

**О. В. Андрющенко, І. В. Страшнова, Т. В. Іваниця,
С. І. Ракитська, М. Б. Галкін**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЧОРНОМОРСЬКИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Біологічний метод захисту рослин є екологічно безпечною та пріоритетною формою в довготривалих програмах боротьби зі збудниками хвороб і одним із важливих інструментів переходу до органічного та екологічного землеробства України. **Мета.** Визначити антагоністичну активність чорноморських актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів. **Методи.** Антагоністичну активність 35 штамів актинобактерій, виділених із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря, проти колекційних і виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних мікроорганізмів, визначено методом блоків після попереднього культивування актинобактерій на середовищі Гаузе 2 протягом 12 діб при 28 ± 1 °C. Антагоністичну активність екстрагованих вторинних метаболітів штамів *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проти штамів *Fusarium oxysporum* визначено диско-дифузійним методом. **Результати.** Із 35 досліджених ріст хоча б одного штаму фітопатогенних бактерій і грибів пригнічувало, відповідно, 77,1% і 65,7% штамів актинобактерій. Розміри зон відсутності росту чутливих колекційних штамів бактерій коливалися від $15,3 \pm 0,1$ мм до $29,6 \pm 0,3$ мм, штамів бактерій, виділених із уражених рослин, – від $14,5 \pm 0,1$ мм до $25,7 \pm 0,3$ мм за дії антагоністично активних актинобактерій. Цей показник для колекційних штамів грибів визначено у діапазоні від $16,0 \pm 0,2$ мм до $33,5 \pm 0,3$ мм, для ізольованих штамів грибів – від $15,0 \pm 0,1$ мм до $29,3 \pm 0,3$ мм. *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проявили найкращу активність проти всіх штамів фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема проти виділених із уражених рослин *F. oxysporum*, зони відсутності росту понад 80,0% штамів яких перевищували 20,0 мм. Екстраговані вторинні метаболіти обох штамів *S. ambofaciens* пригнічували ріст колекційного і виділених штамів фузарій. Зони відсутності росту грибів коливалися у широких межах і залежали, передусім, від штамів фузарій, стрептоміцету, концентрації екстрактів і терміну обліку результатів. Мінімальні пригнічувальні концентрації екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо виділених штамів *F. oxysporum* склали 250 мкг/мл – 500 мкг/мл і 250 мкг/мл – 100 мкг/мл, відповідно. **Висновки.** Штами актинобактерій, виділені із губок і мідій Одеської затоки Чорного моря, є антагоністично активними проти фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів *F. oxysporum*. Колекційні штами фітопатогенів чутливіші до дії морських актинобактерій, ніж виділені із уражених рослин штами.



Штами S. ambofaciens ONU 1016 і S. ambofaciens ONU 561, які проявили високу антагоністичну активність, можна рекомендувати для розробки мікробного препарату для захисту рослин від бактеріальних і грибних патогенів.

Ключові слова: антагоністична активність, чорноморські актинобактерії, фітопатогенні мікроорганізми.

Одним із основних трендів сучасного агровиробництва є його біологізація і екологізація, що передбачає, передусім, впровадження екологічно безпечних біологічних засобів захисту сільськогосподарських культур, оскільки хвороби рослин здатні суттєво знизити врожайність і обсяги агровиробництва [2].

Широке розповсюдження захворювань рослин, які викликаються фітопатогенними бактеріями і грибами, завдає величезної шкоди сільському господарству, а використання хімічних методів захисту є нераціональним і небезпечним. Насамперед, це пов'язано із забрудненням рослин, ґрунтів, води і продуктів харчування залишками хімічних пестицидів, зниженням резистентності шкідників до засобів захисту, порушенням стійкості екосистем через втрату частини біоти внаслідок дії хімічних препаратів. Наслідком цього є негативний вплив на здоров'я людей і стан навколишнього середовища [25]. Окрім цього, хімічні препарати мають високу вартість. Натомість біологічні методи захисту рослин, зокрема розробка мікробних препаратів, мають низку суттєвих переваг, пов'язаних з покращенням екологічної безпечності і підвищенням продуктивності агросистем [14]. Попри значну кількість біопрепаратів, світовий ринок біопестицидів продовжує зростати і це спонукає до пошуку, передусім, антагоністично активних штамів мікроорганізмів.

Для створення біопрепаратів найбільший інтерес мають види та штами мікроорганізмів, які, окрім невибагливості до умов культивування, високої технологічності, екологічної пластичності, продукують різноманітні біологічно активні вторинні метаболіти. Одними із найбільш перспективних мікроорганізмів для агровиробництва є актинобактерії [7, 15, 18, 20, 25].

Актинобактерії — це велика група мікроорганізмів, що належать до філуму Actinobacteria, нещодавно перейменованого на Actinobacteriota. Завдяки значному спектру вторинних метаболітів, актинобактерії мають потужний біотехнологічний потенціал, який остаточно не з'ясований. Виділення актинобактерій із біотопів морського середовища і дослідження їх властивостей дало змогу виявити нові біоактивні речовини з різноманітними спектрами і механізмами дії [12, 29]. Більшість вторинних метаболітів, які синтезуються морськими актинобактеріями, проявляють ефективну антибактеріальну, антифунгальну, антипаразитарну, протиракову та протималарійну активність, що робить представників цього філуму перспективними біотехнологічними об'єктами [21, 24].

Науковцями Одеського національного університету імені І. І. Мечникова виявлено, що актинобактерії, виділені із різних біотопів Чорного моря, проявляють антагоністичну активність проти про- та еукаріотичних мікро-



організмів, потенційних збудників інфекційних захворювань людей, а також протипухлинну активність, що свідчить про необхідність їх подальших досліджень для можливого використання у медицині і фармакології [4, 10, 11]. На наш погляд, чорноморські актинобактерії також можуть мати перспективність (потенціал) для використання як основи для біопрепаратів для агропромисловості.

Метою даної роботи було визначити антагоністичну активність чорноморських актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів.

Матеріали і методи

Для дослідження антагоністичної активності проти фітопатогенних мікроорганізмів використано штами актинобактерій, виділені із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря (м. Одеса, Україна, 46°27'01" N 30°46'14" E). Всього у даному дослідженні було задіяно 35 штамів актинобактерій, відібраних за результатами попередньо проведених досліджень по визначенню антагоністичної активності щодо тест-штамів індикаторних про- та еукаріотичних мікроорганізмів [4, 28]. Було використано 25 штамів (Hal 1...Hal 45), виділених у 2022 р. із морських губок (*Haliclona* spp.) і 10 штамів, виділених у 2020 р. – 5 штамів із мідій (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819): *Streptomyces ambofaciens* ONU 1014, *S. ambofaciens* ONU 1015, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8, 4 штами із біологічних обростань бетону: *Streptomyces* spp. ONU 1042, Conc 10, Conc 11, Conc 32 і один штам з біологічних обростань черепашнику: *Streptomyces* sp. ONU 1028.

Для проведення досліджень штами актинобактерій попередньо культивували на агаризованому середовищі Гаузе 2 (бульйон Хоттингера – 30,0 мл/л глюкоза – 10,0 г/л, пептон – 5,0 г/л, NaCl – 5,0 г/л, агар-агар – 18,0 г/л) протягом 12 діб при температурі 28 ± 1 °C.

Досліджували антагоністичну активність актинобактерій проти штамів фітопатогенних бактерій і грибів, які зберігаються у Колекції морських та корисних для екологічної біотехнології штамів мікроорганізмів ОНУ імені І. І. Мечникова, і штамів фітопатогенів, виділених із уражених злакових культур. Використані колекційні штами фітопатогенних бактерій: *Pectobacterium carotovorum* ONU 318, *P. carotovorum* ONU 320, *P. carotovorum* ONU 321, *P. carotovorum* ONU 525, *Ralstonia solanacearum* ONU 376, *R. solanacearum* ONU 377, *R. solanacearum* ONU 378, *R. solanacearum* ONU 386, *Agrobacterium radiobacter* ONU 310, *A. radiobacter* ONU 440, *Allorhizobium vitis* ONU 479; колекційних штамів фітопатогенних грибів: *Alternaria alternata* ONU F 23, *Aspergillus niger* ONU F 25, *Aspergillus flavus* ONU F 31, *Aspergillus terreus* ONU F 32, *Cladosporium cladosporoides* ONU F 26, *Fusarium oxysporum* ONU F 27, *Paecilomyces variotii* ONU F 28, *Penicillium expansum* ONU F 29. Виділені із уражених злакових рослин штами бактерій були представлені: *Xanthomonas arboricola* (4 штами), *Pectobacterium carotovorum* (1 штам), штами грибів – *Fusarium oxysporum* (30 штамів), *Sclerotinia sclerotiorum* (16 штамів), *Alternaria alternata* (3 штами). Штами фітопатогенів попередньо культивували при 28 ± 1 °C на поверхні живильного агару (Nutrient Agar, Biolife Italiana



S.r.l., Milan, Italy) протягом 24 год (бактерії) і на поверхні середовища Сабуро (Sabouraud Dextrose Agar, Biolife Italiana S.r.l., Milan, Italy) протягом 10 діб (гриби).

Для досліджень готували суспензії кожного штаму фітопатогенів у концентрації 1×10^9 КУО/мл, які в об'ємі по 100 мкл кожна висівали на поверхні середовищ живильного агару і Сабуро, відповідно.

Визначення антагоністичної активності проводили методом блоків. Для цього блоки 12-ти добових культур актинобактерій розкладали на попередньо засіяні культурами фітопатогенів поверхні середовищ у чашках Петрі. На кожну засіяну чашку поміщали по 6 блоків актинобактерій на однаковій відстані один від одного і від країв чашки. Облік результатів здійснювали після інкубації при 28 ± 1 °C через 48 год (для бактерій) і 10 діб (для грибів), вимірюючи розміри зон відсутності росту фітопатогенів навколо блоків із актинобактеріями [19]. За контроль були посіви фітопатогенів на поверхні відповідних середовищ без накладання блоків актинобактерій.

Для отримання вторинних метаболітів штами *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 вирощували у середовищі TSB (Tryptic Soy Broth, Biolife Italiana S.r.l., Milan, Italy) на ротаційному шейкері при 180 об/хв протягом 3 діб при 28 ± 1 °C. Після чого вирощеною культурою у посівній дозі 1–2 мл інокулювали середовище SGB (Soy Glucose Broth, глюкоза – 20,0 г/л, дріжджовий екстракт – 5,0 г/л, соєвий пептон – 2,0 г/л). Культивували на роторному шейкері при 180 об/хв при 28 ± 1 °C протягом 9 діб. Подальші маніпуляції по виділенню (екстракції) вторинних метаболітів здійснювали згідно Ivanytsia et al. [10] і Paulus et al. [16].

Екстраговані вторинні метаболіти для переведення із висушеного у рідкий стан розчиняли у диметилсульфоксиді (DMSO, Gaylord Chemical Corp., USA) у концентрації 100 мг/мл. Робочі розчини у концентраціях 25 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл, 250 мкг/мл, 500 мкг/мл, 1000 мкг/мл готували із використанням стерильної дистильованої води. Після чого їх стерилізували з використанням мембранних фільтрів (діаметр пор 0,22 мкм, Millex Syringe Filter Unit, Millipore Corp.) і наносили по 5 мкл на стерильні диски (5 мм) для визначення їх пригнічувального впливу на штами фітопатогенних грибів *F. oxisporum* [3]. Підготовку штамів для проведення експерименту здійснювали так, як описано вище. На чашки Петрі із агаризованим середовищем Сабуро, засіяні відповідним штамом гриба, накладали диски, просочені екстрагованими метаболітами у робочих концентраціях. Посіви культивували при 28 ± 1 °C. Облік результатів проводили кожного дня протягом 10 діб, вимірюючи розміри зон відсутності росту штамів грибів навколо дисків. Мінімальною інгібуючою (пригнічувальною) вважали концентрацію (МІК), при якій спостерігали відсутність росту досліджуваного штаму гриба. Як контрольні були посіви штамів фітопатогенних грибів на агаризоване середовище Сабуро, а також посіви цих штамів на вказане середовище, на які накладали диски, просочені DMSO у концентрації 500 мкг/мл і стерильною дистильованою водою.

Усі дослідження проведено трикратно. Для аналізу отриманих результатів проведено описову статистику, яку здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.



Результати та їх обговорення

Дослідження антагоністичної активності 35 штамів актинобактерій, виділених із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря проти фітопатогенів, показало, що ріст хоча б одного штаму фітопатогенних бактерій і грибів пригнічувало 27 (77,1%) і 23 (65,7%) штами актинобактерій, відповідно (рис. 1).

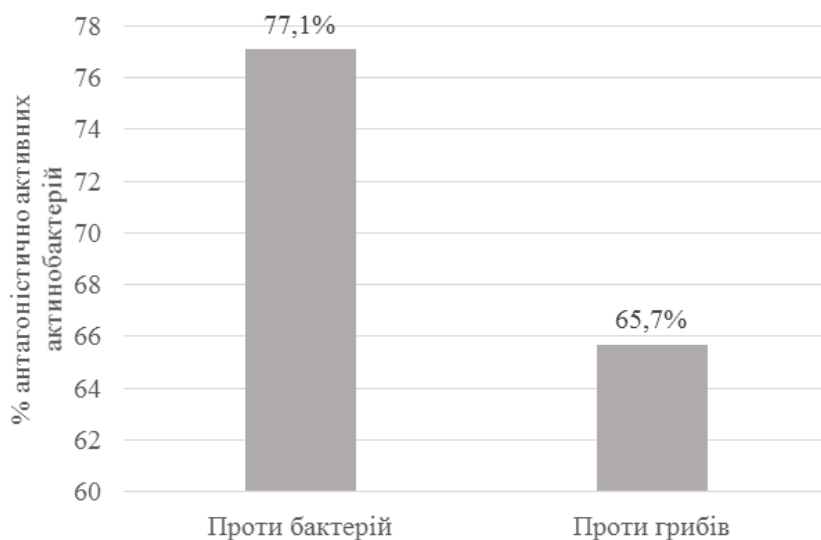


Рис. 1. Частка антагоністично активних штамів актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів

Fig. 1. The proportion of antagonistically active strains of actinobacteria against phytopathogenic microorganisms

Порівнюючи активність актинобактерій проти колекційних і виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних бактерій виявлено, що колекційні штами були дещо чутливішими до метаболітів актинобактерій. Розміри зон відсутності росту чутливих колекційних штамів коливалися від $15,3 \pm 0,1$ мм до $29,6 \pm 0,3$ мм. Натомість розміри зон відсутності росту штамів бактерій, виділених із уражених рослин, визначені у межах $14,5 \pm 0,1$ мм – $25,7 \pm 0,3$ мм. Із колекційних найчутливішими, що проявилось як в кількості штамів, так і в розмірах зон відсутності росту, були штами *Ralstonia solanacearum*; найстійкішими до дії актинобактерій були штами *Pectobacterium carotovorum*. Із уражених рослин було виділено всього 5 штамів бактерій, 4 із яких були ідентифіковані як *Xanthomonas arboricola*, і один – *Pectobacterium carotovorum* [26]. Виділені штами *X. arboricola* були чутливішими до актинобактерій, ніж *P. carotovorum*.

У таблицях 1 і 2 наведено результати визначення антагоністичного впливу найбільш активних штамів актинобактерій на фітопатогенні бактерії.

Ріст усіх досліджених фітопатогенних бактерій пригнічували штами: *Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45, *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8 і *Streptomyces* sp. Conc 32. За впливу метаболітів штамів, виділених із мідій,

Таблиця 1
 Зони відсутності росту колекційних штамів фітопатогенних бактерій (мм) за впливу чорноморських актинобактерій
 Table 1
 Zones of no growth of collection strains of phytopathogenic bacteria (mm) under the influence of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Pectobacterium carotovorum</i>					<i>Ralstonia solanacearum</i>					<i>Agrobacterium radiobacter</i>		<i>Allorhizobium vitis</i> ONU 479
	ONU 318	ONU 320	ONU 321	ONU 525	ONU 376	ONU 377	ONU 378	ONU 386	ONU 310	ONU 440			
Hal 11	19,1±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	19,8±0,2	23,2±0,2	24,9±0,2	23,5±0,2	23,8±0,2	20,5±0,2	19,8±0,2	20,0±0,2		
Hal 14	20,3±0,2	18,8±0,2	20,2±0,2	18,0±0,2	23,4±0,2	24,2±0,2	23,7±0,2	23,2±0,2	20,3±0,2	20,2±0,2	19,8±0,2		
Hal 15	18,7±0,2	18,7±0,2	20,2±0,2	20,2±0,2	24,1±0,2	24,6±0,2	24,3±0,2	25,6±0,3	21,2±0,2	21,6±0,2	22,4±0,2		
Hal 21	18,7±0,2	19,4±0,2	19,8±0,2	19,0±0,2	25,2±0,2	25,0±0,2	25,0±0,2	24,4±0,2	19,8±0,2	21,2±0,2	19,8±0,2		
Hal 43	19,0±0,2	18,4±0,2	18,8±0,2	19,2±0,2	23,0±0,2	23,7±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	22,1±0,2	22,1±0,2	23,0±0,2		
Hal 45	19,6±0,2	19,8±0,2	18,8±0,2	19,6±0,2	23,4±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	23,0±0,2	23,4±0,2	21,4±0,2	22,5±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	19,8±0,2	20,0±0,2	19,4±0,2	19,6±0,2	24,4±0,2	25,0±0,2	24,4±0,2	23,0±0,2	20,2±0,2	20,6±0,2	19,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	20,1±0,2	23,2±0,2	19,8±0,2	22,4±0,2	24,8±0,2	24,8±0,2	25,0±0,2	24,5±0,2	24,6±0,2	25,8±0,3	23,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	23,5±0,2	23,5±0,2	24,0±0,2	23,8±0,2	26,9±0,3	29,6±0,3	25,5±0,3	27,3±0,3	23,9±0,2	24,0±0,2	24,4±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	15,6±0,1	15,8±0,1	15,6±0,1	16,0±0,2	16,7±0,2	16,0±0,2	16,1±0,2	16,0±0,2	15,8±0,1	15,3±0,1	16,2±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	0	17,3±0,2	0	17,8±0,2	20,1±0,2	19,8±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	18,5±0,2	17,2±0,2	0		
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	17,0±0,2	17,8±0,2	0	16,0±0,2	18,8±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	17,4±0,2	17,0±0,2	0		



Таблиця 2

Зони відсутності росту виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних бактерій (мм)
за впливу чорноморських актинобактерій

Table 2

Zones of no growth of strains of phytopathogenic bacteria isolated from affected cereal plants (mm) under the influence
of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Xanthomonas arboricola</i>					<i>Pectobacterium carotovorum</i> W5
	W1	W2	B3	B4	B5	
Hal 11	24,7±0,2	20,8±0,2	19,5±0,2	22,8±0,2	18,3±0,2	18,3±0,2
Hal 14	23,3±0,2	21,3±0,2	20,2±0,2	22,3±0,2	17,7±0,2	17,7±0,2
Hal 15	18,3±0,2	19,8±0,2	19,0±0,2	18,7±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2
Hal 21	20,0±0,2	20,0±0,2	21,4±0,2	20,7±0,2	19,7±0,2	19,7±0,2
Hal 43	25,3±0,2	24,4±0,2	23,8±0,2	24,1±0,2	20,2±0,2	20,2±0,2
Hal 45	19,1±0,2	20,0±0,2	21,3±0,2	20,5±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	20,4±0,2	19,8±0,2	19,8±0,2	20,2±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	23,8±0,2	24,4±0,2	22,4±0,2	23,6±0,2	21,4±0,2	21,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	25,7±0,3	24,4±0,2	25,7±0,3	25,3±0,2	22,7±0,2	22,7±0,2
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,6±0,2	16,8±0,2	16,6±0,2	16,0±0,2	15,8±0,1	15,8±0,1
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	17,2±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	15,3±0,2	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	17,5±0,2	17,6±0,2	16,8±0,2	0	0	0



S. ambofaciens ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 розміри зон відсутності росту фітопатогенних бактерій були найбільшими і перевищували 20,0 мм. Доволі активними є актинобактерії, виділені із губок (Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45). За дії їх метаболітів розміри зон відсутності росту фітопатогенних бактерій теж були доволі значними. Найменшу активність продемонстрував штамп *Streptomyces* sp. Conc 32, виділений із біологічних обростань бетону. Цей штамп пригнічував ріст усіх досліджених бактерій, але зони відсутності їх росту не перевищували 17,0 мм.

Штами актинобактерій *Streptomyces* sp. Conc 10 і *Streptomyces* sp. ONU 1028, виділені, відповідно, із обростань бетону і черепашнику, були активніші за *Streptomyces* sp. Conc 32, проте менш активні за штами, виділені із губок та мідій і пригнічували ріст не всіх штамів фітопатогенних бактерій.

Схожі результати були отримані при дослідженні антагоністичної активності актинобактерій проти фітопатогенних грибів. Була досліджена чутливість колекційних штамів грибів і штамів грибів, виділених із уражених злакових рослин. Розміри зон відсутності росту колекційних штамів грибів визначені у доволі широкому діапазоні від 16,0±0,2 мм до 33,5±0,3 мм, ізольованих штамів – від 15,0±0,1 мм до 29,3±0,3 мм. Найчутливішими із колекційних штамів грибів були *Paecilomyces variotii* ONU F 28, *Penicillium expansum* ONU F 29, зони відсутності росту яких перевищували 23,0 мм за впливу більшості актинобактерій, які проявили до них антагоністичну активність. Штами *Alternaria alternata* ONU F 23, *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, *Fusarium oxysporum* ONU F 27 виявилися найстійкішими (розміри зон відсутності їх росту були менші 22,0 мм).

У попередніх дослідженнях щодо визначення природи інфекційних агентів уражених злакових рослин нами було встановлено переважаання міцеліальних грибів, серед яких лєвова частка ідентифікована як *Fusarium oxysporum*, серед виділених були штами *Sclerotinia sclerotiorum* і *Alternaria alternata* [1, 27]. Найчутливішими із виділених були штами *S. sclerotiorum*, найстійкішими – окремі штами *F. oxysporum*. Наприклад, за дії метаболітів штаму *Actinobacteria* Hal 13 розмір зони відсутності росту *F. oxysporum* B25 склав 15,0±0,1 мм, за дії *Actinobacteria* Hal 31 зона відсутності росту *F. oxysporum* B22 була 15,3±0,1 мм. Загалом, розміри зон відсутності росту патогенних фузарій коливалися в широких межах від 15,0±0,1 мм до 25,7±0,3 мм.

У таблицях 3 і 4 наведено результати визначення антагоністичного впливу найбільш активних штамів актинобактерій на окремі штами фітопатогенних грибів.

Найактивнішими проти фітопатогенних грибів (колекційних і виділених із уражених рослин) були актинобактерії із губок (*Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45) та із мідій (*Streptomyces ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8), які з різною інтенсивністю пригнічували ріст усіх досліджених штамів. Штами із біологічних обростань бетону (*Streptomyces* spp. Conc 10, Conc 32) і черепашнику (*Streptomyces* sp. ONU 1028) також пригнічували ріст усіх штамів грибів, але розміри зон відсутності росту були меншими, ніж за дії актинобактерій із губок і мідій.



Таблиця 3
Зони відсутності росту колекційних штамів фітопатогенних грибів (мм) за впливу чорноморських актинобактерій
Table 3
Zones of no growth of collection strains of phytopathogenic fungi (mm) under the influence of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	Штам колекційних грибів										
	ONU F 23	ONU F 25	ONU F 31	ONU F 32	ONU F 26	ONU F 27	ONU F 28	ONU F 29			
Hal 11	18,2±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	20,0±0,2	16,8±0,2	17,8±0,2	23,8±0,2	23,6±0,2			
Hal 14	20,8±0,2	22,5±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	16,0±0,2	18,2±0,2	22,8±0,2	23,4±0,2			
Hal 15	18,2±0,2	18,8±0,2	21,3±0,2	21,8±0,2	18,3±0,2	21,8±0,2	23,4±0,2	23,4±0,2			
Hal 21	19,6±0,2	21,7±0,2	21,7±0,2	20,9±0,2	16,0±0,2	20,4±0,2	23,8±0,2	23,1±0,2			
Hal 43	22,3±0,2	22,6±0,2	24,1±0,2	20,9±0,2	18,0±0,2	19,8±0,2	30,2±0,3	31,4±0,3			
Hal 45	21,5±0,2	21,8±0,2	28,5±0,3	27,9±0,3	16,2±0,2	20,7±0,2	33,5±0,3	32,0±0,3			
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	16,4±0,2	23,6±0,2	20,0±0,2	20,8±0,2	16,5±0,2	19,4±0,2	22,4±0,2	22,0±0,2			
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	20,2±0,2	22,7±0,2	22,2±0,2	23,6±0,2	16,0±0,2	21,7±0,2	24,0±0,2	23,2±0,2			
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	21,4±0,2	21,5±0,2	23,5±0,2	23,2±0,2	16,0±0,2	21,7±0,2	23,8±0,2	23,8±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,4±0,2	16,4±0,2	16,7±0,2	18,0±0,2	16,0±0,2	16,7±0,2	19,1±0,2	16,2±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	17,0±0,2	16,4±0,2	16,7±0,2	17,7±0,2	16,2±0,2	16,9±0,2	18,7±0,2	17,9±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	16,0±0,2	17,3±0,2	16,3±0,2	18,0±0,2	16,7±0,2	16,7±0,2	19,4±0,2	17,1±0,2			

Примітка: ONU F 23 – *Alternaria alternata* ONU F 23; ONU F 25 – *Aspergillus niger* ONU F 25; ONU F 31 – *Aspergillus flavus* ONU F 31; ONU F 32 – *Aspergillus terreus* ONU F 32, ONU F 26 – *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, ONU F 27 – *Fusarium oxysporum* ONU F 27, ONU F 28 – *Paecilomyces variotii* ONU F 28, ONU F 29 – *Penicillium expansum* ONU F 29

Note: ONU F 23 – *Alternaria alternata* ONU F 23; ONU F 25 – *Aspergillus niger* ONU F 25; ONU F 31 – *Aspergillus flavus* ONU F 31; ONU F 32 – *Aspergillus terreus* ONU F 32, ONU F 26 – *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, ONU F 27 – *Fusarium oxysporum* ONU F 27, ONU F 28 – *Paecilomyces variotii* ONU F 28, ONU F 29 – *Penicillium expansum* ONU F 29

Таблиця 4

Зони відсутності росту виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних грибів (мм)
за впливу чорноморських актинобактерій

Table 4

Zones of no growth of strains of phytopathogenic fungi isolated from affected cereal plants (mm) under the influence
of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Fusarium oxysporum</i>										<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>				<i>Alternaria alternata</i> W46
	B1	B5	B11	B16	B17	B22	B27	B30	B51	B63	W66				
Hal 11	17,0±0,2	17,6±0,2	18,0±0,2	22,2±0,2	17,4±0,2	17,0±0,2	17,2±0,2	22,0±0,2	22,3±0,2	24,4±0,2	20,8±0,2	20,8±0,2	17,8±0,2		
Hal 14	18,4±0,2	17,9±0,2	17,6±0,2	17,6±0,2	18,2±0,2	19,0±0,2	17,8±0,2	17,6±0,2	22,9±0,2	20,8±0,2	21,6±0,2	21,6±0,2	18,2±0,2		
Hal 15	19,8±0,2	18,4±0,2	21,3±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	19,8±0,2	20,6±0,2	18,8±0,2	23,6±0,2	23,6±0,2	21,6±0,2	21,6±0,2	18,8±0,2		
Hal 21	19,2±0,2	20,0±0,2	20,8±0,2	19,8±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	18,6±0,2	20,6±0,2	23,6±0,2	22,8±0,2	23,0±0,2	23,0±0,2	19,0±0,2		
Hal 43	23,8±0,2	20,5±0,2	22,8±0,2	23,2±0,2	24,4±0,2	24,4±0,2	19,8±0,2	20,8±0,2	25,6±0,3	26,6±0,3	23,8±0,2	23,8±0,2	19,0±0,2		
Hal 45	20,2±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	20,6±0,2	20,2±0,2	21,8±0,2	22,0±0,2	23,4±0,2	29,3±0,3	27,2±0,3	27,2±0,3	27,2±0,3	19,4±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	20,0±0,2	18,6±0,2	18,6±0,2	19,4±0,2	20,2±0,2	18,0±0,2	18,8±0,2	18,8±0,2	22,2±0,2	20,5±0,2	20,5±0,2	20,5±0,2	16,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	25,7±0,3	24,3±0,2	25,2±0,2	24,8±0,2	25,7±0,3	23,3±0,2	22,9±0,2	23,4±0,2	27,8±0,3	26,9±0,3	26,4±0,3	26,4±0,3	20,0±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	24,8±0,2	24,3±0,2	25,0±0,2	24,6±0,2	25,7±0,3	25,7±0,3	24,8±0,2	24,8±0,2	28,4±0,3	28,4±0,3	26,4±0,3	26,4±0,3	20,0±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,7±0,2	17,2±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	20,4±0,2	19,5±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	17,2±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	16,7±0,2	16,7±0,2	17,3±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	17,0±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	16,8±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	16,7±0,2	16,7±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	17,0±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	19,8±0,2	20,4±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	16,8±0,2		



Загалом, порівнюючи чутливість колекційних і виділених із уражених рослин бактерій і грибів до дії актинобактерій, зауважимо, що ізольовані штами є більш стійкими. На наш погляд, це пов'язано із необхідністю у навколишньому середовищі, в умовах пресингу і активної конкуренції, формувати механізми резистентності. Окрім цього, штами ізольованих фітопатогенних бактерій стійкіші до метаболітів актинобактерій, у порівнянні із виділеними штамами грибів. Щодо актинобактерій, то активнішими до усіх досліджених фітопатогенів були штами, виділені із біотичних джерел (губок і мідій), що також можна пояснити необхідністю запускати метаболічні процеси, результатом яких є синтез вторинних метаболітів з антагоністичною активністю.

Прояв антагоністичної активності бактерій, як неодноразово було показано у численних дослідженнях багатьох науковців, і отримані нами результати це підтверджують, залежить від багатьох чинників, серед яких конкретні штами збудника захворювання і антагоніста, умови культивування антагоніста, умови проведення експерименту тощо [5, 30]. За результатами, отриманими при проведенні досліджень, було відібрано 8 штамів (*Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561), 2 із яких, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, були найбільш активними проти всіх штамів фітопатогенних мікроорганізмів.

Основними збудниками інфекційних хвороб злакових культур, що вирощується на угіддях південного регіону України, у 2021–2023 рр. були гриби *F. oxysporum* [1, 26]. Згідно інформації, оприлюдненої на сайті U. S. Wheat & Barley Scab Initiative (USWBSI), останніми роками у світі швидко поширюються і викликають численні захворювання сільськогосподарських рослин такі види фузарій як *Fusarium graminearum* та *F. oxysporum*, які ще недавно були притаманні лише Північній Америці, де вони інфікували тільки зернові культури [31]. Про збільшення кількості випадків ураження рослин грибами *F. oxysporum* свідчать також відповідні публікації у наукових виданнях [9, 22, 23].

При оцінці антагоністичного потенціалу відібраних штамів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо виділених із уражених рослин *F. oxysporum* встановлено, що всі штами фузарій виявилися чутливими (рис. 2).

Зони відсутності росту понад 80,0% виділених штамів фузарій перевищували 20,0 мм під впливом відібраних штамів стрептоміцетів.

За літературними даними, представники роду *Streptomyces* є одними із найбільш ефективних агентів біоконтролю фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів роду *Fusarium*, що пояснює пошук і скринінг антагоністично активних штамів стрептоміцетів як основи біопестицидів для агропромисловості [17, 18, 20].

Відомо, що багато антибіотиків, які синтезують стрептоміцети, можуть накопичуватися в міцелії і їх активність можна виявити після екстрагування [3, 6].

Тому наступним етапом досліджень було визначення антагоністичної активності і встановлення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) ек-

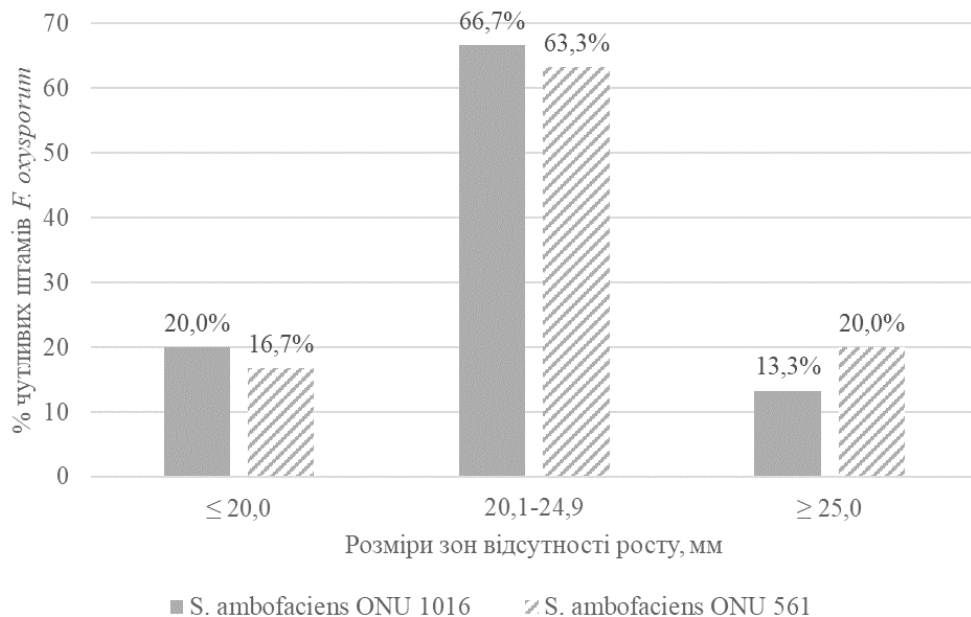


Рис. 2. Антагоністична активність *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проти виділених штамів *F. oxysporum*

Fig. 2. Antagonistic activity of *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against isolated strains of *F. oxysporum*

трагованих вторинних метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо штамів грибів *F. oxysporum*.

У контрольних варіантах досліджу спостерігали активний ріст усіх штамів *F. oxysporum*. І колекційний, і виділені із уражених рослин штами фузарій проявили чутливість до екстрагованих вторинних метаболітів обох штамів *S. ambofaciens*. Зони відсутності росту грибів коливалися у широких межах і залежали, передусім, від штамів фузарій, стрептоміцету, концентрації екстрактів і терміну обліку результатів, що не суперечить результатам аналогічних досліджень [8, 13].

Враховуючи особливості росту грибів (тривалість lag-фази, швидкість росту), антагоністичний вплив екстрагованих метаболітів обох штамів стрептоміцетів на всі штами фузарій спостерігали, починаючи з 3-ї доби.

Колекційний штам *F. oxysporum* ONU F 27 виявив чутливість до метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561, починаючи з концентрацій 100 мкг/мл і 250 мкг/мл, відповідно, зони відсутності його росту при цьому склали $6,33 \pm 0,02$ мм. Збільшення концентрації метаболітів до 1000 мкг/мл не призвело до більш ранньої появи зони відсутності росту штаму, але вплинуло на її розміри, які склали $9,33 \pm 0,02$ мм (за дії екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016) і $7,66 \pm 0,02$ мм (*S. ambofaciens* ONU 561) на 3 добу. За дії такої концентрації екстрагованих метаболітів обох штамів зона відсутності росту збільшувалася і досягла максимуму ($15,66 \pm 0,02$ мм і $10,00 \pm 0,01$ мм, відповідно) на 6-ту добу спостережень.



Виділені із уражених злакових рослин штами *F. oxysporum* також проявили різну чутливість до екстрагованих вторинних метаболітів у досліджених концентраціях.

У таблиці 5, як приклад, наведено результати виміру розмірів зон відсутності росту штамів фузарій за впливу екстрактів стрептоміцетів у концентраціях 500 мкг/мл і 1000 мкг/мл на 3 і 6 добу спостережень. За впливу екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 у концентрації 500 мкг/мл розміри зон відсутності росту виділених фузарій коливалися від $6,33 \pm 0,02$ мм (на 3 добу) до $12,66 \pm 0,02$ мм (на 6 добу). У колекційного штаму, відповідно від $9,33 \pm 0,02$ мм до $14,66 \pm 0,02$ мм. При збільшенні концентрації екстрактів до 1000 мкг/мл, розміри зон відсутності росту виділених фузарій у більшості випадків також збільшилися. За дії такої концентрації екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 найбільша зона відсутності росту визначена для штаму *F. oxysporum* W26 ($14,33 \pm 0,02$ мм) на 6 добу спостережень. Для колекційного штаму цей показник склав $15,66 \pm 0,02$ мм. Менша антагоністична активність виявлена у екстрагованих метаболітів штаму *S. ambofaciens* ONU 561. Не всі виділені із уражених рослин фузарії виявилися чутливими до екстрактів цього штаму у концентрації 500 мкг/мл. Збільшення концентрації у 2 рази посилило антагоністичний ефект екстрактів цього штаму. Так, наприклад, зона відсутності росту *F. oxysporum* W13 досягла $15,00 \pm 0,01$ мм (на 6 добу). Штами *F. oxysporum* B2, B3 і B22, які були стійкими до екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 у концентрації 500 мкг/мл протягом всього терміну спостережень (10 діб), виявилися чутливими до їх дії у концентрації 1000 мкг/мл.

У більшості випадків найкращий антагоністичний ефект, що виявлявся у розмірах зон відсутності росту, реєстрували на 5–6 добу обліку результатів без суттєвих змін на кінець терміну спостережень.

Визначення мінімальної інгібуючої (пригнічувальної) концентрації (МІК) екстрагованих вторинних метаболітів обох штамів показало, що цей показник для екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016 був у діапазоні 250 мкг/мл – 500 мкг/мл, для екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 – 250 мкг/мл – 1000 мкг/мл (рис. 3).

За отриманими результатами встановлено, що для однієї половини штамів *F. oxysporum*, виділених із уражених рослин, МІК екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 склала 250 мкг/мл, для іншої – 500 мкг/мл. Для половини штамів фузарій МІК екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 склав – 500 мкг/мл, для 40,0% штамів – 250 мкг/мл, 20,0% штамів – 1000 мкг/мл. МІК екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 для колекційного штаму *F. oxysporum* ONU F 27 була меншою і склала 100 мкг/мл і 250 мкг/мл, відповідно.

Отже, підсумовуючи отримані результати, можемо констатувати, що досліджені штами актинобактерій, виділені із біотопів Одеської затоки Чорного моря, є антагоністично активними проти фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів *F. oxysporum*, збудників хвороб злакових рослин. Кращу активність проявили актинобактерії, виділені із губок і мідій,



Таблиця 5
Table 5

Зони відсутності росту штамів *F. oxysporum* (мм) за дії екстрагованих метаболітів стрептоміцетів
Zones of no growth of *F. oxysporum* strains (mm) under the action of extracted streptomycetes metabolites

Штам <i>F. oxysporum</i>	<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016						<i>S. ambofaciens</i> ONU 561					
	500 мкг/мл		1000 мкг/мл		1000 мкг/мл		500 мкг/мл		1000 мкг/мл		1000 мкг/мл	
	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба
1	2	3	4	5	6	7	8	9				
B1	6,33±0,02	9,00±0,01	10,00±0,01	11,66±0,02	6,0±0,01	6,66±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	8,33±0,02	8,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02
B2	6,33±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	9,33±0,02	0,00	0,00	6,33±0,02	7,66±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	7,66±0,02
B3	6,00±0,01	7,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	0,00	0,00	7,33±0,02	8,66±0,02	7,33±0,02	7,33±0,02	7,33±0,02	9,00±0,01
B4	8,33±0,02	10,00±0,01	9,66±0,02	10,66±0,03	7,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02
B5	8,66±0,02	9,00±0,01	9,00±0,01	9,66±0,02	7,66±0,02	8,33±0,02	9,00±0,01	9,66±0,02	9,00±0,01	9,00±0,01	9,00±0,01	9,66±0,02
W6	8,66±0,02	9,33±0,02	9,33±0,02	10,00±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,00±0,03	7,66±0,02	7,00±0,03	7,00±0,03	7,00±0,03	7,66±0,02
W7	8,33±0,02	9,33±0,02	9,00±0,02	9,33±0,02	7,33±0,03	7,66±0,03	8,33±0,03	8,66±0,02	8,33±0,03	8,33±0,03	8,33±0,03	10,33±0,02
B8	9,33±0,03	9,33±0,02	10,33±0,02	10,33±0,02	8,66±0,02	11,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01	12,66±0,03	12,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01
B9	8,33±0,03	9,33±0,03	11,00±0,01	13,00±0,01	7,33±0,02	7,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02
B10	9,66±0,02	11,66±0,03	11,33±0,02	12,00±0,02	10,33±0,03	11,00±0,01	13,33±0,02	14,66±0,02	13,33±0,02	13,33±0,02	13,33±0,02	14,66±0,02
B11	6,66±0,02	8,33±0,03	8,66±0,02	9,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,03
W12	6,33±0,02	7,66±0,02	10,33±0,02	10,33±0,02	6,33±0,02	8,00±0,02	12,66±0,03	13,00±0,01	12,66±0,03	12,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01
W13	6,66±0,02	7,66±0,02	7,33±0,02	10,33±0,02	8,66±0,02	12,33±0,02	15,00±0,01	15,00±0,01	11,33±0,02	11,33±0,02	11,33±0,02	15,00±0,01



Продовження таблиці 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
W14	8,66±0,03	11,66±0,03	11,33±0,02	13,33±0,02	7,66±0,02	8,66±0,03	11,66±0,03	13,00±0,01
W15	7,66±0,02	7,66±0,02	10,66±0,02	11,00±0,01	6,33±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02
B16	6,33±0,02	7,66±0,02	9,66±0,02	10,33±0,02	6,33±0,02	6,66±0,02	9,66±0,02	13,66±0,02
B17	7,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	9,00±0,01
B18	6,66±0,02	6,66±0,02	7,33±0,02	11,33±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	10,33±0,02
B19	7,66±0,02	7,66±0,02	10,66±0,02	11,00±0,01	6,33±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02
W20	8,66±0,02	12,66±0,02	10,66±0,02	12,66±0,02	9,66±0,02	12,00±0,01	12,00±0,01	12,00±0,01
W21	8,33±0,03	8,33±0,03	9,33±0,02	11,33±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	10,66±0,02	11,66±0,02
B22	6,00±0,01	7,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	0,00	0,00	7,33±0,02	9,00±0,01
W23	8,33±0,02	10,00±0,01	10,00±0,01	11,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02
W24	8,33±0,02	9,66±0,02	10,66±0,02	11,66±0,03	6,66±0,02	6,66±0,02	9,33±0,02	10,33±0,02
B25	8,66±0,02	10,66±0,02	10,66±0,02	13,66±0,02	10,66±0,02	12,00±0,01	10,66±0,02	12,00±0,01
W26	8,33±0,02	9,33±0,02	11,66±0,02	14,33±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	12,66±0,03
B27	8,33±0,02	9,66±0,02	12,33±0,02	13,33±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	10,66±0,02
B28	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	9,00±0,01
W29	10,66±0,02	12,33±0,02	11,66±0,02	12,66±0,02	9,66±0,02	10,00±0,01	10,33±0,02	10,33±0,02
B30	8,33±0,02	9,33±0,02	9,00±0,01	9,33±0,02	7,33±0,02	7,66±0,02	8,33±0,02	10,33±0,02
ONU F 27	9,33±0,02	14,66±0,02	9,33±0,02	15,66±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	7,66±0,02	10,00±0,01

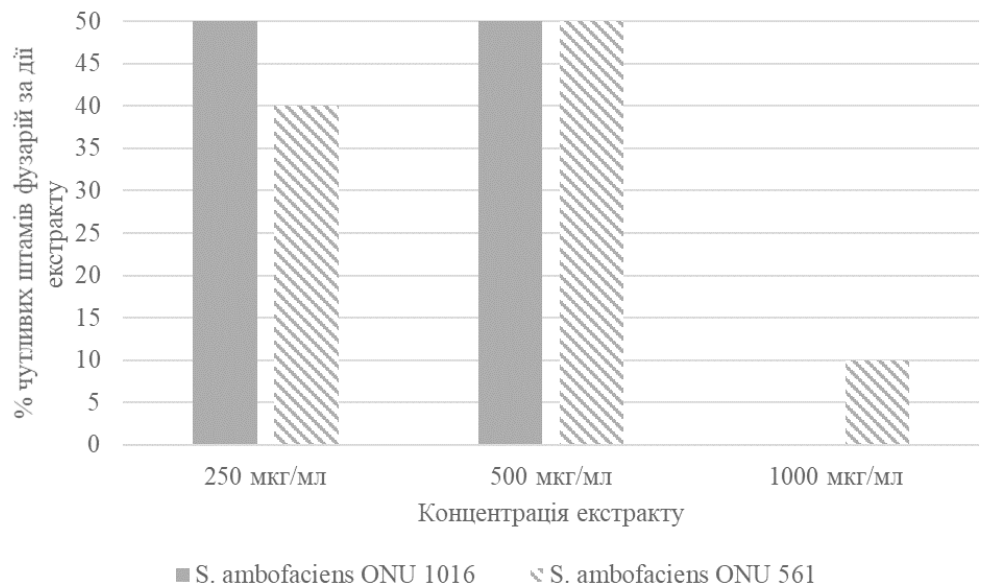


Рис. 3. Частка чутливих штамів виділених фузарій до екстрагованих вторинних метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561

Fig. 3. The proportion of sensitive strains of isolated fusarium to extracted secondary metabolites *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561

які пригнічували ріст більшості взятих у дослід фітопатогенних бактерій і грибів. Виявлена висока чутливість фітопатогенів до виділених із мідій штамів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 дозволяє рекомендувати їх для розробки мікробного препарату для захисту рослин від бактеріальних і грибних патогенів.

**O. V. Andriushchenko, I. V. Strashnova, T. V. Ivanytsia,
S. I. Rakytska, M. B. Galkin**

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF BLACK SEA ACTINOBACTERIA AGAINST PHYTOPATHOGENIC MICROORGANISMS

Summary

The biological method of plant protection is an environmentally safe and priority form in long-term programs to combat pathogens and one of the important tools for the transition to organic and ecological agriculture in Ukraine. **Aim.** To define the antagonistic activity of the Black Sea actinobacteria against phytopathogenic microorganisms. **Methods.** The antagonistic activity of 35 strains of actinobacteria isolated from different biotopes of the Odesa Bay of the Black Sea against collection



and isolated from affected cereal plants phytopathogenic microorganisms was determined by the block method after preliminary cultivation of actinobacteria on Gause 2 medium for 12 days at 28 ± 1 °C. The antagonistic activity of extracted secondary metabolites of *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against *Fusarium oxysporum* strains was determined by the disk-diffusion method. **Results.** Of the 35 studied, the growth of at least one strain of phytopathogenic bacteria and fungi was inhibited by 77.1% and 65.7% of actinobacterial strains, respectively. The sizes of the zones of no growth of sensitive collection strains of bacteria ranged from 15.3 ± 0.1 mm to 29.6 ± 0.3 mm, and of bacterial strains isolated from affected plants – from 14.5 ± 0.1 mm to 25.7 ± 0.3 mm under the action of antagonistically active actinobacteria. This indicator for collection strains of fungi was determined in the range from 16.0 ± 0.2 mm to 33.5 ± 0.3 mm, for isolated strains of fungi – from 15.0 ± 0.1 mm to 29.3 ± 0.3 mm. *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 showed the best activity against all strains of phytopathogenic microorganisms, in particular against *F. oxysporum* isolated from affected plants, the zones of no growth of more than 80.0% of the strains of which exceeded 20.0 mm. The extracted secondary metabolites of both *S. ambofaciens* strains inhibited the growth of the collection and isolated fusarium strains. The zones of no growth of fungi varied widely and depended, primarily, on the strains of fusarium, streptomyces, the concentration of extracts, and the period of recording the results. The minimum inhibitory concentrations of extracted metabolites of *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against the isolated strains of *F. oxysporum* were 250 µg/ml – 500 µg/ml and 250 µg/ml – 100 µg/ml, respectively. **Conclusions.** Actinobacterial strains isolated from sponges and mussels of the Odesa Bay of the Black Sea are antagonistically active against phytopathogenic microorganisms, in particular the fungi *F. oxysporum*. Collection strains of phytopathogens are more sensitive to the action of sea actinobacteria than strains isolated from affected plants. Strains *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561, which showed high antagonistic activity, can be recommended for the creation of a microbial preparation for protecting plants from bacterial and fungal pathogens.

Key words: antagonistic activity, the Black Sea actinobacteria, phytopathogenic microorganisms.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрющенко О., Страшнова І. Антагоністична активність ґрунтових штамів грибів роду *Trichoderma* щодо фітопатогенних мікроміцетів, виділених із уражених зернових рослин // Інновації у сучасному агропромисловому виробництві: Збірник матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. (Одеса, 21–22 вересня 2023 р.) [Електронне видання]. – 2023. – С. 118–123. <https://biotekhnika.od.ua/uk/diialnist/publikatsii/209-zbirnyk-materialiv-mnprk-innovatsiyi-u-suchasnomu-ahropromyslovomu-vyrobnytstvi>
2. Бараболя О. В. Використання біологічних препаратів у органічному землеробстві // Формування та перспективи розвитку підприємницьких структур в рамках інтеграції до європейського простору: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 24 березня 2021 р.). – 2021. – С. 24–26.



3. Білявська Л.О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рос-лин : дис. ... док. біол. наук : 03.00.07. Київ, 2018. – 485 с.
4. Страшнова І.В., Помапенко К.С., Коротаєва Н.В., Лісютін Г.В., Метеліцина І.П. Антагоністичні властивості чорноморських стрептоміцетів, виділених із обростань черепашнику і мідій // Мікробіологія і біотехнологія – 2022. – № 3 (56). – Р. 6–23. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)
5. Abdelrahman O., Yagi S., El Siddig M., El Hussein A., Germanier F. et al. Evaluating the antagonistic potential of actinomycete strains isolated from Sudan's soils against phytophthora infestans // Front. Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.827824>
6. Bernardi D.I., das Chagas F.O., Monteiro A.F., dos Santos G.F., de Souza Berlinck R.G. Secondary metabolites of endophytic actinomycetes: isolation, synthesis, biosynthesis, and biological activities / In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / Eds. A. D. Kinghorn, H. Falk, S. Gibbons, J. Kobayashi, Y. Asakawa, J.-K. Liu. – Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019. – Vol. 108. – P. 207–295. https://doi.org/10.1007/978-3-030-01099-7_3
7. Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Ouhdouch Y. et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review // Microbiological Research. – 2022. – Vol. 261. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>
8. Escalante-Réndiz D., de-la-Rosa-Garcia S., Tapia-Tussell R., Martin J., Reyes F. et al. Molecular identification of selected *Streptomyces* strains isolated from Mexican tropical soils and their anti-*Candida* activity // Int J Environ Res Public Health. – 2019. – V. 16 (11). – P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111913>
9. Gabrekiristos E., Demiyó T. Hot pepper fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. capsici): epidemics, characteristic features and management options // Journal of Agricultural Science. – 2020. – Vol. 12 (10). – P. 347–360. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n10p347>
10. Ivanytsia V.O., Shtenikov M.D., Strashnova I.V., Korotaieva N.V., Tytarenko N.V. et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic activity // Biosyst. Divers. – 2023. – V. 31 (4). – P. 451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>
11. Ivanytsia V.O., Gudzenko T.V., Gorshkova O.H., Korotaieva N.V., Strashnova I.V. et al. Antitumor and antimicrobial activity of exometabolites of Black Sea actinobacteria // Biopolym. Cell. – 2024. – Vol. 40 (3). – P. 233. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AD4>
12. Jagannathan S.V., Manemann E.M., Rowe S.E., Callender M.C., Soto W. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products // Mar. Drugs. – 2021. – Vol. 19. – P. 1–30. <https://doi.org/10.3390/md19070365>
13. Kunova A., Bonaldi M., Saracchi M., Pizzatti C., Chen X., Cortesi P. Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized



- dualculture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth // *BMC Microbiology*. – 2016. – V. 16. – P. 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0886-1>
14. *Lahlali R., Ezrari S., Radouane N., Kenfaoui J.; Esmael Q. et al.* Biological control of plant pathogens: a global perspective // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10. – P. 1–33. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
 15. *Ngamcharungchit C., Chaimusik N., Panbangred W., Euanorasetr J., Intra B.* Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28 (15). – P. 1–33.
<https://doi.org/10.3390/molecules28155915>
 16. *Paulus C., Rebets Y., Tokovenko B., Nadmid S., Terekhova L.P. et al.* New natural products identified by combined genomics-metabolomics profiling of marine *Streptomyces* sp. MP131-18 // *Scientific Reports*. – 2017. – 7 (1). – P. 42382.
 17. *Perez J.V., Serrano L., Viteri R., Sosa D., Romero C.A., Diez N.* Antarctic streptomyces: promising biocontrol agents for combating *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* // *Biotechnology Reports*. – 2024. – Vol. 43. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00852>
 18. *Qi D., Liu Q., Zou L., Zhang M., Li K. et al.* Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi // *Front. Microbiol.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>
 19. *Rante H., Manggau M.A., Alam G., Pakki E., Erviani A.E. et al.* Isolation and identification of Actinomycetes with antifungal activity from karts ecosystem in Maros-Pangkep, Indonesia // *Biodiversitas*. – 2024. – Vol. 25 (2). – P. 458–464. <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d250203>
 20. *Rejón-Martínez G.A., Ríos-Muñiz D.E., Contreras-Leal E.A., Evangelista-Martínez Z.* Antagonist activity of *Streptomyces* sp. Y20 against fungi causing diseases in plants and fruits // *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. – 2022. – Vol. 25 (049). – P. 1–9. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4179>
 21. *Ribeiro I., Girão M., Alexandrino D.A.M., Ribeiro T., Santos C.* Diversity and bioactive potential of actinobacteria isolated from a coastal marine sediment in Northern Portugal // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8 (11). – P. 1–16.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111691>
 22. *Rouzbeh M., Baradaran G. R.* Fungi associated with root and crown rot of wheat in the Kerman province of Iran // *Plant Protection*. – 2020. – Vol. 04 (01). – P. 29–34. <https://doi.org/10.33804/pp.004.01.3207>
 23. *Sahu A. K., Kumari P., Mitra B.* Fusarium induced anatomical and biochemical alterations in wild type and DPA-treated wheat seedlings // *J Pure Appl Microbiol.* – 2024. – Vol. 18 (1). – P. 229–242.
<https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.06>
 24. *Salwan R., Sharma V.* Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria // *Microbiological Research*. – 2020. – Vol. 231. – P. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126374>
 25. *Silva G.C., Kitano I.T., Ribeiro I.A.F., Lacava P.T.* The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture // *Front.*



- Soil Sci. – 2022. – V. 2. – P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.833181>
26. *Strashnova I.V., Andriuschenko O.V.* Antimicrobial activity of soil bacilli against phytopathogenic microorganisms isolated from affected cereal plants // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2023. – № 2 (58). – С. 6–16. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2\(58\).286959](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2(58).286959)
27. *Strashnova I., Andriuschenko O., Vasylieva N., Shtnenikov M., Korotaieva N.* Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria // *Absract book of 9th International Weigl Conference, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024.* – P. 53–54.
28. *Strashnova I.V., Mashkova A.K., Lisiutin G.V., Ivanytsia T.V.* Antagonistic activity of actinobacteria isolated from sponges *Haliclona* spp. Odesa Bay // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2024. – № 2 (61). – С. 69–78. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2\(61\).310136](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2(61).310136)
29. *Subramani R., Sipkema D.* Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products // *Mar. Drugs*. – 2019. – Vol. 17 (5). – P. 1–40. <https://doi.org/10.3390/md17050249>
30. *Tian L., Hu S., Wang X., Guo Y., Huang L. et al.* Antagonism of rhizosphere *Streptomyces yangpuensis* CM253 against the pathogenic fungi causing corn rot in saffron (*Crocus sativus* L.) // *Pathogens*. – 2022. – Vol. 11. – P. 1–18. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n10p347>
31. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://scabusa.org/home-page&ved=2ahUKEwj2wa7Uhe6JAxVkJBAIH evcOqYQFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw1LbTDDWxy7v2zqC-EVqzhi>

REFERENCES

1. Andriuschenko O, Strashnova I. Antagonistic activity of soil strains of fungi of the genus *Trichoderma* against phytopathogenic micromycetes isolated from affected grain plants. *Innovations in modern agro-industrial production: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference* (Odesa, September 21–22, 2023) [Electronic edition]. 2023: 118–123 [in Ukrainian].
2. Barabolia OV. Use of biological preparations in organic farming. *Formation and prospects for the development of business structures within the framework of integration into the European space: Materials of the IV International Scientific and Practical Conference* (Poltava, March 24, 2021). 2021: 24–26 [in Ukrainian].
3. Bilyavs'ka LO. Actinobacteria of the genus *Streptomyces* and their metabolites in plant bioregulation: dis. ... doc. biol. nauk. Kyiv. 2018: 485 [in Ukrainian].
4. Strashnova IV, Potapenko KS, Korotaeva NV, Lisyutin GV, Metelitsyna IP. Antagonistic activity of the Black Sea streptomycetes isolated from the fouling of shell rock and mussels. *Microbiology and biotechnology*. 2022; 3(56): 6–23. [in Ukrainian]. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)
5. Abdelrahman O, Yagi S, El Siddig M, El Hussein A, Germanier F et al. Evaluating the antagonistic potential of actinomycete strains isolated from Sudan's soils against *Phytophthora infestans*. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.827824>



6. Bernardi DI, das Chagas FO, Monteiro AF, dos Santos GF, de Souza Berlink RG. Secondary metabolites of endophytic actinomycetes: isolation, synthesis, biosynthesis, and biological activities. *In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Eds. AD Kinghorn, H Falk, S Gibbons, J Kobayashi, Y Asakawa, J-K Liu. – Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019; 108: 207–295. https://doi.org/10.1007/978-3-030-01099-7_3
7. Boubekri K, Soumare A, Mardad I, Lyamlouli K, Ouhdouch Y et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review. *Microbiological Research*. 2022; 261: 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>
8. Escalante-Réndiz D, de-la-Rosa-Garcia S, Tapia-Tussell R, Martin J, Reyes F et al. Molecular identification of selected *Streptomyces* strains isolated from Mexican tropical soils and their anti-*Candida* activity. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(11): 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111913>
9. Gabrekiristos E, Demiyio T. Hot pepper fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. capsici): epidemics, characteristic features and management options. *Journal of Agricultural Science*. 2020; 12(10): 347–360. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n10p347>
10. Ivanytsia VO, Shtenikov MD, Strashnova IV, Korotaieva NV, Tytarenko NV et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic activity. *Biosyst. Divers*. 2023; 31(4): 451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>
11. Ivanytsia VO, Gudzenko TV, Gorshkova OH, Korotaieva NV, Strashnova IV et al. Antitumor and antimicrobial activity of exometabolites of Black Sea actinobacteria. *Biopolym. Cell*. 2024; 40(3): 233. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AD4>
12. Jagannathan SV, Manemann EM, Rowe SE, Callender MC, Soto W. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products. *Mar. Drugs*. 2021; 19: 1–30. <https://doi.org/10.3390/md19070365>
13. Kunova A, Bonaldi M, Saracchi M, Pizzatti C, Chen X, Cortesi P. Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized dualculture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth. *BMC Microbiology*. 2016; 16: 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0886-1>
14. Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, Esmaeel Q et al. Biological control of plant pathogens: a global perspective. *Microorganisms*. 2022; 10: 1–33. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
15. Ngamcharungchit C, Chaimusik N, Panbangred W, Euanorasetr J, Intra B. Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules*. 2023; 28(15): 1–33. <https://doi.org/10.3390/molecules28155915>
16. Paulus C, Rebets Y, Tokovenko B, Nadmid S, Terekhova LP et al. New natural products identified by combined genomics-metabolomics profiling of marine *Streptomyces* sp. MP131-18. *Scientific Reports*. 2017; 7(1): 42382.
17. Perez JV, Serrano L, Viteri R, Sosa D, Romero CA, Diez N. Antarctic streptomyces: promising biocontrol agents for combating *Fusarium*



- oxysporum* f. sp. *cubense*. *Biotechnology Reports*. 2024; 43: 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00852>
18. Qi D, Liu Q, Zou L, Zhang M, Li K et al. Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi. *Front. Microbiol.* 2024; 15: 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>
 19. Rante H, Manggau MA, Alam G, Pakki E, Erviani AE et al. Isolation and identification of Actinomycetes with antifungal activity from karts ecosystem in Maros-Pangkep, Indonesia. *Biodiversitas*. 2024; 25(2): 458–464.
<http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d250203>
 20. Rejón-Martínez GA, Ríos-Muñiz DE, Contreras-Leal EA, Evangelista-Martínez Z. Antagonist activity of *Streptomyces* sp. Y20 against fungi causing diseases in plants and fruits. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2022; 25(049): 1–9. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4179>
 21. Ribeiro I, Girão M, Alexandrino DAM., Ribeiro T, Santos C. Diversity and bioactive potential of actinobacteria isolated from a coastal marine sediment in Northern Portugal. *Microorganisms*. 2020; 8(11): 1–16.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111691>
 22. Rouzbeh M, Baradaran GR. Fungi associated with root and crown rot of wheat in the Kerman province of Iran. *Plant Protection*. 2020; 04 (01): 29–34. <https://doi.org/10.33804/pp.004.01.3207>
 23. Sahu AK, Kumari P, Mitra B. Fusarium induced anatomical and biochemical alterations in wild type and DPA-treated wheat seedlings. *J Pure Appl Microbiol.* 2024; 18(1): 229–242. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.06>
 24. Salwan R, Sharma V. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. *Microbiological Research*. 2020; 231: 1–18.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126374>
 25. Silva GC, Kitano IT, Ribeiro IAF, Lacava PT. The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Front. Soil Sci.* 2022; 2: 1–20. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.833181>
 26. Strashnova IV, Andriuschenko OV. Antimicrobial activity of soil bacilli against phytopathogenic microorganisms isolated from affected cereal plants. *Microbiology and biotechnology*. 2023; 2(58): 6–16.
[http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2\(58\).286959](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2(58).286959)
 27. Strashnova I, Andriuschenko O, Vasylieva N, Shtnenikov M, Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. *Absract book of 9th International Weigl Conference, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024*: 53–54.
 28. Strashnova IV, Mashkova AK, Lisiutin GV, Ivanytsia TV. Antagonistic activity of actinobacteria isolated from sponges *Haliclona* spp. Odesa Bay. *Microbiology and biotechnology*. 2024; 2(61): 69–78.
[https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2\(61\).310136](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2(61).310136)
 29. Subramani R, Sipkema D. Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. *Mar. Drugs*. 2019; 17(5): 1–40. <https://doi.org/10.3390/md17050249>



30. Tian L, Hu S, Wang X, Guo Y, Huang L et al. Antagonism of rhizosphere *Streptomyces yangpuensis* CM253 against the pathogenic fungi causing corm rot in saffron (*Crocus sativus* L.). *Pathogens*. 2022; 11: 1–18.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11101195>
31. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://scabusa.org/home-page&ved=2ahUKEwj2wa7Uhe6JAxVkGBAIH evcOqYQFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw1LbTDDWxy7v2zqC-EVqzhi>

Стаття надійшла до редакції 26.11.2024 р.

