

**О.М. Юр'єва, І.М. Курченко, С.О. Сирчін, А.К. Павличенко**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна*

## **ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕЛЮЛОЗОДЕГРАДУЮЧОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСУ *PENICILLIUM FUSICULOSUM* ТНОМ З РІЗНИХ МІСЦЕІСНУВАНЬ**

**Мета.** Дослідження ендо-, екзоглюканазної та ксиланазної активності штамів *Penicillium funiculosum* з різних місцеіснувань на середовищі з пшеничною соломою. **Методи.** Об'єктами досліджень були 20 ендофітних та ґрунтових штамів *P. funiculosum* з колекції культур мікроскопічних грибів відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Ендо-, екзоглюканазну та ксиланазну активності визначали кількісними методами з використанням 3,5-динітросаліцилової кислоти. **Результати.** Штами *P. funiculosum* обох трофічних груп здатні синтезувати комплекс целюлозолітичних ферментів і ксиланазу. Ендо-, екзоглюканазна та ксиланазна активності проявлялись на штамовому рівні та більше варіювали у ендофітних штамів. Максимальні значення ендо-, екзоглюканазної та ксиланазної активностей ендофітів досягали  $0,35 \pm 0,07$ ,  $0,063 \pm 0,002$  і  $96,1 \pm 2,42$  од/мл відповідно. **Висновки.** Вперше кількісними методами досліджено целюлазну та ксиланазну активності ендофітних та ґрунтових штамів *P. funiculosum*. Рівень досліджених ферментативних активностей залежав від штаму мікроміцета. Максимальною і мінімальною целюлозолітичною і ксиланазною активностями характеризувалися ендофітні штами.

**Ключові слова:** *Penicillium funiculosum*, ендофіти, сапрофіти, ендо-, екзоглюканазна та ксиланазна активності.

*Penicillium funiculosum* Thom – космополіт, який виділяють з різноманітних місцеіснувань: рослин та їх решток, ґрунтів різних типів; цей вид трапляється на технічних матеріалах, пам'ятках мистецтва; *P. funiculosum* входить до складу комплексу ендофітів рослин сфагнових боліт Полісся України [7, 14, 29].

*P. funiculosum* синтезує речовини з антибіотичними (фунікулозин, вортманін, ісландіцин), антифунгальними і противірусними властивостями, стимулятори росту рослин (гібереліни, індоліл-3-оцтову кислоту), а також целюлозолітичні ферменти [7, 11, 16].

Асоціації рослин з грибами-ендофітами походять з нижнього девону і ордовіка (більше 400 млн. р. тому), саме їх вважають рушійною силою еволюції рослинного світу [12, 21]. Ендофітні гриби безсимптомно існують у внутрішніх тканинах усіх вегетативних органів багатьох видів рослин [5]. Повністю вільні від мікроорганізмів рослини є скоріше винятком, ніж біологічним правилом [19]. Зокрема, ендофітні гриби є постійним компонентом рослин сфагнових боліт Полісся України, поширені в усіх органах рослин та характеризуються значною різноманітністю [14].

Незважаючи на більш ніж 100-річний період дослідження ендофітних грибів, гідролітичні ферментативні комплекси, фізіологічні особливості та екологічне значення цих грибів досі лишаються мало вивченими. Ендофіти сприяють пристосуванню рослини-хазяїна до стресових факторів,

захищають її від фітопатогенів і стимулюють ріст [11, 23]. Існують поодинокі дослідження біологічно активних метаболітів цієї групи грибів, що мають антибіотичну, антифунгальну, антиоксидантну, протипухлинну і фітогормональну дію, а також є перспективними для захисту рослин від патогенів та шкідників [11, 19, 25]. Вони є потенційними джерелами нових природних речовин для застосування у біотехнологічних виробництвах, сільському господарстві, фармацевтичній промисловості та в екологічних дослідженнях [25].

Для ефективної біотрансформації рослинної біомаси мікроскопічним грибам необхідний комплекс целюлозолітичних ферментів. Відомими продуцентами лігноцелюлозних ферментних препаратів є *Trichoderma reesei* та *Aspergillus niger*, однак високі значення гідролітичної активності на синтетичних целюлозних субстратах не дозволяють отримати значний рівень деградації рослинної біомаси [9], а тому виникає потреба у використанні додаткових ферментів [10]. Деякі природні ізоляти роду *Penicillium* здатні до синтезу лігно- та целюлозолітичних ферментів з вищою продуктивністю, ніж *T. reesei* [17].

Можливість використання дешевих та доступних природних субстратів для більш ефективного синтезу ферментативних комплексів дає перевагу для використання грибів роду *Penicillium* у сучасних технологіях отримання мультиферментних препаратів [15]. Зокрема, *Penicillium funiculosum* характеризується збалансованим целюлозолітичним комплексом [16].

Практично відсутні дані щодо порівняльного вивчення целюлозодеградуючого ферментативного комплексу *P. funiculosum*, який існує як сапрофіт і ендодіт.

**Матеріали і методи.** Об'єктами досліджень були 20 штамів *P. funiculosum* двох трофічних груп – ендодітні (біотрофи) і ґрунтові (сапрофіти) (табл. 1). Ендодітні штами виділені з болотних рослин сфагнових боліт Полісся України та з лікарської рослини звіробою звичайного (*Hypericum perforatum* L.), сапрофітні – з різних типів ґрунтів. Культури підтримуються в колекції культур мікроскопічних грибів відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Інокулом вирощували на картопляно-глюкозному середовищі в колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл в глибинних умовах (210 – 230 об/хв) за температури  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  протягом 48 год. Культивування мікроміцетів здійснювали в зазначених вище умовах протягом 6 діб у рідкому середовищі Чапека з додаванням 0,5% пшеничної соломи як єдиного джерела вуглецю (г/л): подрібнена пшенична солома – 5,0;  $\text{NaNO}_3$  – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,01 [3]. Об'єм поживного середовища складав 200 мл, кількість інокулюму – 5%.

Після завершення культивування міцелій гриба та залишки субстрату відділяли фільтруванням. Отриманий культуральний фільтрат (КФ) використовували для визначення ферментативних активностей.

При визначенні ендоглюканазної активності (ЕС 3.2.1.4) реакційна суміш складалася з 0,5 мл КФ та 2,0% розчину натрієвої солі карбоксиметил-целюлози (Na-КМЦ, Sigma, середня в'язкість) у 0,05 М ацетатному

Досліджені штами *Penicillium funiculosum*

№ п/п	Штам	Джерело виділення	Місце ізолювання, рік
<b>Ендofітні штами</b>			
1.	16784	Стебло журавлини	Житомирська обл., 1999
2.	16786	Стебло пухівки	
3.	16785	Лист пухівки	
4.	16788	Стебло журавлини	
5.	16795	Лист журавлини	
6.	16787	Лист вовчого тіла	Рівненська обл., 2004
7.	16879	Лист звіробою	Чернігівська обл., 2015
8.	16880	Стебло звіробою	
9.	16881	Корінь звіробою	
10.	16882	Квітка звіробою	
<b>Ґрунтові штами</b>			
11.	16825	Ризосфера ячменю	Дніпропетровська обл., 1999
12.	16826	Лісовий ґрунт	Київська обл., 1999
13.	16783	Садовий ґрунт	Херсонська обл., 2000
14.	16789	Чорнозем	Дніпропетровська обл., 2006
15.	16790		
16.	16791	Лісовий ґрунт	Житомирська обл., 2000
17.	16792	Чорнозем	Запорізька обл., 2002
18.	16793		
19.	16794		
20.	16874	Лісовий ґрунт	Київська обл., 1990

буфері (рН 4,5). Інкубацію проводили протягом 30 хв за температури 50°C [8].

Екзоглюканазну активність (ЕС 3.2.1.91) визначали за ступенем гідролізу фільтрувального паперу (1 x 6 см), додаючи до нього 1 мл КФ відповідного штаму та 0,05 М ацетатного буфера (рН 4,5), час інкубації – 1 год за 50°C [8].

Ксиланазну активність (ЕС 3.2.1.8) визначали за гідролізом 0,18 мл 1% розчину букового ксилану (Sigma) у 0,05 М ацетатному буфері (рН 4,5) з 0,02 мл КФ за температури 50°C протягом 5 хв [8].

Кількість редуруючих цукрів визначали після ферментативного гідролізу субстратів з використанням 3,5-динітросаліцилової кислоти (ДНС метод) [18].

Ферментативні активності визначали на 4 і 6 доби росту [3]. За одиницю ендo-, екзоглюканазної і ксиланазної активностей приймали таку кількість ферменту, за дії якої утворювався 1 мкмоль глюкози або ксилози на 1 мл КФ за 1 хв.

Для статистичної обробки даних використовували статистичний пакет Microsoft Excel.

**Результати.** Ендоглюканазна активність ендофітних штамів *P. funiculosum* варіювала більшою мірою, ніж ґрунтових. Штами ендофітів продемонстрували мінімальний та максимальний рівні ендоглюканазної активності ( $0,02 \pm 0,001 \div 0,35 \pm 0,04$  од/мл) (рис. 1). Ендофітні штами 16786, 16787 і 16795 мали високу ендоглюканазну активність на 6-ту добу культивування –  $0,34 \pm 0,03$ ,  $0,32 \pm 0,03$  і  $0,35 \pm 0,04$  од/мл відповідно. У ґрунтових ізолятах ендоглюканазна активність також залежала від штаму мікроміцета та в цілому була нижчою порівняно з ендофітами.

У процесі культивування штамів *P. funiculosum* на природному субстраті спостерігали максимум екзоглюканазної активності на 6-ту добу, проте ендофітний штам 16795 характеризувався максимальним значенням  $0,063 \pm 0,002$  од/мл на 4-ту добу росту (рис. 2). Екзоглюканазна активність більше варіювала у штамів-ендофітів порівняно з ґрунтовими.

Ендофіти *P. funiculosum* характеризувались більш варіабельними значеннями ксиланазної активності (рис. 3). Досить високі значення цієї активності відмічено для ендофітних штамів 16786 ( $70,5 \pm 7,49$  од/мл) і 16795 ( $96,1 \pm 2,42$  од/мл), проте максимальні значення сапрофітів були меншими в 2,2 рази. Загалом целюлазна і ксиланазна активності були вищими на 6-ту добу культивування. Не виявлено залежності між ферментативними активностями досліджених штамів та часом зберігання культур у колекції.

Таким чином, нами встановлено, що штами *P. funiculosum*, ізольовані з різних місцеіснувань, здатні синтезувати комплекс целюлозолітичних ферментів і ксиланази на поживному середовищі з пшеничною соломою. Ендо-, екзоглюканазна та ксиланазна активності штамів *P. funiculosum* залежали від штаму і зазвичай були вищими на 6-ту добу культивування. Досліджені ферментативні активності ендофітних штамів характеризувались більшим діапазоном варіювання. Ендофітний штам 16795 мав мак-

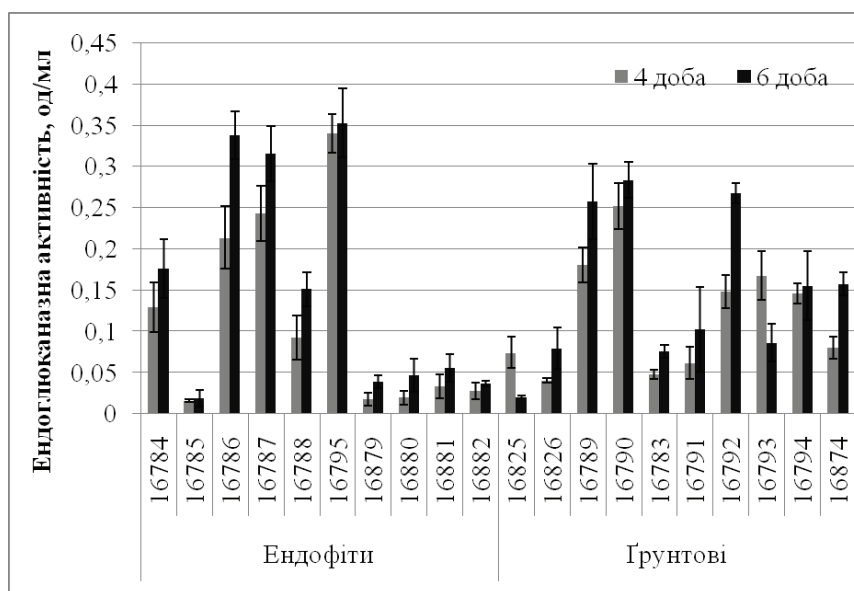


Рис. 1. Ендоглюканазна активність штамів *P. funiculosum* з різних місцеіснувань.

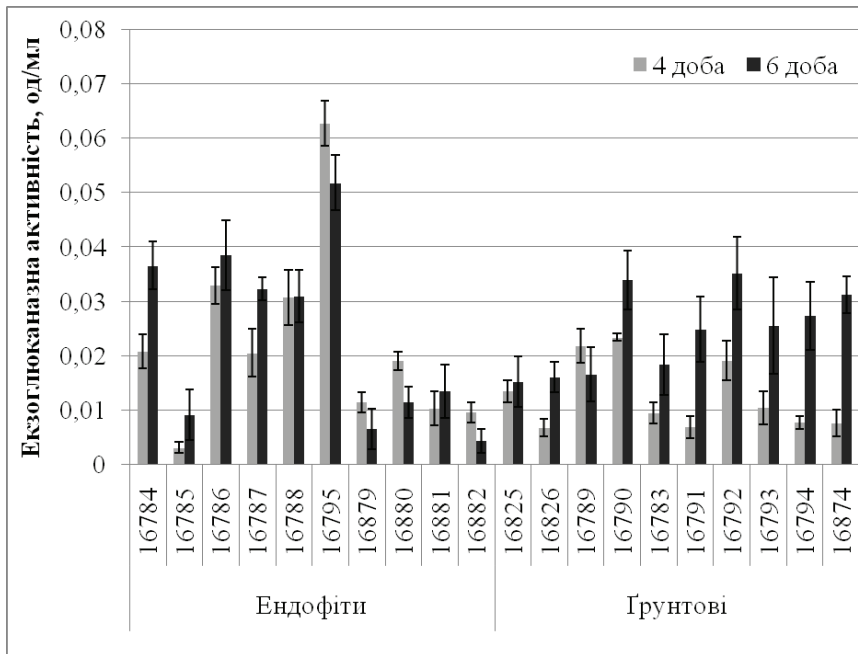


Рис. 2. Екзоглюканазна активність штамів *P. funiculosus*.

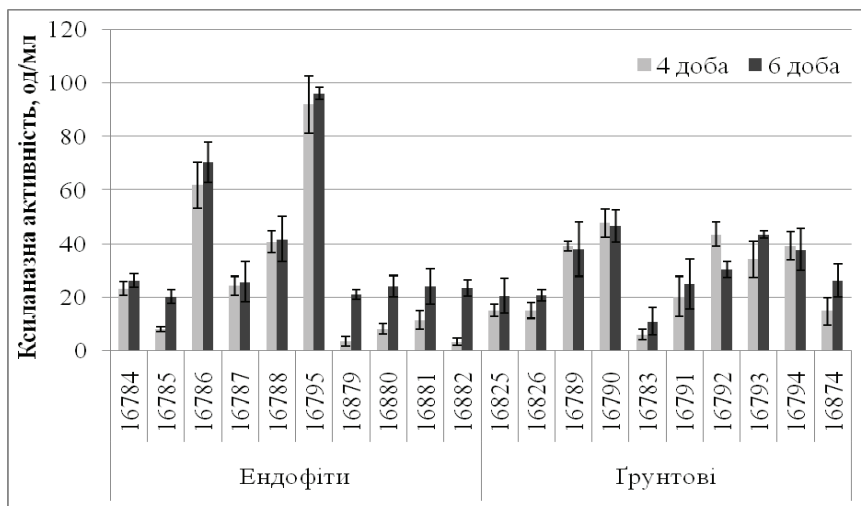


Рис. 3. Ксиланазна активність штамів *P. funiculosus*.

симальні значення ендо-, екзоглюканазної та ксиланазної активностей, що становили  $0,35 \pm 0,07$ ,  $0,063 \pm 0,002$  і  $96,1 \pm 2,42$  од/мл відповідно. Максимальні значення досліджених активностей сапрофітів були в 1,25–2,2 рази меншими порівняно з ендофітами.

**Обговорення.** Пшенична солома, фільтрувальний папір, Na-КМЦ є специфічними індукторами синтезу целюлозолітичних ферментів у *T. reesei* – основного світового продуцента целюлаз [20]. Нами встановлено, що для штамів *P. funiculosus* двох трофічних груп природний субстрат

пшенична солома є кращим індуктором синтезу гідролітичних ферментів (ендо-, екзоглюканазної та ксиланазної активностей), ніж Na-КМЦ. Так, при культивуванні на синтетичному субстраті Na-КМЦ ендоглюканазна активність ендофітних штамів *P. funiculosum* була в 1,0–4,3 рази, а ґрунтових ізолятів у 1,0–2,8 раз нижчою, ніж на середовищі з пшеничною соломою [28].

На середовищі з цим природним субстратом екзоглюканазна активностей ендофітів була вищою в 22–25 разів, а ґрунтових штамів у 30–129 разів порівняно з культивуванням мікроміцетів на середовищі з Na-КМЦ. Ксиланазна активність ендофітів *P. funiculosum* на природному субстраті підвищувалась у 133–342 рази, сапрофітних штамів – в 47–58 разів, ніж на середовищі з Na-КМЦ.

При дослідженні якісним методом 120 штамів мікроміцетів, більшість з яких була представлена ендофітами, у 35 з них встановлено наявність целюлазної і ксиланазної активностей [22]. При кількісному визначенні ендо- та екзоглюканазна активності мікроскопічних грибів на середовищі з жомом цукрової тростини та висівками сої (3:1) були низькими. Ксиланазна активність на 4-ту добу культивування становила  $0,5 \pm 0,03$  –  $14 \pm 0,4$  од/мл, що в 5 разів нижче, ніж для вивчених нами штамів *P. funiculosum*. Робл із співавт. [22] показали, що на 4-ту добу культивування ферментативні активності були більшими, ніж на 2-гу добу, що узгоджується з нашими даними. Ендофітні гриби *Aspergillus niger* DR02, *Trichoderma atroviride* DR17 і DR19, *Alternaria* sp. DR45, *Annulohyphoxylon stigyum* DR47 та *Talaromyces wortmanii* DR49, виділені з різних видів рослин, продукують комплекс гідролітичних ферментів [22]. Ендофітні штами *Alternaria alternata* [27], *Aspergillus terreus* [24] та ерикоїдно-мікоризні *Hymenoscyphus ericae* [4] синтезують ксиланазу, види роду *Acremonium* – целюлазу та геміцелюлазу [2]. За культивування (4 і 6-ту доби) мікроміцетів *Fusarium oxysporum* на середовищі з пшеничною соломою целюлазна активність становила 0,1–0,8 од/мл, а у *Fennellia flavipes* була вдвічі вищою. Показано, що на 6-ту добу росту целюлазна активність була вищою [6]. Досліджені нами ендофітні та сапрофітні штами *P. funiculosum* також синтезують комплекс целюлозолітичних ферментів.

Ендоглюканазна активність штамів *Fusarium* sp. 5, *Fennellia* sp. 2806 і *Trichoderma* sp. 17/1 досягала 12,6, 14 і 4 од/мл, що в 11,4–40 разів більше порівняно зі штамами *P. funiculosum*. Екзоглюканазна активність *Fusarium* sp. 5 та *Trichoderma* sp. 17/1 була в 2,1–6 разів нижчою, ніж *P. funiculosum*. Штам *Fennellia* sp. 2806 характеризувався вищими в 7,1 разів значеннями екзоглюканазної активності за таку *P. funiculosum*. Ксиланазна активність ізолятів *P. funiculosum* була на 24–37,5% вищою порівняно з *Fusarium* sp. 5, *Fennellia* sp. 2806 і *Trichoderma* sp. 17/1 [26]. Всі досліджені ферментативні активності були вищими на 6-ту добу культивування.

Гриби-ендофіти синтезують комплекс гідролітичних ферментів, що сприяє колонізації тканин рослини-хазяїна та гідролізу рослинних полімерів [19, 23]. Ендофіти можуть ініціювати процес гідролізу рослинних залишків раніше, ніж сапрофітні види, оскільки вони вже присутні у відмерлих тканинах рослин [22]. Синтез гідролітичних ферментів ендофітами є важливим для живлення гриба не лише впродовж ендофітної стадії, сапрофітним видам мікроміцетів також необхідний комплекс гідроліз для



трансформації рослинних залишків. Так, внаслідок дії целюлаз *P. funiculosum* спостерігаються гнилі плодів при їх зберіганні [1, 7]. Ендofітні види мікроміцетів з листя мангрових рослин різного віку синтезують гідролази та більш поширені після листопаду, а не в живому листі, що свідчить про їх участь у процесах трансформації рослинних полімерів [13]. З іншого боку, наявність у ендofітів низьких целюлазної і ксиланазної активностей обумовлює їх мутуалістичне співіснування з живими рослинами, у той час як для сапрофітних і фітопатогенних штамів характерні високі активності [14]. Оскільки для *P. funiculosum* немає даних щодо їх здатності викликати захворювання рослин, можна припустити, що за своїми властивостями вони близькі до сапрофітів.

Отже, нами вперше досліджено кількісними методами целюлазну та ксиланазну активності ендofітних та ґрунтових штамів *P. funiculosum*. Встановлено, що ендofітні і ґрунтові штами *P. funiculosum* здатні синтезувати комплекс целюлозо- і ксиланолітичних ферментів. Пшенична солома є кращим індуктором синтезу ферментів целюлазного комплексу порівняно з Na-КМЦ, причому більшою мірою для ендofітів. Екзо-, ендоглюканазна і ксиланазна активності більше варіювали у ендofітних штамів. Максимальні значення екзо-, ендоглюканазної та ксиланазної активностей ендofітів досягали  $0,063 \pm 0,002$ ,  $0,35 \pm 0,07$  і  $96,1 \pm 2,42$  од/мл відповідно.

Представлену роботу виконано за фінансової підтримки цільової комплексної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоенергоконверсії».

**Е.М. Юрьева, И.Н. Курченко, С.А. Сырчин, А.К. Павличенко**

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

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОДЕГРАДИРУЮЩЕГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА *PENICILLIUM FUNICULOSUM* ТНОМ ИЗ РАЗНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ

### Резюме

**Цель.** Исследование эндо-, экзоглюканазной и ксиланазной активностей штаммов *Penicillium funiculosum* из разных местообитаний на среде с пшеничной соломой. **Методы.** Объектами исследования были 20 эндофитных и почвенных штаммов *P. funiculosum* из коллекции культур микроскопических грибов отдела физиологии и систематики микромицетов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины. Эндо-, экзоглюканазную и ксиланазную активности определяли количественными методами с использованием 3,5-динитросалициловой кислоты. **Результаты.** Штаммы *P. funiculosum* обеих трофических групп способны синтезировать комплекс целлюлозолитических ферментов и ксиланазу. Эндо-, экзоглюканазная и ксиланазная активности проявлялись на штаммовом уровне и больше варьировали у эндофитных штаммов. Максимальные значения эндо-, экзоглюканазной и ксиланазной активностей эндофитов достигали  $0,35 \pm 0,07$ ,  $0,063 \pm 0,002$  и  $96,1 \pm 2,42$  ед / мл соответственно. **Выводы.** Впервые количественными методами исследованы целлюлазная и ксиланазная активности эндофитных и почвенных штаммов *P. funiculosum*. Уровень изученных ферментативных активностей зависел от штамма

микромицета. Максимальной и минимальной целлюлозолитической и ксиланазной активностями характеризовались эндофитные штаммы.

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* *Penicillium funiculosum*, эндофиты, сапрофиты, эндо-, экзоглюканазная и ксиланазная активности.

***O.M. Yurieva, I.M. Kurchenko, S.O. Syrchin, A.K. Pavlychenko***

*D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine,  
154 Zabolotny St. Kyiv, 03143, Ukraine*

## **STUDY OF CELLULOSE DEGRADATION ENZYMATIC COMPLEX OF *PENICILLIUM FUNICULOSUM* THOM STRAINS FROM DIFFERENT HABITATS**

### Summary

**Aim.** Study of endo-, exoglucanase and xylanase activities on the nutrient medium with wheat straw of *Penicillium funiculosum* strains from different habitats. **Methods.** The objects of the study were 20 endophytic and soil *P. funiculosum* strains from culture collection of microscopic fungi of Department of Physiology and Taxonomy of Micromycetes of D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU. Endo-, exoglucanase and xylanase activities were determined quantitative by method with 3,5-dinitrosalicylic acid. **Results.** Both trophic groups of *P. funiculosum* were able to synthesize cellulolytic enzyme complex and xylanase. Endo-, exoglucanase and xylanase activities varied at the strain level and were higher for endophytic strains. The maximum values of endo-, exoglucanase and xylanase activities of endophytic strains reached  $0.35 \pm 0.07$ ,  $0.063 \pm 0.002$  and  $96.1 \pm 2.42$  U/ml, respectively. **Conclusions.** Cellulase and xylanase activities of endophytic and soil *P. funiculosum* strains were investigated by quantitative methods for the first time. The level of the studied enzymatic activities depended on fungal strain. Endophytic strains characterized by the maximum and minimum cellulolytic and xylanase activities.

*Keywords:* *Penicillium funiculosum*, endophytes, saprophytes, endo-, exoglucanase and xylanase activities.

1. Adejuwon AO, Oni AO, Ajayi AA, Olutiola PO. Cellulase activity in tomato fruits infected with *Penicillium funiculosum* Thom. Afr J Plant Sci. 2009;3(5):113-6.
2. de Almeida MN, Guimarães VM, Bischoff KM, Falkoski DL, Pereira OL, Gonçalves DS, de Rezende ST. Cellulases and hemicellulases from endophytic *Acremonium* species and its application on sugarcane bagasse hydrolysis. Appl Biochem Biotechnol. 2012;165(2):594-610.
3. Bilay VI, editor. [Methods of experimental mycology: reference guide]. Kiev: Nauk. dumka; 1982. Russian.
4. Burke RM., Cairney JWG. Carbohydrolase production by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* under solid-state fermentation conditions. Mycol Res. 1997;101(9):1135-9.
5. Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbionts. Ecology. 1988;69(1):2-9.
6. Chepchak TP, Olishevskaya SV, Kurchenko IN. [Cellulolytic activity of *Fennellia flavipes* and *Fusarium oxysporum* strains]. Mikrobiol Z. 2013;75(6):51-8. Russian.



7. Domsch KH, Gams W, Anderson T-H. Compendium of soil fungi. Second ed. Eching: IHW-Verlag; 2007.
8. Ghose TK. Measurement of cellulase activities. Pure & Appl Chem. 1987;59(2):257-68.
9. Gusakov AV. Alternatives to *Trichoderma reesei* in biofuel production. Trends Biotechnol. 2011;29(9):419-25.
10. Jovanovic I, Magnuson JK, Collart F, Robbertse B, Adney WS, Himmel ME, Baker S. Fungal glycoside hydrolases for saccharification of lignocellulose: outlook for new discoveries fueled by genomics and functional studies. Cellulose. 2009;16(4):687-97.
11. Khan AL, Lee IJ. Endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 secretes gibberellin that reprograms *Glycine max* L. growth during cooper stress. BMC Plant Biology. 2013;13:86. DOI: 10.1186/1471-2229-13-86.
12. Krings M, Taylor TN, Dotzler N. Fungal endophytes as a driving force in land plant evolution: evidence from the fossil record. In: Biocomplexity of plant-fungal interactions. Southworth D, editor. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2012. p. 5-27.
13. Kumaresan V, Suryanarayanan TS. Endophyte assemblages in young, mature and senescent of *Rhizophora apiculata*: evidence for the role of endophytes in mangrove litter degradation. Fungal Diversity. 2002;9:81-91.
14. Kurchenko IM. [Biodiversity, ecological and physiological peculiarities of endophytic micromycetes of sphagnum bog plants of Ukrainian Polissya]. Thesis for the degree of doctor of biological sciences by speciality 03.00.07 – microbiology. Kyiv, 2014. Ukrainian.
15. Liu G, Zhang L, Wei X, Zou G, Qin Y, Ma L, et al. Genomic and secretomic analyses reveal unique features of the lignocellulolytic enzyme system of *Penicillium decumbens*. PLoS ONE. 2013;8(2):e55185. DOI:10.1371/journal.pone.0055185. pmid:23383313.
16. Maeda RN, Barcelos CA, Santa Anna LM, Pereira N Jr. Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. J Biotechnol. 2013;163(1):38-44.
17. Marjamaa K, Toth K, Bromann PA, Szakacs G, Kruus K. Novel *Penicillium* cellulases for total hydrolysis of lignocellulosics. Enzyme Microb Technol. 2013;52(6-7):358-69.
18. Miller GI. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Anal Chem. 1959;31(3):P. 426-8.
19. Partida-Martínez LP, Heil M. The microbe-free plant: fact or artifact? Frontiers in Plant Science. 2011;100(2):1-16.
20. Peterson R, Nevalainen H. *Trichoderma reesei* RUT-C30 – thirty years of strain improvement. Microbiology. 2012;158(1):58-68.
21. Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. Proc Natl Acad Sci USA. 1994;91(25):11841-3.
22. Robl D, da Silva Delabona P, Montanari Mergel C, Rojas JD, dos Santos Costa P, Chapaval Pimentel I, et al. The capability of endophytic fungi for production of hemi-cellulases and related enzymes. BMC Biotechnol. 2013;13:94. DOI: 10.1186/1472-6750-13-94.
23. Rodriguez RJ, White JF, Jr, Arnold AE, Redman RS. Fungal endophytes: Diversity and functional roles. New Phytol. 2009;182(2):314-30.
24. Sorgatto M, Guimarães NCA, Zanoelo FF, Marques MR, Peixoto-Nogueira SC,

- Giannesi GG. Purification and characterization of an extracellular xylanase produced by the endophytic fungus, *Aspergillus terreus*, grown in submerged fermentation. *Afr J Biotechnol.* 2012;11(32):8076-84.
25. Strobel GA, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod.* 2004;67(2):257-68.
26. Syrchin SO, Kharkevich OS, Pavlychenko AK, Yurieva OM, Nakonechna LT, Nekleva YuS, Kurchenko IM. Extracellular cellulolytic complexes production by microscopic fungi. *Biotechnol Acta.* 2015;8(5):78-85.
27. Wipusaree N, Sihanonth P, Piapukiew J, Sangvanich P, Karnchanatat A. Purification and characterization of a xylanase from the endophytic fungus *Alternaria alternata* isolated from the Thai medicinal plant, *Croton oblongifolius* Roxb. *Afr J Microbiol Res.* 2011;5(31):5697-712.
28. Yurieva OM, Kurchenko IM, Syrchin SO, Kharkevych OS, Pavlychenko AK, Nakonechna LT. [Cellulolytic and xylanolytic enzyme complex of *Penicillium funiculosum* Thom]. Factors in experimental evolution of organisms. 2016. Ukrainian. (In press).
29. Zhdanova NN, Zakharchenko VA, Vasilevskaya AI, Shkolny AT, Kuchma ND, Artyshkova LV, et al. [The mycobiota of the Ukrainian Polissya: the consequences of the Chernobyl accident]. Kiev: Nauk. dumka, 2013. Russian.

Отримано 22.08.2016