

АНОТАЦІЯ

Тистечок С.І. Актиноміцети ризосфери ялівцю високого *Juniperus excelsa* M.-Vieb.: генетичне різноманіття та біосинтетичні властивості – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 “Біологія” (галузь знань 09 “Біологія”). Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню генетичного різноманіття природних ізолятів актиноміцетів ризосфери ялівцю високого (*Juniperus excelsa* M.-Vieb.) та їхнього потенціалу як продуцентів біологічно активних сполук, зокрема антибіотиків.

Поява і швидке поширення патогенних мікроорганізмів з множинною стійкістю до антибіотиків стали нагальною проблемою глобальної охорони здоров'я. Ця тривожна тенденція не лише створює значні виклики в усьому світі, але й загрожує звести нанівець досягнутий прогрес у боротьбі з інфекційними захворюваннями. Стрімке зростання кількості патогенів з мультирезистентністю спонукає дослідників до пошуку інноваційних стратегій вирішення окресленої проблематики. Відкриття нових природних біологічно активних сполук для розробки на їхній основі антимікробних препаратів є однією з таких стратегій.

Протягом всієї історії людство визнало мікроорганізми цінним джерелом сполук із терапевтичними властивостями. Природні сполуки мають різноманітну і складну хімічну будову, відточену еволюційними процесами, що підвищує ймовірність появи в них потужної біологічної активності. На відміну від сполук, отриманих шляхом комбінаторного біосинтезу, природні антибіотики мікробного походження демонструють винятковий потенціал у подоланні мультирезистентності.

Актиноміцети – різноманітна група грампозитивних бактерій, які широко розповсюджені в різних біотопах, особливо в ґрунтах, де відіграють важливу

роль у забезпеченні кругообігу поживних речовин. Вони здатні продукувати біологічно активні вторинні метаболіти, які широко застосовують у медицині, ветеринарії та сільському господарстві. Крім того, використання актиноміцетів, як біопрепарати покращує ріст рослин та веде до екологізації виробництва. Проте, основною цінністю актиноміцетів є їхня здатність продукувати антибіотичні сполуки. Ці бактерії відіграли вирішальну роль у розробці багатьох життєво важливих терапевтичних засобів для боротьби з інфекційними, онкологічними та іншими захворюваннями.

Однак, сьогодні темпи відкриття нових сполук із антибіотичними властивостями значно сповільнилися. Труднощі з виявленням нових антибіотиків пояснюють значним повторним відкриттям раніше описаних сполук, особливо серед актиноміцетів. Одним з підходів до вирішення цієї проблеми є дослідження нових і недостатньо вивчених середовищ існування мікроорганізмів для виявлення продуцентів нових біологічно активних сполук. В цьому аспекті, територія України є одним з таких регіонів, мікробне біорізноманіття якого практично не вивчали. Відомо, що бактеріальні угруповання ризосфери рослин вирізняються великою різноманітністю. Унікальною з точки зору рослинного, а відтак мікробного, різноманіття на території України є вузька смуга субтропіків середземноморського типу на чорноморському узбережжі Кримського півострова. В межах цієї зони росте велика кількість рідкісних та ендемічних рослин. Нечисленні попередні дослідження нашої лабораторії у співпраці із науковою групою проф. А. Лужецького (Саарландський університет, Німеччина), продемонстрували потенціал окремих ізолятів актиноміцетів ризосфери рослин Кримського півострова, як продуцентів нових біологічно активних сполук. Однією з таких рослин є *J. excelsa*, який за даними Червоної книги України віднесений до вразливих видів. Цей вид має лікарські властивості, обумовлені великою кількістю біологічно активних сполук. Відомо, що із ризосфери лікарських рослин з високою імовірністю можна виділити продуцентів антибіотиків в т.ч.

нових. З огляду на це, метою даної роботи було вивчення генетичного різноманіття актиноміцетів ризосфери *J. excelsa* та оцінка їхнього біосинтетичного потенціалу як потенційних продуцентів нових біологічно активних речовин. Об'єктом дослідження слугувало генетичне різноманіття та властивості актиноміцетів ризосфери *J. excelsa* на території Кримського півострова. Предмет дослідження – біосинтетичний потенціал актиноміцетів ризосфери *J. excelsa* як продуцентів широкого спектру біоактивних сполук, в т.ч. нових антибіотиків.

Досліджено філогенетичне різноманіття актиноміцетів, виділених з ризосфери *J. excelsa*, в результаті якого, визначено родини та роди, до яких належать ці ізоляти. Встановлено приналежність виділених актиноміцетів до семи родин (*Kribbellaceae*, *Micrococcaceae*, *Micromonosporaceae*, *Nocardiaceae*, *Promicromonosporaceae*, *Pseudonocardiaceae* та *Streptomycetaceae*) та одинадцяти родів (*Actinoplanes*, *Actinorectispora*, *Amycolatopsis*, *Kribbella*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora* та *Streptomyces*) класу *Actinomycetia*. Виявлено, що найбільша кількість ізолятів, 350 або 94% від усіх, належали до роду *Streptomyces*. Вперше з біотопів України виділено представника дуже рідкісного роду актиноміцетів *Actinorectispora*, який сьогодні налічує лише два типових види. Використання прямого висівання ґрунтових суспензій без додаткових обробок зразків дало змогу виділити найбільшу кількість ізолятів, зокрема представників шести родів актиноміцетів (*Amycolatopsis*, *Promicromonospora*, *Nocardia*, *Saccharopolyspora*, *Rhodococcus* та *Streptomyces*).

Досліджено вплив складу поживних середовищ на різноманітність отриманих ізолятів. Найбільше ізолятів виділено на середовищі ISP3, проте всі вони належали до роду *Streptomyces*. Стрептоміцети виявляли на усіх використаних середовищах й кількісно вони переважали інші роди. Найбільше родове різноманіття спостерігали на середовищах ISP4 (*Amycolatopsis*, *Kribbella*, *Micrococcus* та *Micromonospora*) та Хітиновому (*Actinoplanes*,

Actinorectispora, *Nocardia* та *Saccharopolyspora*), причому із суттєвими відмінностями спектру родів.

Здійснено аналіз антагоністичних властивостей актиноміцетів проти широкого пулу тест-культур мікроорганізмів. Показано, що значна кількість ізолятів здатна пригнічувати ріст збудників внутрішньолікарняних інфекцій (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumonia*, *Proteus vulgaris* та *Candida albicans*). Окрім цього, виявили понад 60% ізолятів, які затримували ріст хоча б однієї з використаних тест-культур фітопатогенних мікроорганізмів. Серед них найбільше антагоністів було проти грамгенативних бактерій (*Xantomonas campestris* pv. *campestris*, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* та *Erwinia amylovora*), які спричиняють бактеріози у широкого кола сільськогосподарських культур.

Для значної кількості досліджених природних ізолятів ризосфери *J. excelsa* властиві потенційні ріст-стимулювальні властивості, такі як здатність до асиміляції атмосферного азоту, солубілізації нерозчинних форм Фосфору, синтез індоліл-3-оцтової кислоти та сидерофорів, які задіяні в асиміляції мікроелементів, зокрема заліза. Деякі ізоляти поєднували декілька досліджуваних властивостей та можуть бути перспективними для розробки біопрепаратів для рослинництва.

Використовуючи різні підходи здійснено скринінг біологічно активних сполук, які продукують досліджувані ізоляти. Дереплікативний аналіз екстрактів вторинних метаболітів актиноміцетних ізолятів, які мали різний спектр та рівень антимікробної дії виявлено антибіотики десертomicин А, канханаміцин А, стрепторубін В, спектинабілін, антимицини, спіраміцини та стамбоміцини. Застосовуючи специфічні мікробні біосенсиори здійснено скринінг продуцентів певних класів антибіотиків. Вперше використано штам-біосенсор *S. lividans* ТК24 рМО16, для скринінгу продуцентів тіопептидних антибіотиків серед природних ізолятів. Внаслідок чого виявлено два ізоляти, які продукували берніаміцини А і В. Використання біосенсора *Bacillus subtilis*

HB0950 дозволило виявити 31 ізолят із потенційною здатністю до синтезу антибіотиків-інгібіторів клітинної стінки бактерій. Внаслідок хімічного аналізу екстрактів одного з цих ізолятів (*Streptomyces* sp. Je 1-6) ідентифіковано антибіотик лідикаміцин та його похідних. Використання специфічного біосенсора для скринінгу памаміцинів *S. albus* ΔpseB4 CD10RO1 дало змогу виявити 26 потенційних продуцентів цих антибіотиків.

В результаті рутинного скринінгу вторинних метаболітів досліджуваних ізолятів з широким спектром антимікробної дії відкрито два нові антибіотики фурахіноцини L і K. Виявлені сполуки мають меротерпеноїдну структуру та подібні до групи сполук з родини фурахіноцинів. Вони у своїх структурах містять модифікації полікетид-нафтохінонового скелету, які до нині ще не були описані для фурахіноцинів. Зокрема, наявність оксиметильної групи у структурі фурахіноцину K та ацетилгідразону у фурахіноцині L. Ідентифіковано кластер генів, який ймовірно відповідає за біосинтез фурахіноцинів K та L. Виявлено, що цей кластер має значну відмінність від вже описаного кластеру генів фурахіноцину C зі штаму *Streptomyces* sp. KO-3988. Водночас, усі ключові гени, що беруть участь у формуванні ядра нафтохінону, поліпренілсинтетази та пренілтрансферази були присутні в кластері ізоляту *Streptomyces* sp. Je 1-369.

Запропоновано ймовірний шлях біосинтезу фурахіноцинів K та L на основі передбачуваних функцій генів наявних у кластері, даних біосинтезу фурахіноцину C та подібних сполук. Цілком імовірно, що приєднання ацетилгідразону під час формування структури фурахіноцину L відбувається на пізній стадії біосинтезу та за ймовірної участі гену амінотрансферази (Orf 3).

Встановлено, що фурахіноцин K виявляє цитотоксичну активність проти клітинної лінії HepG2 зі значенням IC50 12,6 мкг/мл, проте не має антимікробної дії. Водночас, для фурахіноцину L характерна антибактеріальна активність проти грампозитивних бактерій *S. aureus* Newman та *B. subtilis* зі значенням МІК 2 мкг/мл та 64 мкг/мл, відповідно, проте не характерна цитотоксична дія. Виявлений в цій роботі фурахіноцин L – перший

фурахіноцин із антибактерійною активністю. Описані сполуки можуть мати важливе значення для подальших досліджень і розробок у галузі антимікробної терапії.

Виконане дослідження вказує на великий біосинтетичний потенціал природних ізолятів актиноміцетів, виділених з ризосфери *J. excelsa*. Виявлені в ході роботи рідкісні роди актиноміцетів можуть бути щедрим джерелом нових біологічно активних речовин. Штами з широким спектром біологічних активностей, продуценти цілого спектру антибіотиків, головно нових меротерпеноїдів фурахіноцинів K і L будуть платформою для подальших досліджень їхнього біотехнологічного потенціалу. Результати роботи розкривають перспективи подальшого дослідження мікробного біорізноманіття природних біотопів України, зокрема Кримського півострова. Створена в ході роботи колекція природних ізолятів актиноміцетів може бути платформою для розроблення нових терапевтичних препаратів медичного і ветеринарного призначення, а також біопрепаратів для сільського господарства.

Ключові слова: ґрунтові мікроорганізми; актиноміцети; вторинні метаболіти; біологічно активні речовини; антибіотики; генетичне різноманіття; метаболізм; філогенетична реконструкція; ріст-стимулювальні властивості; асиміляція: Феруму, Фосфору, Нітрогену; цикл Нітрогену; *Streptomyces*; фурахіноцини; ацетилгідразон.

SUMMARY

Tistechok S.I. Actinomycetes from the rhizosphere of Greek juniper *Juniperus excelsa* M.-Bieb.: Genetic diversity and biosynthetic properties – Qualifying scientific work on the right of the manuscript.

Thesis for a degree of Doctor of Philosophy on speciality 091 “Biology” (field of knowledge 09 “Biology”). Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, 2023.

This dissertation presents an investigation of the genetic diversity of natural isolates of actinomycetes from the rhizosphere of *Juniperus excelsa* M.-Bieb. and their potential as producers of biologically active compounds, including antibiotics.

The emergence and rapid dissemination of multidrug-resistant pathogens have become a pressing global health concern. This alarming trend not only presents substantial worldwide challenges but also jeopardizes the progress achieved in combatting infectious diseases. The swift distribution of multidrug-resistant pathogens has driven researchers to find innovative strategies to address this problem. The identification of new natural bioactive compounds with the potential to develop antimicrobial drugs is one such approach.

Throughout history, humanity has acknowledged microorganisms as a valuable source of compounds that possess therapeutic properties. Natural compounds exhibit diverse and intricately structured chemistry shaped by evolutionary processes, thereby enhancing the probability of their robust biological activity. In contrast to compounds synthesized via combinatorial biosynthesis, naturally occurring antibiotics of microbial origin show remarkable potential for conquering multidrug resistance.

Actinomycetes are a group of Gram-positive bacteria that are ubiquitous in various habitats, especially in soils, where they play an important role in ensuring nutrient cycling. They are capable of producing biologically active secondary metabolites that are actively used in human medicine, veterinary medicine and agriculture. In addition, the use of actinomycetes as biological products improves plant growth and leads to the greening of production. However, the main value of

actinomycetes is their ability to produce antibiotic compounds. These bacteria have played a crucial role in the development of many life-saving therapeutic agents to fight infectious, cancer and other diseases.

However, today, the pace of discovery of new compounds with antibiotic properties has slowed considerably. The difficulties in this area are explained by the significant rediscovery of previously described compounds, especially actinomycetes. One approach to solving this problem is to study new and insufficiently studied microbial habitats to identify producers of new biologically active compounds. In this respect, the territory of Ukraine, the microbial biodiversity of which has not been studied, is one of such regions. It is known that the bacterial communities of the plant rhizosphere are highly diverse. A narrow strip of Mediterranean-type subtropics on the Black Sea coast of the Crimean peninsula is unique in terms of plant, and therefore microbial, diversity in Ukraine. This zone is home to a large number of rare and endemic plants. A few preliminary studies in our laboratory, in collaboration with the research group of Prof. A. Luzhetsky (University of Saarland, Germany), have demonstrated the potential of certain isolates of rhizosphere actinomycetes from plants of the Crimean peninsula as producers of new biologically active compounds. One of these plants is *J. excelsa*, which is classified as a vulnerable species according to the Red Data Book of Ukraine. This species has medicinal properties due to its large number of different compounds with diverse properties. It is worth noting that antibiotic producers, including new ones, can be isolated from the rhizospheres of medicinal plants with a high probability. In view of this, the aims of this work was to study the genetic diversity actinomycetes in *J. excelsa*'s rhizosphere and assess their biosynthetic potential as potential producers of new biologically active substances. The objects of the study were the genetic diversity and properties of the actinomycetes in the rhizosphere *J. excelsa* in the Crimean peninsula's territory. The subject of the study is the biosynthetic potential of *J. excelsa*'s rhizosphere actinomycetes as producers of a wide range of bioactive compounds, including new antibiotics.

The phylogenetic diversity of actinomycetes isolated from the rhizosphere of *J. excelsa* was studied, and the families and genera to which these isolates belonged were determined. It was found that they represent seven families (*Kribbellaceae*, *Micrococcaceae*, *Micromonosporaceae*, *Nocardiaceae*, *Promicromonosporaceae*, *Pseudonocardiaceae* and *Streptomycetaceae*) and eleven genera (*Actinoplanes*, *Actinorectispora*, *Amycolatopsis*, *Kribbella*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora* and *Streptomyces*) of the class *Actinomycetia*. The largest number of isolates 350 (94% of all) belonged to the genus *Streptomyces*. Notably, for the first time, a representative of the very rare *Actinorectispora* genus of actinomycetes, which currently has only two typical species, was isolated from Ukrainian habitats. The use of direct sowing of soil suspensions without additional sample processing allowed us to isolate the largest number of isolates, including representatives of six genera of actinomycetes (*Amycolatopsis*, *Promicromonospora*, *Nocardia*, *Saccharopolyspora*, *Rhodococcus* and *Streptomyces*).

The influence of culture media on the diversity of isolates was also studied. Most actinomycetes were isolated on ISP3 medium, but all belonged to the genus *Streptomyces*. Moreover, streptomycetes were detected on all media used, and they were quantitatively superior to the other genera. The greatest genus diversity was observed on ISP4 medium (*Amycolatopsis*, *Kribbella*, *Micrococcus* and *Micromonospora*) and chitin medium (*Actinoplanes*, *Actinorectispora*, *Nocardia* and *Saccharopolyspora*), while the spectrum of genera between them differed significantly.

The antagonistic properties of the actinomycetes against a diverse range of test microorganism cultures were analysed. A significant number of isolates demonstrated the ability to inhibit the growth of pathogens associated with hospital-acquired infections, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumonia*, *Proteus vulgaris* and *Candida albicans*. Additionally, more than 60% of the isolates exhibited the capacity to inhibit

the growth of at least one of the test cultures of phytopathogenic microorganisms used. Among these, the majority of antagonists were effective against Gram-negative bacteria (*Xantomonas campestris* pv. *campestris*, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*, and *Erwinia amylovora*), which are responsible for causing bacteriosis in a wide range of crops.

A significant number of the studied natural isolates from the rhizosphere of *J. excelsa* exhibited plant growth-promoting properties, such as the assimilation of atmospheric nitrogen, solubilization of insoluble forms of phosphorus (P), synthesis of indole-3-acetic acid and production of siderophores. Some isolates displayed a combination of several of these properties, making them promising candidates for the development of biological products for crop production.

Using various approaches, we conducted screenings of biologically active compounds produced by the studied isolates. Dereplicative analysis of secondary metabolite extracts from actinomycete isolates, exhibiting varying spectra and levels of antimicrobial activity, revealed the presence of antibiotics, such as desertomycin A, canhanamycin A, streptorubin B, spectinabilin, antimycins, spiramycins and stambomycins. We employed specific microbial biosensors to screen for producers of particular antibiotic classes. Notably, for the first time, the biosensor strain *S. lividans* TK24 pMO16 was utilized to identify thiopeptide antibiotic producers among natural isolates, resulting in the identification of two isolates that produce berninamycins A and B. The utilization of the *Bacillus subtilis* HB0950 biosensor enabled the identification of 31 isolates with the potential to synthesize bacterial cell wall inhibitor antibiotics. Chemical analysis of extracts from one of these isolates (*Streptomyces* sp. Je 1-6) revealed the presence of the antibiotic lidicamycin and its derivatives. Additionally, the application of a specific biosensor (*S. albus* ΔpseB4 CD10RO1) for pamamycins screening led to the identification of 26 potential producers of these antibiotics.

As a result of routine screening for secondary metabolites on the studied isolates with a broad range of antimicrobial activity, two new antibiotics,

furaquinocins L and K, were discovered. These newly found compounds possess a meroterpenoid structure and exhibit similarities to a compound group within the furahinocin family. Notably, these compounds feature modifications of the polyketide-naphthoquinone skeleton in their structures, which have not previously been described in furaquinocins. Specifically, furaquinocin K includes an oxymethyl group in its structure, while furaquinocin L contains an acetylhydrazone moiety. A cluster of genes likely responsible for the biosynthesis of furaquinocins K and L was identified. Furthermore, all key genes involved in the formation of the naphthoquinone core, polyprenyl synthetase and prenyltransferase were found within the cluster of *Streptomyces* sp. Je 1-369.

A putative biosynthesis pathway for furaquinocins K and L was proposed, considering the predicted functions of the genes found in the cluster and drawing from data on the biosynthesis of furaquinocin C and related compounds. It is probable that the incorporation of the acetylhydrazone moiety into the structure of furaquinocin L takes place at a later stage of biosynthesis, likely involving the aminotransferase gene (Orf 3).

It was observed that furaquinocin K exhibits cytotoxic activity against the HepG2 cell line with an IC₅₀ value of 12.6 µg/ml, but it does not demonstrate antimicrobial activity. Furaquinocin L displays antibacterial activity against Gram-positive bacteria *S. aureus* Newman and *B. subtilis* with MIC₅₀ values of 2 µg/ml and 64 µg/ml, respectively, but it does not exhibit cytotoxic effects. Notably, the furaquinocin L identified in this study is the first furaquinocin to demonstrate antibacterial activity. These described compounds have significant potential for further research and development in the field of antimicrobial therapy.

This study highlights the significant biosynthetic potential of natural actinomycete isolates obtained from the rhizosphere of *J. excelsa*. The discovery of rare actinomycete genera during this research suggests a promising source of novel biologically active substances. Strains exhibiting a wide array of biological activities, including the production of a diverse spectrum of antibiotics, particularly the newly

identified meroterpenoids furaquinocins K and L, serve as a foundation for further investigation into their biotechnological potential. The outcomes of this study pave the way for future research into the microbial biodiversity of natural habitats in Ukraine, including the Crimean peninsula. Moreover, the collection of natural actinomycete isolates established during this study can serve as a platform for the development of new therapeutic drugs for medical and veterinary applications, as well as biological products for agriculture.

Keywords: soil microorganisms; actinomycetes; *Streptomyces*; secondary metabolites; antibiotics; biologically active substances; genetic diversity; metabolism; phylogenetic reconstruction; plant growth promotion; assimilation of: iron, Phosphorus, Nitrogen; Nitrogen cycle; furaquinocins; acetylhydrazone.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

Наукові статті

1. **Тістечок, С.І.**, Сирватка, В.Я., Федоренко, В.О., Громико, О.М. (2018). Актиноміцети ризосфери *Juniperus excelsa* Vieb. – антагоністи фітопатогенної мікробіоти. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 23, 340–345. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.1038> (Фахове видання України, категорія Б)
2. Rebets, Y., Schmelz, S., Gromyko, O., **Tistechok, S.**, Petzke, L., Scrima, A., Luzhetskyu, A. (2018). Design, development and application of whole-cell based antibiotic-specific biosensor. *Metabolic engineering*, 47, 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.03.019> (Scopus, Web of Science, Q1)
3. **Тістечок, С.І.**, Дацюк, Ю.Р., Федоренко, В.О., Громико, О.М. (2020). Штам актиноміцетів *Streptomyces* sp. Je 1-42: філогенетичний аналіз, біологічні властивості та спектр вторинних метаболітів. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 27, 276–281. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1338> (Фахове видання України, категорія Б)
4. **Tistechok, S.I.**, Tymchuk, I.V., Korniychuk, O.P., Fedorenko, V.O., Luzhetskyu, A.M., Gromyko, O.M. (2021). Genetic identification and antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. strain Je 1–6 isolated from rhizosphere soil of *Juniperus excelsa* Vieb. *Cytology and Genetics*, 55, 28–35. <https://doi.org/10.3103/S0095452721010138> (Scopus, Фахове видання України, категорія А)
5. **Tistechok, S.**, Myronovskiy, M., Fedorenko, V., Luzhetskyu, A. Gromyko O. (2022). Screening of thiopeptide-producing streptomycetes isolated from the rhizosphere soil of *Juniperus excelsa*. *Current Microbiology*, 79(10), 305. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03004-2> (Scopus, Web of Science, Q2)

6. **Tistechok, S.**, Stierhof, M., Myronovskyi, M., Zapp, J., Gromyko, O., Luzhetskyu, A. (2022) Furaquinocins K and L: Novel naphthoquinone-based meroterpenoids from *Streptomyces* sp. Je 1-369. *Antibiotics (Basel)*, 11(11), 1587. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111587> (Scopus, Web of Science, Q1)
7. **Тістечок, С.**, Федоренко, В., Громико, О. (2023) Штам актиноміцетів *Streptomyces* sp. Je 1-93, продуцент антифунгальних антибіотиків. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 88, 17–25. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2023.88.02> (Фахове видання України, категорія Б)
8. **Tistechok, S.**, Roman, I., Fedorenko, V. Luzhetskyu, A., Gromyko, O. (2023) Diversity and bioactive potential of *Actinomycetia* from the rhizosphere soil of *Juniperus excelsa*. *Folia Microbiologica*, 68(4), 645–653. <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01047-x> (Scopus, Web of Science, Q3)

Патенти України

1. Громико О.М., **Тістечок С.І.**, Федоренко В.О. Штам актиноміцетів *Streptomyces* sp. ІМВ Ас-5039 - продуцент тіопептидного антибіотика бернінаміцину А : Пат. 122104 Україна : МПК (2020.01) С12N 1/20 (2006.01) С12R 1/465 (2006/01) А61К 31/00. № а 201903180; заявл. 01.04.2019; опубл. 10.09.2020, Бюл. № 17.
2. **Тістечок С.І.**, Громико О.М., Федоренко В.О. Штам актиноміцетів *Streptomyces* sp. ІМВ Ас-5038 – продуцент антибіотика лідикаміцину та його похідних : Пат. 123122 Україна : МПК С12N 1/20 (2006.01) С12R 1/465 (2006.1) G01N 33/569 (2006.01) С12P 17/18 (2006.01). № а 2019 08169; заявл. 15.07.2019; опубл. 17.02.2021, Бюл. №7.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Тістечок С.**, Конечний Ю., Тимчук І., Панас М., Корнійчук О., Федоренко В., Громико О. (2018, 10–12 квітня). Актиноміцети ризосфери *Juniperus excelsa* Vieb. – продуценти антимікотичних сполук. Збірник тез XIV

- Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології”, Львів, Україна, 150-151.
2. **Тістечок С.**, Корнійчук О., Тимчук І., Громико О., Федоренко В. (2018, 16–20 квітня). Антибіотична активність актиноміцетів ризосфери *Juniperus excelsa* Vieb. – антагоністів MRSA. Третій щорічний регіональний науковий симпозіум в рамках концепції „Єдине здоров’я”, Київ, Україна, 135.
 3. **Тістечок С.**, Мицик Ю., Тимчук І., Конечний Ю., Качор А. (2018, 28–30 листопада). Метаболічний профіль та антибактеріальна активність штаму *Streptomyces* sp. Lv 1-120. Збірник тез XIII міжнародної конференції молодих учених “Біологія: від молекули до біосфери” Харків, Україна, 122-123.
 4. Бабко А., **Тістечок С.**, Федоренко В., Громико О. (2019, 9–11 квітня). Вплив плейотропного транскрипційного регулятора Adra на антибіотичну активність штамів ризосфери *Juniperus excelsa* Vieb. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології”, Львів, Україна, 16-17.
 5. Мушинська В., **Тістечок С.**, Мицик Ю., Лужецький А., Федоренко В., Громико О. (2019, 9–11 квітня). Скринінг продуцентів памаміцинів серед актиноміцетних штамів ризосфери *Juniperus excelsa* Vieb. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології”, Львів, Україна, 24.
 6. **Тістечок С.**, Федоренко В., Лужецький А., Громико О. (2021, 19–21 квітня). Аналіз послідовності чернетки генома штаму *Streptomyces* sp. Je 1-369. Збірник тез XVII Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології”, Львів, Україна, 116-117.
 7. **Тістечок С.І.**, Мироновський М. Л., Федоренко В. О., Лужецький А. М., Громико О.М. (2022, 25 серпня). Скринінг продуцентів тіопептидних антибіотиків з використанням репортерної системи на основі промотора

гена *tipA*. XXII міжнародна Гамовська конференція “The importance of G. Gamow’s ideas for biology of the 21st century”, Одеса, Україна, 115-116.

8. Рибчук А., Тістечок С., Федоренко В., Громико О. (2023, 26–28 квітня) Характеристика актиноміцетів родини *Pseudonocardiaceae* з ризосфери рослин кримського півострова. Збірник тез XIX Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології”, Львів, Україна, 96-97.
9. Тістечок С.І., Ребець Ю.В., Федоренко В.О., Лужецький А.М., Громико О.М. (2023, 11–13 травня) Гетерологічна експресія кластеру генів нового природного антибіотика Je478 у штаммах стрептоміцетів. Збірник тез VII міжнародної науково-практичної конференції “Тернопільські біологічні читання – Ternopil bioscience – 2023”, Тернопіль, Україна, 165-168.