Теслюк Наталія
к.с.-г.н.
Мерліч Андрій
аспірант
Науковий керівник: д.б.н., професор Іваниця В.О.
Аврамович Іванна
студентка
Науковий керівник: к.с-г.н. Теслюк Н.І.
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, біологічний факультет, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології
м. Одеса

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ *ENTEROCOCCUS ITALICUS* ОНУ547, *LACTOBACLLUS PLANTARUM* ОНУ12 ТА ОНУ311 ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ

З літературних джерел відомо про інгібувальну активність різних молочнокислих бактерій (МКБ) проти таких грибів як *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium* [1, 2, 3]. Однак, недостатньо інформації про антагоністичну активність лактобактерій проти грибів, що були виділені з контамінованих культур рослин *in vitro* та які причиняють значних втрат при клональному мікророзмноженні. Крім того, інформація про активність бактерій виду *E. italicus* та їх бактеріоцину проти фітопатогенних та пліснявих грибів є повністю відсутньою.

Метою роботи було виявити антагоністичну активність молочнокислих бактерій штамів *E. italicus* ОНУ547, *L. plantarum* ОНУ12 та ОНУ311 проти фітопатогенних грибів, виділених із культури ожини (*Rubus caesius*) *in vitro*.

Антагоністичну активність вивчали *in vitro* за допомогою методу агарових лунок [3]. Молочнокислі бактерії вирощували в рідкому середовищі MRS протягом 48 годин при 37 ºС [4]. Фітопатогенні гриби *Penicillium* sp. та *Mucor* sp. було виділено із культури ініціальних експлантів *in vitro* ожини *Rubus caesius.* Рослини вирощувались на модифікованому нами поживному середовищі Мурасіге та Скуга (МС) [5].

Чашку Петрі з середовищем Сабуро засівали 1 мл суспензії спор грибів в концентрації 10^5 спор/мл та після невеликої витримки (30 сек) в агарі було зроблено лунки діаметром 0,9 см в які було внесено 100 мкл культур лактобактерій та частково очищеного бактеріоцину, який було отримано нами шляхом проведення гідрофобної хроматографії в співробітництві з Yvan Choiset (INRA, BIA, FIPL, м. Нант, Франція). В якості контролю було використано MRS бульйон. Експерименти було виконано в трьох повторах та статистичну обробку даних (середнє значення, стандартне відхилення) виконували за допомогою програми Microsoft Office Excel.

На третю добу інкубації при кімнатній температурі відмічали наявність

зон інгібування росту та вимірювали їх діаметр. В результаті досліджень було виявлено, що продукти метаболізму лактобактерій проявили інгібувальну активність проти використаних в якості індикаторів фітопатогенних грибів. Так, діаметри зон затримки росту *Penicillium* sp. в випадку *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311 та *E. italicus* ОНУ547 складали 1,3±0,2, 1,5±0 та 1,4±0,2 см, відповідно. Метаболіти бактерій штамів *L. plantarum* ОНУ12 та *E. italicus* ОНУ547 інгібували гриби *Mucor* sp. з утворенням зон затримки росту, що мали діаметри 1,3±0,2 та 1,2±0,1 см, відповідно, тоді як частково очищений бактеріоцин утворював зони затримки росту гриба в розмірі 1,7±0,3 см. Отже *Penicillium* sp. виявився чутливий до всіх трьох штамів лактобактерій, та мінімально чутливий до частково очищеного бактеріоцина виділеного з *E. italicus* ОНУ547. *Mucor* sp. проявив чутливість до *L. plantarum* ОНУ12, *E. italicus* ОНУ547 та до частково очищеного бактеріоцину. Таким чином, антагоністична активність МКБ залежала від штаму гриба-індикатора. При антагонізмі відбувається пригнічення життєдіяльності однією популяцією мікроорганізмів іншої. В даному випадку наші дослідні культури МКБ мають здатність виділяти в поживне середовище речовини, які викликають затримку росту та розмноження грибкової біоти.

Природою антагоністичних сполук в випадку лактобацил згідно з даними літератури можуть бути 3-феніл-молочна кислота, 3-гідрокси жирні кислоти та дікетопіперазіни [6]. В випадку *E. italicus* ОНУ547 антагоністична активність може бути зумовлена також продукцією бактеріоцину, що в наших попередніх дослідженнях показав інгібування росту деяких грампозитивних бактерій [7]. Це узгоджується з даними літератури про інгібувальну активність бактеріоцинів з МКБ проти грибів [3]. Однак, наскільки нам відомо, в цій роботі нами вперше повідомлено про антифунгіальну активність бактеріоцину лактобактерій виду *E. italicus*.

Надалі нами планується проведення більш розширеного спектру досліджень для вивчення природи продуктів метаболізму лактобактерій з противогрибковою активністю.

Література

1. Matei S., Matei A., Matei G.-M., Cornea C.P. Utilization of lactic acid bacteria and extracellular compounds in biological control of fungal species. *Research Journal of Agricultural Science.* 2015. V. 47 (3). P. 122 – 132.

2. Laref N., Guessas B. Antifungal activity of newly isolates of lactic acid bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 2013. V. 13. P. 80 – 88.

3. Adebayo C.A. and Aderiye B.I. Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. *Research Journal of Microbiology*. 2010. V. 5 (11). P. 1070 – 1082.

4. Василюк О.М., Коваленко Н.К., Гармашева *І.Л.* Антагоністичні властивості штамів *Lactobacillus plantarum*, ізольованих із традиційних ферментованих продуктів України. *Мікробіологічний журнал.* 2014. Т. 76, № 3.

С. 24–30.

5. Поживне середовище для вирощування мікроклонів винограду. Пат. №47417. Бюл. №7, України 7 А 01 G 31/00, 17/00 Опубл. 15.07.2002. / С.А. Стицько, Б.Н. Мілкус, Н.І. Теслюк.

6. Broberg A., Jacobsson K., Ström K., Schnürer J. Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage. *Applied and Environmental Microbiology.* 2007. V. 73, №17. P. 5547 5552.

7. Мерліч А.Г., Галкін М.Б., Лімaнська Н.В., Іваниця В.О. Спектр активності бактеріоцина *Enterococcus italicus* W та його ефект на утворення біоплівки *Lactobacillus sakei. International Symposium on Cell Biology jointly with* 5_{th} *Ukrainian Congress for Cell Biology* (Odesa, October 2 – 6, 2016) . – P. 49.