

Д. В. Сокол, студент

Д. Б. Мельникович, студентка

Ю. В. Кононюк, студентка

Н. В. Ліманська, к.б.н., доцент

М. Б. Галкін, к.б.н., ст. наук. співробітник

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, вул. Дворянська, 2, Одеса 65082, Україна,

e-mail: limanska@gmail.com

### **ПРИКРІПЛЕННЯ ТА РЕАКЦІЇ ХЕМОТАКСИСУ ФІТОПАТОГЕНА *RHIZOBIUM RADIOBACTER* У ПРИСУТНОСТІ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*, ВИДІЛЕНИХ З РОСЛИННИХ ПОВЕРХОНЬ**

Запропоновано прості методики визначення здатності бактерій-антагоністів *Lactobacillus plantarum* пригнічувати збудника бактеріального раку *Rhizobium radiobacter* на рівні хемотаксису до рослинних тканин та прикріплення. У відповідь на присутність екстракту певної тест-рослини клітини *R. radiobacter* утворювали дифузійну або грибоподібну біоплівку. Уперше виявлено, що *R. radiobacter* і *L. plantarum* можуть утворювати змішані біоплівки.

**Ключові слова:** бактеріальний рак; хемотаксис; адгезія; антагонізм; молочнокислі бактерії.

Збудник бактеріального раку *Rhizobium radiobacter* реагує на хімічні сигнали від пошкоджених поверхонь рослин [5]. Рослинні екsudати одночасно несуть поживні речовини і атрактанти для запуску циклу життєдіяльності даного збудника, який призводить до патогенезу бактеріального раку [3]. Для захисту рослин від даного патогена надзвичайно важливим є застосування штамів-антагоністів для біологічного контролю. У літературі описано антагоністи збудника бактеріального рака з декількох родин – *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Rahnella* [8]. Уперше було запропоновано використовувати як антагоністів молочнокислі бактерії *Lactobacillus plantarum* [9], перевагою яких є їх абсолютна безпечність для людини і тварин, затверджена статусом GRAS – «generally recognized as safe» (англ.) – «абсолютно безпечні». Лактобацили даного виду також населяють поверхні рослин, і саме вони постають основною причиною молочнокислого бродіння ферментованого рослинного матеріалу [9].

Для відбору найефективніших штамів-антагоністів серед лактобацил необхідними є швидкі та прості методики, які б дозволяли за короткий термін виявити штами, які пригнічують початкові стадії патогенезу бактеріального раку. Першою такою стадією є хемотаксис, а другою – адгезія, коли клітини фітопатогена пересуваються у напрямку до екsudатів рослини і починають прикріплення на рослинній поверхні і формування біоплівки [3, 5].

**Метою** роботи була розробка методик визначення здатності бактерій-антагоністів *Lactobacillus plantarum* пригнічувати збудника бактеріального раку *Rhizobium radiobacter* на рівні хемотаксису до рослинних тканин та прикріплення.

### **Матеріали і методи дослідження**

У дослідженні використовували два штами фітопатогена – *Rhizobium radiobacter* C58, люб'язно наданий доктором Ф. І. Товкачем (Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного, м. Київ), та *R. radiobacter* pJZ, люб'язно наданий доктором І. Р. Головльовим (Університет м. Умео, Швеція), і п'ять штамів лактобацил-антагоністів (лактобацил з раніше встановленими антагоністичними властивостями [1]) – *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12, ОНУ 311, ОНУ 333, ОНУ 355 та ОНУ 475.

Для постановки експерименту ризобії культивували у рідкому середовищі LB [2], а лактобацили – у рідкому середовищі MRS [4] протягом доби. Також добові культури лактобацил підтримувалися на щільному середовищі MRS.

Для дослідження реакції хемотаксису було модифіковано методику Hawes et al., 1988 [6]. Модифікація полягала у використанні 0,5% голодного агару, оскільки метою дослідження було не вивчення руху ризобій, а їх реакцій хемотаксису. Також як атрактанти, замість кінчиків коренів паростків гороху, застосовували три рослинних екстракти – каланхое *Kalanchoe daigremontiana* Mill, томатів *Lycopersicon esculentum* L., моркви *Daucus carota* L. Екстракти отримували шляхом фільтрації свіже зцідженого рослинного соку (каланхое і томати – листя, морква – коренеплоди) через паперовий фільтр та фільтри 0,22 мкм «Millipore», а потім зберігали при – 20 °С.

Посередині чашки Петрі в голодний агар до самого дна чашки вводили рослинний екстракт в об'ємі 2 мкл. На відстані 1 см або 0,5 см від точки введення екстракту було введено 2 мкл трьох-годинної культури фітопатогена. У дослідках з вивчення антагоністичної активності лактобацил між точкою введення рослинного екстракту і точкою внесення ризобій проводили бар'єр зі щільної добової культури лактобацил, розташовуючи його так, щоб він знаходився на середині відстані від екстракту та фітопатогену. Чашки інкубували при 28 °С протягом доби, потім знімали з чашки агар, фіксували бактерії 96° етиловим спиртом 15 хв, а далі забарвлювали кристалічним фіолетовим 1 % (водний розчин) протягом 10 хв. Висушували упродовж доби та мікроскопіювали у світловому мікроскопі за збільшення 600х. Реакції хемотаксису оцінювали за фенотиповими змінами культур – утворенням мікроколоній, біоплівки або моношару клітин. Усі дослідження проводили у 8 повторностях.

Для дослідження конкурентної адгезії було запропоновано просту методику, яка може застосовуватись у випадку зіставлення властивостей грампозитивних і грамнегативних бактерій. У флакон, простерилізований разом із покрив-

ним скельцем, вносили по 500 мкл культури лактобацил або фітопатогена і 1,5 мл відповідного живильного середовища – MRS або LB. Такі варіанти були контрольними. У дослідні флакони вносили по 500 мкл культур лактобацил і фітопатогена і 1 мл живильного середовища. З метою підбору найкращих умов для прикріплення обох видів бактерій порівнювали культивування суміші мікроорганізмів у MRS та LB і різні температури інкубації – 28 °С та 37 °С. Після витримування добу у термостаті покривні скельця виймали, фіксували 96° етиловим спиртом протягом 15 хв і прикріплені бактерії фарбували за Грамом. Мікроскопіювали у світловому мікроскопі за збільшення 600х. Конкурентне прикріплення оцінювали у відсотках бактерій – грампозитивних лактобацил і грамнегативних ризобій у п'яти полях зору у двох незалежних експериментах.

### Результати досліджень та їх обговорення

Рослинні екстракти спричиняли різний прояв реакцій хемотаксису фітопатогенів *Rhizobium radiobacter* C58 та *R. radiobacter* pJZ залежно від виду тест-рослини. У відповідь на присутність екстракту каланхое клітини ризобій утворювали мікроколонії. Формування мікроколоній і грибоподібної біоплівки, може бути захисною реакцією бактерій на стресові фактори навколишнього середовища [7]. Екстракти каланхое відомі за своїми бактерицидними властивостями [10]. Можливо, що утворення мікроколоній бактеріями штамів *R. radiobacter* C58 та *R. radiobacter* pJZ є наслідком несприятливого впливу екстракту каланхое.

За присутності екстракту листів томату спостерігалось утворення мікроколоній, а також були й клітини, рівномірно розподілені по склу у вигляді дифузної біоплівки, що може свідчити про менший несприятливий вплив тестованих рослинних речовин, оскільки саме грибоподібна біоплівка з її товстішим матриксом і складною архітектурою зазвичай формується у більш несприятливих умовах, ніж дифузна, – в умовах, коли бактерії стають менш рухливими [11]. Ймовірно, екстракти каланхое та томату впливали на рухливість клітин, пригнічуючи її, внаслідок чого клітини не поширювалися по субстрату у вигляді дифузної біоплівки, а формували саме грибоподібну біоплівку.

У дослідях, де аттрактантами виступали екстракти моркви, клітини ризобій розташовувалися рівномірно по поверхні скла, утворюючи дифузну біоплівку, і були направлені у напрямку точки введення екстракту. Отже, можна зробити висновок, що речовини тканинного соку моркви не мали негативного впливу на клітини *R. radiobacter* C58 та *R. radiobacter* pJZ.

Дійсно, усі три тест-рослини є класичними моделями для вивчення патогенезу бактеріального раку дводольних рослин, але якщо порівнювати час, який потрібен для проявів симптомів захворювання, то найшвидше пухлини утворюються на моркві (12–14 днів), далі – на томатах (20–21 день) і найдовше проявів очікують на каланхое (30–40 днів) (власні спостереження). Можна

припустити, що час, потрібний для прояву захворювання, пов'язаний саме з пригнічувальним впливом тканинних рідин певної рослини.

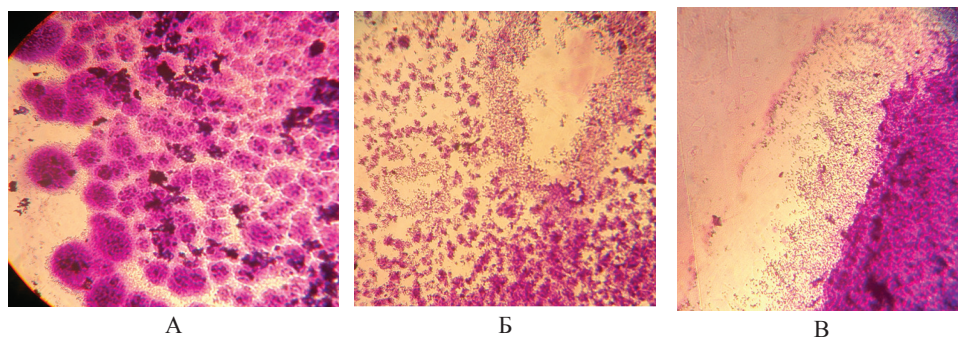


Рис. 1. Реакція бактерій штаму *R. radiobacter* C58 на рослинні екстракти:  
А – каланхоє; Б – томату; В – моркви (мікрофотографії, 600х)

Проаналізувавши реакції фітопатогенів на рослинні екстракти, для подальших експериментів з вивчення антагоністичних властивостей лактобацил у якості атрактанту було обрано екстракт моркви, оскільки його вплив спричиняв утворення не грибоподібної біоплівки, а саме дифузійної.

Використання п'яти штамів як бар'єрів між атрактантом і культурою патогенних ризобій показало, що бактерії обох штамів – *R. radiobacter* C58 та *R. radiobacter* pJZ – реагували на присутність лактобацил однаково.

Бактерії штаму *L. plantarum* ОНУ 333 не проявили ніякого впливу на реакцію хемотаксису ризобій – клітини фітопатогену утворювали дифузну біоплівку так само, як і у контролі – тобто за відсутності лактобацил (рис. 2).

Найбільший вплив проявили штами *L. plantarum* ОНУ 311 та *L. plantarum* ОНУ 475. За присутності лактобацил штаму ОНУ 311 спостерігалось утворення добре сформованих мікроколоній і початок формування грибоподібної біоплівки (рис. 2). Бар'єр з клітин штаму *L. plantarum* ОНУ 475 спричиняв утворення добре сформованих мікроколоній *R. radiobacter* (рис. 2).

Вплив штамів *L. plantarum* ОНУ 12 та ОНУ 355 був більш помірним – мікроколонії утворювалися поряд з формуванням дифузної біоплівки (рис. 2).

Отже, дослідження впливу штамів *L. plantarum* показало, що присутність лактобацил змінювала реакцію хемотаксису клітин *R. radiobacter*. Реакції хемотаксису є першою реакцією патогенних ризобій на присутність тканинних рідин ранових поверхонь рослин [3, 5]. Раніше було виявлено, що лактобацили є активними антагоністами *R. radiobacter*, і вони здатні пригнічувати патоген, як у дослідях на живильних середовищах, так і на рослинах [1]. Отримані результати показують, що перші прояви впливу чотирьох з п'яти штамів-антагоністів проявилися вже на етапі хемотаксису.

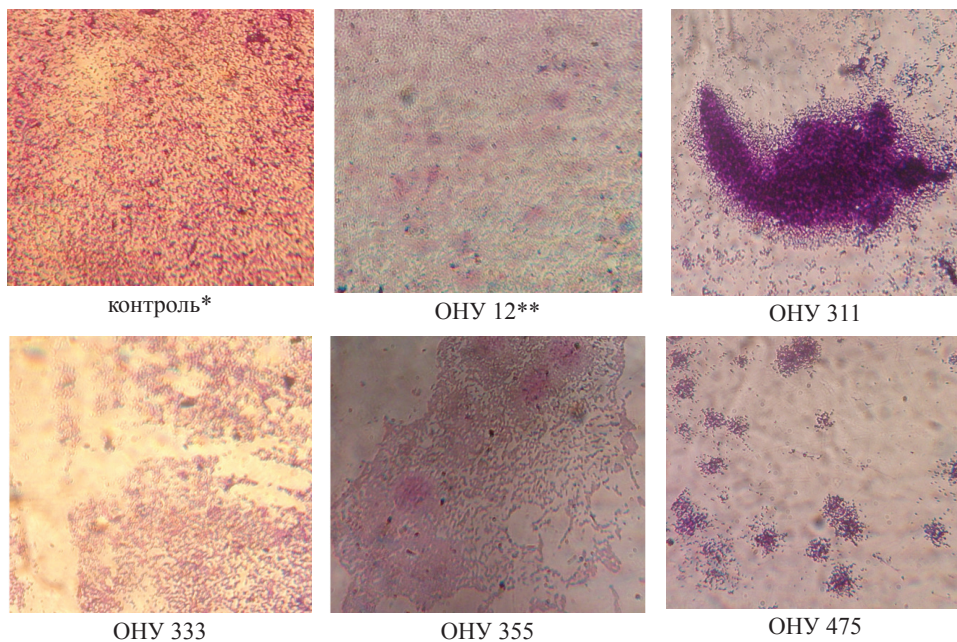


Рис. 2. Реакція бактерій штаму *R. radiobacter* pJZ на екстракт моркви у присутності бар'єрів зі штамів-антагоністів *L. plantarum*

Примітка: \*контроль – лактобацили відсутні; \* – назва штаму *L. plantarum*, який було використано для створення бар'єру

У результаті апробаційних досліджень запропоновано просту методику визначення впливу бактерій-антагоністів на першому етапі патогенезу захворювання рослин – на етапі хемотаксису. Методика потребує наявності світлового мікроскопа, 0,5 % «голодного агару», чашок Петрі, добових культур дослідних бактерій, стерильного екстракту рослинних тканин.

Далі вивчали конкурентні відносини фітопатогена і антагоніста на етапі прикріплення. Для цього було запропоновано простий метод, заснований на контрастному забарвленні грам-позитивних і грам-негативних бактерій. Одночасне культивування *R. radiobacter* і *L. plantarum* для отримання скелець обростання дозволило швидко, за одну добу, оцінити потенціал штаму-антагоніста щодо пригнічення адгезії фітопатогена.

Для розробки простого методу оцінки конкурентної взаємодії лактобацил і *R. radiobacter* на етапі прикріплення підбирали оптимальні умови інкубування, які підходили б для кожного з тестованих видів бактерій. Лактобацили і ризобії вирощували за різних температур 28 °C і 37 °C і у живильних середовищах різного складу – MRS і LB. Вимірювання щільності клітинних суспензій після доби культивування показало, що *R. radiobacter* добре росли у середовищі MRS при 28 °C, і концентрація клітин досягала  $(4-6) \times 10^7$  кл/мл. Але за

температури 37 °С у обох середовищах – і MRS, і оптимальному LB, ризобії майже не росли. Що стосується лактобацил, то вони найкраще росли за 37 °С у оптимальному для них середовищі MRS, і концентрація їх клітин сягала до  $(6-7) \times 10^9$  кл/мл, але за температури 28 °С ріст у MRS також був достатньо явним – до  $(6-8) \times 10^7$  кл/мл. У середовищі LB лактобацили майже не росли при 28 °С – до  $(2-4) \times 10^1$  кл/мл, а за температури 37 °С спостерігався слабкий ріст – до  $(4-5) \times 10^2$  кл/мл.

Аналізуючи дані з культивування бактерій різних видів, у якості оптимальних умов, які б дозволяли бактеріям і *R. radiobacter*; і *L. plantarum* накопичувати біомасу, було обрано живильне середовище MRS і 28 °С, ріст в якому за даної температури дозволяв отримати за добу  $10^7$  кл/мл обох видів бактерій. Дійсно, мікроскопія скелець обростання показала, що за даних умов клітини *R. radiobacter* і *L. plantarum* за добу інкубування успішно прикріплювалися до скла і починали формувати біоплівку (рис. 3).

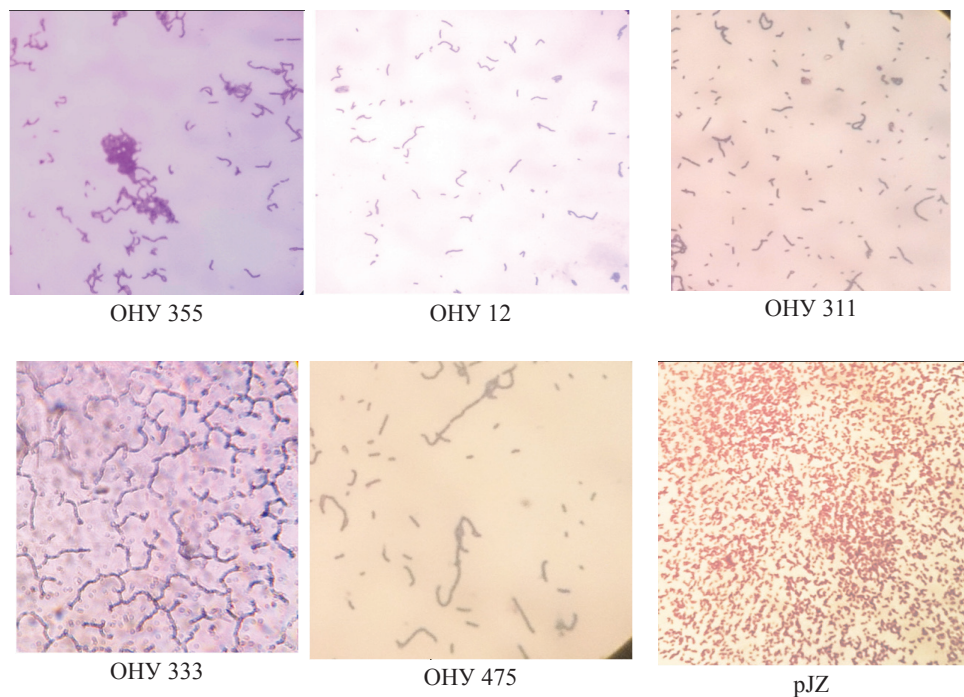


Рис. 3. Прикріплення бактерій до скла у контролях за умови інкубування у середовищі MRS і температури 28 °С

Інкубування суміші фітопатогена і антагоніста у MRS при 28 °С за одночасного внесення культур показало, що за добу утворювалася змішана біоплівка, в якій присутність грамнегативних ризобій та грампозитивних лактобацил можна було відмітити візуально за відмінністю забарвлення (рис. 4).

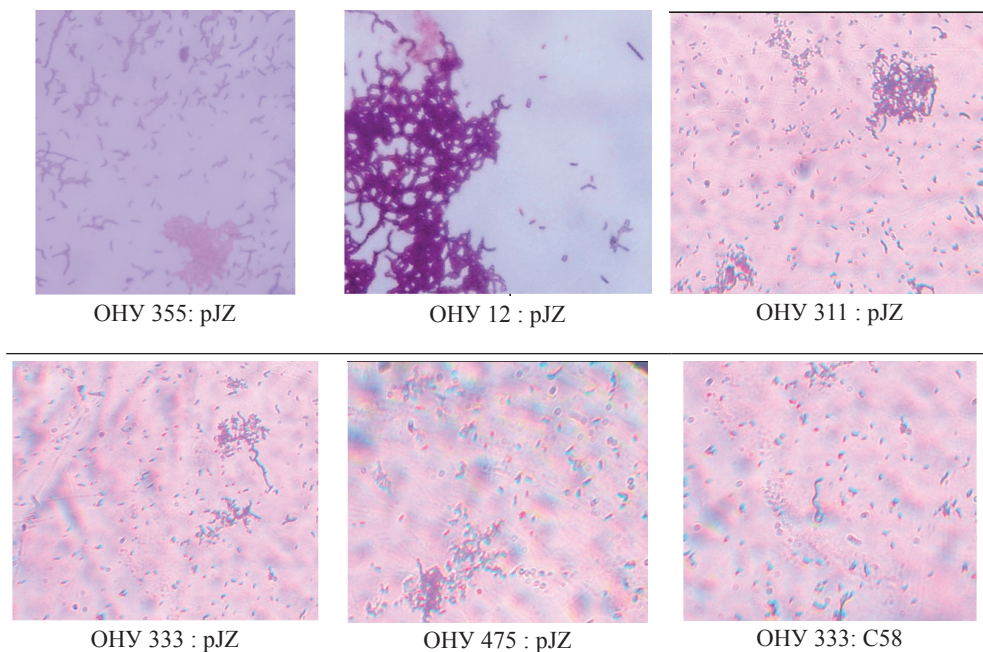


Рис. 4. Прикріплення бактерій до скла у сумішах за умови інкубування у середовищі MRS і температури 28 °С

Склад біоплівки оцінювали у відсотках за наявністю клітин *R. radiobacter* і *L. plantarum* (табл. 1).

Таблиця 1

Співвідношення клітин *R. radiobacter* і *L. plantarum* у змішаних біоплівках за добуве культивування у середовищі MRS при 28 °С

Суміш культур	% бактерій штамів у біоплівці	Суміш культур	% бактерій штамів у біоплівці
рJZ+ОНУ 12	80% ОНУ 12: 20% рJZ	С58+ОНУ 12	70% ОНУ 12: 30% С58
рJZ+ОНУ 311	70% ОНУ 311 : 30% рJZ	С58+ОНУ 311	60% ОНУ 311: 40% С58
рJZ+ОНУ 333	50%:50%	С58+ОНУ 333	60% ОНУ 311: 40% С58
рJZ+ОНУ 355	60% ОНУ 355: 40% рJZ	С58+ОНУ 355	70% ОНУ 12: 30% С58
рJZ+ОНУ 475	50%:50%	С58+ОНУ 475	50%:50%

Найкращі результати з вбудовування у біоплівку з витісненням клітин ризобій було отримано зі штамми *L. plantarum* ОНУ 12 і *L. plantarum* ОНУ 355 щодо *R. radiobacter* С58. Дійсно, дані штами лактобацил у попередніх наших дослі-

дженнях проявили високу антагоністичну активність проти *R. radiobacter* C58 як *in vitro*, так й *in vivo* на тест-рослинах [1]. Проти фітопатогена *R. radiobacter* pJZ найактивнішими конкурентами у прикріпленні до скла були штами ОНУ 12, ОНУ 311 та ОНУ 355.

Загалом, результати вивчення конкурентної адгезії на склі вказують на те, що лактобацили здатні утворювати з фітопатогеном *R. radiobacter* змішані біоплівки. Зважаючи на те, що *L. plantarum* успішно пригнічують патогенез збудника бактеріального раку на тест-рослинах [1, 10], можна припустити, що активне інгібування фітопатогена відбувається й далі, після утворення біоплівки, коли бактерії різних видів ростуть поруч, і лактобацили починають значно підкислювати навколишнє середовище, роблячи його несприятливим для росту фітопатогена.

Здатність двох представників мікробіоти рослин – *R. radiobacter* і *L. plantarum*, утворювати змішані біоплівки показана уперше.

У подальшому необхідною є розробка простої методики виявлення впливу антагоністів на прикріплення фітопатогенів на моделі тест-рослин.

### Висновки

1. Вплив екстрактів тест-рослин на прояв реакцій хемотаксису фітопатогенів *Rhizobium radiobacter* відрізнявся залежно від виду тест-рослини. У присутності тканинних рідин моркви бактерії утворювали дифузійні біоплівки, томатів – формували мікроколонії і дифузійну біоплівку, каланхое – виключно грибоподібну біоплівку.

2. Присутність більшості досліджених штамів-антагоністів *L. plantarum* змінювала реакцію хемотаксису клітин *R. Radiobacter* щодо екстракту моркви у бік утворення грибоподібної біоплівки замість дифузійної.

3. Запропоновано прості методики визначення впливу бактерій-антагоністів на першому етапі патогенезу захворювання рослин – на етапі хемотаксису, та на другому етапі – етапі прикріплення.

4. Уперше показано утворення змішаних біоплівок *R. radiobacter* і *L. plantarum*.

Стаття надійшла до редакції 29.01.2017

### Список використаної літератури

1. Мерліч А. Г. Антагоністична активність бактерій *Lactobacillus plantarum*, виділених з рослинних джерел України та Франції, проти фітопатогенних бактерій / А. Г. Мерліч, Н. В. Ліманська // Мікробіологія і біотехнологія. – 2016. – № 4. – С. 71–85.
2. Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli* / G. Bertani // Journal of Bacteriology. – 1951. – Vol. 62. – P. 293–300.
3. Burr T. J. Crown gall of grape / T. J. Burr, L. Otten // Annu Rev Phytopathol. – 1999. – Vol. 37. – P. 53–80.
4. de Man J. C. A medium for the cultivation of lactobacilli / J. C. de Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe // Journal of Applied Bacteriology. – 1960. – № 23. – P. 130–135.
5. Escobar M. A. *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease / M. A. Escobar, A. M. Dandekar // Trends Plant Sci. – 2003. – Vol. 8. – P. 380–386.



6. Hawes M. C. *Agrobacterium tumefaciens* mutants deficient in chemotaxis to root exudates / M. C. Hawes, L. Y. Smith, A. J. Howarth // Molecular and plant-microbe interactions. – 1988. – Vol. 1, № 4. – P. 182–186.
7. Lapaglia C. Stress-induced production of biofilm in the hyperthermophile *Archaeoglobus fulgidus* / C. Lapaglia, P. L. Hartzell // Appl Environm Microbiol. – 1997. – Vol. 63, № 8. – P. 3158–3163.
8. Limanska N. Prevention of grape crown gall / N. Limanska // Microbiology and Biotechnology. – 2012. – № 1(17). – P. 6–22.
9. Limanska N. V. Effect of *Lactobacillus plantarum* on tumor formation caused by *Rhizobium radiobacter* / N. V. Limanska, N. V. Korotaeva, G. V. Yamborko, V. O. Ivanytsia //
10. Pattewar S. V. Antimicrobial potential of extract from leaves of *Kalanchoe pinnata* / S. V. Pattewar, D. N. Patil, S. B. Dahikar // Int J. Pharmaceutical Science and Research. – 2013. – № 13. – P. 4577–4580.
11. Picioareanu C. Microbial motility involvement in biofilm structure formation – a 3D modelling study / C. Picioareanu, J.-U. Kreft, M. Klausen, J. A. J. Haagensen, T. Tolker-Nielsen // Water science and technology. – 2007. – Vol. 55, № 8. – P. 337–343.

**Д. В. Сокол, Д. Б. Мельникович, Ю. В. Кононюк, Н. В. Лиманская, М. Б. Галкин**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,  
кафедра микробиологии, вирусологии и биотехнологии, ул. Дворянская, 2,  
Одесса 65082, Украина, limanska@gmail.com

## **ПРИКРЕПЛЕНИЕ И РЕАКЦИИ ХЕМОТАКСИСА ФИТОПАТОГЕНА RHIZOBIUM RADIOBACTER В ПРИСУТСТВИЕ LACTOBACILLUS PLANTARUM, ВЫДЕЛЕННЫХ С РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ**

### **Резюме**

Бактерии вида *Lactobacillus plantarum* благодаря выраженным антагонистическим свойствам являются перспективными микроорганизмами для защиты растений от фитопатогенов. **Целью** работы была разработка методик определения способности бактерий-антагонистов *L. plantarum* угнетать возбудителя бактериального рака *Rhizobium radiobacter* на уровне хемотаксиса к растительным тканям и прикрепления. **Материалы и методы.** Для выявления реакций хемотаксиса использовали экстракты растений моркови, томатов и каланхоэ. В качестве барьеров между аттрактантом и клетками *R. radiobacter* использовали пять культур *L. plantarum*. Для исследования конкурентной адгезии на стекле была предложена методика совместного культивирования фитопатогена и антагониста. **Результаты исследований.** Показано, что влияние экстрактов тест-растений на проявление реакций хемотаксиса фитопатогенов *R. radiobacter* отличался в зависимости от вида тест-растения. В присутствии тканевых жидкостей моркови бактерии образовывали диффузные биопленки, томатов – формировали микроколонии и диффузную биопленку, каланхоэ – исключительно грибоподобную биопленку. Присутствие большинства исследуемых штаммов-антагонистов *L. plantarum* изменяло реакцию хемотаксиса клеток *R. radiobacter* по отношению к экстракту моркови в сторону образования грибоподобной биопленки вместо диффузной. Используя предложенную нами методику совместного культивирования, было впервые показано образование смешанных биопленок *R. radiobacter* и *L. plantarum*. **Вывод.** Предложено про-

стые методики изучения влияния бактерий-антагонистов на первом этапе патогенеза заболевания растений – на этапе хемотаксиса, и на другом этапе – этапе прикрепления.

**Ключевые слова:** бактериальный рак; хемотаксис; конкурентная адгезия; антагонизм; молочнокислые бактерии.

**D. V. Sokol, D. B. Melnykovich, Yu. V. Kononiuk, N. V. Limanska, M. B. Galkin**

Odesa Mechnykov National University, Department of Microbiology, Virology and Biotechnology, 2, Dvorianska str., Odesa 65082, Ukraine, limanska@gmail.com

#### **ATTACHMENT AND CHEMOTAXIS REACTIONS OF PHYTOPATHOGEN *RHIZOBIUM RADIOBACTER* IN PRESENCE OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ISOLATED FROM PLANT SURFACES**

##### **Abstract**

*Lactobacillus plantarum* with strong antagonistic activities are the perspective microorganisms for protection of plants against phytopathogens. The **aim** of the investigation was to develop the methods to study the capability of *L. plantarum* to inhibit crown gall agent *Rhizobium radiobacter* at the levels of chemotaxis to plant tissues and attachment. **Materials and methods.** Extracts of carrots, tomatoes and kalanchoe plants were used to observe the chemotaxis reactions. Five cultures of *L. plantarum* were applied as barriers between the attractant and *R. radiobacter* cells. A method of simultaneous cultivation of the phytopathogen and antagonist to study the competition adhesion to glass surface was proposed. **Results.** Effect of plant extracts on *R. radiobacter* chemotaxis reactions varied depending on the species of the test plant. In presence of carrot tissue liquids bacteria formed flat biofilms, tomatoes – formed microcolonies and flat biofilms, kalanchoe – strictly mushroom-like biofilms. Presence of the majority of *L. plantarum* antagonistic strains altered the chemotaxis reaction of *R. radiobacter* cells as to carrot extract towards formation of mushroom-like biofilms instead of flat ones. With application of our proposed method of simultaneous cultivation, we showed the formation of mixed biofilms of *R. radiobacter* and *L. plantarum* for the first time.

**Conclusion.** Simple methods to study the effect of antagonistic bacteria on chemotaxis as the first stage of plant disease pathogenesis and on attachment as the second stage were proposed.

**Key words:** crown gall; chemotaxis; competition adhesion; antagonism; lactic acid bacteria.

## References

1. Merlich A.G., Limanska N.V. (2016) «Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from plant sources of Ukraine and France against phytopathogenic bacteria», *Microbiology and Biotechnology*, No 4, pp 71-85.
2. Bertani G. (1951) «Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*», *Journal of Bacteriology*, Vol 62, pp 293-300.
3. Burr T.J., Otten L. (1999) «Crown gall of grape», *Annual Reviews of Phytopathology*, Vol 37, pp 53-80.
4. de Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. (1960) « A medium for the cultivation of lactobacilli », *Journal of Applied Bacteriology*, No 23, pp 130-135.
5. Escobar M.A., Dandekar A.M. (2003) «*Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease», *Trends in Plant Science*, Vol 8, pp 380-386.
6. Hawes M.C., Smith L.Y., Howarth A.J. (1988) «*Agrobacterium tumefaciens* mutants deficient in chemotaxis to root exudates», *Molecular and Plant-Microbe Interactions*, Vol 1, pp 182-186.
7. Lapaglia C., Hartzell P.L. (1997) «Stress-induced production of biofilm in the hyperthermophile *Archaeoglobus fulgidus*», *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 63, pp 3158-3163.
8. Limanska N. (2012) «Prevention of grape crown gall», *Microbiology and Biotechnology*, No 1, pp 6-22.
9. Limanska N.V., Korotaeva N.V., Yamborko G.V., Ivanytsia V.O. (2014) «Effect of *Lactobacillus plantarum* on tumor formation caused by *Rhizobium radiobacter*», *Microbiology and Biotechnology*, No 1, pp 8-18.
10. Lindow S.E., Brandl M.T. (2003) «Microbiology of the phyllosphere», *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 69, pp 1875-1883.
11. Picioreanu C., Kreft J.-U., Klausen M., Haagensen J.A.J., Tolker-Nielsen T. (2007) «Microbial motility involvement in biofilm structure formation – a 3D modelling study», *Water science and technology*, Vol 55, pp 337-343.