

УДК 579.646 31.46

**ФУНГІЦИДНА Й АНТИБАКТЕРІЙНА АКТИВНІСТЬ АКТИНОМІЦЕТІВ,  
ВИДІЛЕНИХ ІЗ РИЗОСФЕРИ ЯЛІВЦЯ ВИСОКОГО *JUNIPERUS EXCELSA* ВІЕБ****О. Громико**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: o\_gromyko@franko.lviv.ua

Із ризосфери ялівця високого *Juniperus excelsa* Vieb, ареалом розповсюдження якого є вузька прибережна смуга Чорного моря Кримського півострова від Судака до Балаклави та невеликі площі на Кавказі, виділено 97 штамів актиноміцетів. Досліджено їхні антагоністичні властивості проти грампозитивних бактерій *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *B. cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus albus* ATCC 12228; фітопатогенних бактерій *Erwinia amylovora* E3, *E. carotovora* JN42, *Pseudomonas corrugata* 3<sup>М</sup>, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 39<sup>1</sup>, дріжджів *Pichia guilliermondii* 6260, *Debaromyces hansenii* VKM Y-2482, *Candida famata* VKM Y9, а також грибів *Aspergillus awamori* NF142. Деякі штами актиноміцетів мали широкий спектр антибактерійних та фунгіцидних активностей, окремі ґрунтові ізоляти специфічно пригнічували ріст *A. awamori* NF142, інші – розвиток дріжджів. Доведена перспективність виділення та вивчення властивостей актиноміцетів із ризосфери ялівця високого на Кримському півострові, які мають здатність пригнічувати ріст фітопатогенної мікрофлори та збудників інфекції людського організму.

**Ключові слова:** актиноміцети, фітопатогенні бактерії, дріжджі, гриби, антагоністичні властивості.

Актиноміцети – одна з широко розповсюджених груп мікроорганізмів. Найбільше вони поширені у ґрунті, особливо у ризосфері та ризоплані рослин [4–7]. Актиноміцети, особливо представники роду *Streptomyces*, викликають надзвичайний інтерес завдяки широкому спектру своїх властивостей. Вони є продуцентами більше 90% відомих антибіотиків, а також амінокислот, білків, ферментів тощо. На сьогоднішній день пошук нових природних сполук із цінними властивостями, синтезованих актиноміцетами, не втрачає актуальності. Поряд із цим, актиноміцети, завдячуючи їхнім антагоністичним властивостям, є важливими для сільського господарства [1]. Швидке розповсюдження бактерійних і грибних захворювань сільськогосподарських, декоративних культур, хвойних насаджень, а також поява варіантів фітопатогенів, стійких до сучасних хімічних засобів захисту рослин, актуалізує пошук і вивчення нових антагоністів збудників хвороб рослин. Відомо, що різноманіття видового складу актиноміцетів значно розширюється при переході від ґрунтів північних до південних [5]. Тому ми вирішили виділити і дослідити властивості штамів актиноміцетів із ризосфери ялівця високого *Juniperus excelsa* Vieb, ареалом розповсюдження якого є вузька прибережна смуга Чорного моря Кримського півострова від Судака до Балаклави та невеликі площі на Кавказі.

При виділенні ґрунтових актиноміцетів використали зразки ґрунту ризосфери ялівця високого *J. excelsa* Vieb, який росте біля підніжжя гори Кішка. Облік актиноміцетів здійснювали методом посіву з розведень на вівсяне середовище такого складу (г/л): мелене вівсяне зерно – 40, агар 18, рН 7,5. Первинну ідентифікацію актиноміцетів здійснювали

за морфологічно-культуральними властивостями на середовищі Гаузе 1 [3]. Вивчення антимікробних властивостей ґрунтових ізолятів здійснювали за допомогою методу агарових блоків. Як тест-культури використали грампозитивні бактерії *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *B. cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus albus* ATCC 12228; фітопатогенні бактерії *Erwinia amylovora* E3, *E. carotovora* JN42, *Pseudomonas corrugata* 3'М, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* 39'1, виділені співробітниками Білоруського державного університету, дріжджі *Pichia guilliermondii* 6260, *Debaromyces hansenii* VKM Y-2482, *Candida famata* VKM Y9, а також гриб *Aspergillus awamori* NF142. Бактерії вирощували на триптозному агарі [2], дріжджі на середовищі Бенета [2], гриби на середовищі Чапека [2].

Після інкубування тест-культур у термостаті при 28°C (бактерії – 24 год, дріжджі – 24–48 год і гриби – 48–72 год) вимірювали діаметр зон затримки росту під дією виділених штамів. Діаметр блоків, які вирізували з газону актиноміцетів, становив 12 мм.

З ризосфери ялівця високого *J. excelsa* Vieb. виділили 97 культур, яким був притаманний актиноміцетний ріст. Ми виявили, що майже 18% ґрунтових ізолятів затримували ріст *B. subtilis* ATCC 31324, більшість із яких утворювали зони пригнічення від 14,0 до 20,0 мм (табл. 1). Проте окремі штами мали вищу активність, зокрема 3,1% ізолятів утворювали зони пригнічення від 21 до 30, а 2,1% – більше 30,0 мм. Більшість актиноміцетів, активних щодо *B. cereus* ATCC14579 (8,2%), утворювали зони пригнічення в межах 14–20 мм, і лише 1,0% мали високу активність (більше 30 мм)

Ріст *S. albus* ATCC 12228 пригнічувало близько 20% досліджених культур, три чверті з яких мали відносно низьку активність (діаметр зон затримки росту 14–20 мм). Решта 5,2% утворювали зони інгібування на рівні 21–30 мм.

Таблиця 1

Антагоністичні властивості штамів актиноміцетів, %

Фітопатогенні бактерії	Діаметр зони пригнічення росту, мм		
	14–20	21–30	Більше 30
<i>B. subtilis</i> ATCC 31324	12,4	3,1	2,1
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	8,2	0	1,0
<i>S. albus</i> ATCC 12228	15,5	5,2	0
<i>Cl. michiganensis subsp. michiganensis</i> 39'1	20,6	10,3	3,1
<i>E. amylovora</i> E3	3,1	2,1	0
<i>E. carotovora</i> JN42	3,1	0	0
<i>P. corrugata</i> 3'М	0	0	0
<i>P. guilliermondii</i> 6260	2,1	4,1	0
<i>D. hansenii</i> VKM Y-2482	3,1	0	0
<i>C. famata</i> VKM Y9	2,1	0	0
<i>A. awamori</i> NF142	6,2	6,2	0

Ріст представника фітопатогенної мікрофлори *Cl. michiganensis subsp. michiganensis* 39'1, який є збудником бактерійного раку томатів, пригнічувало 34% досліджених штамів актиноміцетів, а їхня активність варіювала від 14 до 20 мм в діаметрі зони пригнічення (20,6% штамів) до більш, ніж 30 мм (3,1%). У той же час проти *E. amylovora* E3, яка викликає бактерійний опік плодівих, та *E. carotovora* JN42 (збудник м'якої гнилі бульб картоплі) були активними лише 5,2% та 3,1% досліджених культур актиноміцетів. Діапазон зон пригнічення росту цих збудників коливався в межах 14–30 мм. У той же час ріст збудника серцевинного некрозу стебел томатів *P. corrugata* 3'М не пригнічував жоден із виділених штамів.

Серед досліджених актиноміцетних культур незначна кількість мала активність проти дріжджів *D. hansenii* VKM Y-2482 (3,1%) і *C. famata* VKM Y9 (2,1%), які є супутниками стафілококових інфекцій людини. Рівень їхньої активності проти цих тест-культур обмежувався 14–20 мм в діаметрі зони пригнічення росту. Трохи більше 6% ґрунтових ізолятів мали активність проти *P. guilliermondii* 6260, дві третини яких утворювали зони пригнічення від 21,0 до 30,0 мм в діаметрі. Прояв фунгіцидної активності щодо *A. awamori* NF142 (окремі представники цього роду є збудниками аспергільозу у людини) ми виявили у 12,4% досліджених актиноміцетів. Причому половина з них утворювали зони пригнічення росту в межах 21–30 мм.

Досліджені культури актиноміцетів мали велику варіабельність як за рівнем антимікробної активності, так і за спектром тест-культур, ріст яких вони пригнічують (табл. 2). Ми виділили штамп G1-89, який специфічно пригнічує тільки *A. awamori* NF142, а його активність є надзвичайно високою (зона пригнічення росту 39 мм). Штampi G1-76 і G1-222 мають середній рівень активності (17–22 мм) проти окремих представників дріжджів та *A. awamori* NF142, а штамп G1-10 пригнічує тільки грампозитивні бактерії. Також ми виділили штамп G1-2t, який виявляв активність майже до всіх використаних тест-культур, крім *B. cereus* ATCC 14579.

Таблиця 2

Пригнічення росту тест-культур деякими штамми актиноміцетів, мм

Фітопатогенні бактерії	Діаметр зони пригнічення росту, мм				
	1–10	1–2t	1–222	1–76	1–89
<i>B. subtilis</i> ATCC 31324	19	23	–	–	–
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	17	–	–	–	–
<i>St. albus</i> ATCC 12228	23	35	–	–	–
<i>Cl. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 39 <sup>1</sup>	21	26	–	–	–
<i>E. amylovora</i> E3	15	18	–	–	–
<i>E. carotovora</i> JN42	–	–	–	–	–
<i>P. corrugata</i> 3 <sup>1</sup> M	32	21	–	–	–
<i>P. guilliermondii</i> 6260	–	24	18	22	–
<i>D. hansenii</i> VKM Y-2482	–	14	–	–	–
<i>C. famata</i> VKM Y9	–	14	17	–	–
<i>A. awamori</i> NF142	–	16	18	17	39

Отримані дані показали широкий спектр антибактерійних і фунгіцидних активностей досліджених культур актиноміцетів. Окремі представники цих штамів володіли вузькою специфічною дією на окремі види збудників захворювань, інші ж пригнічували ріст як бактерій, так і грибів. Рівень їхньої активності також коливався в широких межах. Поліфункціональність або ж, навпаки, вузька специфічність отриманих штамів дасть змогу використати їх як біологічні препарати з високою антимікробною активністю та з вибірковою дією щодо окремих збудників. Використання біопрепаратів дасть змогу суттєво обмежити використання хімічних засобів, отримувати безпечну для здоров'я продукцію, а також зберігати екологічний баланс у природі. Активність великої частки виділених штамів актиноміцетів проти збудників захворювань людини відкриває перспективи вивчення будови метаболітів, які вони синтезують, та пошуку нових природних сполук.

Викладені у публікації факти вказують на те, що у ризосфері ялівця високого на Кримському півострові з високою ймовірністю можна виділяти штамми актиноміцетів, які

мають широкий спектр антимікробних активностей з метою пошуку продуцентів нових антибіотиків та розробки методів біологічної боротьби зі збудниками сільськогосподарських рослин. Отримані результати вказують на перспективність вивчення ризосфери рослин Кримського півострова з метою пошуку нових актиноміцетів із цінними властивостями.

1. Бурцева С. А., Сирбу Т. Ф., Сланина Т. Ф. Антагонистические свойства новых штаммов микроорганизмов, выделенных из почв Молдовы // Микробиология і біотехнологія. 2007. № 1. С. 40–45.
2. Валагурова Е. В., Козырицкая В. Е., Иутинская Г. А. Актиномицеты рода Streptomyces. К.: Наук. думка, 2003. 645 с.
3. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешикова М. А. и др. Определитель актиномицетов. Роды Streptomyces. М: Наука, 1983. 245 с.
4. Звягинцев Д. Г., Добровольская Т. Г., Лысак Л. В. Растения как центры формирования бактериальных сообществ // Журн. общ. биологии. 1993. Т. 54. № 2. С. 183–199.
5. Зенова Г. М., Звягинцев Д. Г. Актиномицеты в наземных экосистемах // Журн. общей биологии. 1994. Т. 55. № 2. С. 183–199.
6. Takahashi Y., Omura S. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compound // J. Gen. Appl. Microbiol. 2003. Vol. 49. P. 141–154.
7. Igarashi Y., Iida T., Sasaki T. et al. Isolation of actinomycetes from live plants and evaluation of antiphytopathogenic activity of their metabolites // Actinomycetol. 2002. Vol. 16. P. 9–13.

**ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES  
OF ACTINOMYCES STRAINS ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE  
OF JUNIPER *JUNIPERUS EXCELSA* BIEB**

**O. Gromyko**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: o\_gromyko@franko.lviv.ua*

97 different strains were selected from the rhizosphere of *Juniperus excelsa* Bieb which is distributed over narrow foreland of the Black Sea in the Crimean peninsula from Sudac to Balaclava and over small area of Caucasus. Their antagonistic properties against gram-positive bacteria *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *B. cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus albus* ATCC 12228; phytopathogenic bacteria *Erwinia amylovora* E3, *E. carotovora* JN42, *Pseudomonas corrugate* 3'M, *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* 39'1, yeast *Pichia guilliermondii* 6260, *Debaromyces hansenii* VKM Y-2482, *Candida famata* VKM Y9 and mold *Aspergillus awamori* NF142 were investigated. Some of actinomycetes strains have a wide range of antibacterial and antifungal properties. Several isolated actinomycetes specifically inhibit growth of *A. awamori*, others – development of yeast. We proved effectiveness of the isolating different actinomycetes strains that are able to repress development of the phytopathogenic bacteria and human pathogens from the rhizosphere of juniper in the Crimean peninsula.

*Key words:* actinomycetes, phytopathogenic bacteria, yeast, molds, antagonistic properties.

**ФУНГІЦИДНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ  
АКТИНОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РИЗОСФЕРЫ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА  
ВЫСОКОГО *JUNIPERUS EXCELSA* VIEB**

**А. Громько**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: o\_gromyko@franko.lviv.ua*

Из ризосферы можжевельника высокого *Juniperus excelsa* Vieb, ареалом распространения которого является узкая прибрежная полоса Черного моря Крымского полуострова от Судака до Балаклавы и небольшие площади на Кавказе, выделены 97 штаммов актиномицетов. Изучены их антагонистические свойства против грампозитивных бактерий *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *B. cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus albus* ATCC 12228; фитопатогенных бактерий *Erwinia amylovora* E3, *E. carotovora* JN42, *Pseudomonas corrugata* 3'M, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* 39'1, дрожжей *Pichia guilliermondii* 6260, *Debaromyces hansenii* VKM Y-2482, *Candida famata* VKM Y9, а также грибов *Aspergillus awamori* NF142. Некоторые штаммы актиномицетов имели широкий спектр антибактериальных и фунгицидных активностей, отдельные почвенные изоляты специфически угнетали рост *A. awamori* NF142, другие – развитие дрожжей. Показана перспективность выделения и изучения свойств актиномицетов из ризосферы можжевельника высокого на Крымском полуострове, способных угнетать развитие фитопатогенной микрофлоры и инфекций человеческого организма.

**Ключевые слова:** актиномицеты, фитопатогенные бактерии, дрожжи, грибы, антагонистические свойства.

Стаття надійшла до редколегії 09.02.10

Прийнята до друку 12.05.10