

А.А. Рой, Е.С. Харкевич

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины, ул. акад. Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина,
e-mail: allroy@ukr.net

МИКОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩИХ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* SОНН

Цель. Исследование хитинолитической активности у фосфатмобилизирующих почвенных бактерий рода *Bacillus*, а также их антагонистических свойств к микроскопическим грибам. **Методы.** В работе исследованы 16 штаммов фосфатмобилизирующих почвенных бактерий рода *Bacillus* и штаммы микромицетов – сапрофитов и фитопатогенов. Для определения антагонистической активности бацилл к микромицетам применяли метод блоков и лунок, используя как культуры бацилл, выращенные на агаризованной питательной среде, так и их супернатанты. Степень угнетения роста грибов при совместном культивировании с бациллами в статических условиях в жидкой питательной среде определяли гравиметрически по разности абсолютно сухого веса мицелия в контроле и опыте. Хитинолитическую активность бацилл определяли по образованию редуцирующих сахаров при гидролизе коллоидного хитина с использованием 3,5–динитросалициловой кислоты фотокolorиметрически. При статистической обработке полученных данных использовали критерий Стьюдента для 5%-ного уровня значимости. **Результаты.** Установлено наличие хитинолитической активности у всех исследованных бацилл в среде с коллоидным хитином. Штаммы, проявившие высокую хитинолитическую активность (*B. megaterium* 16, *B. pumilus* 7, *B. cereus* v. *tyusoides* 10), также обладали высокой антагонистической активностью к фитопатогенным грибам (*Fusarium oxysporum* 54 и *Trichothecium roseum* 658). Бациллы способны использовать автоклавированный мицелий грибов в качестве единственного источника углерода и азота. При совместном культивировании микроскопических грибов с бактериями в статических условиях отмечены угнетение роста и наличие морфологических изменений – образование вздутий и зон лизиса мицелия. **Выводы.** Показано, что фосфатмобилизирующие штаммы почвенных бактерий рода *Bacillus* проявляют хитинолитическую активность, а также угнетают рост грибов-фитопатогенов и вызывают их морфологические изменения при совместном культивировании. Установлена прямая зависимость между антагонистической и хитинолитической активностью у бацилл. На примере *B. cereus* v. *tyusoides* 10 показана способность бацилл использовать автоклавированный мицелий грибов в качестве единственного источника углерода и азота.

Ключевые слова: хитинолитическая и антагонистическая активность, р. *Bacillus*, микромицеты.



В последнее время ведется интенсивный поиск альтернативных экологически безопасных способов защиты растений, одним из направлений которого является использование препаратов на основе микроорганизмов. Представители рода *Bacillus* являются перспективными для биологического контроля, обладая способностью продуцировать не только миколитические ферменты, но и ряд веществ, специфически угнетающих синтез клеточной стенки грибов и нарушающих проницаемость клеточных мембран [1, 11, 15]. Антифунгальную активность бактерий часто ассоциируют с наличием ферментов, гидролизующих хитин – один из основных компонентов клеточной стенки грибов [9]. Так, отмечают антагонистическую активность изолятов рода *Bacillus* к микромицетам, которые поражают зерновые культуры (степень подавления патогенов 26,7–79,6%). Причем все исследованные изоляты продуцировали хитиназы [13]. Известно, что штаммы *Paenibacillus polymyxa* характеризовались антигрибной, фосфатрастворяющей активностью, а также способностью усиливать рост растений [14]. Выделенные нами ранее фосфатмобилизирующие штаммы бактерий рода *Bacillus* используют труднорастворимые неорганические и органические соединения фосфора, проявляют антагонистическую активность к фитопатогенным бактериям и грибам, а также положительно влияют на всхожесть семян, рост и развитие различных растений. Так, они снижали поражение семян хвойных растений микромицетами на 85–95% [8]. Таким образом, представляло интерес изучить их миколитическую активность к некоторым видам патогенных микромицетов.

Целью работы было исследование хитинолитической активности у фосфатмобилизирующих почвенных бактерий рода *Bacillus*, а также их антагонистических свойств к микроскопическим грибам.

Материалы и методы

Объектами исследований были 16 штаммов фосфатмобилизирующих почвенных бактерий рода *Bacillus*, изолированных из образцов черноземной почвы, а также штамм *B. subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r, резистентный к стрептомицину (1600 мкг/мл), полученный методом спонтанного мутагенеза путем последовательных пересевов на картофельный агар с повышенными концентрациями стрептомицина [7]. Штамм обладал биологическими свойствами, подобными природному родительскому штамму *B. subtilis* ИМВ В-7023, и может использоваться как индикаторная культура для изучения процессов колонизации корневой зоны растений, влияния на их ростовую активность и биологического контроля фитопатогенных микроорганизмов [7, 8]. В экспериментах также использовали *Fusarium oxysporum* Schltdl. 54, *Trichothecium roseum* (Pers.) Link 658 – возбудителей болезней сельскохозяйственных культур и сапрофит *Trichoderma viride* Pers. 614 [2] из коллекции отдела физиологии и систематики микромицетов ИМВ НАН Украины.

Бактерии выращивали в течение 72 час при 25 °С в жидкой среде состава, (г/л): коллоидный хитин [5] – 5,0; пептон – 3,0; (NH₄)₂HPO₄ – 1,0; KH₂PO₄ – 1,0; MgSO₄ × 7H₂O – 0,5.



Хитиноподобную активность определяли по образованию редуцирующих сахаров при гидролизе коллоидного хитина с использованием 3,5-динитросалициловой кислоты [13]. Активность рассчитывали как количество фермента, необходимое для образования 1 мкмоль N-ацетилглюкозамина за 1 час. Удельную хитиноподобную активность определяли, рассчитывая ее на мг белка [10]. При изучении антагонистической активности бактерий к микромицетам использовали метод блоков и лунок [3]. Суспензию конидий гриба ($2,0 \times 10^6$ /мл) засеивали в чашки Петри с агаризованным сушлом, на поверхности которого размещали блоки с культурой бактерий, или делали лунки ($d=8$ мм), в которые добавляли 0,1 мл супернатанта культуры. Совместное культивирование *F. oxysporum* 54 с бактериями, проявившими наибольшую антагонистическую активность, а также с *B. subtilis* IMB B-7023 Stm⁺, проводили в жидкой среде Чапека в статических условиях при 25 °С в течение 7 суток. Бактерии предварительно выращивали в течение двух суток на агаризованной среде, указанного выше состава, клетки суспендировали в физиологическом растворе и вносили в среду Чапека ($1,0 \times 10^8$ кл/мл) одновременно с суспензией конидий 2-х недельных культур гриба в концентрации ($2,0 \times 10^6$ конидий/мл). После совместного культивирования полученную биомассу отмывали физиологическим раствором, высушивали при 105 °С до постоянного веса. Степень угнетения роста гриба рассчитывали по разности значений массы сухого мицелия в контроле (культура гриба, выращенного в таких же условиях, но без внесения бактерий) и опыте. Препараты фиксировали жаром, окрашивали раствором фуксина и исследовали в световом микроскопе МБИ-15. Для получения мицелия как субстрата для бактерий гриба выращивали в жидкой среде Чапека при 26–28 °С на протяжении 14 суток. Мицелий отфильтровывали и отмывали дистиллированной водой. Полученную биомассу высушивали на воздухе, измельчали и добавляли в качестве источника углерода и азота (0,5%) в жидкую среду на основе водопроводной воды без добавления минеральных солей. Среду стерилизовали при 0,5 атм. Концентрацию роста бактерий определяли по оптической плотности на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 540 нм.

Опыты проводили в 3-х кратной повторности. При статистической обработке полученных данных использовали критерий Стьюдента для 5%-ного уровня значимости [6].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что все исследованные штаммы бактерий рода *Bacillus* способны угнетать рост *T. roseum* 658 и *F. oxysporum* 54 в разной степени. Так, *B. megaterium* 1, 12; *B. cereus* v. *mycoides* 14; *B. subtilis* 13 не проявили антагонизма к *F. oxysporum* 54 в отличие от *B. megaterium* 16 и *B. pumilus* 7, которые были активны по отношению к данному фитопатогену. Следует отметить, что подобным действием обладали как клетки, так и их супернатанты, причем в первом случае эффект был более выраженным (табл. 1, рис. 1).



Таблица 1

Антагонистическая активность фосфатмобилизирующих бактерий
рода *Bacillus* по отношению к фитопатогенным грибам

Table 1

Antagonistic activity of phosphate-mobilizing bacteria
of the genus *Bacillus* towards phytopathogenic fungi

Штаммы	Зона задержки роста грибов бациллами, мм			
	<i>Trichothecium roseum</i> 658		<i>Fusarium oxysporum</i> 54	
	Клетки бацилл	Супернатант бацилл	Клетки бацилл	Супернатант бацилл
<i>B. cereus</i> v. <i>mycooides</i> 6	7,3±0,8	12,0±0,0	12,0±0,69	-
<i>B. cereus</i> v. <i>mycooides</i> 10	25,0±0,69	14,0±0,69	16,0±0,69	13,67±0,4
<i>B. cereus</i> v. <i>mycooides</i> 14	16,3±0,4	15,3±0,4	-	-
<i>B. megaterium</i> 1	11,67±0,4	11,0±0,69	-	-
<i>B. megaterium</i> 2	11,3±0,4	6,0±0,69	9,3±0,4	7,0±0,69
<i>B. megaterium</i> 9	15,3±0,4	11,0±1,2	11,3±1,06	-
<i>B. megaterium</i> 12	9,3±0,4	11,33±1,06	6,0±0,7	11,33±1,06
<i>B. megaterium</i> 16	13,0±0,69	12,67±0,4	26,0±0,69*	13,0±0,7
<i>B. subtilis</i> 11	15,0±0,0	13,67±0,8	-	-
<i>B. subtilis</i> 13	17,3±0,4	15,67±0,4		
<i>B. subtilis</i> 15	13,0±1,38	10,3±1,45	9,0±0,69	-
<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023	12,3±0,4	9,0±0,69	22,3±0,4*	18,0±0,69
<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023 Stm ^r	11,0±0,69	6,0±0,69	9,0±0,69	8,0±0,69
<i>B. pumilus</i> 3	11,67±0,4	10,67±0,4	8,0±0,69	-
<i>B. pumilus</i> 4	17,0±0,0	16,3±0,4	12,3±0,4	-
<i>B. pumilus</i> 7	15,3±1,06	13,3±1,06	28,3±1,06*	13,0±0,7
<i>B. pumilus</i> 8	14,67±0,4	17,67±0,8	10,67±0,8	-

Примечание: * – наибольшие зоны задержки роста *F. oxysporum* 54
Note: * – size of the largest areas of growth retardation of *F. oxysporum* 54 were allocated

Нами установлено наличие хитинолитической активности у всех исследуемых штаммов бацилл при культивировании в жидкой среде с коллоидным хитином. Данные других исследователей свидетельствуют о наличии такой активности лишь у 30% исследованных штаммов бацилл [4]. Наибольшей активностью отличался штамм *B. cereus* v. *mycooides* 10 (230 ед/мг). Для *B. megaterium* (штаммы 1, 2, 16) и *B. pumilus* (штаммы 4, 7, 8) эти показатели были несколько ниже – 170–190 и 150–190 ед/мг соответственно (рис. 2).



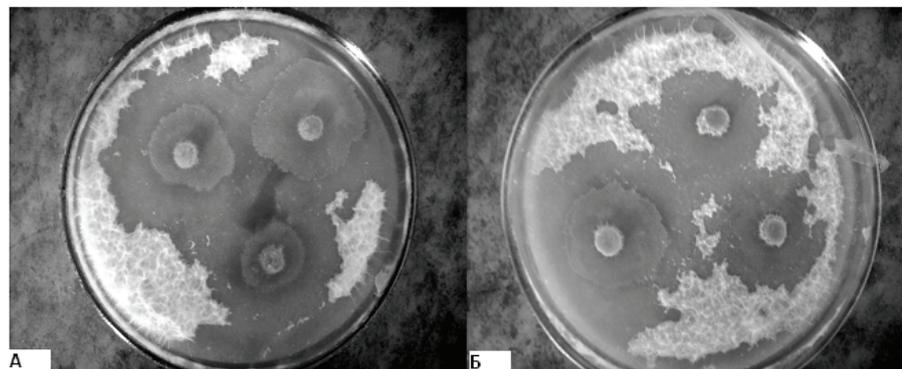


Рис. 1. Антагонистическая активность *Bacillus megaterium* 16 (А) и *Bacillus pumilus* 7 (Б) по отношению к *Fusarium oxysporum* 54 (метод блоков)

Fig. 1. Antagonistic activity of *Bacillus megaterium* 16 (A) and *Bacillus pumilus* 7 (Б) towards *Fusarium oxysporum* 54 (block method)

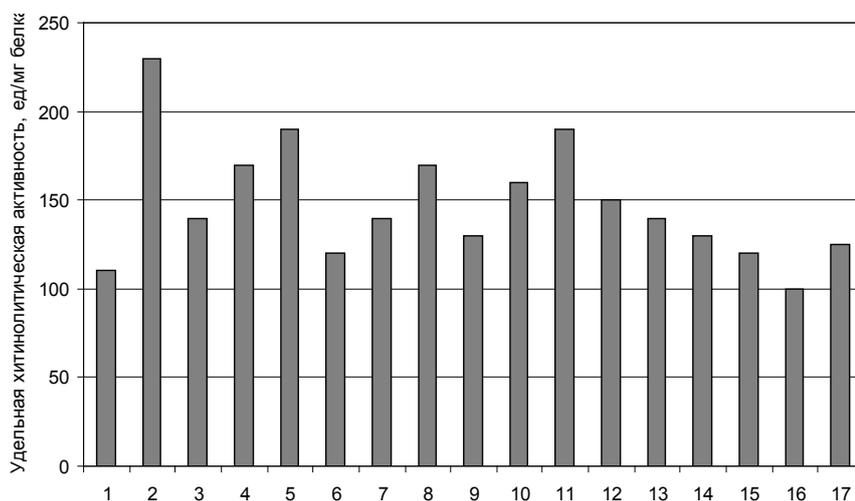


Рис. 2. Удельная хитинолитическая активность бактерий рода *Bacillus* в среде с коллоидным хитином

Примечание: 1 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 6; 2 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 10; 3 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 14; 4 – *Bacillus megaterium* 1; 5 – *Bacillus megaterium* 2; 6 – *Bacillus megaterium* 9; 7 – *Bacillus megaterium* 12; 8 – *Bacillus megaterium* 16; 9 – *Bacillus pumilus* 3; 10 – *Bacillus pumilus* 4; 11 – *Bacillus pumilus* 7; 12 – *Bacillus pumilus* 8; 13 – *Bacillus subtilis* 11; 14 – *Bacillus subtilis* 13; 15 – *Bacillus subtilis* 15; 16 – *Bacillus subtilis* ИМБ В-7023 Stm^r; 17 – *Bacillus subtilis* ИМБ В-7023

Fig. 2. Specific chitinolytic activity of bacteria of genus *Bacillus* in medium with colloidal chitin

Notes: 1 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 6; 2 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 10; 3 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 14; 4 – *Bacillus megaterium* 1; 5 – *Bacillus megaterium* 2; 6 – *Bacillus megaterium* 9; 7 – *Bacillus megaterium* 12; 8 – *Bacillus megaterium* 16; 9 – *Bacillus pumilus* 3; 10 – *Bacillus pumilus* 4; 11 – *Bacillus pumilus* 7; 12 – *Bacillus pumilus* 8; 13 – *Bacillus subtilis* 11; 14 – *Bacillus subtilis* 13; 15 – *Bacillus subtilis* 15; 16 – *Bacillus subtilis* ИМБ В-7023 Stm^r; 17 – *Bacillus subtilis* ИМБ В-7023



Следует отметить, что эти величины превышают регистрируемые для представителей рода *Bacillus* – 1,36 мкмоль/мин на 1 мг белка [4]. Штаммы, проявившие высокую антагонистическую активность (*B. megaterium* 16, *B. pumilus* 7, *B. cereus* v. *mycooides* 10), также обладали и высокой хитиноподобной активностью, что дает возможность предположить перспективность их применения в растениеводстве. Резистентный к стрептомицину штамм *B. subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r показал наименьшую активность – 100 ед/мг.

При совместном культивировании наиболее активных штаммов бацилл-антагонистов, а также резистентного штамма *B. subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r и *F. oxysporum* 54 было установлено, что исследованные бактерии угнетали рост гриба на 5–60% (относительно контроля) (рис. 3).

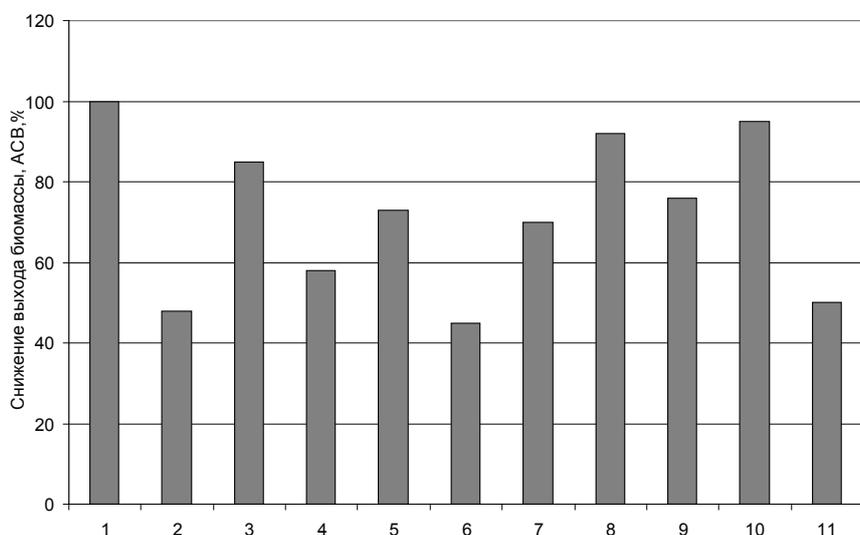


Рис. 3. Угнетение роста мицелия *Fusarium oxysporum* 54 штаммами рода *Bacillus* при совместном культивировании в среде Чапека

Примечание: 1 – *Fusarium oxysporum* 54; 2 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 10; 3 – *Bacillus megaterium*, 4 – *Bacillus megaterium* 2, 5 – *Bacillus pumilus* 4, 6 – *Bacillus pumilus* 7, 7 – *Bacillus pumilus* 8, 8 – *Bacillus subtilis* 11, 9 – *Bacillus subtilis* 13, 10 – *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r, 11 – *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023

Fig. 3. Inhibition of growth of mycelium *Fusarium oxysporum* 54 by strains of genus *Bacillus* at mixed cultivation on Czapek medium

Note: 1 – *Fusarium oxysporum* 54; 2 – *Bacillus cereus* v. *mycooides* 10; 3 – *Bacillus megaterium*, 4 – *Bacillus megaterium* 2, 5 – *Bacillus pumilus* 4, 6 – *Bacillus pumilus* 7, 7 – *Bacillus pumilus* 8, 8 – *Bacillus subtilis* 11, 9 – *Bacillus subtilis* 13, 10 – *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r, 11 – *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023

Наибольшее угнетение регистрировали при совместном культивировании гриба с теми бациллами, у которых была отмечена высокая хитиноподобная активность. Так, штамм *B. cereus* v. *mycooides* 10, обладающий наибольшей активностью, угнетал рост *F. oxysporum* 54 на 60% по отношению к контролю. До 50% угнетал рост гриба штамм *B. subtilis* ИМВ В-7023, являющийся-

ся компонентом бактериальных препаратов для растениеводства. Мутант *B. subtilis* ИМВ В-7023 Stm^r обладал низкой хитинолитической активностью и незначительно угнетал рост фитопатогена – всего лишь на 5%. При этом наблюдали адгезию клеток бактерий на гифах и морфологические изменения мицелия – образование вздутий и зон лизиса мицелия (рис. 4), что согласуется с данными литературы [1].

Так, при выращивании бацилл в хитинсодержащих средах они продуцируют комплекс ферментов, эффективно гидролизующих клеточные стенки грибов. Причем хитиназы и β -1,3-глюканазы наиболее активно осуществляли этот процесс.

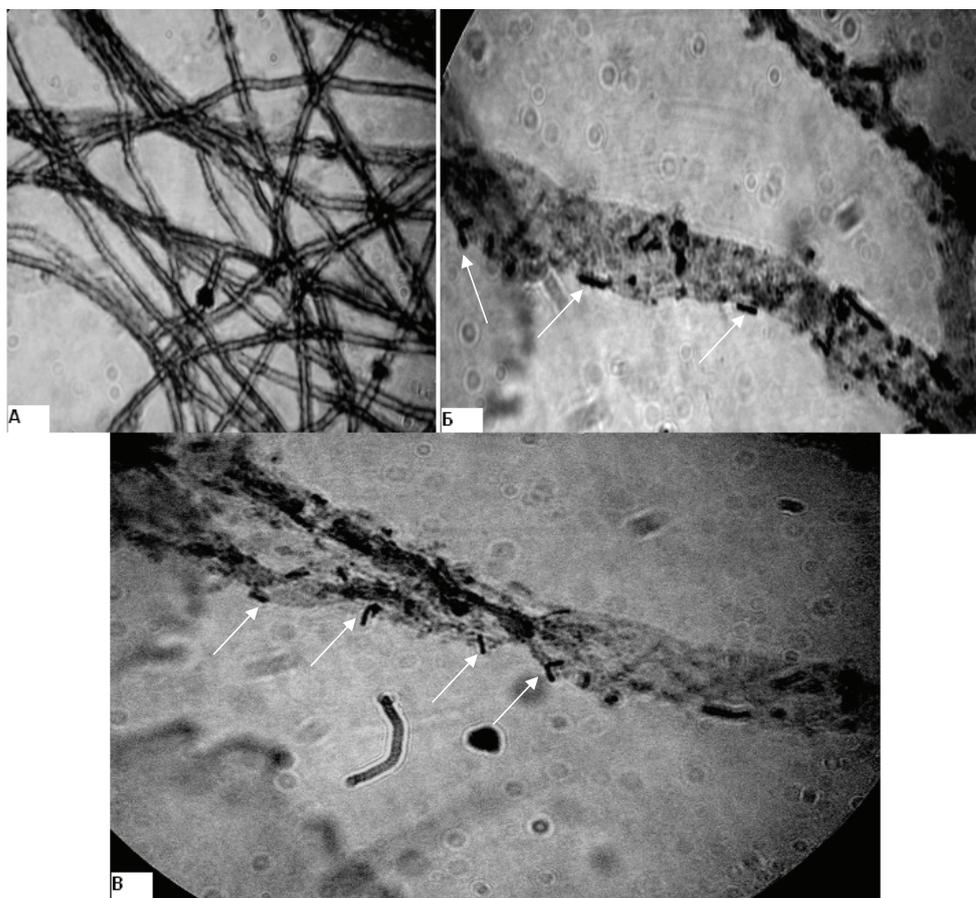


Рис. 4. Влияние *Bacillus megaterium* 16 на морфологию *Fusarium oxysporum* 54 при совместном культивировании в среде Чапека (90x10).
А – контроль; Б, В – изменения мицелия, вызванные бактериями (стрелками указаны точки прикрепления и воздействия бактерий)

Fig. 4. Influence of *Bacillus megaterium* 16 on morphology of *Fusarium oxysporum* 54 at mixed cultivation on Czapek medium
А – control; Б, В – mycelial changes caused by bacteria (the arrows show the sites of attachment and the effects of bacteria)

Штамм *B. cereus* v. *mycooides* 10, проявивший наиболее высокую антагонистическую и хитиноподобную активность, культивировали в среде с автоклавированным мицелием каждого из 3-х исследованных штаммов грибов, как единственным источником углерода и азота. Показано, что высокие показатели хитиноподобной активности наблюдали в среде с мицелием *Trichothecium roseum* (100%); тогда как с мицелием *Trichoderma viride* 614 она составляла – 27%, а с мицелием *F. oxysporum* 54 – 18%, соответственно (табл. 2). Установлено, что при использовании мицелия *T. roseum* 658 удельная хитиноподобная активность бациллы возрастала на 26,7% по сравнению с таковой в среде с коллоидным хитином. Однако при использовании мицелия *T. viride* 614 и *F. oxysporum* 54 величина активности была значительно ниже – на 38,2 и 58,7%, соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Удельная хитиноподобная активность и рост
Bacillus cereus v. *mycooides* 10 в среде с мицелием микромицетов

Table 2

Specific chitinolytic activity and growth of
Bacillus cereus v. *mycooides* 10 on the medium with mycelium of micromycetes

Микромицет	Удельная хитиноподобная активность, ед/мг	Оптическая плотность суспензии бактерий, ед
<i>Trichothecium roseum</i> 658	288,0±21,1	1,2±0,11
<i>Trichoderma viride</i> 614	178,0±15,5	0,5±0,02
<i>Fusarium oxysporum</i> 54	119,0±10,0	1,6±0,1

Следует отметить, что корреляция роста и хитиноподобной активности не была установлена. На примере *B. cereus* v. *mycooides* 10 показана его способность не только угнетать рост живой культуры грибов, но и разрушать мертвый мицелий, используя его в качестве единственного источника углерода и азота в среде, что опосредованно подтверждает возможность разложения мицелия грибов бациллами в почве [12]. Наряду с установленными антагонистическими свойствами и хитиноподобной активностью, эти результаты могут свидетельствовать о наличии миколитического потенциала у исследованных штаммов и возможных перспективах их использования в качестве составляющих комплексных препаратов для растениеводства в дальнейшем. Данные литературы свидетельствуют о комплексной природе антагонистической активности бактерий р. *Bacillus* [1, 6]. Роль хитиноподобных ферментов очевидна, так как хитин – один из основных компонентов клеточной стенки грибов [9]. Однако механизмы антагонизма зависят как от штаммовых особенностей бактерий-антагонистов, так и от вида гриба-патогена.

Таким образом, показано, что фосфатмобилизирующие штаммы почвенных бактерий рода *Bacillus* проявляют хитиноподобную активность, а также угнетают рост грибов-фитопатогенов и вызывают их морфологические из-

менения при совместном культивировании. Установлена прямая зависимость между антагонистической и хитиноподобной активностью у бацилл. На примере *B. cereus* v. *tyucoides* 10 показана способность бацилл использовать автоклавированный мицелий грибов в качестве единственного источника углерода и азота.

А.О. Рой, О.С. Харкевич

Институт мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,
вул. акад. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна,
e-mail: allroy@ukr.net

МІКОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ФОСФАТМОБІЛІЗУВАЛЬНИХ ГРУНТОВИХ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS* SOHN

Реферат

Метою роботи було дослідження хітиноподобної активності фосфатмобілізуючих ґрунтових бактерій роду *Bacillus*, а також їх антагоністичних властивостей щодо мікроскопічних грибів. **Методи.** В роботі досліджені 16 штамів фосфатмобілізуючих ґрунтових бактерій роду *Bacillus* і штамів мікроміцетів – сапрофітів та фітопатогенів. Для визначення антагоністичної активності бацилл щодо мікроміцетів застосовували метод блоків та лунок, використовуючи як культури бацилл, вирощені на агаризованому поживному середовищі, так і їх супернатанти. Ступінь пригнічення росту грибів при сумісному культивуванні з бациллами в статичних умовах в рідкому поживному середовищі визначали гравіметрично за різницею абсолютної сухої ваги міцелію в контролі та досліді. Хітиноподобну активність бацилл визначали за утворенням редукувальних цукрів з використанням 3,5-динітросаліцилової кислоти фотокolorиметрично. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням критерію Стюдента для 5%-ного рівня значущості. **Результати.** Встановлена наявність хітиноподобної активності у всіх досліджених бацилл в середовищі з колоїдним хітином. Штами, які виявили високу хітиноподобну активність (*B. megaterium* 16, *B. pumilus* 7, *B. cereus* v. *tyucoides* 10), також виявляли високу антагоністичну активність щодо фітопатогенних грибів (*Fusarium oxysporum* Schldl. 54 і *Trichothecium roseum* Pers. 658). Бацилли здатні використовувати автоклавований мицелій грибов як єдине джерело вуглецю та азоту. При сумісному культивуванні грибів та бактерій в статичних умовах відмічені пригнічення росту та наявність морфологічних змін – утворення здуттів та ділянок лізису міцелію. **Висновки.** Показано, що фосфатмобілізуючі штами ґрунтових бактерій роду *Bacillus* виявляють хітиноподобну активність, а також пригнічують ріст грибів-фітопатогенів та викликають їх морфологічні зміни при сумісному культивуванні. Встановлена пряма залежність між антагоністичною та хітиноподобною активністю бацилл. На прикладі *B. cereus* v. *tyucoides* 10 показана здатність бацилл використовувати автоклавований мицелій грибов як єдине джерело вуглецю та азоту.

Ключові слова: хітиноподобна та антагоністична активність, р. *Bacillus*, мікроміцети.



A.A. Roy, E.S. Kharkevich

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NASU,
154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine,
e-mail: allroy@ukr.net

MYCOLYTIC ACTIVITY OF PHOSPHATE MOBILIZING SOIL BACTERIA OF GENUS *BACILLUS* COHN

Summary

The aim of this research was study of the chitinolytic activity of phosphate-mobilizing soil bacteria of genus *Bacillus* and their antagonistic properties towards microscopic fungi. **Methods.** In this research 16 strains of phosphate-mobilizing soil bacteria of genus *Bacillus* and saprophytic and plant pathogenic strains of micromycetes were investigated. The antagonistic activity of bacilli against micromycetes was determined by the method of blocks and holes. Bacilli on agar medium and also their supernatants were used. Inhibition of fungal growth under co-cultivation with bacilli under static conditions in the liquid culture medium was determined gravimetrically by the difference of dry weight mycelium in control and in experiment. Bacilli chitinolytic activity was determined photocolometrically by the formation of reducing sugars by hydrolysis of colloidal chitin using 3,5-dinitrosalicylic acid. Student test for 5% significance level was used for statistical processing of the obtained data. **Results.** The presence of chitinolytic activity in all tested bacilli in colloidal chitin medium was established. *B. megaterium* 16, *B. pumilus* 7, *B. cereus* v. *mycoides* 10 strains showed high chitinolytic activity, they were also characterized by high antagonistic activity against plant pathogenic fungi (*Fusarium oxysporum* 54 and *Trichothecium roseum* 658). Bacilli were capable to using autoclaved mycelium as the sole of carbon and nitrogen source. Cultivation of bacteria and microscopic fungi under static conditions showed growth inhibition and changes in morphological features – blistering and areas of lysis of mycelium. **Conclusions.** It was established that phosphate-mobilizing strains of soil bacteria of the genus *Bacillus* showed chitinolytic activity and growth inhibition of plant pathogens and caused their morphological changes in co-culture. The direct relationship between the antagonistic and chitinolytic activity of bacilli was demonstrated. The bacilli ability to use autoclaved fungal mycelium as a sole source of carbon and nitrogen was showed on the example of *B. cereus* v. *mycoides* 10.

Key words: chitinolytic and antagonistic activity, genus *Bacillus*, micromycetes.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И., Галимзянова Н.Ф., Широков А.В. Исследование миколитических свойств аэробных спорообразующих бактерий – продуцентов внеклеточных хитиназ // Микробиол. – 2008. – 77, 6. – С. 788–797.
2. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений / Киев: Наук. думка, 1988. – 588 с.
3. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / М.: Изд-во МГУ, Наука, 2004. – 528 с.



4. Ильина А.В., Варламов В.П. Энзимология синтеза и деградации хитина и хитозана // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – С. 79–90.
5. Кузнецов В.Д., Янгулова И.В. Использование среды с хитином для выделения и учета актиномицетов из почвы // Микробиол. – 1970. – 39, 5. – С. 902–906.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия / М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
7. Рой А.А., Яценко И.П., Гордиенко А.С., Курдиш И.К. Свойства *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 и его стрептомицинустойчивого штамма // Прикл. биохим. микробиол. – 2011. – 47, 1. – С. 23–25.
8. Рой А.О., Царенко І.Ю., Захарченко В.О., Курдиш І.К. Вплив гранульованих бактеріальних препаратів комплексної дії на розвиток деяких хвойних рослин // Сільськогосп. мікробіол. – 2007. – 5. – С. 96–102.
9. Феофилова Е.П. Ключевая роль хитина в клеточной стенке грибов // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, Г.А. Варламова. – М.: Наука, 2002. – С. 91–99.
10. Bradford M.M. A rapid sensitive method for the quantative of microgram quantivities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – 72. – P. 248–254.
11. Brussan W., Fontes Figueiredo J.E. Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic *Fusarium moniliforme* in maize // J. Plant Pathol. – 2010. – 92, 2. – P. 343–347.
12. Dighton J. Fungi in Ecosystem processes / New York-Basel: Marcel Dekker Inc., 2003. – 432 p.
13. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars // Anal. Chem. – 1959, – 31, 3. – P. 426–428.
14. Nielsen P., Sorensen J. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere // FEMS Microbiol. Ecol. – 1997. – 22, 3. – P. 183–192.
15. Podile A.R., Prakash A.P. Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF1 // Can. J. Microbiol. – 1996. – 42. – P. 533–538.

Стаття надійшла до редакції 15.08.2014 р.

