

ОЦЕНКА АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛЯТОВ НЕКОТОРЫХ КСИЛОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ

П.С. Амелишко ¹, О.А. Шевелёва ², А.В. Муковозчик ³

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь AMELISHKOpolina@yandex.by

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь sheveleva_l@list.ru

³ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь Anton_MAV@outlook.com

Исследования в области микологии доказывают, что изоляты ксилотрофных макромицетов обладают антимикробной активностью, но слабая изученность антифунгальных свойств делает исследования в данной области актуальными и перспективными. В условиях лаборатории экспериментальной микологии кафедры ботаники биологического факультета были выделены штаммы местных макромицетов *Daedalea quercina*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta* и исследована их антифунгальная активность в отношении таких фитопатогенных микромицетов как *Alternaria brassicae*, *A. petroselini*, *A. radicina*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*. Были отобраны штаммы в коллекцию кафедры ботаники с высокой биологической активностью и широким спектром антагонистического действия по отношению к фитопатогенным грибам.

Ключевые слова: ксилотрофные макромицеты; культуральная жидкость; фунгостатическое действие; антифунгальная активность.

ESTIMATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ISOLATES OF CERTAIN XYLOTROPHIC MACROMYCETES

P.S. Amialishka ¹, A.A. Shevialiova ², A.V. Mukavozchyk ³

¹ Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus. E-mail: AMELISHKOpolina@yandex.by

² Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus. E-mail: sheveleva_l@list.ru

³ Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus. E-mail: Anton_MAV@outlook.com

Research in the field of mycology proves that isolates of xylotrophic macromycetes have antimicrobial activity, but the little study of antifungal properties makes research in this area relevant and outlook. In the laboratory of experimental mycology, Department of Botany, Faculty of Biology, strains of local macromycetes *Daedalea quercina*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta* were isolated and their antifungal activity against phytopathogenic micromycetes such as *A. Alternaria brassicae*, *A. petroselini*, *A. radicina*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*. Strains with high biological activity and a wide spectrum of antagonistic activity against phytopathogenic fungi were selected for the collection of the Department of Botany.

Key words: xylotrophic macromycetes; culture fluid; fungostatic action; antifungal activity.

Материалы и методы. Для исследования были использованы местные штаммы ксилотрофных базидиальных грибов, относящиеся к группе белой гнили: И-13 – *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.) P. Karst., В.Т. – *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., Б-14 – *Trametes versicolor* (L.) Lloyd., И-12 – *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd; относящиеся к группе бурой гнили: И-7 – *Daedalea quercina* (L.) Pers., выделенные из плодовых тел макромицетов произраставших на лиственных деревьях [1].

Плодовые тела базидиомицетов (И-7, И-12, И-13, Б-14) были собраны в Барановичском районе, Брестской области и в окрестностях озера Свитязь,

Гродненской области (изолят В.Т.) в 2020 году в период практики по специализации.

Для получения изолятов свежесобранные плодовые тела промывали, далее в стерильных условиях надламывали плодовое тело в области трамы и с помощью стерильного пинцета фрагменты мицелия переносили на питательную среду КГА содержащую антибиотик ампициллин. Чашки инкубировали в термостате при 25°C. При появлении мицелия на инокулюме (2-3 дня) производили пересев на питательную среду без антибиотика. Полученные изоляты использовали как посевной материал.

Глубинное культивирование макромицетов производилось в картофельно-глюкозной среде в течении 14 суток при температуре 25-28°C 160 оборотов в минуту [4].

Холодный экстракт получали из мицелия, который культивировался глубинным методом. Соотношение пеллет и воды 1:10, температура 3-6°C, настаивались в течении 48 часов [3].

Горячий экстракт также получали из мицелия, культивируемого глубинным методом. Соотношение пеллет и воды 1:10, температура 60 °C, настаивались в течении 6 часов [3].

Исследование антифунгальной активности проводилось методом встречных колоний. На КГА с одной стороны чашки Петри засеивались исследуемые штаммы макромицетов, спустя 5 суток подсеивались фитопатогены (*Alternaria brassicae*, *A. pFetroselini*, *A. radicina*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*). Инкубирование производилось при температуре 20-23 °C [1]. Учёт результатов производился на 10-е сутки, описывали характер взаимодействия «макромицет»+ «микромицет», производили замеры колонизации газона микромицетов.

Также использовался метод подавления роста и развития микромицетов на питательных средах. В чашку Петри добавляли 20 мл. КГА, после застывания поверх равномерно распределяли ещё по 4 мл среды, инокулированной спорами фитопатогенных микромицетов. Затем делали лунки в которые вносили по 30 мкл. культуральной жидкости, холодного и горячего экстрактов исследуемых штаммов макромицетов [5]. А также метод подавления прорастания спор микромицетов культуральной жидкостью исследуемых штаммов. Споры микромицетов помещались в каплю культуральной жидкости на предметное стекло, накрывались покровным стеклом. Предметные стёкла помещались в чашки Петри во влажную среду. В контроле находилась суспензия спор в дистиллированной воде [5].

Результаты и их обсуждение. При изучении антифунгальной активности методом встречных колоний штаммы макромицетов разделились на те, что проявляли фунгостатическую активность и те, что проявляли антифунгальную (табл. 1).

Лидером среди штаммов, проявляющих антифунгальную активность, стал штамм Б-14, он не только остановил рост колонии микромицетов, но и лизировал их на 10 сутки. Только в отношении *F. oxysporum* Б-14 проявил фунгостатическую активность. Также антифунгальную активность проявил штамм И-12 по отношению к представителям рода *Alternaria*, кроме *A. petroselini*. Штамм В.Т. проявил антифунгальную активность по отношению к *A. petroselini*, и представителям рода *Fusarium*. Остальные штаммы проявили выраженную фунгостатическую активность.

Результаты, полученные методом подавления роста и развития микромицетов на питательных средах, представлены в таблице 2.

Таблица 1. Антагонистическая активность изолятов базидиомицетов против фитопатогенных макромицетов, выявленная методом встречных колоний

Table 1. Antagonistic activity of basidiomycete isolates against phytopathogenic macromycetes, revealed by the method of counter colonies

Тест-культуры Изоляты	<i>A. brassicae</i>	<i>A. petroselinii</i>	<i>A. radicina</i>	<i>A. solani</i>	<i>Bip. sorokiniana</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. oxysporum</i>
И-7								
И-13								
В. Т.		+3					+1	+4
И-12	+1		+2	+1				
Б-14	+1	+4	+1	+4	+3	+3	+1	

Примечание: «|» – фунгостатическая активность; «+» – антифунгальная активность, цифрой обозначается балл, соответствующий процентам нарастания колонии макромицетов на колонию микромицетов от 1 до 5 баллов, от самого низкого до высокого.

Таблица 2. Антагонистическая активность культуральной жидкости, холодного и горячего экстрактов базидиомицетов против фитопатогенных микромицетов, выявленная методом подавления прорастания спор микромицетов на питательных средах

Table 2. Antagonistic activity of the culture liquid, cold and hot extracts of basidiomycetes against phytopathogenic macromycetes, revealed by the method of suppressing the germination of micromycete spores on nutrient media

Тест-культуры Изоляты		<i>A. brassicae</i>	<i>A. petroselinii</i>	<i>A. radicina</i>	<i>A. solani</i>	<i>Bip. sorokiniana</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. oxysporum</i>
И-7	К	+30	+30	-	-	+30	-	-	+20
	Х	-	-	-	-	-	-	-	-
	Г	-	-	-	-	-	-	-	-
И-13	К	+1	+5	+5	+2	+1	+30	-	+10
	Х	-	-	-	-	-	+10	-	-
	Г	-	-	-	-	-	-	-	-
В. Т.	К	+10	+5	+15	+1	+10	-	-	
	Х	+7	+1	-	-	+10	-	+10	
	Г	-	-	-	-	-	-	-	
И-12	К	+2	+5	-	+2	+1	-	-	+10
	Х	+2	+3	-	+2	+1	-	-	+3
	Г	-	-	-	-	-	-	-	-
Б-14	К	+10	+1	-	+3	+20	+5	-	+10
	Х	-	-	-	-	-	-	+1	-
	Г	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: К – культуральная жидкость; Х – холодный экстракт; Г – горячий экстракт; + – наличие антагонистической активности, - – отсутствие антагонистической активности; цифрой указывается зона подавления прорастания спор микромицетов в мм.

В результате данного исследования можно сделать вывод, что лидерами по проявлению антагонистической активности культуральной жидкостью стали И-13, Б-14, затем В.Т., И-12 и на последнем месте И-7. А вот способность к ингибированию прорастания спор микромицетов холодными экстрактами мицелия базидиомицетов дала иной результат, лидером себя проявил И-12, затем В.Т., Б-14, И-13, не активным так же оставался И-7. Способность к подавлению роста у экстрактов базидиомицетов полученных горячим методом не была обнаружена.

На основе результатов предыдущих исследований в методе подавления прорастания спор было принято решение использовать только культуральную жидкость (табл. 3).

Таблица 3. Антагонистическая активность изолятов базидиомицетов по отношению к фитопатогенным макромицетам, выявленная методом подавления прорастания спор макромицетов

Table 3. Antagonistic activity of basidiomycete isolates in relation to phytopathogenic macromycetes, revealed by the method of suppressing the germination of spores of micromycetes

Тест-культуры Изоляты	<i>A. radicina</i>	<i>F. culmorum</i>
И-7	70%	20%
И-13	10%	7%
В. Т.	35%	3%
И-12	70%	20%
Б-14	10%	4%
Контроль	70%	50%

Примечание: указывается процент проросших спор в поле зрения.

По результатам данного исследования культуральная жидкость некоторых штаммов (И-13, Б-14, В.Т.) подавила прорастание спор *A. radicina* в среднем от 35 до 50% и *F. culmorum* от 50 до 85% по сравнению с контролем.

Заключение. Несомненным лидером в исследования по антифунгальной активности проявил себя штамм Б-14, он лизировал антагонистов в методе встречных колоний и успешно подавлял прорастание спор в толще агара и культуральной жидкости. Чуть менее активным был штаммы И-13 и И-12. На основе полученных данных штаммы Б-14, И-13, И-12 были отобраны в коллекцию базидиальных макромицетов кафедры ботаники.

Библиографические ссылки

1. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов». Мн.: БГУ, 2004. 36 с.
2. Егоров Н.С Основы учения об антибиотиках. Москва: Наука, 2004. 528 с.
3. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах / Бисько Н.А. [и др.]. Т. 2. Киев, 2012. 459 с.
4. Лемеза Н.А., Сидорова С.Г. Иммуитет растений: практикум для студентов биологического факультета. Минск: БГУ, 2008. 96 с.