

PERSPECTIVES OF USING MICROBIAL SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES IN AGRICULTURE AND MEDICINE

I. Savenko

National University of Food Technologies

Key words:

Bacterioses
Antibiotic resistance
Microbial surface-active substances
Antimicrobial properties

Article history:

Received 20.09.2014
Received in revised form
15.10.2014
Accepted 26.11.2014

Corresponding author:

I. Savenko
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

The current literature data about the generally accepted methods dealing with bacterioses of crops (agronomic, physical and mechanical methods, the use of pesticides and antibiotics) and their disadvantages have been analyzed in the article. One of the possible solutions of the abovementioned problems is the use of environmentally safe microbial surface-active substances (SAS) having antimicrobial and antiadhesive properties due to which they can be used in agriculture to control the pathogenic microorganisms quantity and in medical industry to prevent the emergence of antibiotic resistant pathogens diseases.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ І МЕДИЦИНІ

I.V. Savenko

Національний університет харчових технологій

У статті наведено сучасні літературні дані про загальноприйняті методи боротьби з бактеріозами сільськогосподарських рослин (агротехнічні, фізико-механічні методи, застосування пестицидів і антибіотиків). Одним із можливих варіантів вирішення наведених вище проблем є використання екологічно безпечних мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР), яким притаманні антимікробні й антиадгезивні властивості, завдяки чому вони можуть бути застосовані у сільському господарстві для контролю чисельності фітопатогенних мікроорганізмів і в медицині для унеможливлення виникнення антибіотикорезистентних збудників захворювань.

Ключові слова: бактеріози, антибіотикорезистентність, мікробні поверхнево-активні речовини, антимікробні властивості.

Упродовж останніх 50 років значних масштабів набуло використання антибіотиків у сільському господарстві, медицині, ветеринарії. Застосування

цих препаратів допомогло більшості аграріям України і світу у боротьбі з грибними захворюваннями сільськогосподарських рослин. Завдяки антибіотикам у медичній практиці знизилась кількість післяопераційних ускладнень, захворюваність і смертність від інфекцій. Але, крім позитивного результату, значним негативним наслідком широкого застосування антибіотичних речовин у різних сферах життя є виникнення резистентних форма мікроорганізмів [1].

Важливим аспектом догляду за посівами сільськогосподарських культур є застосування пестицидів, які, крім захисної дії, виконують регулюючу функцію. На жаль, наслідком використання речовин хімічного походження є забруднення ґрунту, підземних вод.

На сьогодні особливу увагу науковців як антимікробні агенти привертають поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження завдяки екологічній безпечності, стабільності у широкому діапазоні рН і температур порівняно із синтетичними аналогами [2].

Мета дослідження. Узагальнення сучасних літературних даних про загальноприйняті методи боротьби з бактеріозами сільськогосподарських рослин, аналіз використання мікробних ПАР для контролю чисельності фітопатогенних мікроорганізмів, а також у медицині для унеможливлення виникнення антибіотикорезистентних збудників захворювань.

Виклад основних результатів дослідження. Гострою проблемою аграріїв України в останні роки стало поширення маловідомих бактеріозів, які донедавна знищували 2—5 % урожаю [3]. Відсоток уражених цими хворобами рослин значно зростає з кожним роком, що ставить під загрозу національний аграрний сектор економіки в сучасних умовах. Одна з причин несвочасного виявлення бактеріозів — схожість симптоматики цих захворювань із нестачею поживних елементів.

Загальноприйнятими методами для боротьби із збудниками бактеріозів рослин є агротехнічні, фізико-механічні, хімічний, а також застосування антибіотиків.

Агротехнічний метод передбачає використання стійких сортів, обробку ґрунту, очищення і сортування насіння, удобрення. На жаль, за практичного використання техніки для обробки площ відбувається загортання післязбиральних решток рослин, які є джерелом збереження і поширення навесні бактеріальних хвороб [4].

Фізико-механічний метод передбачає очищення насіння на зерноочисних машинах і його подальше термічне знезараження. Негативні наслідки цього методу очевидні: трудомісткий, деякі операції проводяться вручну, загибель не лише фітопатогенних мікроорганізмів, а й корисної мікрофлори зерна [4].

Основою хімічного методу є використання пестицидів, що активно пригнічують або порушують розвиток фітопатогенів. Ці речовини є одним із найнебезпечніших факторів забруднення навколишнього середовища та збільшення кількості хворих на рак людей [4].

Використання антибіотиків для боротьби з бактеріозами рослин у сільському господарстві спричиняє виникнення резистентних до них форм бактерій. З точки зору біобезпеки, антибіотики, яким притаманна біологічна активність, потенційно небезпечні не лише для шкідливих мікроорганізмів, а й для всієї живої природи і здоров'я людини, враховуючи їх нерегламентоване використання в сільському господарстві [5].

Враховуючи наведені вище ознаки, можна зробити висновок про необхідність використання альтернативних засобів захисту сільськогосподарських рослин від бактеріозів.

Біологічний метод захисту рослин має величезні перспективи застосування і не має альтернатив в організації екологічного землеробства. Прикладом є біологічний препарат триходермін, що виготовляється на основі біомаси грибів роду *Trichoderma*, які пригнічують розвиток фітопатогенів шляхом конкуренції за субстрат, виділення антибіотиків (глітоксін, триходермін). Для боротьби з бактеріозами рослин на основі живих клітин різосферних бактерій *Pseudomonas fluorescens* створено біопрепарат різоплан. З цією ж метою, використовуючи два штами *P. fluorescens* (BR-13K та EP-01N), розроблено препарат гаупсин [6].

У [7] досліджено антимікробну активність штамів роду *Bacillus* щодо фітопатогенів родів *Burkholderia*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Ralstonia*. Встановлено можливість *Bacillus sp.* VPS50.2 до синтезу бактеріоцинів. Масспектрометричним аналізом доведено здатність до утворення штамом SS12.9 поверхнево-активних ігуринів, яким теж притаманна антимікробна дія щодо *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*. Ігурин і сурфактин (поверхнево-активні ліпопептиди штаму *Bacillus subtilis* OE-1R) у концентрації 5 мг/мл проявляли антимікробну дію щодо *Xanthomonas campestris* і *Xanthomonas axonopodis* [7].

У [8] показано можливість штаму *Bacillus natto* ТК-1 продукувати ліпопептиди, яким притаманна антибактеріальна активність проти збудників бактеріальних захворювань томатів (*Pseudomonas lycopersicum*, *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*). Встановлено антимікробну дію ПАР *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 і *Nocardia vacciniі* ІМВ В-7405 щодо фітопатогенних бактерій (*Pseudomonas syringae* 9086, *Pseudomonas corrugate* 9070, *Xanthomonas translucens* 9127).

У [9] показано, що через 2 години обробки відповідними препаратами ПАР (0,15—0,4 мг/мл) виживання патогенних бактерій (10^5 — 10^7 в мл) становило 0—33 %. За наявності ПАР штаму ІМВ В-7405 (0,085—0,85 мг/мл) кількість клітин досліджуваних тест-культур знизилася на 95—100 %.

Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків стала однією з основних проблем медичної практики. Так, щороку у США більш як у 2 млн пацієнтів виявляють захворювання, спричинені стійкими штамми бактерій і, як наслідок, 23 000 летальних випадків [10].

Особливу увагу науковців привертають антибіотикорезистентні штами грамнегативних патогенів, у яких стійкість виникає абсолютно до всіх препаратів, що використовуються для лікування відповідних інфекційних хвороб. Схожа ситуація спостерігається і для деяких грампозитивних бактерій (*Staphylococcus* та *Enterococcus*). Наприклад, дослідження бактерій родів *Staphylococcus* і *Enterococcus*, виділених із тканин хворих, показали, що саме ген *cfr* надає стійкості до феніколів, лінкозамідів, оксазолідінонів, які використовувались для лікування [11].

У зв'язку із значними темпами зростання кількості антибіотикорезистентних штамів актуальним є пошук альтернативних речовин, яким притаманна антимікробна дія. Такими сполуками можуть бути мікробні ПАР, які здатні

проявляти фунгіцидну та бактерицидну дію щодо мікроорганізмів, які набули стійкості до сучасних антибіотичних препаратів. Завдяки таким властивостям мікробні ПАР є перспективними для використання в медицині [5].

У [12] встановлено, що поверхнево-активні ліпопептиди, синтезовані бактеріями *Staphylococcus sp.* 1E на середовищі з оливковою олією, проявляли антимікробну дію щодо *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *B. subtilis*. Методом дифузії в агар культуральної рідини визначено діаметр затримки росту досліджуваних мікроорганізмів, який становив 12, 16, 10 та 13 мм відповідно.

У [13] встановлено антимікробну активність ліпо- і глікопептидів грамнегативних бактерій *Sphingobacterium detergens sp.* 6.2S щодо представників родів *Pseudomonas* і *Staphylococcus*. Антимікробну дію ПАР *S. detergens sp.* 6.2 S (1,2 г/л) визначали методом дифузії в агар. При цьому спостерігалось інгібування росту мікроорганізмів, діаметр зони затримки росту тест-культур становив 9—12 мм [13].

У [14] показано, що *B. subtilis* CWBI-B1567 і *B. mojavensis* CWBI-B1568, завдяки синтезу поверхнево-активних сурфактину та ітурину, здатні проявляти антифунгальну дію щодо дріжджів *Candida albicans*. За використання дисків, оброблених супернатантами штамів CWBI-B1567 і CWBI-B1568, зона затримки росту тест-культури становила 23 і 19 мм відповідно. Встановлено, що штам CWBI-B1568 синтезує ще й фенгіцин (протигрибковий ліпопептид) [14].

Останніми роками дослідники активно шукають препарати для боротьби із патогенними бактеріями *Haemophilus parasuis*, які здатні викликати хворобу Глассера у свиней, а при споживанні м'яса людиною — бактеріальні пневмонії. Так, у [15] науковці вивчали антагоністичну активність антимікробних речовин, що продукуються бактеріями роду *Bacillus* щодо *H. parasuis*. Повне пригнічення росту *H. parasuis* спостерігалось за дії пептидів (20 мкг/мл) штаму *B. subtilis* ATCC 6633 вже через 20 хв [15].

Рамноліпіди відомі досить давно, але зацікавленість ними науковців не знижується. Так, у [16] встановлено антимікробні властивості рамноліпідів *P. fluorescens* MFS03 щодо клітин *E. coli*. Зона затримки росту тест-культури становила 10—15 мм за обробки препаратом штаму MFS03 з концентрацією 10—50 мкг/мл.

У [17] показано антимікробну дію гліколіпідів, синтезованих *P. aeruginosa* MR01 та MASH1. Так, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) ПАР штамів MR01 та MASH1 щодо *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 становила 128 та 512 мкг/мл. Встановлено, що МІК гліколіпідів *P. aeruginosa* MR01 (128 мкг/мл) щодо деяких грамположитивних бактерій є вищою у 2 рази, ніж щодо грибів *Aspergillus niger* ATCC 14604 (64 мкг/мл), *Chaetium globosum* (64 мкг/мл), *Penicillium funiculosum* CECE 2914 (32 мкг/мл) [17].

У [18] досліджено антимікробну дію псевдофактину II — ліпопептид пальмітинової кислоти, синтезований *P. fluorescens* BD5 щодо штамів мікроорганізмів, виділених із кишково-шлункового тракту тварин і медичного обладнання. Найефективніше псевдофактин II діяв у концентрації 0,5 мг/мл на *E. coli* ATCC 25922 — зниження виживання на 30 %, *Enterococcus faecalis*

ATCC 29212, *Enterococcus hirae* ATCC 10541 (20 %), *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917 (100 %), *Pseudomonas mirabilis* ATCC 21100 (40 %) і дріжджів *C. albicans* ATCC 20231 (20 %) [18].

У [19] досліджено антимікробну дію рамноліпідів, синтезованих представниками роду *Pseudomonas*, і софороліпідів (як продуценти дріжджі *Candida*) щодо деяких бактерій і грибів. Визначено МІК препарату ПАР *P. aeruginosa* щодо *B. subtilis*, яка становила 22,5 мкг/мл. Варто зауважити, що софороліпідам *Candida bombicola* необхідні на порядки вищі концентрації (6000—29 000 мкг/мл) щодо бацил [19].

У [20] вперше показано можливість використання білка *phaR* як антимікробного агента. Більшість бактерій утворюють полігідроксиалканоати у вигляді гранул, у синтезі яких значну роль відіграє відповідний регуляторний білок *phaR*, до складу якого входить амфифільна частина. Автори досліджували наявність антимікробної дії регуляторного білка, синтезованого рекомбінантним штамом *E. coli* BL21 (DE3). Як препарати використовували розчини з концентрацією *phaR* 20—100 мкг/мл. Встановлено МІК щодо *S. aureus* — 80 мкг/мл. Також проводилося дослідження антимікробної дії розчинів *phaR* (50—200 мкг/мл) стосовно *E. coli*. Не спостерігалось росту тест-культури за наявності у середовищі 150 мкг/мл *phaR* [20].

Висновки

Таким чином, мікробні ПАР завдяки своїм властивостям можуть бути використані у сільському господарстві для боротьби з бактеріальними захворюваннями рослин та у медицині для унеможливлення виникнення стійких до антибіотиків форм збудників інфекцій. Особливістю екологічно безпечних мікробних ПАР є специфічний механізм дії на мікроорганізми, в результаті якого виникнення резистентних форм неможливе.

Література

1. Hojgard S. Antibiotic resistance. Why is the problem so difficult to solve? / S. Hojgard, K. Faruk // *Infect. Ecol. Epidemiol.* — 2012. — Vol. 7, # 14. — P. 1113—1124.
2. Kalyani R. Recent potential usage of surfactant from microbial origin in pharmaceutical and biomedical arena: a perspective / R. Kalyani, M. Bishwambhar, V. Suneetha // *Int. Res. J. Pharm.* — 2011. — Vol. 2, # 8. — P. 11—15.
3. Машуцький К.Л. В Україні загинуло 8,5 % площі озимих зернових / К.Л. Машуцький, С.О. Степанов // *Корреспондент. biz.* — 2012. — Т. 17, # 6. — С. 5—7.
4. Косилович Г.О. Інтегрований захист рослин / Г.О. Косилович, О.М. Коханець. — Л.: Львівський нац. аграрний університет, 2010. — 165 с.
5. Meenakshi T. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection / T. Meenakshi, S. Baldev // *ISRN Biochemistry.* — 2013. — Vol. 27, # 12. — P. 93—103.
6. Черницький Ю.О. Мікробні препарати у біоконтролі фітопатогенів / Ю.О. Черницький, С.М. Черствий, І.В. Гриник та ін. // *Агроєкологічний журнал.* — 2010. — Т. 12, № 4. — С. 65—67.

7. Beric T. Antimicrobial activity of *Bacillus sp.* natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria / T. Beric, M. Kojic, S. Stankovic, L. Topisirovic, G. Degrassi, M. Myers, V. Venturi, D. Fira // Food Technol. Biotechnol. — 2012. — Vol. 50, # 1. — P. 25—31.

8. Cao X. Evaluation of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus natto* TK-1 as a potential source of antiadhesive, antimicrobial and antitumor activities / X. Cao, Z. Liao, C. Wang et al. // Braz. J. Microbiol. — 2010. — Vol. 40, # 2. — P. 373—379.

9. Pokora K.A. Antimicrobial activity of exocellular metabolites *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Nocardia vaccinii* K-8 on phytopathogenic bacteria / K.A. Pokora, K.V. Chebotarova // Ukr. Food J. — 2012. — Vol. 1, # 2. — C. 35—38.

10. Wiviott-Tishler L. Drug-resistant bacteria a growing health problem / L. Wiviott-Tishler, E. Wiviott-Tishler // Harvard Health Publ. — 2013. — Vol. 17, # 9. — P. 11—14.

11. McCluskey S. Predicting antibiotic resistance, not just for quinolones / S. McCluskey, C. Knapp // Front. Microbiol. — 2011. — Vol. 2, # 178. — P. 221—222.

12. Eddouaouda K. Characterization of a novel biosurfactant produced by *Staphylococcus sp.* strain 1E with potential application on hydrocarbon bioremediation / K. Eddouaouda, S. Mnif, A. Badis, B. Younes, S. Cherif, S. Ferhat, N. Mhiri, M. Chamkha, S. Sayadi // J. Basic. Microbiol. — 2012. — Vol. 52, # 4. — P. 408—418.

13. Burgos-Diaz C. The production and physicochemical properties of a biosurfactant mixture obtained from *Sphingobacterium detergens sp.* / C. Burgos-Diaz, R. Pons, J. Teruel et al. // J. Colloid Interface Sci. — 2013. — Vol. 15, # 394. — P. 368—379.

14. Youcer-Ali M. Antifungal activity and bioactive compounds produced by *Bacillus mojavensis* and *Bacillus subtilis* / M. Youcer-Ali, N. Kacem-Chaouche, L. Dehimat, I. et al. // Afr. J. Microbiol. Res. — 2014. — Vol. 8, # 6. — P. 476—484.

15. Teixeira M. Characterization of an antimicrobial peptide produced by *Bacillus subtilis* subsp. *spizezinii* showing inhibitory activity towards *Haemophilus parasuis* / M. Teixeira, A. Dalla Rosa, A. Brandelli // Microbiol. — 2013. — Vol. 159, # 5. — P. 980—988.

16. Govindammal M. Investigation on antimicrobial activity of biosurfactant produced by *Pseudomonas fluorescens* isolated from mangrove ecosystem / M. Govindammal, R. Parthasarathi // IRJP. — 2013. — Vol. 4, # 1. — P. 230—232.

17. Lotfabad B. Assessment of antibacterial capability of rhamnolipids produced by two indigenous *Pseudomonas aeruginosa* strains / B. Lotfabad, F. Shahcheraghi, F. Shooraj // Jundishapur J Microbiol. — 2013. — Vol. 6, # 1. — P. 29—35.

18. Janek T. Antiadhesive and antimicrobial activities of the biosurfactant pseudofactin II secreted by the Arctic bacterium *Pseudomonas fluorescens* BD5 / T. Janek, M. Lukaszewicz, A. Krasowska // BMC Microbiol. — 2012. — Vol. 13, # 1. — P. 108—115.

19. Cortes-Sanchez A. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives / A. Cortes-Sanchez,

H. Hernandez-Sanchez, M. Jaramillo-Flores // Microbiol. Rec. — 2013. — Vol. 168, # 1. — P. 22—32.

20. Hong-Kun M. Application of polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis regulatory protein PhaR as a biosurfactant and bactericidal agent / M. Hong-Kun, M. Liu, S. Li, et al. // J. Biotechnol. — 2013. — Vol. 166, # 2. — P. 34—41.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И МЕДИЦИНЕ

И.В. Савенко

Национальный университет пищевых технологий

В статье приведены современные литературные данные об общепринятых методах борьбы с бактериозами сельскохозяйственных растений (агротехнические, физико-механические методы, применение пестицидов и антибиотиков). Одним из возможных вариантов решения приведенных выше проблем является использование экологически безопасных микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ), обладающих антимикробными и антиадгезивными свойствами, благодаря чему они могут быть применены в сельском хозяйстве для контроля численности фитопатогенных микроорганизмов и в медицине для предотвращения возникновения антибиотикорезистентных возбудителей заболеваний.

Ключевые слова: бактериозы, антибиотикорезистентность, микробные поверхностно-активные вещества, антимикробные свойства.