

**М. І. Менджул**, Т. Г. Лисенко, І. В. Бусахіна, О. В. Андрієнко

## Біологічна активність культур ціанобактерій та їх фаголізатів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Я. Співаком)

*The antifungal activity of cyanobacterial cultures of different taxonomic groups and phage lysates of these bacteria against some phytopathogenic fungi of garden plants and fungi that cause powdery mildew has been studied. It is established that cyanobacterium Plectonema boryanum and its phage lysate LPP-3 had high activity in vitro only against one pathogen — Botrytis cinerea. Cyanobacterium Anabaena variabilis and its phage lysate A-1 are toxic against two pathogens — B. cinerea and Marssonina rosea. Cyanobacterium Synechococcus cedrorum and its phage lysate S-8K are the most active against all three pathogens. Phage lysate S-8K causes practically 100% death of fungal mycelium — the agent of powdery mildew on infected plants of tobaccos, cucumbers, roses on closed ground, and apple-trees and dahlias in open ground. In view of the high antifungal action of phage lysate S-8K, it can be recommended as perspective in the development of antifungal preparations with a wide spectrum of action.*

Ціанобактерії — група широко розповсюджених в природі фотосинтезуючих мікроорганізмів, які продукують цілу низку біологічно активних речовин: амінокислоти, вітаміни, білок, терпени, феноли, цитокіни та ін. [1, 2]. На підставі цього вони, як і деякі інші мікроорганізми [3–5], вважаються перспективними продуцентами для одержання нових, безпечних для людей та навколишнього середовища біофунгіцидів, альтернативних хімічним препаратами [6, 7], які значно порушують рівновагу фітоценозів, забруднюють екосистеми та сільськогосподарську продукцію, погіршують умови праці людини. На цей час вже встановлено, що метаболіти окремих груп ціанобактерій мають антифідантні, дерепродуктивні, інсектицидні та антимікробні властивості [2, 8–10].

Метою проведеного дослідження було визначити фунгіцидну активність деяких культур ціанобактерій та їх фаголізатів з перспективою розробки в подальшому біофунгіциду широкого спектра дії для застосування в практиці рослинництва.

В експерименті використовували сім видів культур ціанобактерій з музею культур Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України: нитчасті — *Anabaena variabilis* CALU458, *Nostock linckia* 387, *Plectonema boryanum* CALU465, *Spirulina platensis* (Gom) Get1 CALU603; одноклітинні — *Synechococcus cedrorum* CALU750, *Synechocystis* sp. CALU891, *Synechocystis minuscula* CALU701, які належать до різних таксономічних груп. Фаголізати ціанобактерій одержували інфікуванням вихідних культур ціанофагами А-1, LPP-3 і S-8K [10].

Культури ціанобактерій вирощували в стерильних умовах у лабораторних культиваторах об'ємом 5 л на середовищі BG-11 або Фітцджеральда [11] при освітленні 3000 лк, барботажному перемішуванні повітрям при 25–27 °С [10]. Для одержання фаголізатів використовували культури ціанобактерій, що знаходились у експотенційній фазі росту. Їх інфікували ціанофагами у співвідношенні вірус-клітина 1 : 10. Далі інкубування інфікованих культур ціанобактерій до повного їх лізису проводили при освітленні 500–700 лк. В експерименті тестувались фаголізати після інактивації фага при 70 °С протягом години [10].

У роботі використовувались різноманітні види грибів, які викликають захворювання садових та декоративних культур — *Botrytis cinerea*, *Fusicladium dendriticum*, *Marssonina roseae*, та гриби, що викликають борошнисту росу на різних видах рослин — *Erysiphe cichoracearum* f. *nicotianae*, *Erysiphe cichoracearum* f. *cucurbitaceae*, *Sphaerotheca fuliginea* f. *dahlia*, *Podosphaera leucotricha*. Дані фітопатогени одержані з колекції Центрального республіканського ботанічного саду НАН України.

Досліджували антифунгальну активність двох видів ціанобактеріальних препаратів: фаголізату ціанобактерій та культуральної рідини нативних культур ціанобактерій (у подальшому для зручності викладу матеріалу використовували термін “культура ціанобактерій”).

Для оцінки ефективності фунгіцидної дії культур ціанобактерій та їх фаголізатів застосовували загальноприйняті методи “висячої краплі” з визначенням процента проростання спор через 72 год обробки [12] та встановлення їх захисної дії на інфікованих рослинах у дрібно-ділянкових дослідах. Зараження проводили на фазі 1–2 листків суспензією спор грибів методом обприскування [13]. Обробку проводили за допомогою дрібнодисперсного обприскувача “Росинка”. Інтенсивність розвитку захворювання до і після обприскування оцінювали за ступенем їх ураження за стандартною п’ятибальною шкалою [14]: бал 0 — ураження відсутнє; 0,1 — поодинокі ураження листків, паростків, бутонів; 1,0 — ураження слабе, від 3 до 10% усієї поверхні листків; 2,0 — ураження до 25–30% усієї поверхні рослин з появою білого нальоту спороношення гриба; 3,0 — ураження сильне, до 50% усієї листової поверхні, паростки разом з бутонами і листками до половини усієї довжини покриті грибним міцелієм; 4,0 — уражено до 100% поверхні усієї рослини, спостерігається інтенсивне спороношення, всихання листків, паростків, бутонів.

В експериментах по визначенню фунгіцидної дії *in vivo* використовували одновікові рослини, які вирощувались за однакових умов температури, вологості, освітлення та мали однаковий ступінь грибного ураження.

Статистичну обробку результатів проводили за [15].

З метою первинного скринінгу антифунгальних властивостей вказаних вище семи культур ціанобактерій та трьох видів фаголізатів проведено тестування на їх здатність інгібувати пророщення спор таких видів фітопатогенних грибів: *B. cinerea* (збудник сірої гнилі яблуні), *F. dendriticum* (збудник парші яблуні), *M. rosea* (збудник плямистості троянди). Встановлено, що з усіх досліджених культур тільки три культури — *A. variabilis*, *P. boryanum*, *S. cedrorum* та їх лізати А-1, LPP-3, S-8К мали очікувану активність (табл. 1). Найбільш виражену фунгіцидну дію мала культура одноклітинної ціанобактерії *S. cedrorum* та особливо

Таблиця 1. Дія культур ціанобактерій і їх фаголізатів на проростання спор фітопатогенних грибів садово-декоративних культур

Варіант	Проростання спор, %		
	<i>B. cinerea</i>	<i>F. dendriticum</i>	<i>M. rosea</i>
Контроль (вода)	49,3 ± 0,1	61,0 ± 0,2	74,1 ± 0,1
<i>S. cedrorum</i>	17,6 ± 0,4	12,0 ± 0,1	17,3 ± 0,1
Фаголізат S-8К	4,0 ± 0,1	0	5,3 ± 0,2
<i>P. boryanum</i>	3,7 ± 0,2	49,7 ± 0,1	67,3 ± 0,1
Фаголізат LPP-3	2,1 ± 0,2	24,1 ± 0,4	49,8 ± 0,3
<i>A. variabilis</i>	28,9 ± 0,1	39,7 ± 0,1	21,5 ± 0,1
Фаголізат А-1	10,8 ± 0,3	21,3 ± 0,1	10,7 ± 0,1

її фаголізат S-8K, який практично повністю інгібував пророщення конідій усіх досліджених фітопатогенів.

Культура ціанобактерії *P. boryanum* та її фаголізат LPP-3 мали таку ж високу антифунгальну активність тільки по відношенню до одного збудника — *B. cinerea*. Ціанобактерія *A. variabilis* та її фаголізат А-1 були найбільш токсичними для двох патогенів — *B. cinerea* і *M. rosea*. Особливий інтерес становить вивчення антифунгальної дії біопрепаратів щодо деяких грибів, які викликають борошнисту росу на рослинах. Як свідчать дані табл. 2, найбільший інгібуючий ефект на спори фітопатогенів мали фаголізат S-8K та культура *S. cedrorum*. Їх максимальна активність спостерігалась по відношенню до збудників борошнистої роси тютюну та огірків (*E. cichoracearum* f. *nicotianae*, *E. cichoracearum* f. *cucurbitacea*).

Підкреслимо, що в усіх дослідних варіантах ціанобактеріальні фаголізати виявляли більшу фунгіцидну активність, ніж їх вихідні культури, і тому саме вони були використані в більшості подальших досліджень.

Таким чином, як свідчать експериментальні дані, найперспективнішими для створення антифунгального біопрепарату є ціанобактерія *S. cedrorum* і одержаний на її основі фаголізат S-8K.

Фаголізат S-8K був протестований на видоспецифічність дії по відношенню до різних видів збудників борошнистої роси огірків, тютюну, троянди в умовах захищеного ґрунту та жоржини і яблуні в умовах відкритого ґрунту. Усі дослідні проводили на однолітніх рослинах, які були вирощені в однакових умовах (вологість, освітлення, температура) та мали майже однаковий ступінь ураження борошнистою росою. Як контроль використовували фунгіцид каратан (одноразова обробка, витрата 200–250 л/га).

Показано, що фаголізат S-8K в умовах захищеного ґрунту має високу терапевтичну та захисну дію на всіх дослідних культурах. Незважаючи на високий бал ураження рослин, фаголізат S-8K при одноразовому обприскуванні огірків та тютюну забезпечує захисну дію протягом 20–30 діб. У той же час хімічний фунгіцид каратан фактично лише знижує ступінь ураження, а тривалість його захисної дії в 2–3 рази нижча, ніж фаголізату S-8K (табл. 3).

В умовах відкритого ґрунту фаголізат S-8K також виявляє високий ступінь антифунгальної дії проти збудників борошнистої роси: майже повністю пригнічує розвиток *P. leucotricha* на яблуні та значно знижує розвиток *Sph. fuliginea* f. *dahlia* на жоржині, забезпечуючи тривалість захисної дії від 15 до 30 діб (див. табл. 3).

Таким чином, висока фунгіцидна активність та значна тривалість захисної дії S-8K до широкого спектра грибних патогенів, доступність технології його одержання дозволя-

Таблиця 2. Дія культур ціанобактерій і їх фаголізатів на проростання спор грибів, що викликають борошнисту росу

Варіант	Проростання спор, %			
	<i>E. cichoracearum</i> f. <i>nicotianae</i>	<i>S. fuliginea</i> f. <i>dahlia</i>	<i>P. leucotricha</i>	<i>E. cichoracearum</i> f. <i>cucurbitacea</i>
Контроль (вода)	2,26	57,5	71,4	34,5
<i>S. cedrorum</i>	3,9 ± 0,1	12,1 ± 0,1	16,8 ± 0,1	12,0 ± 0,4
Фаголізат S-8K	0	0	3,0 ± 0,1	0
<i>P. boryanum</i>	19,5 ± 0,2	32,4 ± 0,2	68,8 ± 0,2	28,1 ± 0,1
Фаголізат LPP-3	14,1 ± 0,1	11,7 ± 0,1	45,5 ± 0,1	17,5 ± 0,3
<i>A. variabilis</i>	16,9 ± 0,4	28,3 ± 0,3	26,9 ± 0,1	23,9 ± 0,1
Фаголізат А-1	11,3 ± 0,1	17,2 ± 0,1	32,7 ± 0,3	17,5 ± 0,2

Таблиця 3. Антифунгальна дія фаголізату S-8K та каратану проти збудників борошністої роси в захищеному ґрунті (огірки, тютюн, троянда) та відкритому ґрунті (яблуна, жоржина)

Рослина, фунгіцид	Ступінь ураження рослин, бал					Тривалість захисної дії, доба
	до обприскування	строк після обприскування, доба				
		7	14	21	30	
Огірки						
каратан	2	0	0,1	1	4	10
фаголізат S-8K	2	0	0	2	2	20
Тютюн						
каратан	4	0	0,1	1	4	10
фаголізат S-8K	4	0	0	0	0,1	30
Троянда						
каратан	3	1	1	3	4	0
фаголізат S-8K	4	0	0	2	4	15
Яблуна						
каратан	3	1	2	3	4	0
фаголізат S-8K	2	0	0	0	0	30
Жоржина						
каратан	2	0,1	1	3	4	7
фаголізат S-8K	2	0	0,1	2	3	15

ють вважати цей фаголізат перспективним у боротьбі з грибними захворюваннями рослин у відкритому і, особливо, закритому ґрунті.

1. Андреев Е. И., Коптева К. П., Занина В. В. Цианобактерии. – Киев: Наук. думка, 1990. – 200 с.
2. Сиренко Л. А., Козицкая Н. В. Биологически активные вещества водорослей и качества воды. – Киев: Наук. думка, 1988. – 256 с.
3. Федорчик Н. С. Использование микроорганизмов для защиты растений от вредителей и болезней // Защита растений. – 1987. – № 1. – С. 25–26.
4. Рой А. А., Залозло О. В., Чернова Л. С., Курдими И. К. Антагонистическая активность фосфомобилизующих бактерий к фитопатогенным грибам // Агроекол. журн. – 2005. – № 1. – С. 50–55.
5. Новикова И. И., Бойкова И. В. Штамм актиномицета *Streptomyces chrysomallus* P-21 для получения биопрепарата полифункционального действия // Пат. 2226214 Россия, МПК7 С 12 N 1/20, А01 N 63/00.
6. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология) / Под ред. Л. И. Медведя. – Киев: Урожай, 1974. – 448 с.
7. Гар К. А. Химические средства борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. – Москва: Россельхозиздат, 1970. – 206 с.
8. Гольдин Е. Б., Менджул М. И. Использование цианофагов для получения ингибиторов питания насекомых // Микробиол. журн. – 1988. – 50, № 1. – С. 94–95.
9. Менджул М. И., Гольдин Е. Б. Снижение вредоносности фитонематод с помощью цианобактерий // Бактериальные болезни растений: Материалы конф. – Львов, 1990. – Ч. 2. – С. 134.
10. Менджул М. И., Нестерова Н. В., Горюшин В. А., Лысенко Т. Г. Цианофаги – вирусы цианобактерий. – Киев: Наук. думка, 1985. – 148 с.
11. Stanier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) // Bacteriol. Revs. – 1971. – 35, No 2. – P. 171–205.
12. Методы экспериментальной микологии: Справочник / Под ред. В. И. Билай. – Киев: Наук. думка, 1982. – 550 с.
13. Определитель болезней сельскохозяйственных культур / Под ред. В. И. Хохрякова. – Ленинград: Колос, 1984. – 304 с.
14. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений / Пер. с нем. К. В. Попковой, В. А. Шмыгли. – Москва: Агропромиздат, 1987. – 224 с.
15. Минкевич И. И., Захарова Т. И. Математические методы фитопатологии. – Ленинград: Колос, 1977. – 48 с.

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

Надійшло до редакції 15.04.2008