

АМИЛОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ *FUSARIUM* LK:FR. И *ALTERNARIA* NEES:FR.

Проведено сравнительное изучение амилолитической активности сапрофитных, фитопатогенных и эндофитных штаммов разных видов *Fusarium* и *Alternaria*. Установлено, что у штаммов рода *Fusarium* из разных трофических групп амилолитическая активность была низкой или вообще отсутствовала. Фитопатогенные штаммы *Alternaria* spp. проявили среднюю и высокую активность, а эндофитные характеризовались средней амилолитической активностью. У изученных *Fusarium* spp. и *Alternaria* spp. амилолитическая активность варьировала на штаммовом уровне. Не установлено зависимости амилолитической активности изученных штаммов от вида и органа растения-хозяина, из которого они были выделены. Корреляции между скоростью линейного роста изученных штаммов на среде с растворимым крахмалом и величиной амилолитической активности также не было выявлено.

Ключевые слова: микроскопические грибы, эндофиты, фитопатогены, амилолитическая активность.

В последние годы внимание микологов привлекает всестороннее изучение эндофитных грибов. Их биологическая роль до настоящего времени выяснена недостаточно, однако известно, что они являются поставщиками элементов минерального питания растений, особенно в олиготрофных экосистемах [18, 24], могут быть латентными паразитами растений [23, 25], препятствуя проникновению в растения-хозяева фитопатогенных видов грибов [10, 11].

Наличие двух принципиально разных типов субстратов, которые существуют в природе параллельно – живого и мертвого, обуславливает разнообразие способов питания грибов и, соответственно, разнообразие их ферментативных систем [2]. Наряду с сапрофитами и паразитами растений существует группа эндофитных грибов, которые развиваются в тканях растений и не вызывают симптомов их заболеваний. Известно, что виды эндофитных грибов способны синтезировать целый ряд биологически активных веществ [26].

С 1999 года мы изучали видовой состав эндофитных грибов, развивающихся в мхах, кустарничках порядка *Ericales* и других травянистых и древесных растениях мезоолиготрофных и олиготрофных болот Ровенской и Житомирской областей. Наличие выявленных общих для мхов и эрикоидных растений видов эндофитных грибов, а также данные литературы позволили сделать предположение о том, что эндофитные микромицеты участвуют в поступлении минеральных элементов из сфагновых мхов в эрикоидные растения в условиях олиго- и мезоолиготрофных болот [7].

Возможность функционирования сложной трофической цепи между сфагновыми мхами, сосудистыми растениями и эндофитными грибами в последнее время косвенным путем была подтверждена рядом зарубежных исследователей при изучении физиологических особенностей эндофитных грибов. В частности, было выявлено, что эндофитные грибы обладают сложным набором ферментов (целлюлаз, гемицеллюлаз, полифенолоксидаз, полигалактуроназ), часть из которых способна эффективно участвовать в разложении растительных остатков [9, 15, 28].

Необходимость в питательных веществах обеспечивается грибами за счет ферментативного расщепления целлюлозы, гемицеллюлоз и высвобождения мономеров, которые легко усваиваются. Из грибов был изолирован комплекс ферментов, выступающий инвазивным агентом и способствующий проникновению патогена в ткани растения-хозяина, а также позволяющий грибу использовать ткани растений в качестве источников углерода [20–22]. Поскольку это расщепление существенно нарушает процессы метаболизма растений, важным является сравнительное изучение активности некоторых экстрацеллюлярных ферментов у паразитических и эндофитных грибов, жизненный цикл которых проходит в живых растениях.

Для изучения ряда ферментативных активностей нами были отобраны виды грибов-эндофитов, которые относились к доминирующим и часто встречающимся, а также штаммы соответствующих видов микроскопических грибов, которые известны как патогены растений или сапрофиты, существующие в почве: *Ceratocystis* sp., *Mycelia sterilia* (orange), *Mycelia sterilia*

(dark-green), *Mycelia sterilia* (dark-red), *Fusarium poae*, *Penicillium funiculosum*, *Alternaria alternata*.

Наши предыдущие исследования были посвящены сравнительному изучению ферментативных активностей ряда гидролаз микроскопических грибов разных трофических групп [4–7]. Целью настоящего исследования было сравнительное изучение амилолитической активности сапрофитных, фитопатогенных и эндофитных штаммов видов *Fusarium* spp. и *Alternaria* spp. для выявления возможной роли амилолитической активности в механизмах сосуществования высших растений и микроскопических грибов.

Материалы и методы. Объектами исследований были 26 штаммов разных видов рода *Fusarium*. Сапрофиты *F. poae* выделяли из лесных почв Киевской области. Фитопатогенные штаммы *F. avenaceum* и *F. culmorum* были выделены из зерна озимой пшеницы в Киевской и Тернопольской областях, *F. equiseti* – из того же субстрата в Херсонской области, *F. oxysporum* – корня люпина в Киевской и зерна пшеницы в Херсонской областях, также из зерна озимой пшеницы были выделены *F. sambucinum* и *F. incarnatum* в Херсонской и Тернопольской областях, штаммы *F. poae* – зерна пшеницы в Тернопольской и Киевской областях. Эндофитные штаммы *F. poae* были выделены нами из разных органов клюквы, сабельника и других болотных растений сфагновых болот Полесья Украины. В работе в качестве объектов исследования использовали 24 штамма видов *Alternaria*: фитопатогены были выделены из зерна озимой пшеницы в Полтавской, Житомирской, Херсонской и Киевской областях; эндофиты – из разных органов сфагновых и зеленых мхов, эрикоидных кустарничков, травянистых и древесных растений сфагновых болот Житомирской и Ровенской областей.

Культуры изученных грибов предварительно выращивали на картофельно-глюкозном агаре в чашках Петри. Для посева на чашки с агаризованной средой с растворимым крахмалом (2 г/л) использовали инокулюм (\varnothing 3 x 3 мм) с края колонии. Инокулированные чашки заклеивали пленкой Parafilm для сохранения влажности питательной среды с крахмалом и инкубировали при $26 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 3–10 сут.

Ферментативную активность определяли качественным методом [19]. Об амилолитической активности судили по величине зоны, которую определяли как разницу между средним радиусом зоны просветления среды и средним радиусом колонии гриба. Величина зоны просветления среды, а, соответственно, и активность амилазы, была условно разделена нами на три группы: низкая – зона ≤ 2 мм; средняя – 2,1 – 6,9 мм; высокая – ≥ 7 мм. Зоны активности амилазы фотографировали цифровой камерой Nikon MH-60 (Япония) (рис. 1).

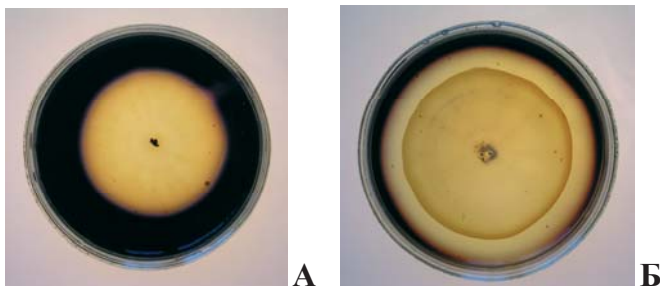


Рис. 1. Амилазная активность изученных штаммов: А) низкая; Б) высокая.

Скорость линейного роста грибов определяли на агаризованной питательной среде с растворимым крахмалом. Дважды в сутки измеряли диаметр грибной колонии в трех направлениях. На основе полученных данных определяли радиальную скорость роста (K_r) по формуле [8]:

$$K_r = \frac{R_t - R_o}{t - t_o},$$

где R_o – радиус колонии в момент времени t_o ; R_t – радиус колонии в момент t .

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Excel.

Результаты и их обсуждение. Было показано, что скорость линейного роста на среде с растворимым крахмалом изученных фитопатогенных штаммов обоих родов была выше, чем

у эндофитных (табл. 1, 2). Диапазон варьирования скорости линейного роста был примерно одинаковым у всех штаммов *Fusarium* и эндофитных штаммов *Alternaria*, и наибольшим – у фитопатогенных штаммов *Alternaria* (варьирование в 2,6 раза).

Следует отметить, что скорость линейного роста изученных штаммов *Fusarium* и *Alternaria* не зависела от вида и имела штаммовую специфичность. Также не было выявлено корреляции между скоростью роста изученных штаммов рода *Fusarium* и *Alternaria* на средах разного состава и величиной их ферментативной активности.

Практически у всех изученных фитопатогенных фузариев амилотическая активность не была выявлена (табл. 1). Только штамм *F. equiseti* 55008, выделенный из зерна озимой пшеницы, стабильно проявлял амилотическую активность – давал зону просветления среды величиной 2,0 мм на 3-и сутки роста и 2,3 мм – на 10-е. Амилотическая активность была отмечена на 10-е сутки культивирования еще у двух фитопатогенных штаммов: средняя (зона 3,3 мм) – у *F. incarnatum* 55010 и низкая (0,7 мм) – у *F. poae* 55005.

Таблица 1

Средняя скорость линейного роста и динамика амилотической активности грибов рода *Fusarium*, выделенных из разных местообитаний

Вид гриба, штамм	Источник выделения	K _p , мм/час на среде с крахмалом	Активность (зона, мм)		
			3 сут	7 сут	10 сут
Фитопатогенные штаммы					
<i>F. avenaceum</i> 55011	Зерно пшеницы	0,220 ± 0,005	0	0	0
<i>F. avenaceum</i> 55020	Зерно пшеницы	0,209 ± 0,012	0	0	0
<i>F. culmorum</i> 55001	Зерно пшеницы	0,293 ± 0,017	0	0	0
<i>F. culmorum</i> 55004	Зерно пшеницы	0,297 ± 0,026	0	0	0
<i>F. culmorum</i> 55017	Зерно пшеницы	0,296 ± 0,018	0	0	0
<i>F. equiseti</i> 55008	Зерно пшеницы	0,176 ± 0,021	2,0	0,5	2,3
<i>F. oxysporum</i> 54656	Корень люпина	0,253 ± 0,012	0	0	0
<i>F. oxysporum</i> 55015	Зерно пшеницы	0,232 ± 0,010	0	0	0
<i>F. sambucinum</i> 55007	Зерно пшеницы	0,259 ± 0,020	0	0	0
<i>F. sambucinum</i> 55012	Зерно пшеницы	0,185 ± 0,020	0	0	0
<i>F. incarnatum</i> 55009	Зерно пшеницы	0,243 ± 0,010	0	0	0
<i>F. incarnatum</i> 55010	Зерно пшеницы	0,229 ± 0,010	0	0	3,3
<i>F. poae</i> 55002	Зерно пшеницы	0,303 ± 0,012	0	0	0
<i>F. poae</i> 55005	Зерно пшеницы	0,206 ± 0,016	0	0	0,7
<i>F. poae</i> 55016	Зерно пшеницы	0,262 ± 0,009	0	0	0
<i>F. poae</i> 55019	Зерно пшеницы	0,212 ± 0,010	0	0	0
Сапрофитные штаммы					
<i>F. poae</i> 50660	Лесная почва под липой	0,296 ± 0,012	0	0	0
<i>F. poae</i> 50661	Лесная почва под липой	0,295 ± 0,014	0	0	0
Эндофитные штаммы					
<i>F. poae</i> 13-1-1	Корень клюквы	0,294 ± 0,009	0	0	0
<i>F. poae</i> 14/1-10	Лист сабельника	0,283 ± 0,008	0	0	0
<i>F. poae</i> 17/66-6	Стебель осоки	0,250 ± 0,009	0	0	0
<i>F. poae</i> 27/22	Лист клюквы	0,283 ± 0,008	0	0	0
<i>F. poae</i> 54/1-8	Стебель сабельника	0,265 ± 0,016	0	0	0
<i>F. poae</i> 56/1-2	Стебель камыша	0,285 ± 0,014	0	0	0
<i>F. poae</i> 56/1-3	Лист камыша	0,292 ± 0,020	0	0	0
<i>F. poae</i> 56/1-7	Корень камыша	0,266 ± 0,014	0	0	0

Примечание: жирным шрифтом отмечены максимальные значения

У всех исследованных сапрофитных и эндофитных штаммов рода *Fusarium* амилотическая активность не была выявлена.

Большинство изученных штаммов *Alternaria* проявляли среднюю амилотическую активность (табл. 2, рис. 2). Среди фитопатогенных штаммов 80 % имели среднюю и 20 % высокую амилотическую активность. В преобладающем большинстве случаев (80 %) эндо-

фитные штаммы также имели среднюю амилолитическую активность, 5 % – низкую и 15 % высокую активность.

Установлено, что амилолитическая активность эндофитных и фитопатогенных штаммов *Alternaria* spp. в общем была значительно выше, чем у видов рода *Fusarium* [4]. Каждый из изученных штаммов характеризовался ее наличием, а 4 штамма проявили высокую активность – *A. alternata* 16764, *A. alternata* 16828, *A. longines* 16800, *A. infectoria* 16837, среди которых один фитопатогенный штамм и три эндофитных. Следует отметить, что проявление амилолитической активности у изученных штаммов *A. alternata*, *A. infectoria*, *A. longines* и *A. tenuissima* возрастало в зависимости от времени культивирования. В целом максимальная активность амилазы была отмечена на 10-е сутки культивирования. Фитопатогенные штаммы *Alternaria alternata* проявляли среднюю (19 штаммов) и высокую (4 штамма) активность, в то время как у фитопатогенных штаммов грибов рода *Fusarium* амилолитическая активность практически отсутствовала.

Таблица 2

Динамика амилолитической активности изученных видов рода *Alternaria*,
выделенных из разных источников

Вид гриба, штамм	Источник выделения	K, мм/час на среде с крахмалом	Активность (зона, мм)		
			3 сут	7 сут	10 сут
Фитопатогенные штаммы					
<i>A. alternata</i> 16764	Зерно пшеницы	0,186 ± 0,019	0,7	2,5	8,3
<i>A. alternata</i> 16765	Зерно пшеницы	0,182 ± 0,019	0,3	1,8	5,5
<i>A. alternata</i> 16762	Зерно пшеницы	0,182 ± 0,017	0,5	2,5	2,7
<i>A. alternata</i> 7.1	Зерно пшеницы	0,072 ± 0,002	3,5	5,0	5,0
<i>A. alternata</i> 16818	Зерно пшеницы	0,160 ± 0,008	0	1,2	2,3
Эндофитные штаммы					
<i>A. alternata</i> 16828	Корень клюквы	0,131 ± 0,012	2,0	3,0	7,7
<i>A. alternata</i> 16829	Стебель клюквы	0,199 ± 0,017	2,5	4,3	4,0
<i>A. alternata</i> 16830	Лист клюквы	0,181 ± 0,009	0	0,8	0,7
<i>A. alternata</i> 16796	Верхушка сфагнома	0,208 ± 0,020	1,3	4,2	3,8
<i>A. alternata</i> 16831	Верхушка кукушкина льна	0,169 ± 0,017	0,3	0	3,0
<i>A. alternata</i> 16832	Хвоя	0,177 ± 0,019	1,7	1,8	5,3
<i>A. alternata</i> 16797	Хвоя	0,174 ± 0,017	0	1,5	5,3
<i>A. alternata</i> 16833	Лист калгана	0,179 ± 0,022	1,2	1,7	6,0
<i>A. alternata</i> 16834	Стебель пушицы	0,141 ± 0,014	2,0	3,0	6,7
<i>A. alternata</i> 16798	Стебель росянки	0,178 ± 0,016	0,7	2,0	5,5
<i>A. alternata</i> 16835	Стебель осоки	0,181 ± 0,021	0,5	3,2	4,0
<i>A. infectoria</i> 16836	Почка березы	0,188 ± 0,019	0	0,7	3,3
<i>A. infectoria</i> 16837	Стебель сабельника	0,184 ± 0,023	0,7	1,5	7,8
<i>A. infectoria</i> 16838	Стебель фиалки	0,193 ± 0,018	0,8	2,5	3,5
<i>A. infectoria</i> 16838	Стебель фиалки	0,193 ± 0,018	0,8	2,5	3,5
<i>A. longines</i> 16799	Лист андромеды	0,180 ± 0,022	0	2,2	6,7
<i>A. longines</i> 16800	Лист сфагнома	0,192 ± 0,025	0,3	5,2	10,2
<i>A. longines</i> 16801	Ветка березы	0,191 ± 0,021	1,5	1,7	4,2
<i>A. longines</i> 16815	Стебель молинии	0,138 ± 0,008	2,5	3,3	6,0
<i>A. tenuissima</i> 16816	Стебель андромеды	0,172 ± 0,019	1,2	3,0	5,8

Примечание: жирным шрифтом отмечены максимальные значения

Эндофитные штаммы *Alternaria* spp. характеризовались средней величиной амилолитической активности, в то время как у эндофитных грибов рода *Fusarium* она вообще выявлена не была (табл. 2, рис. 1).

В целом, амилолитическая активность фитопатогенных и эндофитных штаммов грибов рода *Fusarium* была значительно ниже, чем у штаммов *Alternaria* spp. Не установлено зависимости амилолитической активности исследованных штаммов от вида и органа растения-хозяина, из которых они были выделены (табл. 1, 2).

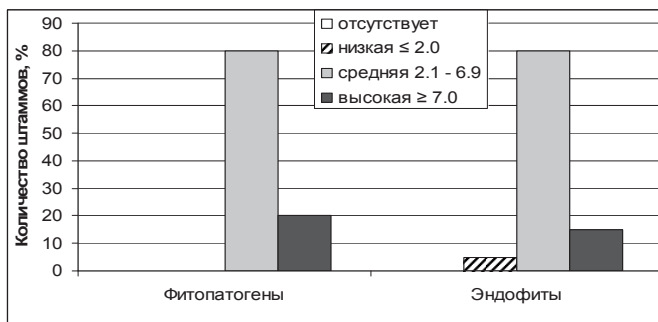


Рис. 2. Амилолитическая активность представителей разных трофических групп *Alternaria* spp.

Нашими исследованиями показано, что у большинства штаммов рода *Fusarium* из разных трофических групп амилолитическая активность практически отсутствует, а только у отдельных штаммов она была низкой или средней. Фитопатогенные штаммы *Alternaria* spp. проявили среднюю и высокую амилолитическую активность, а эндофитные характеризовались средней активностью, причем максимум ее проявления наблюдали на 10-е сутки роста. Корреляции между скоростью линейного роста изученных штаммов на среде с растворимым крахмалом и величиной амилолитической активности нами не было выявлено. Скорость линейного роста изученных штаммов родов *Fusarium* и *Alternaria* на питательной среде с крахмалом была более высокой, чем на средах с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) и ксиланом [5, 6]. Амилолитическая активность изученных *Fusarium* spp. и *Alternaria* spp. варьировала от штамма к штамму. Не установлено зависимости амилолитической активности изученных штаммов от вида и органа растения-хозяина, из которого они были выделены.

На среде с крахмалом скорость линейного роста фитопатогенных и эндофитных штаммов родов *Fusarium* и *Alternaria* была выше, чем на средах с КМЦ и ксиланом, которые были изучены нами ранее [5, 6]. На среде с КМЦ скорость линейного роста эндофитных штаммов *Fusarium* составляла $0,222 \pm 0,013 - 0,299 \pm 0,009$ мм/час, у фитопатогенных штаммов наблюдали значительно меньшую скорость роста. Диапазон изменчивости значений скорости линейного роста фитопатогенных штаммов рода *Fusarium* на среде с КМЦ – 2,7 раза, у штаммов *A. alternata* он был меньше (1,8 раза).

На среде с ксиланом скорость линейного роста фузариев была меньше, чем на среде с КМЦ, причем фитопатогенные штаммы характеризовались максимальным диапазоном изменчивости (3,7 раза). Скорость линейного роста изученных штаммов *A. alternata* на среде с ксиланом составляла $0,116 \pm 0,006 - 0,195 \pm 0,003$ мм/час. Эти данные свидетельствуют о значительно больших границах варьирования скорости роста штаммов *A. alternata* на среде с ксиланом, чем было показано ранее для штаммов этого вида на сусло-агаре и голодном агаре ($0,153 \pm 0,025 - 0,179 \pm 0,033$ и $0,168 \pm 0,023 - 0,200 \pm 0,011$, соответственно) [1, 3].

В доступной литературе имеется незначительное количество работ, посвященных сравнительному изучению амилолитической активности грибов разных трофических групп. Так, при изучении гидролаз 52 штаммов *F. oxysporum*, выделенных из разных местообитаний (зерновые культуры, окультуренные и неокультуренные почвы), установлено, что их амилолитическая активность, как и у штаммов *Fusarium* и *Alternaria*, была невысокой. На 3-и сутки роста ни один из изученных штаммов не образовывал зоны просветления среды вокруг колонии, на 5-е – только два штамма (1 выделен из растений и 1 – окультуренной почвы), на 6–7-е – 6 штаммов (по 3 для тех же групп), т.е. также наблюдали очень низкую амилолитическую активность [4].

Крахмал является основным компонентом зерна. Изучен мицелиальный рост и продуцирование амилазы штаммами *Fusarium moniliforme* и *Aspergillus flavus*, способными образовывать микотоксины, на среде с крахмалом, глицерином, пшеничными или кукурузными отрубями [12]. Так, на среде с зерном кукурузы в стадии молочной спелости у *F. moniliforme* наблюдали хороший рост, причем на среде с 2 % этого субстрата амилолитическая активность была максимальной на 10-е сутки культивирования у обоих исследованных штаммов:

42.32 ед/мл для штамма *F. moniliforme* и 4,745.54 ед/мл для *A. flavus* [12]. Это согласуется с полученными нами результатами.

Виды родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Nigrospora* и *Trichoderma*, особенно *F. moniliforme* и *F. proliferatum*, чаще всего выделяются из зерна кукурузы при патологическом процессе [14, 17, 27]. Эти виды способны продуцировать фумонизины, вызывающие заболевания домашних животных. Ранее было высказано предположение, что продуцирование токсинов начинается еще до сбора урожая, что делает неэффективным его контроль после сбора. Исходя из этого, необходимым является поиск новой стратегии контроля патогенов с использованием ингибиторов протеаз, амилаз и других биологически активных веществ фитопатогенов [13].

При изучении влияния источников углерода, а также других факторов на продуцирование экстрацеллюлярной α -амилазы 26 штаммами *Aspergillus niger*, выделенными из разных образцов почвы Индии, учет результатов, как и в нашем случае, проводили по величине зоны просветления среды при гидролизе крахмала [16]. Оказалось, что лучше всего штаммы *A. niger* росли и продуцировали α -амилазу на питательных средах с крахмалом, сахарозой, декстрином и галактозой.

Таким образом, показано, что амилолитическая активность изученных видов *Fusarium* и *Alternaria* проявляла штаммовую специфичность на среде с крахмалом, являющейся оптимальной для этой активности. Ранее также показана четкая штаммовая специфичность целлюлазной и ксиланазной активности у грибов разных трофических групп *Fusarium*. Грибы рода *Fusarium*, выделенные из разных местообитаний, в целом обладали невысокой целлюлазной и ксиланазной активностью, однако у эндофитов их уровни были ниже, чем у фитопатогенов, причем у последних отмечен широкий диапазон варьирования этих активностей [6]. Большинство изученных штаммов *A. alternata* не обладали целлюлазной активностью, или она была слабой, однако фитопатогенные штаммы в целом были более активными, чем эндофитные, в то время как ксиланазная активность у штаммов всех трофических групп была выше, чем целлюлазная [5].

Более высокая амилолитическая активность изученных штаммов рода *Alternaria* по сравнению со штаммами рода *Fusarium* в данном случае, по-видимому, определяется комплексом микроскопических грибов в разных местообитаниях, а каждый из представителей этого комплекса играет определенную роль и проявляет свои физиологические особенности.

I.M. Курченко

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

АМІЛОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ВИДІВ *FUSARIUM* LK:FR. ТА *ALTERNARIA* NEES:FR.

Резюме

Проведене порівняльне вивчення амілолітичної активності сапрофітних, фітопатогенних і ендоефітних штамів різних видів *Fusarium* та *Alternaria*. Встановлено, що у штамів роду *Fusarium* з різних трофічних груп амілолітична активність була низькою або взагалі не спостерігалась. Фітопатогенні штами *Alternaria* spp. виявили середню та високу активність, а ендоефітні характеризувались середньою амілолітичною активністю. У вивчених *Fusarium* spp. та *Alternaria* spp. амілолітична активність варіювала на рівні штаму. Не встановлено залежності амілолітичної активності вивчених штамів від виду і органу рослини-хазяїна, з якого вони були виділені. Кореляції між швидкістю лінійного росту досліджених штамів на середовищі з розчинним крохмалем та величиною амілолітичної активності також не було виявлено.

Ключові слова: мікроскопічні гриби, ендоефіти, фітопатогени, амілолітична активність.

I.N. Kurchenko

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

AMYLOLYTIC ACTIVITY OF *FUSARIUM* LK:FR. AND *ALTERNARIA* NEES:FR. SPECIES

S u m m a r y

A comparative study of saprophytic, plant pathogenic and endophytic strains of different *Fusarium* and *Alternaria* species was conducted. It was shown that amylolytic activity of *Fusarium* strains of different trophic groups was low or absent. Plant pathogenic *Alternaria* spp. strains possessed middle and high activity while

endophytic ones had middle activity. Amylolytic activity of the studied *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. strains varied on the strain level. The dependence of amylolytic activity of the studied strains on species and organs of host plants, which they were isolated from, was not established. Correlation between the rate of linear growth of the studied strains on the media with soluble starch and amylolytic activity level was not shown.

The paper is published in Russian.

К е y w o r d s: microscopic fungi, endophytes, plant pathogens, amylolytic activity

The author's address: Kurchenko I.N., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine.

1. Вембер В.В. Эколого-физиологические особенности микромицетов зоны радионуклидного загрязнения: Автореф. дис. на звание канд. биол. наук: спец. 03.00.07 "Микробиология" – К., 2000. – 21 с.
2. Каратыгин И.В. Коэволюция грибов и растений // Труды Ботанического ин-та РАН. – Вып. 9. – Санкт-Петербург, 1993. – 118 с.
3. Карпенко Ю.В. Экологическая характеристика микромицетов, что выявили ознаку позитивного радиотропизму: Автореф. дис. на звание канд. биол. наук: спец. 03.00.07 "Микробиология" – К., 2003. – 19 с.
4. Курченко И.М., Жданова Н.М., Соколова О.В. Вивчення наявності деяких гідролітичних та окисно-відновних ферментів у штамів *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Snyd. et Hans., ізольованих з різних місцеперебувань // Мікробіол. журн. – 2001. – **63**, № 5. – С. 34–44.
5. Курченко И.М., Соколова О.В., Жданова Н.М., Яринчин А.М., Йовенко О.М. Порівняльне вивчення целюлазної та ксиланазної активностей у фітопатогенних та ендоефітних штамів грибів *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler // Мікробіол. журн. – 2008. – **70**, № 4. – С. 25–30.
6. Курченко И.М., Соколова О.В., Жданова Н.М., Яринчин А.М., Йовенко О.М. Целюлазна та ксиланазна активності грибів роду *Fusarium* Lk: Fr., що належать до різних трофічних груп // Мікробіол. журн. – 2008. – **70**, № 5. – С. 27–35.
7. Курченко И.Н., Соколова Е.В., Орлов А.А., Жданова Н.Н. Эндоефітніе микромицеты высших растений и их экологическая роль в круговороте ¹³⁷Cs в биогеоценозах сфагновых болот Украинского Полесья // Прикладная радиоэкология леса / Под ред. В.П. Краснова. – Житомир, 2007. – С. 359–412.
8. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – 331 с.
9. Cairney J.W.G., Burke R.M. Extracellular enzyme activities of the ericoid mycorrhizal endophyte *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf et Kernan: their likely roles in decomposition of dead plant tissue in soil // Plant and soil. – 1998. – **205**, N 1. – P. 181–192.
10. Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont // Ecology. – 1988. – **69**, N 1. – P. 2–9.
11. Clay K. Clavicipitaceous fungal endophytes of grasses: their potential as biocontrol agents // Mycol. Res. – 1989. – **92**, N 1. – P. 1–12.
12. Figueira E.L.Z., Hirooka E.Y. Culture medium for amylase production by toxigenic fungi // Brazilian Archives of Biology and Technology. – 2000. – **43**, N 5. – P. 461–467.
13. Gatehouse A.M.R., Hilder V.A., Gatehouse J.A. Control of insect pests by plant genetic engineering // Proceedings of the Royal Society of Edinburgh B Section. Biological Sciences. – 1992. – **99** B, N 3–4. – P. 51–60.
14. Gonzalez H.H.L., Resnik S.L., Boca R.T., Marasas W.F.O. Mycoflora of Argentinean corn harvested in the main production area in 1990 // Mycopathologia. – 1995. – **130**, N 1. – P. 29–36.
15. Grellet G.-A., Meharg A.A., Alexander I.J. Carbon availability affects nitrogen source utilization by *Hymenoscyphus ericae* // Mycol. Res. – 2005. – **109**, N 4. – P. 469–477.
16. Gupta A., Gupta V.K., Modi D.R., Yadava L.P. Production and characterization of α -amylase from *Aspergillus niger* // Biotechnology. – 2008. – 7, N 3. – P. 551–556.
17. Logrieco A., Moretti A., Ritieni A., Botalico A., Corda P. Occurrence and toxigenicity of *Fusarium proliferatum* from preharvest maize ear rot, and associated mycotoxin, in Italy // Plant Disease. – 1995. – **79**, N 7. – P. 727–731.
18. Joner E.J., Johansen A. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi // Mycol. Res. – 2000. – **104**, N 1. – P. 81–86.
19. Molitoris H.P., Schaumann K. Physiology of marine fungi. A screening program for marine fungi // The biology of marine fungi / Ed. S.T. Moss. – Cambridge: Cambridge University Press, 1986. – P. 35–47.
20. Olutiola P.O. Cellulolytic enzymes in culture filtrates of *Rhizoctonia lamellifera* // J. Gen. Microbiol. – 1976 a. – **97**, N 2. – P. 251–256.
21. Olutiola P.O. A cellulase complex in culture filtrates of *Penicillium citrinum* // Can. J. Microbiol. – 1976 b. – **22**, N 8. – P. 1153–1156.
22. Olutiola P.O. Cellulase enzymes in culture filtrates of *Ceratocystis paradoxa* // Mycologia. – 1976 c. – **68**, N 5. – P. 1083–1092.
23. Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves // Microbial ecology of leaves / Eds. J.H. Andrews and S. Hirano. – New York, 1991. – P. 179–197.

24. Schulz B., Sucker J., Aust H.J., Krohn K., Ludwig K., Jones P.G., Döring D. Biologically active secondary metabolites of endophytic *Pezizula* species // *Mycol. Res.* – 1995. – **99**, N 8. – P. 1007–1015.
25. Sinclair J.B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi // *Plant Disease.* – 1991. – **75**, N 3. – P. 220–224.
26. Tan R.X., Zou W.X. Endophytes: a rich source of functional metabolites // *Nat. Prod. Rep.* – 2001. – **18**, N 4. – P. 448–459.
27. Thiel P.G., Marasas W.F.O., Sydenhan E.W., Shephard G.S., Gelderblom W.C.A., Nieuwenhuis J.J. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1991. – **57**, N 4. – P. 1089–1093.
28. Whittaker Sh.P., Cairney J.W.G. Influence of amino acids on biomass production by ericoid mycorrhizal endophytes from *Woolisia pungens* (Eparidaceae) // *Mycol. Res.* – 2001. – **105**, N 1. – P. 105–111.

Отримано 17.05.2011

УДК 582.288

Я.И. Савчук

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

ГЕРБИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

*Исследована фитотоксическая активность 5 штаммов микромицетов относительно культурных растений и сорняков. Показано, что все исследуемые штаммы проявляют в разной степени выраженную активность. В частности, культуральные фильтраты *Penicillium sp.* 10-51 и *Aspergillus niveus* 2411 подавляют прорастание семян галинсоги, щирицы, пастушьей сумки, а культуральный фильтрат *Ulocladium consortiale* 960 подавлял прорастание семян проса колосовидного и щетинника. Более высокую фитотоксическую активность проявляли культуральные фильтраты *Myrothecium cinctum* 903 и 910, которые полностью подавляли прорастание семян молочая, но при этом не проявляли какого либо действия на семена редиса. В различной степени выраженную активность отмечали и в отношении других исследуемых растений*

Ключевые слова: микромицеты, фитотоксическая активность, гербицидное действие, метаболиты.

На территории Украины зарегистрировано около 4000 видов растений, однако, лишь небольшая часть из них культурные, которые удовлетворяют потребностям населения и пищевой промышленности в сырьевых материалах. Остальную флору составляют дикорастущие виды, которые являются конкурентами за жизненное пространство культивируемых на сельскохозяйственных землях растений. Очевидно, что загрязнение полей сорняками наносит значительный ущерб сельскому хозяйству. Одним из наиболее эффективных методов борьбы с этим бедствием является применение гербицидов. В этом аспекте большое внимание привлекают к себе микроскопические грибы, которые, как известно, являются продуцентами жизненно важных биологически активных веществ, в том числе и веществ с гербицидной активностью.

Традиционная методология поиска таких метаболитов включает в себя несколько этапов: предварительная оценка фитотоксической активности культуральных фильтратов грибов относительно модельных тест-объектов растительной клетки – зеленых водорослей; исследование гербицидной активности в отношении семян сорняков и фитотоксической активности в отношении культурных растений; оценка антибиотического действия против представителей нормальной микрофлоры почвы; полевые эксперименты.

Ранее нами [7] был проведен скрининг 52 изолятов микромицетов относительно их способности продуцировать соединения с фитотоксическими свойствами. По результатам скрининга было отобрано пять штаммов с широким спектром действия. В дальнейшем, исходя из логики исследования, нами предусматривалось исследовать гербицидную активность этих штаммов относительно прорастания семян широкого круга сорных растений.

Материалы и методы. Исследуемые штаммы грибов культивировали при 26° С в течение 14 суток поверхностно в колбах Эрленмейера на 500 мл, которые содержали 100 мл жидкой

© Я.И. Савчук, 2012