



УДК 582.288

## ФІТОТОКСИЧНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ МІКРОМІЦЕТІВ

**І. Г. РУБЕЖНЯК**, кандидат біологічних наук, доцент,  
E-mail: rubezhnyak60@gmail.com

**А. О. ПАЛАМАРЧУК**, здобувач,  
E-mail: palao22@ukr.net

**В. М. ЧАЙКА**, доктор сільськогосподарських, професор,  
E-mail: vchaika28@gmail.com

Національний університет біоресурсів і природокористування України

<https://doi.org/10.31548/bio2018.05.011>

Бур'яни, погіршуючи умови росту і розвитку культурних рослин, завдають великої шкоди сільському господарству України. Одним із методів біологічного методу боротьби з бур'янами є застосування біогенних препаратів – продуктів біосинтезу мікроскопічних грибів або препаратів на основі живих мікроорганізмів.

Метою роботи був скринінг на фітотоксичну активність 82 штамів мікроміцетів родів *Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Raecilomyces*, *Mortirella*, *Nigrospora*, *Pseudallescheria*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ulocladium* та окремі штами *Nectria* sp., *Phialophora* sp. і *Verticillium dahliae*, виділених із різних екологічних ніш. Досліджувані штами культивували на рідкому середовищі Чапека, культуральну рідину відділяли від міцелію та використовували для дослідів. Активність вивчалася з використанням різних тест-організмів – зелених водоростей *Chlorella vulgaris* 190 і методом біопробы на насіннях лободи білої, пирію повзучого та пшениці літньої. Під час виконання скринінгу досліджуваних штамів мікроміцетів із використанням *S. vulgaris* 190 застосовували загальноприйнятий метод лунок в агарі.

Встановлено, що тільки 19 досліджуваних штамів проявили фітотоксичну активність. Широким спектром фітотоксичної активності характеризувалися штами *Cladosporium cladosporioides* 9, *Mortirella vinacea* 78 та *Raecilomyces variotii* 69. Так, *S. cladosporioides* 9 пригнічував проростання насіння пирію повзучого та лободи білої та не пригнічував проростання пшениці літньої. Штам *M. vinacea* 78 однаково пригнічував проростання насіння як пирію повзучого, так і лободи білої. Однак для штаму *R. variotii* 69 було характерно пригнічення проростання насіння лободи білої та стимуляційний ефект на проростання насіння пшениці. Менш активним був штам *S. cladosporioides* 12, який інгібував проростання лише лободи білої. Більш високу гербіцидну активність показав штам *M. vinacea* 74. Він пригнічував проростання насіння лободи білої на 50 %. Штами *Aspergillus ustus* 103 та *Penicillium acculeatum* 122 виявили фітотоксичну активність тільки щодо пирію повзучого. Відмічено, що фітотоксичні властивості досліджуваних штамів щодо *S. vulgaris* 190 не збігаються із фітотоксичністю цих штамів щодо бур'янів та пшениці, крім штаму *M. vinacea* 74.

Найбільш перспективними для подальших досліджень є штами *S. cladosporioides* та *M. vinacea*, які проявляють фітотоксичну активність, що раніше не досліджувалось.

*Ключові слова:* мікроміцети, фітотоксична активність, тест-організми



**Актуальність.** Бур'яни, погіршуючи умови росту і розвитку культурних рослин, завдають великої шкоди сільському господарству. На території України їх налічується понад 1,5 тис видів, з них близько 100-120 видів значно засмічують посіви сільсько-господарських культур. Видовий склад бур'янів у різних ґрунтово-кліматичних зонах України має суттєві відмінності. Однак багато злісних бур'янів (пирій повзучий, берізка польова, лобода біла, осот рожевий) мають дуже широкий ареал у межах усієї України.

Одним із методів біологічного методу боротьби з бур'янами є застосування біогенних препаратів – продуктів біосинтезу мікроскопічних грибів або препаратів на основі живих мікроорганізмів.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Упродовж багатьох десятиліть увагу учених привертають мікроскопічні гриби, відомі як продуценти біологічно активних речовин і речовин із біопестицидною активністю [1].

У наш час перспективним напрямом є створення біогербіцидів на основі фітопатогенних видів бактерій і мікроскопічних грибів. Штами мікроскопічних грибів здатні утилізувати широкий спектр джерел живлення, їх можна легко культивувати на штучних живильних середовищах, що дозволяє нагромаджувати необхідний матеріал в промислових масштабах. Перспективними для отримання мікогербіцидів є штами родів *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Puccinia*, *Myrothecium*, *Drechslera*, *Curvularia*, *Trichoderma*, деякі ентомопатогенні гриби тощо [1].

**Метою** нашої роботи було дослідження фітотоксичної активності штамів мікроміцетів із використанням різних тест-організмів.

**Матеріали і методи.** Досліджувані штами грибів культивували при 26°C впродовж 14 діб поверхнево в колбах Ерленмейєра на 250 мл, які містили 50 мл рідкого середовища Чапека. Культуральну рідину відділяли від міцелію скрізь фільтрувальний папір та використовували для дослі-

дів. Засів середовища проводили суспензією конідій 10-добової культури, вирощеної на скошеному сусло-агарі у кількості 10 об. %. Щільність засіву склала  $1 \times 10^8$  кл./мл [2].

Для вивчення гербіцидних властивостей було відібрано 82 штами мікроміцетів, представників родів *Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Glucocladium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Paecilomyces*, *Mortirella*, *Nigrospora*, *Pseudallescheria*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ulocladium* та окремі штами *Nectria* sp., *Phialophora* sp. та *Verticillium dahlia*. Культури мікроміцетів виділені нами із ґрунтів Київської області та визначені в Інституті мікробіології та вірусології НАН України. Фітопатогенні штами мікроміцетів були надані в наше розпорядження відділом фізіології та систематики ІМВ НАН України, за що ми щиро вдячні його співробітникам. Встановлено, що тільки 19 досліджуваних штамів представників родів *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Curvularia*, *Mortirella*, *Paecilomyces* та *Penicillium* проявили фітотоксичну активність. Фітотоксичну активність визначали щодо тест-культури зелених водоростей *Chlorella vulgaris* 190 і методом біопроби на насінні рослин [2]. Тест-культуру водоростей вирощували в пробірках на твердому середовищі [2] при температурі 26°C і освітленні 4000 люкс впродовж 5 діб. Під час виконання скринінгу штамів мікроміцетів застосовували загальноприйнятий метод лунок в агарі [2]. Висновок про активність культуральних фільтратів робили за наявністю або відсутністю зон затримки росту тест-організму навколо лунок після інкубації чашок Петрі впродовж 48-72 годин.

Для дослідження було використано насіння таких бур'янів: лобода біла (*Chenopodium album* L.): родина амарантові, пирій повзучий (*Elymus repens* (L.) Gould) і культурної рослини – *Triticum aestivum* L. (пшениця звичайна): родина тонконогові. Насіння вказаних рослин замочували у культуральному фільтраті штамів впродовж 24 годин. Контрольне



насіння замочували у воді. Потім їх розкладали на фільтрувальний папір в чашках Петрі, зволожували рівною кількістю водопровідної води й пророщували впродовж 7 днів за температури 20-22°C [2]. Токсичними вважали штами, які скорочували проростання насіння більш ніж на 20 % у порівнянні з контролем.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Як видно з таблиці 1, культуральна рідина 19 досліджуваних штамів мікроміцетів в тій чи іншій мірі проявляла фітотоксичну активність щодо бур'янів і пшениці. Найактивнішими серед них виявилися штами *Cladosporium cladosporioides* 9, *Mortirella vinacea* 78 та *Paecilomyces variotii* 69.

Штами цих мікроміцетів різною мірою пригнічували проростання насіння досліджуваних бур'янів. Так, *C. cladosporioides* 9 пригнічував проростання насіння пирію повзучого на 37 %, а лободи білої – на 25 % та не пригнічував проростання пшениці літної. Культуральні фільтрати *M. vinacea* 78 однаково пригнічували проростання насіння як пирію повзучого, так і лободи білої (на 20 %). У той же час для штаму *P. variotii* 69 було характерно пригнічення проростання насіння лободи білої (на 23 %) та стимулюючий ефект на проростання насіння пшениці.

Меншу активність показав культуральний фільтрат *C. cladosporioides* 12, який інгібував проростання лише лободи білої на 25 %. На наш погляд, різницю у біологічній активності досліджуваних штамів можна пояснити різною здатністю до утворення речовин з фітотоксичною активністю штамами *C. cladosporioides* 12 та 9.

Проте менш активними виявилися інші штами. Зокрема, штами *Aspergillus ochraceus* 94 та *M. vinacea* 74 пригнічували проростання насіння тільки лободи білої. Крім того, *M. vinacea* 74 проявив високу фітотоксичну активність щодо *C. vulgarris* 190 (зона пригнічення росту 25 мм). Вищу активність показав штам *M. vinacea* 74. Він пригнічував проростання насіння лободи білої на 50 %. Слід зазначити, що цей бур'ян є одним із

найпоширеніших на території України [3]. Він засмічує всі без винятку культури, узбіччя доріг, пустирі, перелоги, що створює перспективи використання біологічно активних речовин штаму *M. vinacea* 74 у боротьбі з цією рослиною.

Штами *A. ustus* 103 та *Penicillium acculeatum* 122 проявили вибіркову дію щодо пирію повзучого (пригнічення проростання насіння відповідно на 20 % та 34,5 %,). Це може свідчити про можливість використання штаму *P. acculeatum* 122 для подальшого вивчення з метою отримання природних гербіцидних препаратів щодо цього бур'яну.

Згідно даних, представлених у таблиці 1, 7 штамів мікроміцетів проявляють фітотоксичну активність щодо тест-культури *C. vulgarris* 190. Фітотоксичні властивості досліджуваних штамів щодо *C. vulgarris* 190 не співпадають із фітотоксичністю цих штамів щодо бур'янів та пшениці, крім *M. vinacea* 74. Різницю в біологічній активності досліджуваного штаму можна пояснити здатністю до синтезу декількох фітотоксичних сполук.

Узагальнюючи результати наших досліджень, слід зазначити, що штами *A. ochraceus* 94, *C. cladosporioides* 9 та 12, *P. acculeatum* 122, *M. vinacea* 74 мають значну фітотоксичну активність. Літературні дані свідчать про таку активність на різних штаммах роду *Aspergillus* та *Penicillium* [4,5].

Щодо штамів *C. cladosporioides* попередні дослідження вказують лише на антифунгальну та інсектицидну активності штамів цього мікроскопічного гриба [6,7]. Щодо фітотоксичних властивостей данні відсутні.

Останніми роками велись дослідження щодо до антибіотичного потенціалу штамів *M. vinacea* [8]. На даний час виділені та ідентифіковані зі штамів *M. vinacea* сполука метил 2,4-дігідроксі-3,5,6-триметилбензоат та три нових речовини, які були названі мортівинацином А, В і С. Також виділена четверта хімічна речовина – нікотинова кислота. Метил 2,4-дігідроксі-3,5,6- триметилбензоат, мортівинацини та нікотинова кисло-



1. Фітотоксична активність дослідних штамів мікроміцетів

№, п/п	Вид	Штам	Кількість насіння, яке проросло після обробки культуральним фільтратом грибів, % від контролю			Зона пригнічення росту, мм
			Пшениця звичайна	Пирій повзучий	Лобода біла	<i>Chlorella vulgaris</i> 190
1	<i>Aspergillus ochraceus</i>	94	91,6±2,2	100,0±2,3	71,3±1,1	0
2	<i>A. parvulus</i>	30	104,0±1,2	80,0±3,4	124,0±4,0	16,0±0,7
3		31	104,0±2,3	90,0±1,9	94,0±2,3	12,0±3,0
4	<i>A. terreus</i>	119	78,0±0,8	95,0±2,6	112,5±2,4	0
5	<i>A. versicolor</i>	60	94,0±1,7	100,0±2,8	169,0±5,2	9,0±1,0
6	<i>A. ustus</i>	99	70,0±1,1	100,0±3,4	107,7±2,1	0
7		103	100,0±2,0	70,0±2,2	95,8±2,0	0
8	<i>Botrytis sp.</i>	15	120,0±3,2	95,0±3,2	78,0±3,0	0
9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	9	100,0±1,9	63,0±1,6	75,0±2,5	0
10		12	120,0±3,0	90,0±2,3	75,0±2,3	0
11	<i>Curvularia inaequalis</i>	84	133,0±2,4	100,0±3,2	161,5±4,2	19,0±2,0
12	<i>Mortirella vinacea</i>	63	100,0±2,1	100,0±2,5	87,5±3,2	0
13		73	142,0±3,8	100,0±2,3	100,0±2,7	13,0±0,7
14		74	100,0±3	95,0±2,1	50,0±1,1	25,0±0,7
15		78	112,0±3,2	79,3±2,0	79,2±1,8	0
16		82	133,0±2,4	105,0±2,5	123,0±2,0	15,0±0,1
17	<i>Paecilomyces variotii</i>	69	135,0±5,0	80,0±1,6	77,0±1,8	0
18	<i>Penicillium aculeatum</i>	122	10,0±0	65,5±2,1	104,2±2,2	0
19	<i>P. rubrum</i>	93	58,3±1,2	100,0±1,5	121,4±2,7	0

та показали антибактеріальну та антифунгальну активність. Дані щодо фітотоксичної активності штамів *M. vinacea* відсутні.

**Висновки і перспективи.** Спираючись на результати експериментальних даних зроблено відбір найперспективніших штамів *M. vinacea* та *C. cladosporioides* для подальших досліджень із метою отримання можливих природних гербіцидів, використовуючи широкий спектр сільськогосподар-

ських культурних рослин та бур'янів і виділення фітотоксичних речовин із культуральної рідини штамів. Літературні джерела щодо фітотоксичної активності штамів *C. cladosporioides* та *M. vinacea* відсутні. Цікавим є також вивчення антибактеріальної активності цих мікроскопічних грибів щодо широкого діапазону грамнегативних і грампозитивних бактерій, особливо, *C. cladosporioides*, для якого ці данні відсутні.

Література

1. Рубежняк І. Г. Биогербициды: прошлое, настоящее и будущее. «Сборник научных трудов SWorld». 2014. Т. 30. № 4 (37). С. 35-40.



2. Методи експериментальної мікології / Под ред. В. Й. Билай. Киев: Наук. думка, 1982. 550 с.
3. Лобода біла (Марь белая). URL: <https://superagronom.com/buriany-malorichni/127-loboda-bila> (дата звернення: 20.05.2018).
4. Савчук Я.И. Гербицидная активность некоторых микромицетов. Мікробіологічний журнал. 2012. Т. 74. № 3. С. 43-48.
5. Fawole O. B., Yahaya J. U. Occurrence of fungal strains with herbicidal potentials in agricultural soils of Southern Guinea Savanna. Albanian Journal of Agricultural Sciences. 2017. Vol. 16, Issue 4. P.143-150.
6. Abdelaziz J., Senoussi M. M., Oufroukh A., Birgücü A.K., Karaca I., Kouadri F., Benkenana N., Bensegueni A. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi, to the aphid species, *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera: Aphididae), and their Alkaline protease activities. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 2018. 28. P.24- 28. URL: <https://ejbpc.springeropen.com/articles/10.1186/s41938-018-0030-7> (дата звернення: 20.05.2018).
7. New pesticides and soil sensors. / Edited by A.M. Grumezescu. Nanotechnology in agri-food industry. Elsevier: Academic press. 2017. Vol. 10. 767 p.
8. Soman A.G., Gloer J.B., Wicklow D.T. Antifungal and antibacterial metabolites from a sclerotium-colonizing isolate of *Mortierella vinacea*. J. Nat. Prod. 1999. Vol. 62. No. 2. P. 386-388.

## References

1. Rubezhnyak, I.G. (2014). Biogerbitsidiyi: proshloe, nastoyaschee i buduschee. [Bioherbicides: the past, present and future]. Sbornik nauchnyih trudov SWorld, Vol. 30, 4 (37): 35-40.
2. Bilay, V.I. (1982). Metodyi eksperementalnoy mikoologii. [Methods of experimental mycology]. Kiev: Naukova Dumka, 550.
3. Sagebrush. Available at: <https://superagronom.com/buriany-malorichni/127-loboda-bila>
4. Savchuk, Ya.I. (2012). Gerbitsidnaya aktivnost nekotoryih mikromitsetov. [Herbicide activity of some micromycetes]. Mikrobiologichnyi zhurnal, 74 (3): 43-48.
5. Fawole, O. B., Yahaya, J. U. (2017). Occurrence of fungal strains with herbicidal potentials in agricultural soils of Southern Guinea Savanna. Albanian Journal of Agricultural Sciences, 16 (4): 143-150.
6. Abdelaziz, J., Senoussi, M. M., Oufroukh, A., Birgücü, A.K., Karaca, I., Kouadri, F., Benkenana, N., Bensegueni, A. (2018.). Pathogenicity of three entomopathogenic fungi, to the aphid species, *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera: Aphididae), and their Alkaline protease activities. Egyptian Journal of Biological Pest Control., 28: 24- 28. Available at: <https://ejbpc.springeropen.com/articles/10.1186/s41938-018-0030-7>
7. Grumezescu A.M. ed. (2017). New pesticides and soil sensors. Nanotechnology in agri-food industry. Edited by Elsevier: Academic press, 10: 767.
8. Soman, A.G., Gloer, J.B., Wicklow, D.T. (1999). Antifungal and antibacterial metabolites from a sclerotium-colonizing isolate of *Mortierella vinacea*. J. Nat. Prod., 62 (2), 386-388.

## SUMMARY

**I. Rubezhniak, A. Palamarchuk, V. Chaika.** *Phytotoxic activity of some micromycetes. Biological Resources and Nature Management. 2018. 10, № 5-6. P. 82-87. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.011>*

*Weeds worsening the conditions of growth and development of agricultural plants cause great damage to the Ukrainian agriculture. One of the methods of biological control of weeds is the use of biogenic products of biosynthesis of microscopic fungi or preparations based on living microorganisms.*

*The aim of work was to test phytotoxic activity of cultural filtrates of 82 micromycete strains of genus *Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Paecilomyces*, *Mortierella*, *Nigrospora*, *Pseudallescheria*,*

*Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ulocladium* and separate strains *Nectria* sp., *Phialophora* sp., *Verticillium dahliae* isolated from different ecological niches. The micromycetes were grown on a basic nutritive Czapek medium. After 14 days the mycelium was removed through filtration. The culture liquid filtrates were tested against green algae *Chlorella vulgaris* 190 and seeds of couchgrass, white goosefoot and wheat. The screening phytotoxic study of culture liquid filtrate of micromycete strains against green algae *Chlorella vulgaris* 190 used standard agar well diffusion method.



It is shown that 19 cultures were biological activities only. The wide spectrum of phytotoxic activity was characterized for *Cladosporium cladosporioides* 9, *Mortirella vinacea* 78 u *Paecilomyces variotii* 69. The strain *C. cladosporioides* 9 suppressed the seed germination of couch-grass and white goosefoot and did not suppress the germination of wheat. The strain *M. vinacea* 78 equally suppressed the germination of seeds like the wheatgrass and the white goosefoot. At the same time, *P. variotii* 69 is characterized by seed inhibition of goosefoot germination and the stimulatory effect on the germination of wheat seeds. The strain *C. cladosporioides* 12 shown less active and inhibited the germination of white goosefoot seeds. The highest phytotoxic activity was shown by *M.*

*vinacea* 74. He suppressed the germination of white goosefoot seeds by 50 %.

The strains *Aspergillus ustus* 103 and *Penicillium acculeatum* 122 showed phytotoxic activity only relative to couch-grass. It was shown that the phytotoxicity of the studied strains relative to *C. vulgaris* 190 does not coincide with the phytotoxicity of these strains relative to the weed seeds and wheat, except *M. vinacea* 74.

As it is no findings about phytotoxic effect of strains of *C. cladosporioides* and *M. vinacea* and from the data obtained it might be inferred that the phytotoxic potential of these genus to be the most promising for further researches.

**Keywords:** micromycetes, phytotoxic activity, test-organisms

## АННОТАЦІЯ

І. Г. Рубежняк, А. О. Паламарчук, В. М. Чайка. Фитотоксическая активність некоторых мікроміцетів. Біоресурси і природопольовання. 2018. 10, № 5–6. С. 82–87. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.011>

Сорняки, ухудшаючи умови росту і розвитку культурних рослин, наносять великий шкоду сільському господарству України. Одним з методів біологічної боротьби з сорняками є застосування біогенних препаратів – продуктів біосинтезу мікроскопічних грибів или препаратів на основі живих мікроорганізмів.

Цілью роботи була скринінг на фітотоксическу активність 82 штампів мікроміцетів родів *Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Paecilomyces*, *Mortirella*, *Nigrospora*, *Pseudallescheria*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ulocladium* u окремі штамми *Nectria* sp., *Phialophora* sp. u *Verticillium dahliae*, виділені з різних екологічних ніш. Исследуемые штамми культивували на жидкой среде Чапека, культуральную жидкость на 14 сутки роста штаммов отделяли от мицелия и использовали для опытов. Активність вивчалась з використанням різних тестових організмів – зелених водорослей *Chlorella vulgaris* 190 u методом біопробы на семенах лебеди белой, пырея ползучего u пшеницы летней. При скринінге исследуемых штаммов мікроміцетів з використанням *C. vulgaris* 190 применяли общепринятый метод лунок в агаре.

Показано, что только 19 штаммов проявили фитотоксическую активность. Широкий спек-

тром фитотоксической активности характеризовались исследуемые штаммы *Cladosporium cladosporioides* 9, *Mortirella vinacea* 78 u *Paecilomyces variotii* 69. *C. cladosporioides* 9 подавлял прорастание семян пырея ползучего u лебеды белой u не подавлял прорастания пшеницы. Штамм *M. vinacea* 78 одинаково подавлял прорастание семян как пырея ползучего, так u лебеды белой. В то же время для штамма *P. variotii* 69 характерно угнетение прорастания семян лебеды белой u стимулирующий эффект на прорастание семян пшеницы. Менее активным был штамм *C. cladosporioides* 12, который ингибировал прорастание лишь лебеды белой. Наибольшую фитотоксическую активность показал штамм *M. vinacea* 74. Он подавлял прорастание семян лебеды белой на 50 %. Штаммы *Aspergillus ustus* 103 u *Penicillium acculeatum* 122 показали фитотоксическую активность только относительно пырея ползучего. Показано, что фитотоксичность исследуемых штаммов относительно *C. vulgaris* 190 не совпадает с фитотоксичностью этих штаммов относительно семян сорняков u пшеницы, кроме штамма *M. vinacea* 74.

Наиболее перспективными для дальнейших исследований являются штаммы *C. cladosporioides* u *M. vinacea*, которые проявляют фитотоксическую активность, что раньше не исследовалось.

**Ключевые слова:** мікроміцети, фитотоксическая активність, тест-організми