

УДК 579.264+632.4

О.А. Дрегваль, А.О. Єременко, Н.В. Черевач, А.І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагаріна, 72, Дніпро, 49010, тел. +38 (056) 760 85 14,
e-mail microviro@ukr.net

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГРУНТОВИХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ ТА ГРИБІВ

Мета. Виділення з ґрунту активних ізолятів стрептоміцетів-антагоністів, перспективних для розробки біопрепарату для захисту рослин від збудників грибних та бактеріальних хвороб. **Методи.** Стрептоміцети виділяли із зразків ґрунту на мінеральному середовищі Гаузе. Антагоністичну активність виділених штамів та колекційного штаму стрептоміцету *Streptomyces recifensis* IMB Ac-5018 щодо фітопатогенних бактерій та грибів перевіряли методом дифузії в агар; антифунгальну активність культуральної рідини та супернатанту культуральної рідини визначали за рівнем пригнічення росту фітопатогена на щільному середовищі з метаболітами стептаміцета. Ідентифікацію найактивніших виділених штамів до роду здійснювали за морфологічними та культуральними ознаками. **Результати.** Із 35 проаналізованих штамів ґрунтових мікроорганізмів високий рівень та широкий спектр антагоністичної дії проявили штами *Streptomyces* sp. 31 та *Streptomyces* sp. 35. Штам 35 активно пригнічував ріст фітопатогенних грибів (*Fusarium culmorum* 50716, *Cladosporium herbarum* 16878, *Fusarium moniliforme* 23, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25, *F. oxysporum* 12), зони пригнічення росту 15,0–24,5 мм. Штам 31 активно пригнічував ріст фітопатогенних грибів (*Fusarium culmorum* 50716, *Fusarium oxysporum* 54201, *Oidium thuckeri* 11, *Alternaria alternata* 16) та фітопатогенних бактерій (*Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* 8254, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7595, *Xanthomonas campestris* 8003), зони пригнічення росту 14,0–19,5 мм та 15,0–18,7 мм, відповідно. Встановлено пригнічення росту *Fusarium culmorum* 50716 культуральною рідиною та супернатантом культуральної рідини *S. recifensis* IMB Ac-5018, штамів 31 та 35 (76,0–80,2 % та 16,9–24,3%, відповідно). **Висновки.** Досліджені штами можна розглядати як перспективні агенти мікробного препарату для захисту рослин від грибних та бактеріальних хвороб.

Ключові слова: антагоністичні властивості, стрептоміцети, фітопатогенні бактерії, гриби.

Важливу роль у поліпшенні фітосанітарного стану ґрунтів відіграють стрептоміцети – одна з найбільш активних і поширених груп ґрунтових мікроорганізмів, здатних продукувати такі біологічно-активні речовини як вітаміни



групи В, гетероауксини, гібереліни, імуномодулятори, антибіотики, тощо [4]. У рослинництві вторинні метаболіти стрептоміцетів використовують як бактерициди, інсектициди, стимулятори росту рослин, гербіциди, тощо [7]. Так, продуцент авермектину *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179, використовують для отримання вітчизняного препарату аверком, який проявляє високу антипаразитарну та рістстимулювальну активність [2]. Останнім часом науковцями різних країн проводяться дослідження антагоністичних властивостей стрептоміцетів проти збудників хвороб рослин [1, 5, 14–16]. Стрептоміцети вже застосовуються у боротьбі із кілою хрестоцвітих [16], кореневою гниллю та фузаріозом огірків [14], з хворобами томатів [15]. Часто зустрічаються стрептоміцети, що виділяють у навколишнє середовище хітиназу, глюконазу, протеазу, а також літичні ферменти, які руйнують міцелій мікроміцетів, клітини дріжджів і бактерій [3, 12].

На основі продуктів життєдіяльності стрептоміцетів створено антибіотичні препарати, однак широкого використання антибіотики не отримали через їх високу вартість. Перспективнішим є використання живих культур сапрофітних мікроорганізмів. Механізм їх дії на збудників захворювань рослин включає конкуренцію за живлення, ефективну колонізацію ризосфери і листової поверхні, синтез антибіотиків і стимуляторів росту рослин [13]. Враховуючи необхідність екологізації аграрного виробництва, актуальною є розробка ефективних біологічних препаратів для захисту рослин від бактеріальних та грибних хвороб.

Метою даної роботи було виділити з ґрунту активні ізоляти стрептоміцетів-антагоністів, перспективні для розробки біопрепаратів для захисту рослин від збудників бактеріальних та грибних хвороб.

Матеріали та методи досліджень

На наявність антагоністичних властивостей перевірялись 35 штамів стрептоміцетів, виділених із зразків ґрунту степової зони України (Дніпропетровської та Полтавської областей), а також колекційний штам – *Streptomyces recifensis* ІМВ Ас-5018 – продуцент стимулятора росту рослин глікопептидної природи та літичних ферментів (ендопептидаз та глікозидаз), здатних руйнувати клітинні стінки деяких мікроорганізмів [8, 9]. Стрептоміцети виділяли та культивували на мінеральному середовищі Гаузе 7–10 діб за температури 29 °С [10]. Антагоністичну активність щодо фітопатогенних мікроорганізмів перевіряли методом дифузії в агар за діаметром зон затримки росту навколо блоків [6]. Як тест-культури використовували штами фітопатогенних бактерій із колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології та вірусології (ІМВ) імені Д.К. Заболотного НАН України: *Agrobacterium tumefaciens* 8628, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* 102, *Xanthomonas campestris* 80036, *Pectobacterium carotovorum* 8982, *Pseudomonas syringae pv. atrofaciens* 8254, *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* 7595 та фітопатогенних грибів із колекції відділу фізіології і систематики мікроміцетів ІМВ НАН України *Fusarium oxysporum* 54201, *F. culmorum* 50716, *Cladosporium herbarum* 16878, а також штами із колекції кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ДНУ



АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТОВИХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ ...

імені Олесея Гончара, виділені із зразків ґрунту, ураженого насіння та плодів: *F. oxysporum* 12, *F. moniliforme* 23, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25, *Oidium thuckeri* 11. Фітопатогенні бактерії вирощували на м'ясо-пептонному агарі, фітопатогенні гриби – на картопляному агарі з 1% глюкози.

Антифунгальну активність культуральних рідин стрептоміцетів визначали методом агарових блоків. Штам *S. recifensis* ІМВ Ас-5018 вирощували в оптимізованому середовищі [8], виділені ізоляти стрептоміцетів – у рідкому мінеральному середовищі Гаузе за температури 27 °С у глибинних умовах на мікробіологічній качалці (220 об/хв) впродовж 3 діб. Культуральну рідину звільняли від міцелію за допомогою стерильного ватного фільтру. Супернатант культуральної рідини отримували центрифугуванням (6000 об/хв, 15 хв) та фільтрували через мембранний фільтр (діаметр пор 0,20 μм). Культуральну рідину або супернатант культуральної рідини вносили у концентрації 5% (від об'єму середовища) у розплавлене та охолоджене до 40 °С середовище Чапека і розливали в чашки Петрі. На поверхню застиглого середовища поміщали блок (діаметром 8 мм) десятидобової культури *F. culmorum* 50716. За контроль слугувало середовище без додавання культуральної рідини. Діаметр колонії вимірювали на 3-тю та 6-ту добу, визначали відсоток пригнічення росту колоній гриба за формулою:

$$(D_k - D_d / D_k) \times 100 \%, \text{ де}$$

D_k – діаметр колонії гриба в мм у контролі, D_d – діаметр колонії гриба в мм у досліді [11].

Ідентифікацію виділених ізолятів до роду проводили за морфологічними та культуральними властивостями за допомогою визначника актиноміцетів [10]. Визначали тип утворення ланцюжків спор, наявність і колір водорозчинних пігментів, колір субстратного і повітряного міцелію на мінеральному агарі Гаузе, органічному агарі 2, вівсяному, та гліцерин-нітратному агарі.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.

Результати та їх обговорення

Дослідження антагоністичних властивостей виділених штамів та колекційного штаму показало, що до фітопатогенних грибів роду *Fusarium* проявили антагоністичну активність тільки 10 штамів із 36, що складає 28% (табл. 1), до інших грибних тест-культур – 14 штамів – 39%. Найактивнішими проти фітопатогенних грибів виявились ґрунтові штами 11, 31, 35, які пригнічували ріст усіх протестованих мікроміцетів. Серед цих штамів найактивнішим виявився штам 35, який показав 15,0–24,5 мм зони затримки росту шести культур, а саме *F. culmorum* 50716, *C. herbarum* 16878, *F. moniliforme* 23, *F. oxysporum* 12, *A. alternata* 16, *A. niger* 25 та дещо менші (11,3–13,3 мм) зони пригнічення росту інших протестованих штамів мікроміцетів. Спектр активної дії штамів 11 і 31 обмежувався трьома штамами фітопатогенних грибів. Колекційний



Таблиця 1
Table 1

Антагоністична активність стрептоміцетів до фітопатогенних грибів

Antagonistic activity of streptomycetes against phytopathogenic fungi

Штам	<i>Fusarium oxysporum</i> 12	<i>Fusarium oxysporum</i> 54201	<i>Fusarium culmorum</i> 50716	<i>Fusarium moniliforme</i> 23	<i>Alternaria alternata</i> 16	<i>Aspergillus niger</i> 25	<i>Cladosporium herbarum</i> 16878	<i>Oidium Thuckeri</i> 11
<i>Streptomyces</i> sp. 2	0	0	0	0	0	0	0	11,2 ± 0,3 *
<i>Streptomyces</i> sp. 3	0	0	0	0	0	0	10,2 ± 0,2	0
<i>Streptomyces</i> sp. 4	0	0	0	0	0	16,7 ± 2,0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 10	0	0	0	0	0	0	0	12,3 ± 0,4
<i>Streptomyces</i> sp. 11	11,3 ± 0,3	11,3 ± 0,9	15,7 ± 1,3	15,5 ± 1,6	11,7 ± 0,3	17,0 ± 1,5	11,0 ± 0,6	11,7 ± 0,9
<i>Streptomyces</i> sp. 12	0	0	0	0	12,8 ± 0,5	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 14	0	0	11,5 ± 0,5	0	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 16	0	0	0	0	11,8 ± 0,3	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 17	0	11,4 ± 0,5	0	0	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 18	0	11,5 ± 0,2	0	0	0	0	10,2 ± 0,2	0
<i>Streptomyces</i> sp. 22	0	0	12,5 ± 0,5	0	12,5 ± 0,5	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 25	0	10,2 ± 0,3	0	0	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 31	13,0 ± 2,0	14,0 ± 2,0	15,8 ± 1,0	13,3 ± 1,8	19,5 ± 1,5	13,0 ± 0,5	11,5 ± 0,6	16,0 ± 1,5
<i>S. recifensis</i> IMB Ac-5018	0	0	13,0 ± 1,5	0	15,0 ± 2,0	0	13,7 ± 1,7	13,7 ± 0,7
<i>Streptomyces</i> sp. 35	15,3 ± 1,8	11,3 ± 0,9	19,8 ± 1,2	15,0 ± 1,1	20,0 ± 2,0	24,5 ± 1,8	17,0 ± 1,2	13,3 ± 0,9
<i>Streptomyces</i> sp. 36	9,6 ± 0,2	0	10,5 ± 0,5	0	13,9 ± 0,6	0	10,0 ± 0,3	11,5 ± 0,5

Примітки: * – діаметр зони пригнічення росту, мм

«0» – відсутність зони пригнічення росту

Notes: * – diameter of growth inhibition zone, mm

«0»- absence of growth inhibition zone



АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТОВИХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ ...

штам *S. recifensis* ІМВ Ас-5018, порівняно із ґрунтовими штамми виявився менш активним, значною мірою пригнічував ріст *A. alternata* 16, до трьох тест культур (*F. culmorum* 50716, *C. herbarum* 16878, *Oidium thuckeri* 11) показав помірний антагонізм (зони 13,0–13,7 мм), ріст інших штамів *Fusarium* та *A. niger* 25 не пригнічував.

Із протестованих фітопатогенних грибів найчутливішими до дії досліджуваних штамів виявилися *C. herbarum* 16878 та *A. alternata* 16 (їхній ріст пригнічували 8 ізолятів), найстійкішими – виділені штамми із зразків кукурудзи та ґрунту, відповідно, *F. moniliforme* 23 та *F. oxysporum* 12 (ріст пригнічувався лише штамми 3 та 4, відповідно).

Із досліджених культур грибів роду *Fusarium* найчутливішим до антагоністичної дії виділених штамів виявився штам *F. culmorum* 50716. Його ріст пригнічували 7 перевірених штамів.

Найстійкішим до дії антагоністів серед досліджених штамів мікроміцетів, що не відносяться до роду *Fusarium* був нововиділений штам *A. niger* 25, його ріст пригнічували лише 4 культури.

Після першого етапу скринінгу виділених мікроорганізмів було доцільним дослідити антифунгальну активність найактивніших штамів 31, 35 та штаму *S. recifensis* ІМВ Ас-5018, вирощених у глибинних умовах. Перевіряли антифунгальну активність звільненої від міцелію культуральної рідини та супернатанту культуральної рідини. Як тест-об'єкт використовували штам *F. culmorum* 50716 (рис. 1).

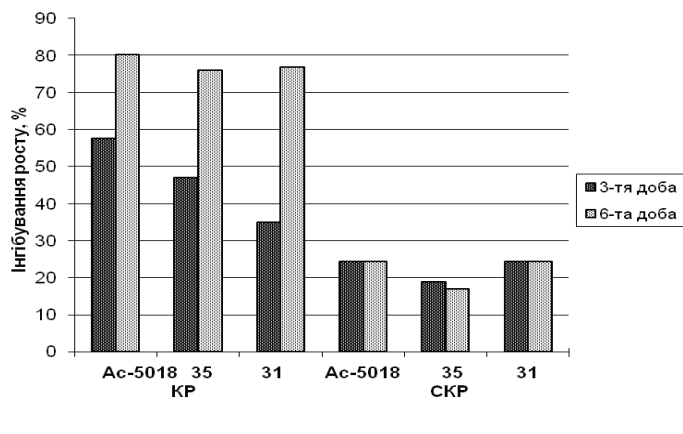


Рис. 1. Пригнічення росту *F. culmorum* 50716 штамми *Streptomyces recifensis* ІМВ Ас-5018 та штамми 31 та 35

Примітка: КР – культуральна рідина, СКР – супернатант культуральної рідини

Fig. 1. Inhibition of the growth of *F. culmorum* 50716 by collection strain of *Streptomyces recifensis* IMB Ac-5018 and isolates 31 and 35

Note: CL (КР) – cultural liquid, SCL (СКР) – supernatant of cultural liquid



Як видно з наведених даних, супернатант культуральної рідини усіх стрептоміцетів меншою мірою гальмував ріст гриба, ніж культуральна рідина. Вірогідно, антифунгальний ефект культуральної рідини пов'язаний із проростанням спор стрептоміцетів та з додатковою продукцією екзоферментів та антибіотичних речовин.

Усі ґрунтові штами та штам *S. recifensis* ІМВ Ас-5018 були досліджені на наявність антагоністичних властивостей щодо фітопатогенних бактерій (табл. 2). Встановлено, що до бактеріальних фітопатогенів антагоністична активність стрептоміцетів проявилася набагато слабше, ніж до грибних. Із 36 штамів лише чотири (11, 23, 31, 36) характеризувалися широким спектром антагоністичної дії, пригнічували ріст 5 із 6 тест-культур. Високу активність виявлено у штаму 31 відносно двох штамів *P. syringae* (зони відсутності росту 17,5 та 18,7 мм) і штаму *X. campestris* (15 мм) та у штаму 23, який затримував ріст *C. michiganensis* та *P. syringae* pv. *atrofaciens* (17,5 та 17,0 мм, відповідно).

Аналіз взаємовідносин стрептоміцетів із фітопатогенними бактеріями показав, що найбільший антагонізм виділені стрептоміцети проявляли до бактерій роду *Pseudomonas*.

Таким чином, із 36 досліджуваних штамів 11, 31 та 36 проявили антагоністичні властивості як до бактеріальних, так і грибних фітопатогенів. Штам *S. recifensis* ІМВ Ас-5018 та штам 35 показали високу антагоністичну активність відносно фітопатогенних грибів, а штам 23 – до деяких фітопатогенних бактерій. Штами 31 та 35 мають широкий спектр антагоністичної дії та високий рівень активності і є перспективними для подальшої роботи. Штами 11 та № 36 мають широкий спектр дії, але невисоку активність і потребують проведення селекції. Що стосується колекційного штаму *S. recifensis* ІМВ Ас-5018, то за спектром антифунгальної дії він поступався виділеним штамом, антибактеріальна активність цього штаму була відсутня, або була слабкою.

У ході досліджень проведено ідентифікацію до роду найактивніших штамів 31 та 35 за морфологічними та культуральними ознаками.

Штам 31 мав розташовані у мутовках короткі або довгі прями, злегка хвилясті та короткі у вигляді гачків ланцюжки спор. На мінеральному агарі Гаузе утворював кремово-білий, подекуди жовтуватий повітряний міцелій, світло-жовтий водорозчинний пігмент та жовтогарячий субстратний міцелій, на вівсяному агарі утворював білий із блідо-помаранчевими краплями повітряний міцелій, помаранчево-червоний субстратний міцелій та не утворював водорозчинний пігмент; на гліцерин-нітратному агарі – кремовий, подекуди лимонний повітряний міцелій, помаранчево-жовтий субстратний міцелій і також не утворював водорозчинний пігмент. На органічному агарі 2 повітряний міцелій ріс слабо, був кремово-білого, подекуди лимонного кольору, субстратний міцелій був жовтувато-бурий, блідий, а водорозчинний пігмент – жовтувато-бурий.

Штам 35 мав короткі та довгі ланцюжки спор у вигляді петель, гачків, спіралей. На мінеральному агарі Гаузе утворював рожево-кремовий, подекуди сірий повітряний міцелій та жовтувато-оливковий, сіруватий субстратний міце-



Антагоністична активність стрептоміцетів до фітопатогенних бактерій

Table 2

Antagonistic activity of streptomycetes against phytopathogenic bacteria

Штам	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 8628	<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 102	<i>Xanthomonas campestris</i> 8003	<i>Pectobacterium carotovorum</i> 8982	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atropaciens</i> 8254	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> 7595
<i>Streptomyces</i> sp. 1	11,0 ± 0,3 *	0	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 7	0	0	0	0	10,0 ± 0,2	10,0 ± 0,2
<i>Streptomyces</i> sp. 11	9,5 ± 0,5	11,3 ± 0,9	12,3 ± 0,9	10,5 ± 0,5	0	12,5 ± 0,3
<i>Streptomyces</i> sp. 14	0	0	9,8 ± 0,3	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 15	0	10,0 ± 0,3	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 16	0	0	0	11,0 ± 0,3	10,0 ± 0,2	0
<i>Streptomyces</i> sp. 18	0	11,2 ± 0,4	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 20	0	10,8 ± 0,7	0	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 22	0	0	0	11,0 ± 0,5	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. 23	10,5 ± 0,3	17,5 ± 1,3	10,5 ± 0,5	0	17,0 ± 1,0	10,0 ± 0,2
<i>Streptomyces</i> sp. 31	10,2 ± 0,2	0	15,0 ± 1,5	9,5 ± 0,5	17,5 ± 1,2	18,7 ± 1,1
<i>Streptomyces</i> sp. 32	9,9 ± 0,3	0	0	0	0	0
<i>S. recifensis</i> IMB Ac-5018 (33)	0	0	0	0	9,5 ± 0,5	0
<i>Streptomyces</i> sp. 35	10,0 ± 0,2	0	12,5 ± 1,5	0	9,5 ± 0,3	9,6 ± 0,4
<i>Streptomyces</i> sp. 36	0	11,3 ± 0,8	12,0 ± 1,2	11,0 ± 0,9	13,0 ± 0,3	15,0 ± 0,5

Примітки: * – діаметр зони пригнічення росту, мм

«0» – відсутність зони пригнічення росту

Notes: * – diameter of growth inhibition zone, mm

«0»-absence of growth inhibition zone

лій. На вівсяному агарі утворював блідо-рожевий, подекуди білий повітряний міцелій, оливковий, майже безбарвний субстратний міцелій та блідо-оливковий, зеленуватий водорозчинний пігмент; на гліцерин-нітратному агарі – блідо-рожево-білий, кремово-білий повітряний міцелій, жовтувато-оливковий майже безбарвний субстратний міцелій та буроватий водорозчинний пігмент; на органічному агарі 2 слабо утворював блідо-рожево-білий повітряний міцелій, жовтувато-бурий майже безбарвний субстратний міцелій та не утворював водорозчинний пігмент. За цими ознаками штами 31 та 35 віднесено до роду *Streptomyces*.

Останнім часом стрептоміцети привертають до себе увагу не тільки як продуценти антибіотиків, але і як продуценти речовин, що пригнічують ріст та розвиток фітопатогенних бактерій і грибів. Наразі стоїть проблема пошуку продуцентів антибіотиків, які не використовуються в медицині. Так, О. Громико із ризосфери чистотілу виділив ізоляти стрептоміцетів, високоактивні тільки проти дріжджів і фітопатогенних бактерій [5]. Л.О. Білявська і співавтори повідомили про високу антагоністичну активність *Streptomyces netropsis* IMB Ac-5025 до широкого спектру фітопатогенних бактерій та грибів. Найактивніше цей штам пригнічує ріст *A. alternate* 16814 та деяких представників фітопатогенних бактерій, які відносяться до родів *Pseudomonas* і *Xanthomonas* [1]. Отримані нами результати узгоджуються з даними цих авторів, адже виділені ізоляти стрептоміцетів також найактивніше пригнічують ріст саме цих фітопатогенів.

Таким чином, слід зазначити, що виділені штами *Streptomyces sp.* 31 та *Streptomyces sp.* 35 можна розглядати як перспективні агенти для розробки мікробного препарату для захисту рослин від грибних та бактеріальних хвороб. Колекційний штам *S. recifensis* IMB Ac-5018, який є продуцентом стимулятора росту рослин глікопептидної природи [2], також виявив антифунгальну активність.

Висловлюємо подяку директору IMB імені Д.К. Заболотного академіку НАН України В.С. Підгорському, академіку НААН України В.П. Патиці та д.б.н. І.М. Курченко за надання культур фітопатогенних бактерій та грибів.

УДК 579.264+632.4

О.А. Dreghval, A.O. Yeremenko, N.V. Cherevach, A.I. Vinnikov

Dnipropetrovsk National University named after Oles Honchar,
72, Gagarina Pr., Dnipro, 49010, tel.: +38 (056) 760 85 14
e-mail: microviro@ukr.net

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF SOIL STREPTOMYCETES AGAINST PHYTOPATHOGENIC BACTERIA AND FUNGI

Summary

Aim. The selection of soil active cultures of *Streptomyces* antagonists promising for the development of a biopreparation for plant protection against pathogens of fungal and



bacterial diseases. **Methods.** *Streptomyces* were isolated from the samples of soil on mineral medium Gause. The antagonistic activity of the selected isolates and collection strain of *Streptomyces recifensis* IMV Ac-5018 against phytopathogenic bacteria and fungi was tested by agar diffusion method; the antifungal activity of cultural liquid and supernatant of cultural liquid was determined by agar blocks method. The identification of the most active selected isolates to genus level was carried out by taking into consideration the morphological and cultural characteristics. **Results.** From 35 isolates of soil microorganisms the isolates №31 and №35 belonging to the genus *Streptomyces* showed high level and wide range of antagonistic action. Isolate №35 actively inhibited the growth of phytopathogenic fungi (*Fusarium culmorum* 50716, *Cladosporium herbarum* 16878, *Fusarium moniliforme* 23, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25, *F. oxysporum* 12), the zones of growth inhibition were 15.0–24.5 mm. Isolate №31 actively inhibited the growth of phytopathogenic fungi (*Fusarium culmorum* 50716, *Fusarium oxysporum* 54201, *Oidium thuckeri* 11, *Alternaria alternata* 16) and phytopathogenic bacteria (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* 8254, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7595, *Xanthomonas campestris* 8003), the zones of growth inhibition were 14.0–19.5 mm and 15.0–18.7 mm, respectively. The cultural liquid and supernatant of cultural liquid of *S. recifensis* IMV-Ac 5018, the isolates №31 and №35 inhibited growth of *Fusarium culmorum* 50716 (76.0–80.2% and 16.9–24.3%, respectively). **Conclusions.** The selected isolates can be regarded as promising microbial agents of biopreparation to protect the plants against fungal and bacterial diseases. The collection strain *S. recifensis* IMV Ac-5018 is a producer of glycopeptic plant growth stimulator; it also showed antifungal activity, allowing to use it in plant protection against diseases.

Key words: antagonistic properties, *Streptomyces*, phytopathogenic bacteria and fungi.

УДК 579.264+632.4

А.А. Дрегваль, А.А. Еременко, Н.В. Черевач, А.И. Винников

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,
пр. Гагарина, 72, г. Днепр, 49010, тел. +38 (056) 760 85 14,
e-mail microviro@ukr.net

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ И ГРИБАМ

Реферат

Цель. Выделение из почвы активных культур стрептомицетов-антагонистов, перспективных для разработки биопрепарата для защиты растений от возбудителей грибных и бактериальных болезней. **Методы.** Стрептомицеты выделяли из образцов почвы на минеральной среде Гаузе. Антагонистическую активность выделенных штаммов и коллекционного штамма стрептомицета *Streptomyces recifensis* IMV Ac-5018 относительно фитопатогенных бактерий и грибов определяли методом диффузии в агар; антифунгальную активность культуральной жидкости и супернатанта культуральной жидкости определяли



по уровню угнетения роста фитопатогена на плотной среде с метаболитами стрептомицета. Идентификацию самых активных выделенных штаммов до рода осуществляли по морфологическим и культуральным признакам. **Результаты.** Из 35 проанализированных штаммов почвенных микроорганизмов высокий уровень и широкий спектр антагонистического действия проявили штаммы 31 и 35, отнесенные к роду *Streptomyces*. Штамм 35 активно угнетал рост фитопатогенных грибов (*Fusarium culmorum* 50716, *Cladosporium herbarum* 16878, *Fusarium moniliforme* 23, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25, *F. oxysporum* 12), зоны подавления роста 15,0–24,5 мм. Штамм 31 активно подавлял рост фитопатогенных грибов (*Fusarium culmorum* 50716, *Fusarium oxysporum* 54201, *Oidium thuckeri* 11, *Alternaria alternata* 16) и фитопатогенных бактерий (*Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* 8254, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7595, *Xanthomonas campestris* 8003), зоны подавления роста 14,0–19,5 мм и 15,0–18,7 мм, соответственно. Установлено ингибирование роста *Fusarium culmorum* 50716 культуральной жидкостью и супернатантом культуральной жидкости *S. recifensis* ИМВ Ас-5018, штаммов 31 и 35 (76,0–80,2% и 16,9–24,3%, соответственно). **Выводы.** Выделенные штаммы можно рассматривать как перспективные агенты микробного препарата для защиты растений от грибных и бактериальных болезней растений.

Ключевые слова: антагонистические свойства, стрептомицеты, фитопатогенные бактерии, грибы.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Белявская Л. А., Ефименко Т. А., Ефременкова О. В., Козырицкая В. Е., Иутинская Г. А. Идентификация и антагонистические свойства почвенного стрептомицета *Streptomyces* sp. 100 // Микробиол. журн. – 2016. – Т. 78, № 2. – С. 61–73.
2. Биорегуляция микробно-растительных систем: Монография / Иутинская Г.А., Пономаренко С.П., Андреюк Е.И. и др.; Под общей ред. Г.А. Иутинской, С.П. Пономаренко. – К.: Ничлава, 2010. – 464 с.
3. Болорма Ч, Абдул Ахмад Н, Кадырова Г.Д. Биоразнообразие актиномицетов рода *Streptomyces*, выделенных из почв Республики Татарстан, и их ферментативная активность // Учёные записки Казанского ун-та. – 2013. – Т. 155, кн. 1. – С. 148–157.
4. Валагурова Е. В., Козырицкая В. Е., Иутинская Г. А. Актиномицеты рода *Streptomyces*: описание видов и компьютерная программа их идентификации. – К.: Наукова думка, 2003. – 645 с.
5. Громико О. Антагоністичні властивості актиномицетів, виділених із ризосфери чистотілу великого *Chelidonium majus* L. // Вісник Львівського університету: Серія біологічна. – 2014. – № 64.– С. 279–286.
6. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. 6-е изд., перераб. и доп.– М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.
7. Еришов Ю. В. 2-С-метилэритритфосфатный путь биосинтеза изопреноидов как мишень при поиске новых антибиотиков, гербицидов и иммуномодуляторов // Прикл. биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 2. – С. 133–154.



8. Жерносекова И. В., Черногор Н. П., Тымчук А. А., Винников А. И. Методы планирования экспериментов при оптимизации питательной среды для стрептомицета // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2010. – Вип. 18., т.1. – С. 20–28.
9. Жерносекова И.В., Тымчук О.А., Ткаченко В.А. П., Винников А.И. Вплив продуктів метаболізму *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* на ріст проростків овочевих культур // Мікробіологія і біотехнологія. – 2014. – № 1 (25). – С. 79–90.
10. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
11. Смирнов О.В., Гришечкина С.Д. Изучение действия биопрепаратов на основе *Bacillus thuringiensis* на фитопатогенные грибы// Вестник защиты растений. – 2010. – №1. – С. 27–35.
12. Abd-Allah E.F. *Streptomyces plicatus* as a model biocontrol agent // Folia Microbiol (Praga). – 2002. – Vol. 44, N 4. – P. 309–314.
13. Doumbou C.L., Hamby Salove M.K., Crawford D.L., Beaulieu C. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth// Phytprotection. – 2002. – V. 82, № 3. – P. 85–102.
14. Sharifi F., Farrokhi P.R., Sh. Bonjar G.H. Biological control of *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of damping off disease of greenhouse cucurbits in Kerman Province of Iran // Res. J. Biological Sci. – 2007. – Vol. 2, N 2. – P. 188–191.
15. Dhanasekaran D., Sivamani P., Panneerselvam A., Thajuddin N., Rajakumar G., Selvamani S. Biological control of tomato seedling damping off with *Streptomyces* sp. // Plant Pathol. J. – 2005. – Vol. 4, № 2. – P. 91–95.
16. Cheah L.-H., Kent G., Gowers S. Brassica crops and a *Streptomyces* sp. as potential biocontrol for clubroot of brassicas // New Zealand Plant Protection. – 2001. – Vol. 54. – P. 80–83.

REFERENCES

1. Belyavskaya LA, Efimenko TA, Efremenkova OV, Kozyrinskaya VE, Iutynska GA. Identification and antagonistic properties of the soil streptomycete *Streptomyces* sp. 100. Mikrobiologichny zhurnal. 2016; 78 (2): 61–73.
2. Bioregulation of microbial-plant systems. Eds. Iutynska GO, Ponomarenko SP. Kyiv: Nichlava, 2010. 472 p.
3. Bolorma Ch, Abdul Ahmad N, Kadyirova GD, Pankova AV, Evtyugin VG, Alimova FK. Biodiversity of actinomycetes of the genus *Streptomyces* isolated from soil in the republic of Tatarstan and their enzyme activity. Uchyonyie zapiski Kazanskogo universiteta. 2013; 155 (1): 148–157.
4. Valagurova EV, Kozyrinskaya VE, Iutinskaya GA. Actinomycetes of *Streptomyces* genus. Description of species and computer program of their identification. Keiv: Naukova dumka, 2003. 645 p.
5. Hromyko O. Antagonistic properties of actinomycetes isolated from the rhizosphere *Chelidone chelidonium majus* L. Visnyk Lvivskogo universytetu. Seriya byolohychna. 2014; (64): 279–286.



6. Egorov NS. Fundamentals of the doctrine of antibiotics: Textbook. 6th ed., Revised and supplemented. Moskva: Nauka. 2004. 528 p.
7. Ershov YuV. 2-C-methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis as a target in the search for new antibiotics, herbicides and immunomodulators. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2007; 43 (2): 133–154.
8. Zhernosekova IV, Chernogor NP, Tymchuk AA, Vinnikov AI. Methods of experiment planning for optimizing the nutrient medium for streptomycetes. *Visnyk Dnipropetrovskogo universytetu. Biologiya. Ekologiya*. 2010; 18 (1): 20–28.
9. Zhernosekova IV, Tymchuk OA, Tkachenko VP, Vinnikov AI. Effect of metabolic products of *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* on the vegetables sprouts growth. *Mikrobiologiya i biotekhnologiya*. 2014; 1 (25): 79 – 90.
10. Gauze GF, Preobrazhenskaya TP, Sveshnikova MA, Terehova LP, Maksimova TS. The determinant of actinomycetes. Moskva: Nauka. 1983. 248 p.
11. Smirnov OV, Grischeckina SD. Study antifungal activity *Bacillus thuringiensis* preparations. *Vestnik zashchity rasteniy*. 2010; (1): 27–35.
12. Abd-Allah EF. *Streptomyces plicatus* as a model biocontrol agent. *Folia Microbiol (Praga)*. 2002; 44 (4): 309–314.
13. Doumbou CL, Hamby Salove MK, Crawford DL, Beaulieu C. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*. 2002; 82 (3): 85–102.
14. Sharifi F, Farrokhi PR, Sh. Bonjar GH. Biological control of *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of damping off disease of greenhouse cucurbits in Kerman Province of Iran. *Res. J. Biological Sci*. 2007; 2 (2): 188–191.
15. Dhanasekaran D, Sivamani P, Panneerselvam A, Thajuddin N, Rajakumar G, Selvamani S. Biological control of tomato seedling damping off with *Streptomyces* sp. *Plant Pathol. J*. 2005; 4 (2): 91–95.
16. Cheah LH, Kent G, Gowers S. Brassica crops and a *Streptomyces* sp. as potential biocontrol for clubroot of brassicas. *New Zealand Plant Protection*. 2001; (54): 80–83.

Стаття надійшла до редакції 22.10.2016 р.

