

## ЦЕЛЮЛАЗНА АКТИВНІСТЬ *CERATOCYSTIS* SP. РІЗНИХ ТРОФІЧНИХ ГРУП

Проведено порівняльний аналіз целюлазної активності 36 штамів фітопатогенних та ендоефітних грибів *Ceratocystis* sp., досліджено швидкість їх лінійного росту на середовищі з карбоксиметилцелюлозою. Швидкість лінійного росту на середовищі з КМЦ фітопатогенних штамів *Ceratocystis* sp. була нижчою за таку ендоефітних. Серед досліджених штамів не виявлено кореляції між рівнями целюлазної активності та швидкістю їх лінійного росту. Переважна більшість штамів *Ceratocystis* sp. мали середню, але не високу целюлазну активність, у ендоефітних штамів вона варіювала більшою мірою. Целюлазна активність у досліджених грибів залежала від штаму. Не виявлено чіткої залежності целюлазної активності від терміну культивування грибів. У ендоефітів не спостерігали чіткої залежності рівня целюлазної активності від виду та органу рослини-хазяїна. Встановлено, що рівень целюлазної активності ендоефітних штамів *Ceratocystis* sp. був значно вищим, ніж у ендоефітних штамів *Fusarium roae*, та наближався до рівня активності цього ферменту у фітопатогенних фузаріїв. Таким чином, вивчені ендоефітні шами *Ceratocystis* sp. можна віднести до латентних паразитів, які за сприятливих для них умов здатні викликати захворювання рослини-хазяїна.

**Ключові слова:** гриби, *Ceratocystis*, целюлаза, фітопатогени, ендоефіти

Види роду *Ceratocystis* (syn. *Ophiostoma*) можуть викликати хвороби деревних культур, що виявляються за зміною кольору деревини та її руйнуванням. Види цього роду здатні уражувати як хвойні, так і листяні породи дерев і чагарників – клен, березу, тополь, липу та дуб [14]. Деградація та масове всихання дібров стали глобальним явищем і відмічені практично по всьому ареалу багатьох видів дубів в Європі (Чехія, Словачка, Польща, Болгарія, Угорщина), в Середній Азії та США [6]. В СРСР трахеомікозне в'янення дібров відмічалось із 1927 року з періодичністю 10–15 років, а особливо сильні всихання дібров проходили з періодичністю 25–30 років. Це захворювання рееструвалося в Воронежській, Ростовській областях, Поволжі, Північному Кавказі, Молдові, Азербайджані, Україні, Грузії та ін. [2, 6]. Проте на даний час не існує однозначної думки щодо ролі видів роду *Ceratocystis* в процесі ураження дубів та інших деревних порід. Ряд вітчизняних та зарубіжних дослідників вважають, що причиною масового всихання дібров є саме представники родів *Ceratocystis*, *Fusarium*, *Nectria*, *Phomopsis*, *Valsa*, *Verticillium* і деякі інші [20]. Але існує думка, що причиною захворювання дубів є засухи, внаслідок впливу яких рослини ослаблюються та легше уражуються грибними фітопатогенами. В деяких країнах Західної Європи не була підтверджена патологічна роль грибів роду *Ophiostoma* [20].

В 2004–2006 р. у співпраці з Поліським філіалом Українського науково-дослідного Інституту лісового господарства та агролісомеліорації (м. Житомир) ми досліджували мікобіоту дубів в Житомирській області у зв'язку з масовим поширенням всихання. Такі фітопатогенні види мікроскопічних грибів як *Alternaria alternata*, *Ceratocystis* sp. та *Trichothecium roseum* виділялись, в основному, з гілок та листя дубів. Частота зустрічальності грибів *Ceratocystis* sp. була високою і складала на гілках 65,6 %, на листі – 50,0 %. В той же час при дослідженні ендоефітної мікобіоти рослин сфагнових боліт у Рівненській області, що не мали ознак ураження, також домінували гриби роду *Ceratocystis* (частота зустрічальності до 75,6 %).

Раніше багатьма вченими проводились неодноразові спроби встановити роль целюлаз та інших гідролітичних ферментів грибів в патологічному процесі, проте до цього часу нема однозначної думки щодо цього питання [1, 12]. Тому метою даного дослідження було порівняльне вивчення ролі екстрацелюлярної целюлази в патологічному процесі фітопатогенних та ендоефітних грибів *Ceratocystis* sp.

**Матеріали і методи.** Об'єктами досліджень були 36 штамів *Ceratocystis* sp., які виділяли з гілок хворих дубів та з різних органів рослин сфагнових боліт Полісся України (табл. 1).

**Інокуляція та вирощування.** Культури досліджених грибів попередньо вирощували на картопляно-глюкозному агарі на чашках Петрі. Для посіву на чашки Петрі використовували

інокулум (3 x 3 мм) з краю (10 мм) колонії, яка активно росте. Інокульовані чашки Петрі заклеювали Parafilm (Швеція) для збереження вологості середовищ та інкубували при 26±2 °С протягом 3–21 діб.

Ферментативну активність визначали якісним методом, розробленим у лабораторії фізіології грибів Інституту ботаніки Регенсбурзького університету (ФРН) [16], який детально описаний нами у попередніх роботах [3, 4].

Про **целюлазну активність** судили за величиною зони, яку визначали як різницю між середнім радіусом зони просвітлення середовища і середнім радіусом колонії гриба, також враховували інтенсивність просвітлення середовища. За величиною зони просвітлення середовища, а, відповідно, і активність целюлази, була нами умовно поділена на три групи: слабка – зона ≥ 2 мм; середня – 2,1–6,9 мм; сильна – ≤ 7 мм. Інтенсивність просвітлення зони виражали в балах за 3-бальною шкалою: 0 – реакція відсутня; 1 бал – слідова реакція; 2 бали – чітка реакція; 3 бали – сильна реакція. Зони активності целюлази фотографували цифровою камерою Nikon MH-60 (Японія).

Швидкість лінійного росту визначали на агаризованому середовищі з карбоксиметилцелюлозою (КМЦ). Двічі на добу (через 6 та 18 год) вимірювали діаметр грибної колонії в трьох напрямках. На основі отриманих даних визначали радіальну швидкість росту ( $K_r$ ) за формулою [5]:

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

де  $R_o$  – радіус колонії в момент часу  $t_o$ ;  $R_t$  – радіус колонії в час  $t$ .

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми Excel.

**Таблиця 1**

**Досліджені штами грибів роду *Ceratocystis* sp.**

№ п/п	Номер штаму	Рік виділення штаму	Джерело виділення	Область
1	2	3	4	5
<b>Ендоефітні штами</b>				
1	4/1-8	2004	Корінь журавлини	Рівненська обл.
2	4/2-1	2004	Верхівка сфагнума	Рівненська обл.
3	4/2-4	2004	Лист сфагнума	Рівненська обл.
4	17/30-1	2002	Шишка сосни звичайної	Житомирська обл.
5	36/2-2	2004	Лист журавлини	Рівненська обл.
6	36/3-3	2004	Стебло сфагнума	Рівненська обл.
7	40/1-7	2004	Корінь журавлини	Рівненська обл.
8	40/1-8	2004	Стебло журавлини	Рівненська обл.
9	40/1-9	2004	Лист журавлини	Рівненська обл.
10	40/2-4	2004	Верхівка сфагнума	Рівненська обл.
11	45/3-2	2004	Стебло сфагнума	Рівненська обл.
12	45/3-3	2004	Стебло сфагнума	Рівненська обл.
13	46/1-5	2004	Стебло журавлини	Рівненська обл.
14	46/2-7	2004	Верхівка сфагнума	Рівненська обл.
15	48/1-3	2004	Стебло вовчого тіла болотного	Рівненська обл.
16	48/2-3	2004	Лист сфагнума	Рівненська обл.
17	50/2-1-2	2004	Верхівка сфагнума	Рівненська обл.
18	50/2-3	2004	Верхівка сфагнума	Рівненська обл.
19	56/2-3	2004	Стебло сфагнума	Рівненська обл.
20	62/3-5	2004	Верхівка зозулиного льону	Рівненська обл.
21	62/2-1	2004	Лист сфагнума	Рівненська обл.
22	63/2-1	2004	Корінь журавлини	Рівненська обл.
23	63/2-2	2004	Корінь журавлини	Рівненська обл.
24	63/3-2	2004	Стебло сфагнума	Рівненська обл.
25	63/2-3	2004	Лист журавлини	Рівненська обл.
<b>Фітопатогенні штами</b>				
26	26/1	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
27	26/3	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
28	27/5	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
29	28/2	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
30	108/4	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
31	109/1	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
32	115/3	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
33	116/6	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
34	119/1	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
35	120/3	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.
36	121/1	2006	Гілка дуба	Житомирська обл.

**Результати та їх обговорення.** Нами досліджена целюлазна активність та швидкість лінійного росту у 36 штамів *Ceratocystis* sp., які відрізнялись за способами живлення (табл. 1, 2, 3). Швидкість лінійного росту у ендоефітних штамів *Ceratocystis* sp. на середовищах з КМЦ складала 0,077–0,330 мм/год. Штами, виділені з гілок дуба, росли значно повільніше. Так, на середовищі з КМЦ швидкість їх лінійного росту складала 0,032 – 0,091 мм/год, що в 2,4–3,6 рази нижче за відповідні показники ендоефітних штамів (табл. 2).

Таблиця 2

**Швидкість лінійного росту ( $K_L$ , мм/год) ендоефітних та фітопатогенних штамів *Ceratocystis* sp. на середовищі з КМЦ**

№ п/п	Номер штаму	$K_L$ на середовищі з КМЦ
<i>Ендоефітні штами</i>		
1	17/30-1	0,264 ± 0,003
2	4/1-8	<b>0,330 ± 0,013</b>
3	36/2-2	0,261 ± 0,007
4	40/1-7	0,201 ± 0,006
5	40/1-8	0,213 ± 0,006
6	40/1-9	0,212 ± 0,008
7	63/2-3	0,176 ± 0,002
8	46/1-5	0,275 ± 0,007
9	63/2-1	0,174 ± 0,006
10	63/2-2	0,143 ± 0,004
11	4/2-1	0,227 ± 0,007
12	4/2-4	0,145 ± 0,003
13	36/3-3	0,290 ± 0,003
14	40/2-4	<b>0,077 ± 0,004</b>
15	45/3-2	0,154 ± 0,016
16	45/3-3	0,287 ± 0,002
17	46/2-7	0,299 ± 0,002
18	48/2-3	0,303 ± 0,003
19	50/2-1-2	0,139 ± 0,004
20	50/2-3	0,306 ± 0,002
21	56/2-3	0,107 ± 0,002
22	62/2-1	0,270 ± 0,005
23	63/3-2	0,269 ± 0,009
24	62/3-5	0,314 ± 0,006
25	48/1-3	0,290 ± 0,002
<i>Фітопатогенні штами</i>		
26	26/1	0,061 ± 0,013
27	26/3	0,059 ± 0,012
28	27/5	0,076 ± 0,010
29	28/2	0,068 ± 0,014
30	108/4	<b>0,032 ± 0,014</b>
31	109/1	0,066 ± 0,009
32	115/3	0,081 ± 0,008
33	116/6	0,082 ± 0,010
34	119/1	0,082 ± 0,010
35	120/3	<b>0,091 ± 0,009</b>
36	121/1	0,066 ± 0,005

**Примітка:** жирним шрифтом позначені мінімальні та максимальні значення швидкості лінійного росту в кожній трофічній групі.

Целюлазна активність ендоефітних штамів *Ceratocystis* sp. мала ширші межі варіювання, ніж у фітопатогенних (табл. 3). Не виявили зон просвітлення середовища навколо колоній у 12 % ендоефітних штамів та майже половина з них мала низький рівень активності (48 %). Середній рівень целюлазної активності проявили 32 % досліджених ендоефітних штамів і лише 8 % – високий рівень активності. В той же час переважна більшість фітопатогенних штамів (91 %) характеризувалась середнім рівнем целюлазної активності (табл. 3).

Виявлено, що для штамів *Ceratocystis* sp., які були виділені з уражених гілок дуба звичайного, целюлазна активність підвищувалась із збільшенням терміну культивування (табл. 3). Залежність целюлазної активності від терміну культивування ми спостерігали також і у грибів роду *Fusarium* [3]. Всі фітопатогенні штами *Ceratocystis* sp. (10 штамів – 26/3, 27/5, 28/2, 108/4, 109/1, 115/3, 116/6, 119/1, 120/3 та 121/1) характеризувались середньою целюлазною активністю. Серед цієї групи тільки один штам (26/1) виявив слабку реакцію на наявність целюлази (ширина зони просвітлення середовища складала 2,0 мм).

Таблиця 3

Динаміка целюлазної активності грибів *Ceratocystis* sp.,  
ізольованих з різних місцезаселень

№ п/п	Штам	Джерело	Зона активності целюлази, мм		
			3 доба	5 доба	7 доба
1	17/30-1	Шишка сосни	0	0	0
2	4/1-8	Корінь журавлини	0	0	0
3	36/2-2	Лист журавлини	1,0	2,0	0
4	40/1-7	Корінь журавлини	1,0	2,0	0
5	40/1-8	Стебло журавлини	1,0	1,2	3,7
6	40/1-9	Лист журавлини	0	2,0	3,2
7	63/2-3	Лист журавлини	2,2	2,8	1,5
8	46/1-5	Стебло журавлини	0	1,0	0
9	63/2-1	Корінь журавлини	1,2	1,5	2,5
10	63/2-2	Корінь журавлини	0,3	3,5	4,0
11	4/2-1	Верхівка сфагнума	1,0	1,5	0,2
12	4/2-4	Лист сфагнума	0	0,8	0
13	36/3-3	Стебло сфагнума	1,3	0,5	0
14	40/2-4	Верхівка сфагнума	2,5	5,0	9,0
15	45/3-2	Стебло сфагнума	0	1,2	2,3
16	45/3-3	Стебло сфагнума	1,3	1,2	0
17	46/2-7	Верхівка сфагнума	1,3	0	0
18	48/2-3	Лист сфагнума	0	0	0
19	50/2-1-2	Верхівка сфагнума	7,0	0	0
20	50/2-3	Верхівка сфагнума	1,8	2,7	0
21	56/2-3	Стебло сфагнума	4,7	6,3	5,8
22	62/2-1	Лист сфагнума	0,7	1,7	0
23	63/3-2	Стебло сфагнума	0	0,8	1,5
24	62/3-5	Верхівка зозулиного льону	0	1,4	0
25	48/1-3	Стебло вовчого тіла болотного	2,3	1,7	0
26	26/1	Гілка дуба	0	0	2,0
27	26/3	Гілка дуба	0,5	3,3	5,2
28	27/5	Гілка дуба	0,7	3,5	6,0
29	28/2	Гілка дуба	0,5	3,7	5,5
30	108/4	Гілка дуба	0	0	4,8
31	109/1	Гілка дуба	0	3,7	5,2
32	115/3	Гілка дуба	1,2	4,7	5,3
33	116/6	Гілка дуба	0	3,3	5,2
34	119/1	Гілка дуба	1,0	3,2	4,2
35	120/3	Гілка дуба	0,8	3,3	4,5
36	121/1	Гілка дуба	0	0,2	3,3

**Примітка:** курсив – інтенсивність реакції 1 бал;  
звичайний шрифт – 2 бали;  
жирний шрифт – 3 бали

В той же час у досліджених ендоефітних штамів *Ceratocystis* sp. не виявлено чіткої залежності між терміном культивування та активністю целюлази. Динаміка та інтенсивність прояву целюлазної активності у ендоефітних *Ceratocystis* sp. варіювала залежно від штаму і не залежала від виду та органу рослини, з якої ізольовано штам (табл. 4). Так, серед штамів, які виділені з різних органів журавлини, один характеризувався відсутністю активності, один – слабкою і сім – середньою активністю. У більшості досліджених штамів, ізольованих із сфагнума, виявлена целюлазна активність: для семи штамів була характерна слабка реакція на наявність цього ферменту, три штами виявили середню, два – сильну, у одного штаму целюлазна активність не виявлена взагалі.

Загалом активність целюлази у штамів *Ceratocystis* sp. була рівною або перевищувала активність фітопатогенних штамів *Alternaria* та *Fusarium* [3, 4].

Серед вивчених ендоефітних штамів *Ceratocystis* sp. середня і висока активність целюлази була виявлена у штамів 36/2-2 (джерело виділення – лист журавлини), 40/1-7, 63/2-1, 63/2-2 (корінь журавлини), 36/3-3 (стебло сфагнума), 40/2-4, 50/2-3 (верхівка сфагнума). Штам 50/2-1-2, ізольований з верхівки сфагнума, характеризувався найвищою серед штамів-ендоефітів реакцією на наявність целюлази і високою її інтенсивністю. В той же час, штами 4/2-1 та 46/2-7, що також були ізольовані з верхівки сфагнума, виявили слабку активність цього ферменту або взагалі її не мали. Тільки у двох штамів (виділені з шишки та листа сфагнума) целюлазна активність взагалі була відсутня.

У штамів *Ceratocystis* sp., виділених з гілок дуба, відмічена середня целюлазна активність, за виключенням одного штаму (табл. 3). Причому із збільшенням терміну культивування її інтенсивність підвищувалась у переважній кількості випадків. Проте у штамів 26/1 та 108/4 целюлазна активність виявлена тільки на 7-му добу культивування.

Інтенсивність прояву целюлазної активності у досліджених мікроміцетів варіювала залежно від штаму гриба (табл. 3). Для ендоефітних штамів не помічено чіткої залежності між наявністю цього ферменту та видом і органом судинної рослини, з якої він був ізольований (табл. 4).

Відомими продуцентами ферментів целюлазного комплексу є переважно представники родів *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium* та *Fusarium* [1, 8, 9, 11, 13, 18, 19 та інші]. Дослідження ферментів целюлазного комплексу пов'язане з вивченням здатності різних груп грибів до їх синтезу, а також виділенням, очисткою цих ферментів та вивченням їх властивостей.

Ферменти целюлазного комплексу ендоефітних грибів досліджені менше. Встановлено, що гриб *Hymenoscyphus ericae*, який є ендоефітом ерикоїдних рослин, здатний продукувати повний целюлозолітичний комплекс ферментів (целюлазу, целобіогідролазу та  $\beta$ -D-глюкозидазу) [10]. Для встановлення екологічної ролі ендоефітів у *H. ericae* досліджений широкий спектр гідролітичних ферментів (целюлази, геміцелюлази, пектинази) та поліфенолоксидази і вуглеводоксидази. Показано, що целюлозолітичний потенціал *H. ericae* за своєю активністю можна порівняти навіть з таким, характерним для представників роду *Trichoderma* [1, 11].

Більшість патогенів рослин продукують ферменти, які руйнують не тільки розчинні целюлозні субстрати, але й гідролізують більший комплекс форм целюлози. З багатьох грибів був ізольований комплекс таких ферментів, який виступає інвазивним агентом та сприяє проникненню патогена в тканини рослини-хазяїна, а також дозволяє фітопатогену використовувати тканини рослин в якості джерел вуглецю [20].

Залежність целюлазної активності грибів *Ceratocystis* sp. від виду і органу рослини-хазяїна

№ п/п	Рослина-хазяїн	Орган	Зона активності целюлази, мм			
			відсутня	слабка $\leq 2,0$	середня 2,1 – 6,9	сильна $\geq 7,0$
1	Журавлина	Корінь	1	–	3	–
2	Журавлина	Стебло	–	1	1	–
3	Журавлина	Лист	–	1	2	–
4	Сфагнум	Верхівка	–	2	1	2
5	Сфагнум	Стебло	–	3	2	–
6	Сфагнум	Лист	1	2	–	–
7	Зозулин льон	Верхівка	–	1	–	–
8	Вовче тіло болотне	Стебло	–	–	1	–
9	Сосна звичайна	Шишка	1	–	–	–
10	Дуб	Гілка	–	1	10	–
	<b>Всього</b>	<b>36</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>20</b>	<b>2</b>

На даний час найбільш загрозливим більшість вітчизняних та зарубіжних дослідників вважають судинний мікоз, збудниками якого є гриби роду *Ceratocystis* (syn. *Ophiostoma*) з їх конідиальними стадіями, які відносяться до більш, ніж 15 родів мітоспорових грибів (*Chalara*, *Gabarnaudia*, *Graphilbum*, *Graphiocladiella*, *Graphium*, *Hyalodendron*, *Hyalopesotum*, *Hyalorhinocladiella*, *Leptographium*, *Pachnodium*, *Pesotum*, *Phialocephala*, *Phialographium*, *Sporotrix*, *Verticicladiella* та ін.), а також гриби роду *Fusarium*, *Nectria* і деякі інші [21]. В той же час існує думка, що захворювання дуба, викликані судинними патогенами, є вторинним явищем, а основною причиною всихання є засухи. Спроба встановити зв'язок усихання дуба з грибами роду *Ophiostoma* в деяких країнах Західної Європи не дала чітких результатів – гриби виділялись не досить часто і не регулярно. Їх патологічна роль не була встановлена [21].

З фітопатогенного гриба *Ceratocystis paradoxa*, який розвивався на сухих базальних коренях олійної пальми, було виділено 8 компонентів целюлазного комплексу цього штаму. Один із компонентів з високою молекулярною масою проявляв активність, характерну для  $C_1$ -целюлази, при цьому в комбінації з іншими компонентами при деградації целюлозного субстрату спостерігався синергічний ефект – фіксували значно більші кількості глюкози, ніж у випадку дії окремого компонента [20].

При дослідженні комплексу гідролітичних ферментів *Ceratocystis paradoxa*, який виділяли з плодів ананасу, в якості субстрату для визначення целюлозолітичної активності використовували КМЦ [7]. Оптимум активності целюлази спостерігали при pH 7,0 та температурі 30 °C. При цьому з плодів, інфікованих *C. paradoxa*, виділяли значно більшу кількість редуруючих цукрів, ніж із здорових.

Мікроскопічні гриби з коренів нігерійських бананів (*Colletotrichum musae*, *Botryodiplodia theobromae*, *Ceratocystis paradoxa*, *Fusarium solani*, *F. roseum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *Verticillium theobromae*) проявляли високу активність протеолітичних та гідролітичних ферментів, в тому числі целюлази, амілази та пектиностерази [17].

При дослідженні целюлозолітичної активності чотирьох видів грибів *Aureobasidium pullulans*, *Sclerophoma pityophila*, *Ceratocystis huntii* та *Ceratocystis ips*, які викликають плямистість деревини, до поживного середовища у ролі субстратів добавляли целюлозу, карбоксиметилцелюлозу та целобіозу [20]. Одержані результати показали, що досліджені гриби не здатні проводити повний гідроліз целюлози, проте в їх целюлазному комплексі присутні  $\beta$ -1,4-ендоглюканаза (карбоксиметилцелюлаза) та  $\beta$ -глюкозидаза (целобіаза), саме за допомогою яких вивчені гриби здатні проникати в клітини деревини.

Проте результатів досліджень целюлаз штамів *Ceratocystis* sp., які належать до різних трофічних груп, в літературних джерелах відсутня. Нами проведено аналіз целюлазної активності 36 штамів фітопатогенних та ендofітних грибів *Ceratocystis* sp.

Швидкість лінійного росту на середовищі з КМЦ фітопатогенних штамів *Ceratocystis* sp. була нижчою за таку ендofітних у 2,4–3,6 рази. Серед досліджених штамів не виявлено за-

лежності між рівнями целюлазної активності та швидкістю їх лінійного росту. Переважна більшість штамів *Ceratocystis* sp. мали середню целюлазну активність, у ендofітних штамів вона варіювала більшою мірою. Целюлазна активність у досліджених грибів залежала від штаму. Не виявлено чіткої залежності целюлазної активності від терміну культивування. У ендofітів не спостерігали чіткої залежності рівня целюлазної активності від виду та органу рослини-хазяїна. Встановлено, що рівень целюлазної активності ендofітних штамів *Ceratocystis* sp. був значно вищим, ніж у ендofітних грибів *Fusarium poae*, наближався до рівня активності цього ферменту у фітопатогенних фузаріїв [3, 4]. Вивчені ендofітні штами *Ceratocystis* sp. можна віднести до латентних паразитів, які за сприятливих для них умов здатні викликати захворювання рослини-хазяїна. Очевидно у фітопатогенних штамів *Ceratocystis* sp. целюлазна активність не відіграє суттєвої ролі в патологічному процесі, оскільки у них не виявлений високий рівень активності цього ферменту. Одержані нами дані дають підставу підтримати думку інших авторів про те, що целюлаза не є тим ферментом, який обумовлює фітопатогенні властивості того чи іншого гриба [1]. Виходячи з наших результатів, можемо припустити, що ураження гілок дубів грибами роду *Ceratocystis*, що спостерігалось нами, не є основною причиною їх масового всихання, а відбувається внаслідок ослаблення досліджених дубів іншими факторами, зокрема посухами та антропогенним впливом [6].

УДК 582.288 : 577.151

*И.Н. Курченко, Е.В. Соколова, Е.М. Юрьева, Н.Н. Жданова*

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

## **ЦЕЛЛЮЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ *CERATOCYSTIS* SP. РАЗНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП**

### **Резюме**

Проведен сравнительный анализ целлюлазной активности 36 штаммов фитопатогенных и эндofитных грибов *Ceratocystis* sp., изучена скорость их линейного роста на среде с карбоксиметилцеллюлозой. Скорость линейного роста на среде с КМЦ фитопатогенных штаммов *Ceratocystis* sp. была ниже, чем у эндofитных. Среди изученных штаммов не выявлено корреляции между уровнями целлюлазной активности и скоростью их линейного роста. Преобладающее большинство штаммов *Ceratocystis* sp. имели среднюю, но не высокую целлюлазную активность, у эндofитных штаммов она варьировала в большей степени. Целлюлазная активность у исследованных грибов зависела от штамма. Не выявлено четкой зависимости целлюлазной активности от сроков культивирования грибов. У эндofитов не наблюдали четкой зависимости уровня целлюлазной активности от вида и органа растения-хозяина. Установлено, что уровень целлюлазной активности эндofитных штаммов *Ceratocystis* sp. был значительно выше, чем у эндofитных грибов *Fusarium poae* и приближался к уровню этого фермента у фитопатогенных фузариев. Таким образом, изученные эндofитные штаммы *Ceratocystis* sp. можно отнести к латентным паразитам, которые при благоприятных для них условиях могут вызывать заболевания растения-хозяина.

*Ключевые слова:* грибы, *Ceratocystis*, целлюлаза, фитопатогены, эндofиты.

*I.M. Kurchenko, O.V. Sokolova, O.M. Yurieva, N.M. Zhdanova*

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

## **CELLULASE ACTIVITY OF *CERATOCYSTIS* SP. OF DIFFERENT TROPHIC GROUPS**

### **S u m m a r y**

A comparative analysis of cellulase activity of 36 fungal strains of phytopathogenic and endofytic *Ceratocystis* sp. was conducted. The rate of their linear growth on the media with carboxymethylcellulose was studied. It was shown that the rate of linear growth of phytopathogenic strains on the media with carboxymethylcellulose was lower than that in endofytic ones. There was no correlation between the levels of cellulase activity of studied strains and rates of their linear growth. The majority of *Ceratocystis* sp. strains had middle but not high cellulase activity, cellulase activity varied in the group of endofytic strains more than in the phytopathogenic one. The differences in cellulase activity were observed on the strain level. No distinct dependence of cellulase activity on different growth terms of fungi was demonstrated. The distinct dependence of cellulase activity level of endofytes on the species and organs of host plant was not observed. The cellulase activity level of endofytic strains *Ceratocystis* sp. was lower than in endofytic *Fusarium poae* strains and similar to it in phytopathogenic *Fusarium* strains. Consequently the investigated endofytic *Ceratocystis* sp.

strains can be classified as latent pathogens, which were able to cause the diseases of host plants in favorable for them conditions.

The paper is presented in Ukrainian.

**Key words:** fungi, *Ceratocystis*, cellulase, phytopathogens, endophytes.

**The author's address:** I. M. Kurchenko, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, the National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Билай В.И., Билай Т.И., Мусич Е.Г. Трансформация целлюлозы грибами. – Киев: Наук. думка, 1982. – 296 с.
2. Гусейнов Э.С. Сосудистое усыхание дуба в Азербайджане. I // Микол. и фитопатол. – 1984. – **18**, № 2. – С. 144–149.
3. Курченко І.М., Соколова О.В., Жданова Н.М., Яринчин А.М., Йовенко О.М. Порівняльне вивчення целюлазної та ксиланазної активностей у фітопатогенних та ендofітних штамів грибів *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler // Мікробіол. журн. – 2008. – **70**, № 4. – С. 25–30.
4. Курченко І.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.
5. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – Москва: Мир, 1978. – 331 с.
6. Селочник Н.Н. Трахеомикоз дуба // Микол. и фитопатол. – 1998. – **32**, № 4. – С. 63–74.
7. Adisa V.A. Hydrolytic enzymes detected in the exudates of *Ceratocystis paradoxa* infected pineapple fruit // J. of Basic Microbiology. – 1987. – **27**, N 8. – P. 411 – 418.
8. Ali S., Sayed A. Regulation of the cellulose biosynthesis in *Aspergillus terreus* // World J. of Microbiology and Biotechnology. – 1992. – **8**, N 2. – P. 73 – 75.
9. Botella C., de Ory I., Webb C., Cantero D., Blandino A. Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamori* on grape pomace // Biochem. Engineering J. – 2005. – **26**, N 2 - 3. – P. 100 – 106.
10. Burke R.M., Cairney J.W.G. Carbohydrolase production by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* under solid-state fermentation conditions // Mycol. Res. – 1997. – **101**, N 9. – P. 1135 – 1139.
11. 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.
12. Dori S., Solel Z., Barash I. Cell-wall-degrading enzymes associated with take-all disease of wheat: 14th Congr. Isr. Phytopatol. Soc., Bet Dagan., Febr. 15 – 16, 1993 // Phytoparasitica. – 1993. – **21**, N 2. – С. 143.
13. Druzhinina I.S., Schmolli M., Seiboth B., and Kubicek C.P. Global carbon utilization profiles of wild-type, mutant, and transformant strains of *Hypocrea jecorina* // Appl. Envir. Microbiol. – 2006. – **72**, N 3. – P. 2126 – 2133.
14. Griffin H. D. The genus *Ceratocystis* in Ontario // Can. J. Bot. – 1968. – **46**, N 5. – P. 89 – 618.
15. Matsumoto K., Endo Ya., Tamiya N., Kano M., Miyauchi K., Abe J. Purification and properties of cellulase of *Fusarium moniliforme* // J. Biochem. – 1974. – **76**, N 3. – P. 563 – 572.
16. Molitoris H.P., Schaumann K. Physiology of marine fungi. A screening program for marine fungi // The biology of marine fungi / Ed. by Moss S.T. – Cambridge: Cambridge University Press, 1986. – P. 35 – 47.
17. Ogundero V.W. Crown rot fungi of Nigerian bananas cv. Robusta and the effect of benomyl on their exoenzymes // J. Basic Microbiol. – 1987. – **27**, N 1. – P. 43 – 47.
18. Olutiola P.O. Cellulolytic enzymes in culture filtrates of *Rhizoctonia lamellifera* // J. Gen. Microbiol. – 1976a. – **97**, N 2. – P. 251 – 256.
19. Olutiola P.O. A cellulase complex in culture filtrates of *Penicillium citrinum* // Can. J. Microbiol. – 1976. – **22**, N 8. – P. 1153 – 1156.
20. Olutiola P.O. Cellulase enzymes in culture filtrates of *Ceratocystis paradoxa* // Mycologia. – 1976. – **68**, N 5. – P. 1083 – 1092.
21. Sanchez M.E., De Troya M.T., Navarrete A. Capacidad celulolitica de los hongos del azulado de la madera (=Analysis of the cellulolytic activity of blue-stain of wood) // Revista iberoamericana de micologia. – 1995. – **12**, N 2. – P. 36 – 37.

Отримано 12.03.2008