензії, яку висівали на живильне середовище Чапека. Культивування посівів проводили за температури +25±2°C протягом 7-10 діб. Після появи колоній грибів на середовищі проводили їхню ідентифікацію та облік кількості колоній утворюючих одиниць (КУО) в 1 г ґрунту.

Статистичний аналіз. Положення окремих видів мікроміцетів у структурі мікобіоти філоплани суниці визначали за критерієм частоти трапляння (ЧТ):

$$\text{ЧТ} = \frac{\text{кількість зразків, де вид виявлено} \cdot 100\%}{\text{загальна кількість зразків}}$$

Рівень заселення (РЗ) мікроміцетами листя суниці вираховували за формулою :

$$\text{РЗ} = \frac{\mu \cdot 100\%}{n},$$

де μ – число зразків листків, в яких виявлено даний рід (вид); n – загальна кількість досліджених проб листків (Кириленко, 1984).

Подібність мікобіоти філоплани визначали за значеннями коефіцієнта дискримінації Стугрена-Радулеску (ρ):

$$\rho = \frac{X + Y - Z}{X + Y + Z},$$

де X – кількість видів грибів, які зустрічаються у філоплані контрольних рослин суниці; Y – кількість видів, які реєструються у філоплані оброблених хітозаном рослин, але відсутні у філоплані контролю; Z – кількість спільних видів, які зустрічаються у філопланах обох варіантів рослин.

Даний коефіцієнт змінюється в межах від «-1» до «+1». Повна подібність видового складу мікроміцетів у філоплані контрольних і оброблених розчинами хітозану рослин спостерігається при $\rho = -1$, а при $\rho = +1$ – їх повна відмінність (дискримінація).

Для оцінки комплексів грибів у контрольному та обробленому розчином хітозану ґрунті використовували коефіцієнт спільності Жаккара:

$$K_j = \frac{c}{a + b - c} \cdot 100\%$$

де a – кількість видів, що зустрічались у ґрунті рослин контролю; b – кількість видів, характерних для ґрунту рослин дослідного варіанту;

c – кількість спільних видів (Леонтьев, 2008).

Результати та їх обговорення. В результаті досліджень видового складу епіфітної мікобіоти листків суниці садової до та після обробки рослин розчинами хітозанів загалом виявлено 13 видів грибів із 11 родів відділу Ascomycota (табл. 1).

Серед них було ідентифіковано фузаріуми – збудники в'янення та корневих гнилей суниці садової (Grantina-Levina, Kalnina, 2016). Найчастіше на листках суниці садової зустрічались види *Alternaria tenuissima* (92,3%), *Penicillium* sp. (76,9%) і *Fusarium* sp. (69,2%). Високим рівнем заселення листків суниці садової в контролі характеризувався гриб *Hemicola fuscoatra* (50,0%), після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанами – *Alternaria tenuissima* (44,4 і 37,5 %), *Fusarium* sp. і *Penicillium* sp. (37,5 %) (табл. 8.1). Мікроміцети *Aspergillus nidulans* та *Nigrospora oryzae* виділялись із листків суниці садової в контрольній групі, вид *Trichoderma viride* ізолювався після застосування НМХ через 48 год.

Таблиця 1.
Видовий склад, рівень заселення (%) і частота трапляння (%) мікроміцетів філоплани *F. ananassa* після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанами

Table 1.
Species composition (%), settlement level (%) and frequency (%) of phyloplane micromycetes of *F. ananassa* after treatment by low molecular weight (LMC) and high molecular weight (HMC) chitosans

№ п/п	Види мікроміцетів	Варіант дослідження																Частота трапляння, %
		Контроль		Вода				НМХ				ВМХ						
		1 год.	12 год.	24 год.	48 год.	1 год.	12 год.	24 год.	48 год.	1 год.	12 год.	24 год.	48 год.	1 год.	12 год.	24 год.	48 год.	
		Рівень заселення, %																
1	<i>Alternaria tenuissima</i> (Nees) Wiltshire	12,0	12,5	-	25,0	12,5	44,4	12,5	25,0	12,5	25,0	12,5	25,0	12,5	25,0	37,5	25,0	92,3
2	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	4,0	-	12,5	-	-	-	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23,0
3	<i>A. nidulans</i> (Eidam) G. Winter	12,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,7
4	<i>A. wentii</i> Wehmer	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	-	-	15,4
5	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Fr.	4,0	-	-	-	-	11,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,4
6	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	16,0	12,5	-	-	-	-	-	12,5	-	-	12,5	25,0	-	-	-	-	30,8
7	<i>Fusarium</i> sp.	4,0	12,5	12,5	-	12,5	-	12,5	37,5	-	25,0	12,5	25,0	25,0	25,0	25,0	69,2	
8	<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	-	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	15,4
9	<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	4,0	12,5	-	-	-	50,0	11,1	-	-	25,0	-	-	-	-	12,5	46,2	
10	<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. & Broome) Petch	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,7
11	<i>Penicillium</i> sp.	8,0	25,0	-	12,5	-	-	22,2	25,0	-	12,5	25,0	12,5	37,5	37,5	37,5	76,9	
12	<i>Sarocladium kilense</i> (Grütz) Summerbell	4,0	-	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	23,0
13	<i>Trichoderma viride</i> Pers.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	-	7,7
	Всього видів	11	6	2	2	3	4	4	4	4	4	4	6	4	3	4	4	

Відомо, що спори та конідії грибів є більш чутливими до впливу хітозану та його похідних (Hernández-Lauzardo et al., 2011; Xing et al., 2015 Hassan, Chang, 2017). Гриби родів *Aspergillus* Micheli та *Penicillium* Link належать до епіфітних видів, що інтенсивно утворюють конідії на поверхні листків суниці садової. Серед них аспергіли виявились більш чутливими до розчинів хітозану, ніж пеніцилії, про що свідчать невисокі показники частоти трапляння (7,7–23,0%) та рівня заселення листків (4,0–12,5 %) після обробки.

Найбільше видове різноманіття епіфітних мікроміцетів (11 видів) спостерігалось на листках в контролі. Через 1 год після обробки водою та через 48 год після обробки низькомолекулярним хітозаном було ізольовано по 6 видів грибів. Найменше грибів виділяли із листків суниці садової, оброблених водою після експозиції 12–48 год, де їхня кількість становила 2–3 види. Однак, мікобіоти у цих варіантах досліду виявились повністю відмінними, про що свідчить коефіцієнт спільності Стургена-Радулеску $\rho=1,0$ (табл. 2). Подібними між собою виявились комплекси грибів ізольованих із листків досліджуваних рослин після обробки водою та високомолекулярним хітозаном через 48 год ($\rho=0,40$). Схожими виявились й мікобіоти після застосування НМХ (експозиція 12 год) та ВМХ через 24 год. Не спостерігалось відмінностей у видовому складі мікроміцетів виділених з поверхні листків суниці оброблених високомолекулярним хітозаном за різної експозиції ($\rho=0,40$).

Із ґрунту до та після обробки розчинами хітозанів ізольовано 13 видів мікроміцетів із 10 родів (табл. 3). Найбільш представленим виявився рід *Penicillium* Link (4 види). Серед виділених видів грибів ідентифіковано потенційні збудники корневих гнилей і в'янення суниці садової – *Fusarium* sp., сумчасту стадію антракнозу – *Glomerella cingulata* (Mc.Kenzie et al., 2006; Nellist, 2018).

Найчастіше траплялись *Fusarium* sp. і *Penicillium* sp. – 85,7 %, а також *Penicillium frequentans* (71,4 %), *Cladosporium herbarum* та *Trichoderma viride* (57,1 %) (табл. 3).

Тільки в ґрунті контролю зустрічався вид *Mortierella isabellina*, в обробленому водою – *Sarocladium kiliense*, із низькомолекулярним хітозаном – *Glomerella cingulata*, із високомолекулярним хітозаном – *Aspergillus niger*, *Gliocladium roseum* і *Phoma herbarum*.

Найчисельнішим серед мікобіоти ризосфери виявився *Penicillium* sp., кількість якого становила 47,4 тис. КУО/г ґрунту в контролі, після обробки водою через 12 і 48 год. – 20,7 і 22,7 тис. КУО/г ґрунту відповідно (табл. 3). Застосування низькомолекулярного хітозану значно вплинуло на його чисельність, яка становила 4,9 і 6,3 тис. КУО/г ґрунту через 12 і 48 год. після внесення відповідно. Даний вид не ізолювався через 12 год. після обробки високомолекулярним хітозаном, але через 48 год. його кількість становила 18,7 тис. КУО/г ґрунту. Загалом для пеніциліїв була характерною тенденція до зменшення чисельності у ґрунті після обробки різними формами хітозанів (табл. 3; рис. 1).

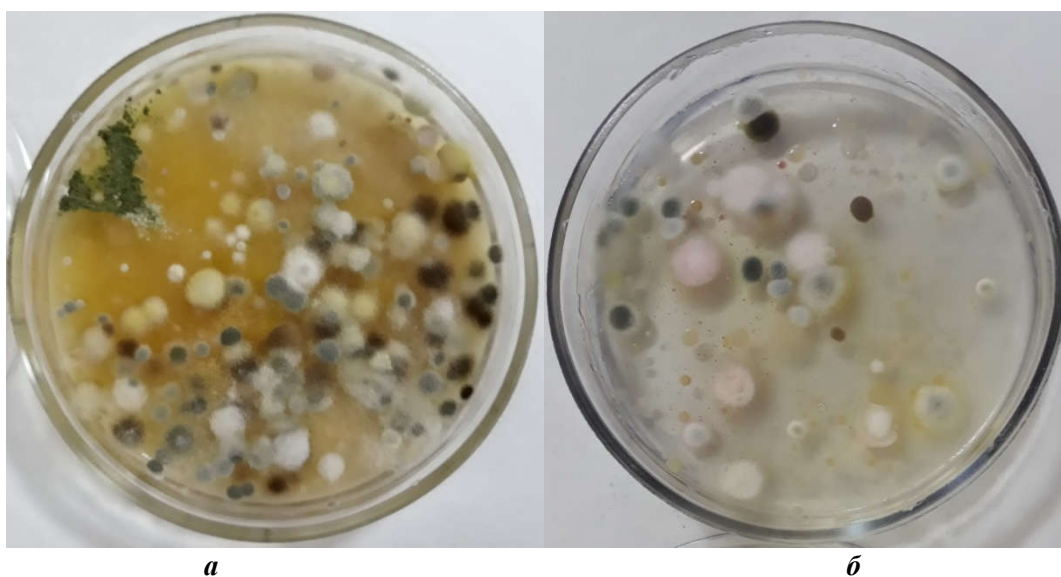


Рис. 1. Зміна чисельності пеніциліїв у ґрунті: а – ґрунт контроль; б – ґрунт через 48 год після обробки НМХ (середовище Чапека, 7-ий день росту).

Fig 1. Change of amount *Penicillium* sp. in a soil: a – control soil; b – soil after treatment by LMC (48 h). Czapek medium (7-th day of cultivation).

Таблиця 2.
Рівень подібності видового складу мікроміцетів філоплани *F. ananassa* після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанамі
(Коефіцієнт дискримінації Стургеона-Радулеску (ρ))

Table 2.
The similarity level of species composition for phylloplane micromycetes of *F. ananassa* after treatment by low molecular weight (L.MC) and high molecular weight (H.MC) chitosans (Sturgeon-Radulescu coefficient (ρ))

Варіант досліду	Варіант досліду												
	Контроль	Вода				НМХ				ВМХ			
		1 год	12 год	24 год	48 год	1 год	12 год	24 год	48 год	1 год	12 год	24 год	48 год
контроль	-	0,55	0,73	0,73	0,73	0,58	0,58	0,58	0,55	0,58	0,67	0,73	0,58
1 год.	0,55	-	0,78	0,60	0,50	0,54	0,54	0,50	0,50	0,54	0,43	0,50	0,43
12 год.	0,73	0,78	-	1,0	0,67	0,50	0,71	1,0	1,0	0,71	0,67	0,71	0,71
24 год.	0,73	0,60	1,0	-	0,67	0,50	0,71	0,60	0,50	0,50	0,43	0,50	0,50
48 год.	0,73	0,50	0,67	0,67	-	0,56	0,56	0,64	0,64	0,56	0,50	0,50	0,40
1 год.	0,58	0,54	0,50	0,50	0,56	-	0,78	0,54	0,54	0,60	0,56	0,56	0,45
12 год.	0,58	0,54	0,50	0,50	0,56	0,60	0,60	0,67	0,67	-	0,45	0,40	0,45
24 год.	0,58	0,54	0,71	0,71	0,56	0,78	-	0,67	0,67	0,60	0,60	0,56	0,60
48 год.	0,55	0,50	1,0	0,60	0,64	0,54	0,67	-	-	0,67	0,67	0,64	0,54
1 год.	0,58	0,54	0,71	0,50	0,56	0,60	0,45	0,67	0,67	-	0,45	0,40	0,45
12 год.	0,67	0,43	0,71	0,50	0,56	0,60	0,45	0,67	0,67	0,45	-	0,40	0,45
24 год.	0,73	0,50	0,67	0,43	0,50	0,56	0,40	0,64	0,64	0,40	0,40	-	0,40
48 год.	0,58	0,43	0,71	0,50	0,40	0,45	0,60	0,54	0,54	0,45	0,45	0,40	-

Таблиця 3.
Видовий склад, чисельність (тис. КУО/1 г) та частота трапляння (%) мікроміцетів у ґрунті після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанами

Table 3.
Species composition, quantity (thousand CFU/1 g) and frequency after treatment by low molecular weight (LMC) and high molecular weight (HMC) chitosans

№ п/п	Види мікроміцетів	Варіант досліджу										Частота трапляння, %
		контроль		вода		НМХ		ВМХ		Чисельність тис. КУО мікроміцетів в 1 г ґрунту		
		0 год.	12 год.	48 год.	12 год.	48 год.	12 год.	48 год.				
1	<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2±0,04	14,3
2	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	-	-	1,5±0,4	-	3,1±0,8	-	0,2±0,04	3,4±0,8	0,2±0,04	57,1	
3	<i>Fusarium</i> sp.	-	0,2±0,04	4,5±1,1	1,6±0,4	7,7±1,9	0,2±0,04	5,1±1,3	85,7			
4	<i>Glitocladium roseum</i> Bainier	-	-	-	-	-	1,7±0,4	-	14,3			
5	<i>Glomerella cingulata</i> (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk	-	-	-	0,2±0,04	-	-	-	14,3			
6	<i>Mortierella isabellina</i> Oudem.	2,7±0,7	-	-	-	-	-	-	14,3			
7	<i>Penicillium corylophilum</i> Dierckx	-	4,8±1,2	-	-	3,1±0,8	-	-	28,6			
8	<i>P. frequentans</i> Westling	7,9±2,0	-	1,5±0,4	1,63±0,4	1,5±0,3	-	5,1±1,3	71,4			
9	<i>P. variabile</i> Sopp	-	3,2±0,8	0,5±0,1	-	-	-	0,7±0,2	42,9			
10	<i>Penicillium</i> sp.	47,4±11,9	20,7±5,2	22,7±5,7	4,9±1,2	6,3±1,6	-	18,7±4,7	85,7			
11	<i>Phoma herbarum</i> Westend.	-	-	-	-	-	10,1±2,5	-	14,3			
12	<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerbell	-	3,2±0,8	-	-	-	-	-	14,3			
13	<i>Trichoderma viride</i> Pers.	0,3±0,08	1,6±0,4	-	-	1,6±0,3	1,7±0,4	-	57,1			
	Всього видів	4	6	5	4	6	5	6				

Для фузаріумів, навпаки, спостерігалось збільшення чисельності з експозицією обробки як водою, так і розчинами хітозанів. Це можна пояснити тим, що гриби роду *Fusarium* у ґрунті знаходяться переважно у вигляді гіф міцелію, які, за даними літератури, є більш стійким до впливу хітозанів із різною молекулярною масою (Hernández-Lauzardo et al., 2011).

Найбільша кількість мікроміцетів (6 видів) ізолювалась із зразків ґрунту обробленого водою через 12 год. та розчинами хітозанів через 48 год. Найменша кількість видів 4 виділена із ґрунту контролю та при обробці НМХ через 12 год.

Найменшою спільністю ($K_j=12,5\%$) характеризувались мікобіоти ґрунту контролю та через 12 год після обробки високомолекулярним хітозаном, а також комплекси мікроміцетів ізолювані із ґрунту після обробки хітозанами через 12 год (табл. 4). Найбільша спільність виділених видів виявлена у складі грибів, виділених із ґрунту обробленого водою та ВМХ хітозаном через 48 год. ($K_j=83,3\%$).

Виявлено, що мікобіота філоплани *F. ananassa* представлена мікроміцетами, що відносяться до аскоміцетів родів *Alternaria* і *Penicillium*, які найбільш часто зустрічаються, за ними йдуть види *Fusarium*. Дані мікроскопічні гриби є загальновідомими епіфітами, що існують на

поверхні надземних органів багатьох видів рослин (Mari Bhat, Anusree, 2015; Nayak, 2015; Hongsanan et al., 2016; The Fungal Community..., 2017).

Встановлено, що досліджувані форми хітозану мають стимулюючий ефект на домінуючі роди мікроміцетів філоплани, і як наслідок, зростання їхнього рівня заселення листків суниці після обробки. Це узгоджується із даними, отриманими іншими дослідниками, які вважають, що хітозан виступає у ролі стресу, відповідною реакцією на який є інтенсивний розвиток грибів (Bhaskara Reddy et al., 1998; Bautista-Banos et al., 2004; Hassan, Chang, 2017).

Поверхнева обробка рослин розчинами хітозану підвищила рівень заселення філоплани домінуючими видами мікроміцетів, але в той же час неоднаково вплинула на загальне різноманіття мікобіоти. Видова структура грибів-епіфітів суниці садової після застосування НМХ та ВМХ на певних етапах була подібною. Однак, після експозиції 48 год спостерігалась повна відмінність угруповань мікроміцетів за обробки листків суниці НМХ в порівнянні з водою. І, навпаки, видовий склад мікобіоти після впливу ВМХ виявився подібним до виділеного після обробки водою, що може свідчити про кращу адаптацію грибів до цієї форми хітозану.

Таблиця 4.

Спільність видового складу мікроміцетів, ізолюваних із ґрунту, після обробки низькомолекулярним (НМХ) та високомолекулярним (ВМХ) хітозанами за Жаккардом, %

Table 4.

Commonality for soil micromycetes of *F. ananassa* after treatment by low molecular weight (LMC) and high molecular weight (HMC) chitosans, Jaccard index, %

Варіант досліджу		Варіант досліджу							
		контроль		вода		НМХ		ВМХ	
		0 год.	12 год.	48 год.	12 год.	48 год.	12 год.	48 год.	
контроль	0 год.	-	25,5	28,6	33,3	42,8	12,5	25,0	
	12 год.	25,0	-	37,5	25,0	50,0	22,2	33,3	
вода	48 год.	28,6	37,5	-	50,0	57,1	25,0	83,3	
	12 год.	33,3	25,0	50,0	-	42,8	12,5	42,8	
НМХ	48 год.	42,8	50,0	57,1	42,8	-	37,5	50,0	
	12 год.	12,5	22,2	25,0	12,5	37,5	-	15,4	
ВМХ	48 год.	25,0	33,3	83,3	42,8	50,0	15,4	-	

Встановлено, що у ризосфері суниці найчастіше трапляються мікроміцети родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium* Link і *Trichoderma* Pers., а найчисельнішими є пеніцилії, що узгоджується із даними інших вчених (Berg et al., 2005; Manici et al., 2018). Відомо, що більшість видів мікроскопічних грибів, виділених нами із ризосфери, є сапротрофами (Buee et al., 2009; Klaubauf, et al., 2010), окрім фузаріумів, певні штами яких можуть ушкоджувати рослини суниці і спричиняти хвороби кореневої і судинної систем (MacKenzie, 2008; Nellist, 2018; Головин и др., 2019).

Визначено, що внесення хітозану не однаково вплинуло на мікобіоту ризосфери суниці садової, яка виявила до нього різну чутливість. Найбільший інгібуєчий ефект обох форм хітозану спостерігали на пеніциліях, кількість КУО яких в ґрунті виявилась меншою порівняно із контрольним варіантом. Це підтверджує дані інших авторів про високу активність хітозану по відношенню до грибів роду *Penicillium* (Lee et al., 2016; Hassan, Chang, 2017).

Задовільний контролюючий ефект хітозану відмічається для збудників антракнозу – грибів роду *Colletotrichum* Corda (Singburadom, 2011; Hassan, Chang, 2017). В результаті наших досліджень телеморфу збудника антракнозу суниці (*G. cingulata*) ізолювали із ґрунту з НМХ під час першого обліку, надалі цей мікроміцет не виявлено в жодному із варіантів досліджу.

Відсутність чутливості до хітозану та збільшення чисельності після його внесення продемонстрували фузаріуми, що узгоджується із деякими публікаціями, в яких зазначається, що певні фітопатогени, зокрема гриби роду *Fusarium*, можуть бути толерантними до застосування індукторів стійкості, що призводить до зростання ураження рослин (Ishii. et al., 1999; Zhang et al., 2001; Поликсенова, 2009; Hernández-Lauzardo, 2011).

Встановлено, що антифунгальна активність хітозану залежить від середовища існування грибів, в яке він вноситься. Обробка ґрунту різними формами хітозану спочатку мала більший вплив на видове різноманіття мікобіоти ризосфери суниці, яка характеризувалась найменшою спільністю видів порівняно із контролем. Однак, із збільшенням часу експозиції спостерігали відновлення видового складу мікроміцетів у ризосфері суниці із ВМХ, де структура мікобіоти відзначалась високою подібністю із тією, що виділяли із ґрунту, в який вносили воду.

Висновки. Таким чином, мікобіота філоплани і ризосфери суниці садової по різному реагує на розчини хітозану, про що свідчить динаміка

їхнього видового складу, зміни рівня заселення та частоти трапляння. Отримані дані демонструють, що окрім фізіологічної активності та функціональних властивостей, які залежать від молекулярної маси, не менш важливим для ефективності хітозану є час інкубації та середовище, в яке він вноситься.

Безсумнівно, під час розробки методів індукованої стійкості рослин необхідно враховувати зв'язки, що існують між особливостями життєдіяльності фітопатогенів та обміном речовин рослин-живителів в онтогенезі.

Отже, розуміння різних факторів, які впливають на антифунгальну активність хітозану, є ключовим питанням для кращого використання та ефективнішої оптимізації препаратів хітозану, щоб зробити їх більш придатними для польових застосувань і контролю рослинних захворювань.

Більше того, використання хітозану в антимікробних системах повинно ґрунтуватися на достатніх знаннях про складні механізми його способу дії на фітопатогени та рослини, що збільшить шанс його успішного використання для пригнічення поширення хвороби в рослині.

Список літератури:

1. Головин С. Е., Глинушкин А. П., Зеркалов И. А., Белошапкина О. О., Копина М. Б. Патокомплекс почвенных микромицетов, ассоциирующихся с корневыми и прикорневыми гнилями земляники, в некоторых регионах России // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т. 33. № 7. – С. 62-70. doi:10.24411/0235-2451-2018-10715
2. Дмитриев А.П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс // Физиология растений. – 2003. – 50, № 3. – С. 465-474.
3. Жук І. В., Дмитрієв О. П. Біотехнологія індуквання стійкості рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) проти біотичного стресу // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2015. – Т. 17. – С. 148-151.
4. Карпова Н.В., Шагдарова Б.Ц., Лялина Т.С., Ильина А.В., Терешина В.М., Варламов В.П. Влияние основных характеристик низкомолекулярного хитозана на рост фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea*. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019 – №55 – С. 386-395.
5. Кириленко Т.С. Микромицеты почв под посевами ячменя и овса / Микромицеты почв./ за ред. Білая В.І. – К.: Наук. думка, 1984. – С.47-84.
6. Куликов С.Н., Варламов В.П. Роль структуры в элиситорной активности хитозана // Ученые записки Казанского государственного университета. – 2008. – Т.150, №2. – с. 43-58.
7. Куликов С.Н., Хайруллин Р.З., Тюрин Ю.А., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Левов А.Н., Варламов В.П. Фунгицидная активность хитозана

- в отношении мицелиальных грибов // Практическая медицина. – 2010. – №1(40). – С. 119-120.
8. Леонтьев Д.В. Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений. – Харьков, 2008. – 110 с.
 9. Поликсенова В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) // Вестник БГУ Серия 2 – 2009 – №1 – С. 48-60.
 10. Попова Э.В., Домнина Н.С., Коваленко Н.М., Борисова Е.А., Колесников Л.Е., Тютюрев С.Л. Биологическая активность хитозана с разной молекулярной массой // Вестник защиты растений. – 2017. – №3(93). – С. 28–33.
 11. Скрыбин К.Г., Вихорева Г.А., Варламов В.П. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение. – Москва:Наука, 2002. – 360 с.
 12. Тютюрев С.Л. Научные основы индуцированной болезнестойчивости растений. – Спб: ВИЗР, 2002. – 328 с.
 13. Тютюрев С.Л. Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. – СПб., 2014. – 212 с.
 14. Atkinson N, Urwin P. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot.* 2012;63(10):3523-3543. doi:10.1093/jxb/ers100
 15. Bautista-Banos, S., Hernandez-Lopez M., Bosquez-Molina E. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Revista Mexicana Fitopatologia.* 2004;22:178-186.
 16. Berg G, Zachow C, Lottmann J, Götz M, Costa R, Smalla K. Impact of Plant Species and Site on Rhizosphere-Associated Fungi Antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(8):4203-4213. doi:10.1128/aem.71.8.4203-4213.2005.
 17. Bhaskara Reddy, M.V., Arul J., Ait-Barka E., Angers P., Richard C., Castaigne F. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Biocontrol Sci. Technol.* 1998;8:33-43. doi:10.1080/09583159830414.
 18. Buee M., De Boer W., Martin F., van Overbeek L., Jurkevitch E. The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant Soil.* 2009;321:189-212.
 19. El Ghaouth A, Arul J, Grenier J, Asselin A. Antifungal Activity of Chitosan on Two Postharvest Pathogens of Strawberry Fruits. *Phytopathology.* 1992;82(4):398-402. doi:10.1094/phyto-82-398.
 20. El Hadrami A, Adam L, El Hadrami I, Daayf F. Chitosan in Plant Protection. *Mar Drugs.* 2010;8(4):968-987. doi:10.3390/md8040968.
 21. Fei Liu X, Lin Guan Y, Zhi Yang D, Li Z, De Yao K. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *J Appl Polym Sci.* 2000;79(7):1324-1335. doi:10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::aid-app210>3.0.co;2-l.
 22. Grantı̇na-Leviı̇na L, Kalniı̇na I. Strawberry crown rot - a common problem in 2015. *Environmental and Experimental Biology.* 2016; 14: 51-52.
 23. Hassan O, Chang T. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. *Asian Journal of Plant Pathology.* 2017;11(2):53-70. doi:10.3923/ajppaj.2017.53.70.
 24. Hernández-Lauzardo A, Velázquez-del Valle M, Guerra-Sánchez M. Current status of action mode and effect of chitosan against phytopathogens fungi. *African Journal of Microbiology Research.* 2011;5(25):4243-4247. doi:10.5897/ajmr11.104.
 25. Hongsanan S, Sanchez-Ramirez S, Crous P.W., Ariyawansa H.A. Zhao R.L., Hyde K.D. The evolution of fungal epiphytes. *Mycosphere.* 2016;7(11):1690-1712.
 26. Ishii H, Tomita Y., Horio T., Narusaka Y., Nakazawa Y., Nishimura K., Iwamoto S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. *Eur. J. Plant Pathol.* 1999;105: 77-85.
 27. Köhle H, Young D, Kauss H. Physiological changes in suspension-cultured soybean cells elicited by treatment with chitosan. *Plant Science Letters.* 1984;33(2):221-230. doi:10.1016/0304-4211(84)90012-9.
 28. Kong M, Chen X, Xing K, Park H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Int J Food Microbiol.* 2010;144(1):51-63. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012.
 29. Lee C, Koo J, Park J. Antifungal Effect of Chitosan as Ca²⁺Channel Blocker. *Plant Pathol J.* 2016;32(3):242-250. doi:10.5423/ppj.oa.08.2015.0162.
 30. MacKenzie S, Legard D, Timmer L, Chandler C, Peres N. Resistance of Strawberry Cultivars to Crown Rot Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates from Florida Is Nonspecific. *Plant Dis.* 2006;90(8):1091-1097. doi:10.1094/pd-90-1091.
 31. MacKenzie S.J., Mertely J., Peres N. *Colletotrichum fragariae* is a pathogen on host other than strawberry. *Plant Disease.* 2008;92(10):1432-1438.
 32. Manici L, Caputo F, Rossi A, Topp A, Zago M, Kelderer M. Thermal disturbance of fertile soils to search for new biological control options in strawberry crops affected by yield decline. *Biological Control.* 2018; 126: 65-73. doi:10.1016/j.biocontrol.2018.07.016
 33. Mari Bhat M., Anusree M. E. Investigation of phylloplane mycoflora of some vegetable crops. *Asian J. Plant Sci. Res.* 2015; 5 (6):63-68.
 34. Nayak B.K. Isolation and identification of phylloplane and endophytic fungi from one ornamental plant, *Mangifera indica*. *Int.J. TechnoChem Res.* 2015; 1(3): 188-192.
 35. Nellist C. Disease Resistance in Polyploid Strawberry. *Compendium of Plant Genomes.* 2018:79-94. doi:10.1007/978-3-319-76020-9_7
 36. Park Y, Kim M, Park S et al. Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-chitosan. *J Microbiol Biotechnol.* 2020; 18(10): 1729–1734.
 37. Pearce R, Ride J. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. *Physiological Plant Pathology.* 1982; 20(1): 119-123. doi:10.1016/0048-4059(82)90030-3.
 38. Rahman M, Hjeljord L, Aam B, Sørli M, Tronsmo A. Antifungal effect of chito-oligosaccharides with

different degrees of polymerization. *Eur J Plant Pathol.* 2014;141(1):147-158. doi:10.1007/s10658-014-0533-3.

39. Silva Junior S, Stamford NP, Lima MAB, Arnaud TMS, Pintado MM, Sarmento BF. Characterization and inhibitory activity of chitosan on hyphae growth and morphology of *Botrytis cinerea* plant pathogen. *International Journal of Applied Research in Natural Products.* 2014;7(4):31-38.
40. Singburaudom N, Piasai O, Dethaub T. Antimicrobial activity of different molecular weight chitosans to inhibit some important plant pathogenic fungi. *Kasetsart J (Nat Sci).* 2011;45:644-655.
41. Singburaudom N, Piasai O, Dethaub T. Antimicrobial activity of different molecular weight chitosans to inhibit some important plant pathogenic fungi. *Kasetsart J (Nat Sci).* 2011;45:644-655.
42. *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem: Fourth Edition.* Ed. J. Dighton, J. F. White. CRC Press; 2017:159-168.
43. Verlee A, Mincke S, Stevens C. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydr Polym.* 2017;164:268-283. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.001.
44. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agron Sustain Dev.* 2015;35(2):569-588. doi:10.1007/s13593-014-0252-3.
45. Zhang, S., Reddy, M. S., Kokalis-Burelle, N., Wells, L. W., Nightengale, S. P., Klopper, J. W. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth-promoting rhizobacteria and chemical elicitors. *Plant Dis.* 2001;85: 879-884.

References:

1. Atkinson N, Urwin P. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot.* 2012;63(10):3523-3543. doi:10.1093/jxb/ers100
2. Bautista-Banos, S., Hernandez-Lopez M., Bosquez-Molina E. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Revista Mexicana Fitopatologia.* 2004; 22: 178-186.
3. Berg G, Zachow C, Lottmann J, Götz M, Costa R, Smalla K. Impact of Plant Species and Site on Rhizosphere-Associated Fungi Antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(8):4203-4213. doi:10.1128/aem.71.8.4203-4213.2005
4. Bhaskara Reddy, M.V., Arul J., Ait-Barka E., Angers P., Richard C., Castaigne F. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Biocontrol Sci. Technol.* 1998;8:33-43. doi:10.1080/09583159830414
5. Buee M., De Boer W., Martin F., van Overbeek L., Jurkevitch E. The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant Soil.* 2009;321:189-212.
6. Dmitriev, A. P. Signal molecules for plant defense responses to biotic stress. *Journal of Plant Physiology.* 2003;50(3):417-425. (in Russian).
7. El Ghaouth A, Arul J, Grenier J, Asselin A. Antifungal Activity of Chitosan on Two Postharvest Pathogens of Strawberry Fruits. *Phytopathology.* 1992;82(4):398-402. doi:10.1094/phyto-82-398.
8. El Hadrami A, Adam L, El Hadrami I, Daayf F. Chitosan in Plant Protection. *Mar Drugs.* 2010;8(4):968-987. doi:10.3390/md8040968.
9. Fei Liu X, Lin Guan Y, Zhi Yang D, Li Z, De Yao K. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *J Appl Polym Sci.* 2000; 79(7): 1324-1335. doi:10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::aid-app210>3.0.co;2-l.
10. Golovin S.E., Glinushkin A.P., Zerkalov I.A., Beloshapkina O.O., Kopina M.B. Pathocomplex of soil micromycetes associated with root and foot rots of strawberry in some regions of Russia. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2019;33(7): 62-70. (In Russian). doi:10.24411/0235-2451-2018-10715.
11. Grantiņa-Leviņa L, Kalniņa I. Strawberry crown rot - a common problem in 2015. *Environmental and Experimental Biology.* 2016; 14: 51-52.
12. Hassan O, Chang T. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. *Asian Journal of Plant Pathology.* 2017; 11(2): 53-70. doi:10.3923/ajppaj.2017.53.70.
13. Hernández-Lauzardo A, Velázquez-del Valle M, Guerra-Sánchez M. Current status of action mode and effect of chitosan against phytopathogens fungi. *African Journal of Microbiology Research.* 2011;5(25):4243-4247. doi:10.5897/ajmr11.104
14. Hongsanan S, Sanchez-Ramirez S, Crous P.W., Ariyawansa H.A. Zhao R.L., Hyde K.D. The evolution of fungal epiphytes. *Mycosphere.* 2016;7(11):1690-1712.
15. Ishii H., Tomita Y., Horio T., Narusaka Y., Nakazawa Y., Nishimura K., Iwamoto S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. *Eur. J. Plant Pathol.* 1999; 105: 77-85.
16. Karpova N.V., Shagdarova B.Ts., Lyalina T.S., Il'ina A.V., Tereshina V.M., Varlamov V.P. Influence of the Main Characteristics of Low Weight Chitosan on the Growth of the Plant Pathogenic Fungus *Botrytis cinerea*. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2019;55(4):405-413.
17. Kirilenko T. C. *Soil micromycetes under barley and oat sowing.* In Soil Micromycetes. Kyiv: Naukova Dumka; 1984:47-84. (in Russian).
18. Klaubauf, S., Inselsbacher, E., Zechmeister-Boltenstern, S., Wanek, W., Gottsberger, R., Strauss, J., Gorfer M. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria. *Fungal Divers.* 2010; 44: 65-75.
19. Köhle H, Young D, Kauss H. Physiological changes in suspension-cultured soybean cells elicited by treatment with chitosan. *Plant Science Letters.* 1984;33(2):221-230. doi:10.1016/0304-4211(84)90012-9.
20. Kong M, Chen X, Xing K, Park H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Int J Food Microbiol.* 2010;144(1):51-63. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012.
21. Kulikov S.N., Kharirullin R.Z., Tyurin Y.A., Lisovskaya S.A., Glushko N.I., Levov A.N.,

- Varlamov V.P. Antifungal activity of chitosan against mycelial fungi. *Practice Medicine*. 2010;1(40):119-120. (In Russian).
22. Kulikov, S.N., Varlamov V.P. The Role of Chitosan Chemical Structure in Its Elicitor Activity. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta*. 2008;150(2):43-58. (In Russian).
23. Lee C, Koo J, Park J. Antifungal Effect of Chitosan as Ca²⁺-Channel Blocker. *Plant Pathol J*. 2016; 32(3): 242-250. doi:10.5423/ppj.oa.08.2015.0162.
24. Leontyev D. V. *A Floristic Analysis in Mycology*. Kharkiv; 2008:110. (in Russian).
25. MacKenzie S, Legard D, Timmer L, Chandler C, Peres N. Resistance of Strawberry Cultivars to Crown Rot Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates from Florida Is Nonspecific. *Plant Dis*. 2006;90(8):1091-1097. doi:10.1094/pd-90-1091.
26. MacKenzie S.J., Mertely J., Peres N. *Colletotrichum fragariae* is a pathogen on host other than strawberry. *Plant Disease*. 2008;92(10):1432-1438.
27. Manici L, Caputo F, Rossi A, Topp A, Zago M, Kelderer M. Thermal disturbance of fertile soils to search for new biological control options in strawberry crops affected by yield decline. *Biological Control*. 2018;126:65-73. doi:10.1016/j.biocontrol.2018.07.016.
28. Mari Bhat M., Anusree M. E. Investigation of phylloplane mycoflora of some vegetable crops. *Asian J. Plant Sci. Res*. 2015;5(6):63-68.
29. Nayak B.K. Isolation and identification of phylloplane and endophytic fungi from one ornamental plant, *Mangifera indica*. *Int.J. TechnoChem Res*. 2015;1(3):188-192.
30. Nellist C. Disease Resistance in Polyploid Strawberry. *Compendium of Plant Genomes*. 2018:79-94. doi:10.1007/978-3-319-76020-9_7
31. Park Y, Kim M, Park S et al. Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-chitosan. *J Microbiol Biotechnol*. 2020;18(10):1729-1734.
32. Pearce R, Ride J. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. *Physiological Plant Pathology*. 1982;20(1):119-123. doi:10.1016/0048-4059(82)90030-3
33. Poliksenova V.D. Induced plant resistance to pathogens and abiotic stress factors on the example of the tomato. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta [Vestnik of the Belarusian State University]*. 2009;1: 48-60. (in Russian).
34. Popova E. V., Domnina N. S., Kovalenko N. M., Borisova E. A., Kolesnikov L. E., Tyuterev S. L. Biological activity of chitosan with various molecular weights. *Plant Protection News*. 2017;3(93):28-33. (in Russian).
35. Rahman M, Hjeljord L, Aam B, Sørli M, Tronsmo A. Antifungal effect of chito-oligosaccharides with different degrees of polymerization. *Eur J Plant Pathol*. 2014;141(1):147-158. doi:10.1007/s10658-014-0533-3.
36. Silva Junior S, Stamford NP, Lima MAB, Arnaud TMS, Pintado MM, Sarmento BF. Characterization and inhibitory activity of chitosan on hyphae growth and morphology of *Botrytis cinerea* plant pathogen. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 2014;7(4):31-38.
37. Singburadom N, Piasai O, Dethaub T. Antimicrobial activity of different molecular weight chitosans to inhibit some important plant pathogenic fungi. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2011;45:644-655.
38. Singburadom N, Piasai O, Dethaub T. Antimicrobial activity of different molecular weight chitosans to inhibit some important plant pathogenic fungi. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2011;45:644-655.
39. Skryabin K, Vikhoreva G, Varlamov V. *Chitin And Chitosan Production, Properties And Usage*. Moscow: Nauka; 2002:360. (in Russian).
40. *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*: Fourth Edition. Ed. J. Dighton, J. F. White. CRC Press; 2017:159-168.
41. Tyuterev, S. L. *Scientific foundations of induced disease, resistance of plants*. Saint-Petersburg; 2002:328. (in Russian).
42. Verlee A, Mincke S, Stevens C. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydr Polym*. 2017;164:268-283. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.001.
43. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agron Sustain Dev*. 2015;35(2):569-588. doi:10.1007/s13593-014-0252-3.
44. Zhang, S., Reddy, M. S., Kokalis-Burelle, N., Wells, L. W., Nightengale, S. P., Kloepper, J. W. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth-promoting rhizobacteria and chemical elicitors. *Plant Dis*. 2001;85: 879-884.
45. Zhuk I.V., Dmitriev A.P. The biotechnology of wheat plant (*Triticum aestivum* L.) tolerance elicitation against biotic stress. *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv*. 2015; 17: 148-151. (in Ukrainian).

THE SPECIES' COMPOSITION DYNAMICS OF MYCOBIOTA PHILLOPLANE AND RHIZOSPHERE OF FRAGARIA ANANASSA DUCH. UNDER THE CHITOSAN SOLUTIONS' TREATMENT

N. M. Voloshchuk, A. F. Likhanov, O. V. Subin

The study is dedicated to the investigation of the chitosan influence of diverse origin, molecular mass and deacetylation degree on the dynamics of both garden strawberries' phylloplane and rhizosphere aspectual composition.

*It was defined that Chitosans carry a varied impact on the fungal groups of both *Fragaria ananassa* phylloplanes' and rhizospheres', as evidenced by the dynamics of their species composition, changes in the population level and occurrence frequency. Namely, the chitosan forms under investigation had a stimulant effect on both micromycetes' and phylloplanes' dominant genus, causing an increase in strawberry leaves' population level after treatment. Nevertheless, the epiphytic fungi species structure of garden strawberry differed 48 hours after treatment with low molecular weight (LMW) and high molecular weight (HMW) chitosan solutions. It has been demonstrated that the rhizosphere mycobiota possesses different sensitivity to LMW and HMW solutions. The greatest inhibitory effect of chitosan forms was observed on penicillium, the soil CFU number of which was less compared to the control one. Thus, the *Penicillium* sp. amount was 47.4 thousand CFU/g of soil before treatment, becoming 4.9 and 6.3 thousand CFU/g of soil after the low molecular weight chitosan application — 12 and 48 hours after application, accordingly. On the contrary, an increase in abundance in all application variants was observed for the *Fusarium* genus. This can be explained by the fact that *Fusarium* genus fungi in the soil are predominantly in the form of mycelium hyphae, being more resistant to chitosan. As a matter of record both incubation time and the environment into which chitosan is put are no less important for its effectiveness except for physiological activity and functional properties, depending on molecular weight.*

*Keywords: chitosan, mycobiota, phylloplane, rhizosphere, *Fragaria ananassa**

Отримано редколегією 06.06.2020