

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОЦИСТИНІВ ЯК ІНГІБИТОРІВ РОЗВИТКУ

*PHYTOPHTHORA INFESTANS***В. В. НИКИФОРОВ**, доктор біологічних наук, професор**О. В. НОВОХАТЬКО**, кандидат хімічних наук, доцент**О. В. МАЗНИЦЬКА**, кандидат технічних наук, доцент**О. А. САКУН**, кандидат технічних наук**С. В. ДІГТЯР**, кандидат технічних наук*Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського*

E-mail: v-nik@kdu.edu.ua

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2021.05.001>

Анотація: Представлено інформацію з іноземних літературних джерел щодо мікроцистинів синьо-зелених водоростей. Висвітлено сучасний стан проблематики «цвітіння» водойм та значення цього явища для людини. Дослідження проведено за двома етапами: лабораторним і натурним. Виділено чисту культуру *Phytophthora infestans*, на якій проводились подальші дослідження. Виділення ізолятів здійснено на агаризованому поживному середовищі. Із доступних антисептиків було обрано перманганат калію й етанол. Натурні дослідження проведено на експериментальних лініях *Solanum lycopersicum* шляхом діагностики ознак захворювання на фітофтороз. Визначення потенційного негативного впливу оброблених суспензією ціанобактерій рослин томату виконано методом біотестування з використанням як тест-об'єкт *Achatina fulica*.

Описано вплив токсинів синьо-зелених водоростей – мікроцистинів на колонії *Ph. infestans in vitro*. Представлено фотометричне спостереження за зменшенням кількості колоній із проміжком часу в три доби. Установлено фітофторостатичний ефект мікроцистинів. Зафіксовано деградацію ізолятів *Ph. infestans* на наступний день після обробки колонії суспензією ціанобактерій. Виявлено інгібуючий ефект, майже до повного зникнення симптомів у рослин, що були частково уражені фітофторозом та вирощувались *in vivo*. Визначено, що оброблені мікроцистином рослини можна вважати безпечними для подальшого споживання, загибель модельних організмів не зареєстровано.

Ключові слова: мікроцистин, токсичність, інгібітори, фітофтора, *in vitro*, біотестування, тест-об'єкт, *in vivo*, біобезпека

Вступ. Найпоширенішими та одними з небезпечних є захворювання, що індукуються фітопатогенними грибами. На їх частку припадає понад 80 % хвороб рослин. До представників роду

Phytophthora приділяється значна увага, що пов'язано з великою кількістю руйнівних хвороб, які вони спричинюють у різноманітних сільськогосподарських культур. Представники цього роду, зокрема

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

Phytophthora infestans, спричинюють фітофтороз, у більшій мірі, родини *Solanaceae* [1]. Тому пропозиції вирішення цього питання є актуальними, особливо якщо вони сприятимуть зменшенню хімізації галузі.

Водночас широкою проблемою сьогодення є «цвітіння» води Дніпровського каскаду. Синьо-зелені водорості мають схильність до швидкого вивільнення токсинів у оточуючі води. Є велика кількість публікацій серед зарубіжних науковців стосовно хімічної структури, токсичності, токсикокінетики і токсикодинаміки мікроцистинів [2]. Також у літературі присутні дані про біоаккумуляцію мікроцистинів в організмах тварин і рослин, які у свою чергу люди використовують як харчові джерела [3, 4].

Отже під час використання мікоцистинів, як біотехнологічного препарату у боротьбі з фітомікозами вирішується комплексна проблема: утилізація водоростей, покращення стану водних екосистем та відповідно їх біорізноманіття, профілактика та боротьба з мікозами на прикладі фітофторозу рослин родини *Solanaceae* не шкідливими біологічними препаратами.

Мікроцистини (МЦ) – одні з найвідоміших і широко поширених ціанотоксинів у прісних водах, їх основними продуцентами є ціанобактерії родів *Anabaena*,

Microcystis, *Planktothrix*, які спричиняють токсичне «цвітіння» води у всьому світі. МЦ розчиняються у воді. Вони залишаються стабільними у водоймах до 7 діб, тривалий час стабільні у фільтрованій або деіонізованій воді. МЦ стійкі до хімічного гідролізу або окислення за рН, близьких до нейтральних. Під час кип'ятіння вони не руйнуються упродовж декількох годин. За високої температури і екстремально високих або низьких рН унаслідок гідролізу за 10 тижнів деградує більше 90 % МС. Вони окислюються озоном та іншими сильними окислювачами, дуже стабільні за дії сонячного світла.

За даними міжнародної гідрогеологічної програми UNESCO «CYANONET», «цвітіння» ціанобактерій і поява токсинів виявлено у водоймах і водотоках 65 країн світу. У країнах із холодним кліматом МЦ-продуценти мешкають у 91 % озер. МЦ виявлено в клітинах представників ціанобактерій із родів *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Hapalosiphon*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Planktothrix*, *Phormidium* і *Synechococcus* [5].

МЦ є циклічними гептапептидами з незвичайною хімічною структурою й певною кількістю небілкових амінокислот. У них три варіабельні метильні групи. Метилування є поширеною модифікацією в біологічно активних природних пептидах, що сприяє,

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

ймовірно, зміцненню стабільності пептиду при протеолітичній деградації [6, 7]. Мікроцистин синтезуються великими ферментними комплексами, що складаються з нерібосомальних пептид-синтез і поліпептид-синтез [8].

Нерібосомальні пептид-синтетази відрізняються консервативною модульною структурою. Кожен модуль складається з каталітичних доменів, відповідальних за аденілювання, освіту тіоефіру й конденсацію специфічних амінокислот. Додаткові домени, необхідні для модифікацій амінокислотних залишків, таких як епімеризація, гетероциклізація, окислення, формілювання, відновлення або N-метилування, можуть бути також включені у модуль [7].

Усі ці біосинтетичні особливості призводять до різноманіття ціанобактеріальних МЦ – понад 60 ізоморфних форм. Повністю визначені нуклеотидні послідовності біосинтетичних генних кластерів для *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Nodularia* і *Nostoc* [5]. У *Anabaena* цей ферментний комплекс кодується генним кластером, що містить 10 генів (mcyA-J) [9].

Якщо відомі гени, що кодують біоактивні компоненти, можна за допомогою направлено мутагенезу отримати відповідні мутанти з порушеним біосинтезу цих речовин і

спробувати вивчити і зрозуміти функції цих метаболітів. У разі МЦ такі мутанти були отримані шляхом інсерції або делеції mcy генів у штаммах *Microcystis aeruginosa* і *M. agardhii* [7, 8, 10]. За допомогою інсерційного мутагенезу було показано, що гени, які кодують пептидсинтетазу, залучені до продукування мікроцистину і ті, що мають один генний кластер, відповідальний за продукцію всіх варіантів МЦ у штамі *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 [8].

Матеріал і результати.

Динаміка розвитку фітофторозу за останні роки базується на аналізі метеорологічних показників центрального поясу України. Є взаємозв'язок між інтенсивністю розвитку фітофторозу томата та основними екологічними факторами – вологістю, температурою повітря, кількістю опадів. Значна кількість опадів (30–60 мм) та висока (65–85 %) вологість повітря з одночасним зниженням температури до 15–17°C сприяють розвитку захворювання, яке може починатись з I декади червня до I декади серпня. Подальший перебіг хвороби залежить від погодних умов і може набувати характеру епіфітотії, як було у 2000, 2003, 2008, 2011, 2015 роках. Літературні джерела свідчать, що навіть у засушливі роки у вересні–жовтні за умови рясних опадів ураженість пізніх сортів томата може сягати 45 % і вище [11].

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

Поширення фітофтори контролювати дуже складно, адже ця популяція має декілька унікальних рис: гомоталізм, тобто двостатевість організмів; гінадроміксіс, тобто зміну статі за наявності певних феромонів; дуже швидке створення таких різноманітних структур як ооспори, зооспори, хламідоспори; швидку еволюцію нових рас і штамів; здатність продукувати гібридні види [12].

Дослідження впливу альготоксинів на фітофтору

проводилось у три етапи: 1 – етап математичного моделювання реакції *Phytophthora infestans* на мікроцистини (рис 1); 2 етап – лабораторні дослідження впливу мікроцистинів на *Ph. infestans*; 3 – натурні експерименти використання мікроцистинів для боротьби з фітофторозом та біотестування безпечності продукції після застосування цього біологічного методу.

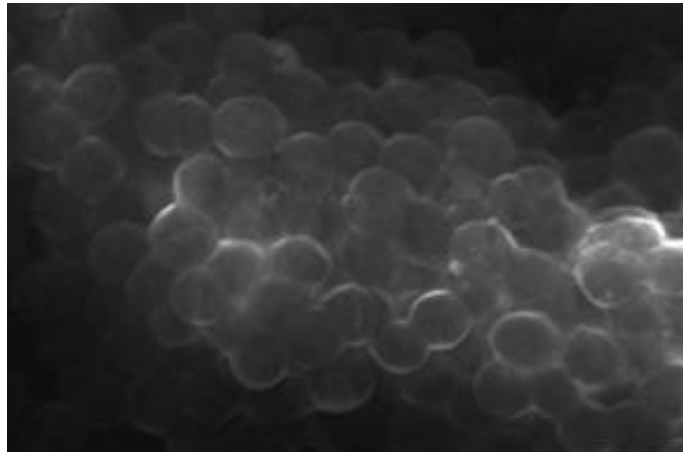


Рис. 1. РЕМ-зображення колонії *Microcystis aeruginosa* Kützing, 3000x [13]

Концентрація МЦ у воді з р. Дніпро у м. Кременчук була визначена австрійськими колегами з Віденського університету (рис. 2). На сучасному спектрофотометрі були досліджені дві проби води, що були відібрані з проміжком часу у два тижні. Робочою областю

спектрофотометра для визначення концентрації МЦ було обрано 450 нм, тобто видиме світло. Отже, концентрація МЦ становить приблизно 3,5 мг/дм³. Представлений нижче графік поданий без авторських змін.

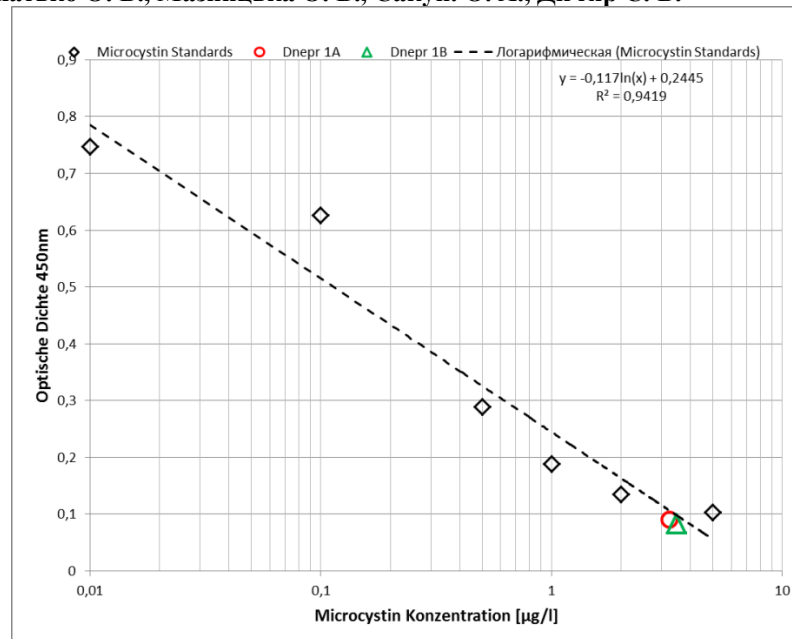


Рис. 2. Результати фотоспектрометричного дослідження концентрації мікроцистинів

Перед виконанням основного дослідження необхідно здійснити низьку попередніх маніпуляцій і безпосередньо отримати чисту культуру *Ph. infestans*. Дослідження проводилось за методикою, описаною у [14]. Виділення ізолятів із зараженого патогеном листя і стебел було безрезультатним – у середовищі розвивалася лише стороння мікрофлора. Як середовище для виділення ізолятів було обрано поживний агар від ТОВ «Фармактив» ТУ У 24.4–37219230–001:2011 такого умісту: пептон ферментативний 10 г/ дм³; агар мікробіологічний 10 г/ дм³; натрію хлорид 5 г/ дм³; дріжджовий екстракт 3 г/ дм³.

Попередня обробка вихідного матеріалу дезінфікуючим засобом є дуже важливим етапом. Адже завдяки цьому можна позбутися контамінації ізолятів сторонньою мікрофлорою. З

переліку доступних дезінфікуючих речовин було обрано перманганат калію та етиловий спирт. В обох випадках було три етапи обробки. Перший та другий етап – це послідовне замочування у перманганаті калію (етиловому спирті у другому випадку) зі зміною розчину через кожні 5 хвилин. Третій етап – це промивання вихідного матеріалу упродовж 1 хвилини дистильованою водою. Після дезінфекції вихідний матеріал розміщують у стерильній чашці Петрі. Перед обробкою вихідний матеріал необхідно нарізати на шматочки розміром приблизно 5 на 5 мм.

Створення математичної моделі дослідження впливу мікроцистину на *Ph. infestans* було реалізовано за допомогою програмного забезпечення Matlab. Отримані дані

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

свідчать про перспективність використання МЦ для боротьби з фітофторозом культурних рослин, адже спостерігається деградація мікрогрибкових клітин. Головною метою лабораторних досліджень *Ph. Infestans* було спостереження поведінки колоній мікрогриба під впливом МЦ, що знаходяться у суспензії синьо-зелених водоростей. Установлено неоднорідність морфологічних ознак, що проявилось у різниці структури колоній, топографії, швидкості росту. Також спостерігалась різна здатність до утворення поверхневого міцелію. Діаметр колоній варіювався від 2 до 5 мм. Деякі колонії характеризувалися слабким розвитком повітряного міцелію, інші навпаки – досить сильним. Поверхня міцелію була ватоподібною або павутинною.

Популяція *Ph. Infestans*

характеризується дуже динамічним розвитком, чисельність збільшується у геометричній прогресії. Для створення кривої росту популяції проводилося спостереження та підрахунок кількості колоній щоденно в один і той же час. Ґрунтуючись на зібраних даних була побудована крива росту популяції *Ph. infestans* (рис. 3). Установлено, що повний цикл розвитку й деградації популяції фітофтори може тривати у середньому 20 діб. У деяких випадках тривалість фаз може змінюватися на декілька діб. Безпосередньо дослідження динаміки культури *Ph. infestans* під впливом суспензії синьо-зелених водоростей порівнювались із такими дослідженнями: вплив антибіотиків на культуру, вплив фунгіцидів на культуру, динаміка культури без сторонніх чинників.

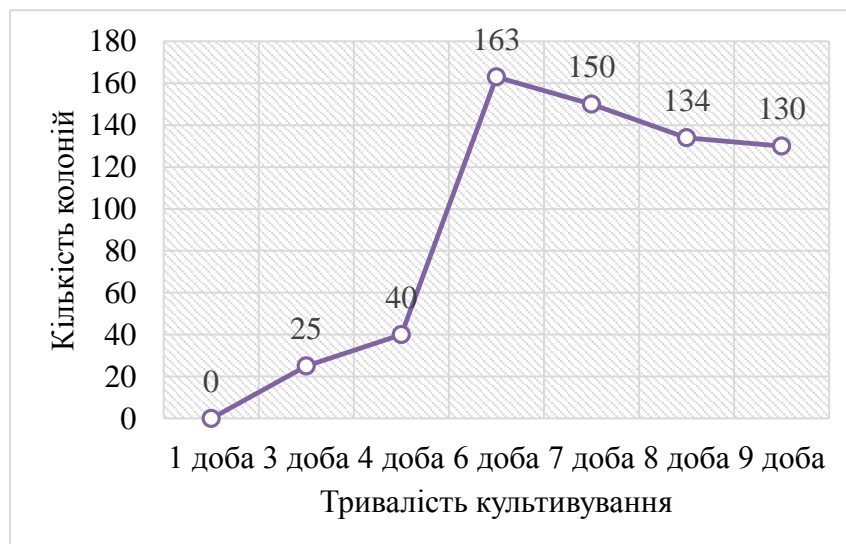


Рис. 3. Експеримент № 1 – фази росту популяції *Phytophthora infestans* з додаванням суспензії ціанобактерій *in vitro*

Никифоров В. В., Новохатсько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

Перший експеримент представляє, на нашу думку, найбільший інтерес. Він полягав у вирощуванні популяції *Ph. infestans* на поживному агарі з додаванням суспензії синьо-зелених водоростей. За результатами експерименту побудовано криву фаз росту (рис. 3). На початок експоненціальної фази (четверта доба) популяція нараховувала 40 колоній. Через дві доби чисельність збільшилась до 163 колоній. На шостій добі культура була оброблена 0,001 дм³ суспензії синьо-зелених водоростей. Подальше спостереження за ростом культури відбувалось аналогічно. На сьому добу налічувалось 150 колоній, на восьму добу – 134 колонії, на дев'яту – 119 колоній. Також зафіксовано зменшення інтенсивності спороношення фітопатогену. Колонії втратили обриси і перетворилися на розмиті плями.

Спираючись на оригінальні розрахунки можна констатувати, що найефективнішим інгібітором розвитку колоній *Ph. infestans* є фунгіцид ($D_{заг.} = 35\%$). Дещо меншу ефективність показує суспензія ціанобактерій ($D_{заг.} = 27\%$), і значно менша ефективність спостерігається для антибіотику ($D_{заг.} = 17\%$). Отже, проведені *in vitro* дослідження відповідають поставленій меті й

підтверджують, що для МЦ синьо-зелених водоростей є притаманними інгібуючі властивості, зокрема – пригнічуючий вплив на колоній *Ph. infestans* [14]. Тому попередні дослідження є підґрунтям для подальшого вивчення впливу альготоксинів на *Ph. infestans in vivo* задля визначення рівня біобезпеки спеціального використання суспензії ціанобактерій, оскільки їх МЦ мають здатність до акумуляції у різноманітних біологічних об'єктах, тому важливо не лише виявити їх інгібуючу дію на фітофтороз томатів, а й визначити наскільки рослини, оброблені ними, будуть безпечними для споживання людиною чи тваринами.

Для експерименту взято томати сорту «кімнатний», на яких діагностувалися ознаки захворювання фітофторозом різної форми. Умовно було виокремлено чотири ступеня патогенезу: 1 ступінь – початковий (враженими є найнижчі листя (рис. 4, А)); 2 – легкий ступінь (вражено два нижніх пояси листя та стебло між ними (рис. 4, Б)); 3 ступінь – середній (вражено всі або майже всі вегетативні частини рослини (рис. 4, В)); 4 – важкий ступінь (вражено всі або майже всі вегетативні та генеративні частини рослини (рис. 4, Г)).

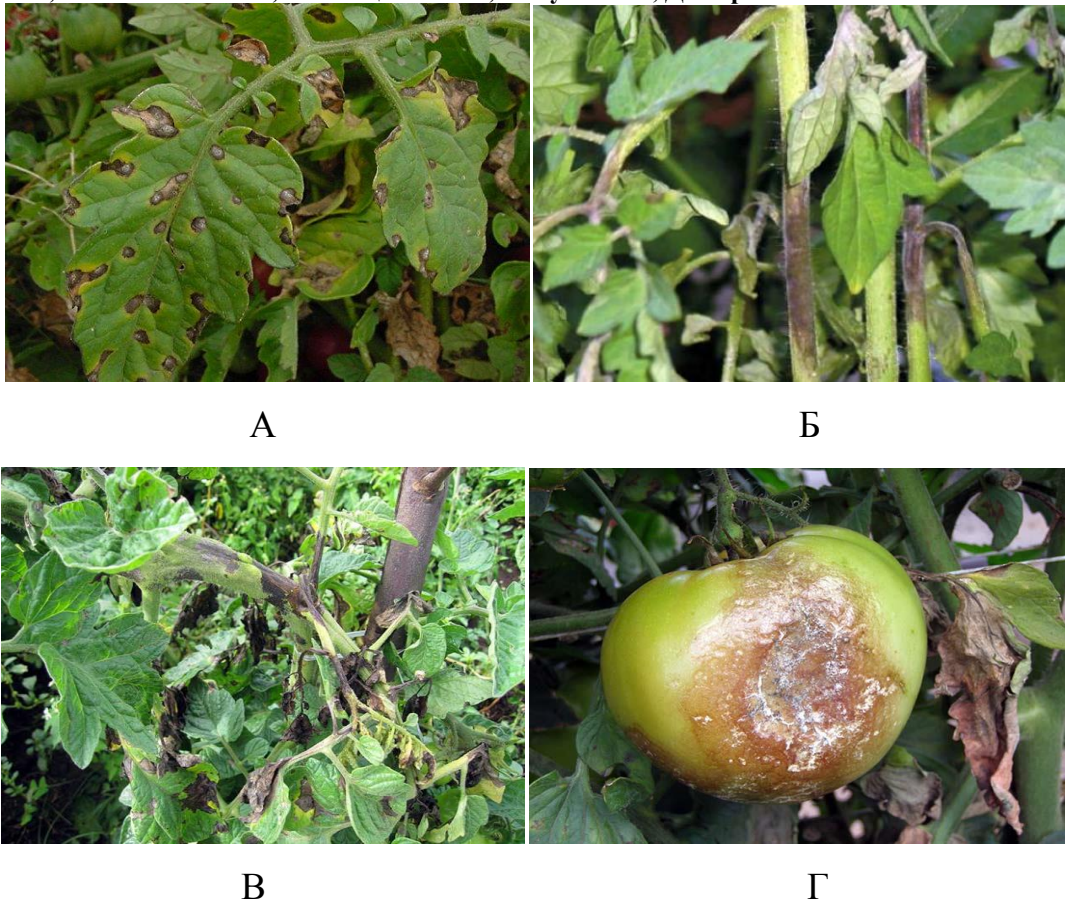


Рис. 4. Ступені захворювання на фітофтороз (А – 1, Б – 2, В – 3, Г – 4)

Рослини оброблялися суспензією ціанобактерій двома способами: обприскуванням та/або поливанням ґрунту. В обох випадках термін застосування суспензії складав до 14 діб. Якщо за цей період у рослини не спостерігалось фітофторостатичного ефекту, то спосіб вважався не ефективним. Під час експерименту було виключено обробку додатковими речовинами, поливання звичайною водою, використання добрив тощо. Також для оцінювання шкідливої дії суспензії нею оброблялися й здорові рослини – жодних змін у контрольних томатів не зафіксовано [14]. Результати

досліджень *in vivo* зведено у матрицю (Табл. 1), порівняльний аналіз яких дозволяє зробити висновок про те, що із двох обраних способів обприскування було ефективнішим у порівнянні з поливанням ґрунту. У першому випадку спостерігалось до 75 % ефективності (для 30 рослин із 40 зареєстрований фітофторостатичний ефект), а ефективність іншого – становить до 50 % (для 20 рослин із 40 зафіксовано пригнічення фітофторозу) за умов, коли обробку суспензією ціанобактерій розпочинали вже при перших ознаках фітопатологічного процесу (рис. 5).

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

1. Результати дослідження впливу мікроцистинів на фітофтороз томатів у натурних умовах вирощування

Спосіб внесення	Ступінь фітопатологічного процесу	Вихідна кількість рослин	Кількість рослин з пригніченням фітофторозу	Ефективність, %
обприскування	1	40	30	75
	2		28	≈75
	3		10	25
	4		0	0
поливання	1		20	≈50
	2		15	≈30
	3		3	0
	4		0	0



А

Б

Рис. 5. Прояви фітофторозу томатів після поливання (А) та обприскування (Б) суспензією ціанобактерій

Під час досліджень визнано відповідний спосіб обробки рослин, які були повністю або майже повністю уражені фітофторою, не ефективним. Варто зауважити, що на такій стадії захворювання фунгіциди, що є нині на ринку, також є неефективними. Застосування МЦ, як

інгібіторів фітофторозу, має сенс лише на початковій (1) і легкій (2) стадіях патологічного процесу. Майже аналогічними є результати експерименту (відхилення в межах 3–5 %) для картоплі та баклажанів, які подано у вигляді гістограми (рис. 6).

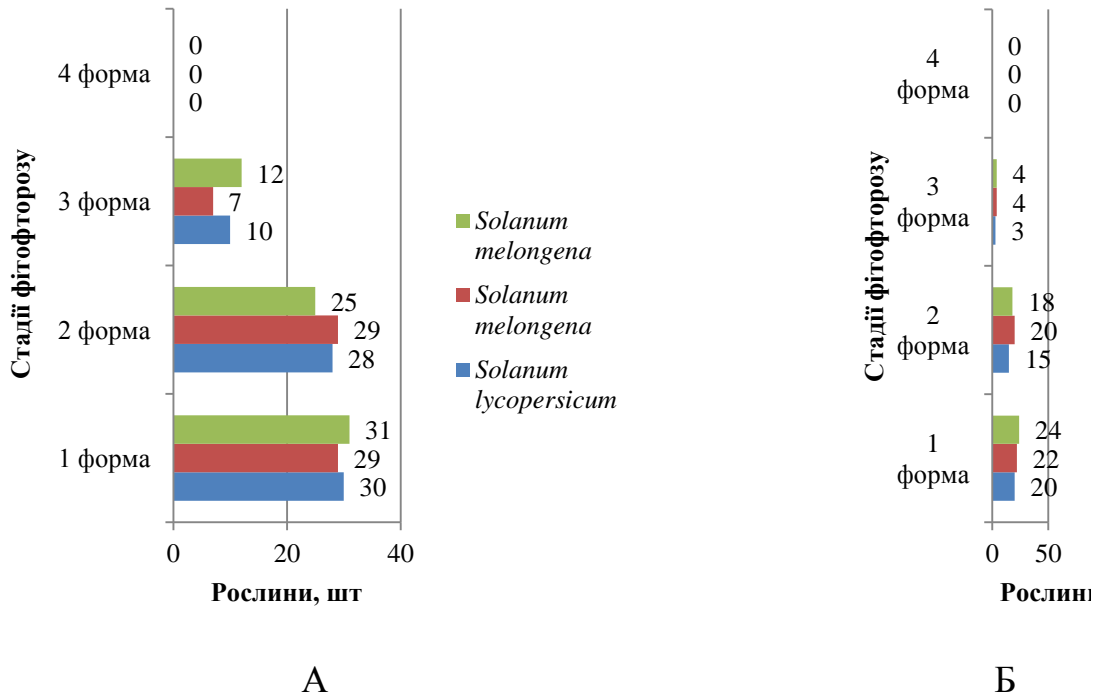


Рис. 6. Кількість рослин зі зменшенням проявів фітофлорозу внаслідок обробки суспензією ціанобактерій шляхом обприскування (А) і поливу ґрунта (Б)

Отримані результати призводять до наступного питання щодо біологічної безпеки подальшого споживання оброблених рослин, що зумовлює необхідність проведення біотестування томатів та інших культур, що оброблялися суспензією водоростей. Тест-об'єктом було обрано наземного равлика Ахатіну гігантську (*Achatina fulica*) (рис. 7).

Вибір оснований на декількох причинах: молюск є біоіндикатором стану середовища, має швидку реакцію на негативний вплив хімічних чинників; є донором нервової тканини для лікування людей; як модельний організм доступний під час утримання через свою всеїдність.



Рис. 7. Тестування рівня біобезпеки оброблених томатів на *Achatina fulica*

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

Для контролю під час біотестування разом із томатами, картоплею та баклажанами були використані як модельні організми інші культурні рослини: огірки,

стручковий перець, салат латук, які також оброблялися суспензією синьо-зелених водоростей. Результати біотестування узагальнено у відповідній матриці (Табл. 2).

2. Результати біотестування різних овочевих культур після обробки суспензією ціанобактерій

Рослина	Спосіб обробки рослин	Кількість особин тест-об'єкту		
		вихідна	без реакції	з негативною реакцією
Томат їстівний (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Полив	30	30	0
	Обприскування		28	2
Огірок звичайний (<i>Cucumis sativus</i>)	Полив		30	0
	Обприскування		24	6
Перець стручковий (<i>Capsicum annuum</i>)	Полив		30	0
	Обприскування		25	5
Салат латук (<i>Lactuca sativa</i>)	Полив		30	0
	Обприскування		18	12
Баклажан (<i>Solanum melongena</i>)	Полив		30	0
	Обприскування		27	3
Картопля (<i>Solanum tuberosum</i>)	Полив		30	0
	Обприскування		26	4

За результатами біотестування встановлено, що рослини, які поливалися суспензією синьо-зелених водоростей, не завдали ніякої візуальної шкоди модельним організмам. Проте рослини, які обприскувалися, спричинили негативну реакцію: молюски зменшили свою активність і сховалися в мушлі, що можна пояснити проявом захисного рефлексу на вплив альготоксинів на покриви тіла, оскільки після прибирання залишків суспензії на

досліджуваних рослинах молюски споживали їх в їжу.

Висновки. Досліджено вплив мікроцистинів на *Phytophthora infestans* в умовах *in vitro* & *in vivo*. У натурному експерименті використано томати, на яких проведено діагностику симптомів фітофторозу за чотирма стадіями патологічного процесу. Рослини оброблялися суспензією синьо-зелених водоростей двома способами: обприскуванням і поливанням ґрунту. Ефективність першого способу становить 75 %. У результаті застосування другого –

Никифоров В. В., Новохатко О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.

фітофторостатичний ефект зареєстровано для 50 % експериментальних рослин. Отже, спираючись на отримані результати можна висловити думку, що мікроцистинам притаманна властивість пригнічувати розвиток фітофторозу томатів, зокрема, шляхом обприскування суспензією ціанобактерій, яку можна розглядати, як біотехнологічний препарат, виготовлений із рафінованої біомаси мікроцистису, проти мікозів рослин.

References

1. *Phytophthora*. A Global Perspective. Ed. K. Lamour (2013). Wallingford : CAB International. 244 p.

2. Buratti F. et al. (2013) The conjugation of microcystin-RR by human recombinant GST and hepatic cytosol. *Toxicology Letters*. № 219. P. 231–238.

3. Gutierrez-Praena D. et al. (2013). Presence and bioaccumulation of microcystins and cylindrospermopsin in food and the effectiveness of some cooking techniques at decreasing their concentrations : a review. *Food and Chemical Toxicology*. № 53. P. 139–152.

4. Buratti F. et al. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology*. № 91. P. 1049–1130.

5. Sivonen K., Borner T. (2008). Bioactive compounds produced by cyanobacteria. *The Cyanobacteria Molecular Biology, Genomics and Evolution*. Eds. Herrero A., Flores E. Norfolk, UK: Caister Academic Press. P. 158-197.

6. Finking R., Marahiel M.A. (2004). Biosynthesis of nonribosomal peptides. *Annu Rev. Microbiol*. V. 58. P. 453-488.

7. Sieber S.A., Marahiel M.A. (2004). Molecular mechanisms underlying non-ribosomal peptide synthesis: approaches to new antibiotics. *Chem. Rev*. V. 105. P. 715-738.

8. Dittmann E., Neilan B.A., Erhard M., von Dohren H., Borner T. (2005). Insertional

Біотестування

експериментальних рослин на *Achatina fulica* підтвердило біологічну безпечність оброблених альготоксинами вегетативних і генеративних органів томатів та інших культурних рослин. Незначна негативна реакція тест-об'єкту спостерігалась лише за вживання обприсканих суспензією синьо-зелених водоростей рослин, що можна пояснити впливом на покриття тіла модельного організму.

mutagenesis of a peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Mol. Microbiol*. 1997. V. 26. P. 779-787.

9. Rouhiainen L., Vakkilainen T., Siemer B.L., Buikema W., Haselkorn R., Sivonen K. (2004). Genes coding for hepatotoxic heptapeptides (microcystins) in the cyanobacterium *Anabaena strain 90*. *Appl. Environ. Microbiol*. V. 70. P. 686-692.

10. Pearson L.A., Hisbergues M., Borner T., Dittmann E., Neilan B.A. (2004). Inactivation of an ABC transporter gene, *mcvH*, results in loss of microcystin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Appl. Environ. Microbiol*. V. 70. P. 6370-6378.

11. Dunn A. et al. (2010). Population structure and resistance to mefenoxam of *Phytophthora capsici* in New York state. *Plant Disease*. Vol. 94. P. 1461–1468.

12. Forster H., Cummings M., Coffey M. (2000). Phylogenetic relationships of *Phytophthora* species based in ribosomal ITS I DNA sequence analysis with emphasis on Waterhouse groups V and VI. *Mycological Research*. Vol. 104. P. 1055–1061.

13. Nykyforov V., Malovanyu M., Kozlovs`ka T., Novokhatko O., Digtyar S. (2016). The biotechnological ways of blue-green algae complex processing. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. № 5/10 (83). P. 11–18.

14. Sakun O.A., Shendryk V.S., Kovalenko Ya.A. (2019). *Doslidzhennia*

Никифоров В. В., Новохатько О. В., Мазницька О. В., Сакун. О. А., Дігтяр С. В.
 vplyvu mikrotsystyniv dlia profilaktyky tomatoes]. Visnyk Kremenchutskoho
 fitoftorozu tomativ. [Study of the effect of natsionalnoho universytetu imeni Mykhaila
 microcystins for the prevention of late blight of Ostrohradskoho. №5 (118) S. 58–65.

RESEARCH OF MICROCYSTINS AS INHIBITORS OF *PHYTOPHTHORA* *INFESTANS* DEVELOPMENT

V. V. Nykyforov, O. V. Novokhatko, O. V. Maznitska, O. A. Sakun, S. V. Digtiar

Abstract: Information from foreign literary sources regarding microcystins of blue-green algae is presented. The current state of the problem of reservoirs «bloomings» and the significance of this phenomenon for humans are reflected. The research was carried out in two stages: laboratory and full-scale. A pure culture of *Phytophthora infestans* was isolated, on which further studies were carried out. Isolation of isolates was carried out on agar nutrient medium. Potassium permanganate and ethanol were selected from the available antiseptics. Field experiments were carried out on experimental lines of *Solanum lycopersicum* by diagnosing signs of late blight disease. The determination of the potential negative effect of tomato plants treated with a suspension of cyanobacteria was carried out by the method of biotesting using *Achatina fulica* as a test object. The effect of blue-green algae toxins – microcystins – on colonies *Ph. infestans* in vitro is described. Photometric observation of the decrease in the number of colonies with a time interval of three days is presented. The phytophthorostatic effect of microcystins has been established. Degradation of *Ph. infestans* the next day were fixed after treatment of the colony with a suspension of cyanobacteria. An inhibitory effect was revealed, almost to the complete disappearance of symptoms in plants partially affected by late blight and grown in vivo. It has been determined that plants treated with microcystin can be considered safe for further consumption; the death of model organisms has not been registered.

Key words: microcystin, toxicity, inhibitors, phytophthora, in vitro, biotesting, test object, in vivo, biosafety