Ю.Б. Письменна, І.М. Курченко, А.Г. Суббота

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОСКОПІЧНИХ ГРИБІВ, ВИДІЛЕНИХ З ГІПСОКАРТОНУ

Мета. Дослідити антагоністичні взаємодії між мікроскопічними грибами, що найчастіше контамінують гіпсокартон, та рекомендованими для визначення грибостійкості тест-культурами. **Методи.** Для визначення взаємодій між тест-культурами і штамами, виділеними з гіпсокартону, використовували метод агарових блоків. **Результати.** Встановлено, що виділені з гіпсокартону види *Alternaria infectoria* F-41218 E.G. Simmons, *Aspergillus flavipes* F-41213 (Bain. & Sart.) Thom & Church, *Chaetomium globosum* F-41224 Kunze ex Fr., *Stachybotrys chartarum* F-41215 (Ehrenb.) S. Hughes пригнічують розвиток тест-культур мікроміцетів, рекомендованих для випробування грибостійкості. Антагоністична активність грибів, виділених з гіпсокартону, щодо тест-культур зростає у ряду: *Alternaria infectoria* F-41218 < *Aspergillus flavipes* F-41213 < *Stachybotrys chartarum* F-41215 < < *Chaetomium globosum* F-41224. Показано посилення антагоністичної активності культур, виділених з гіпсокартону, і зміну категорій взаємодії з переважанням повного пригнічення тест-культур на середовищі з додаванням гіпсокартону. **Висновок.** Отже, *C. globosum* F-41224, виділений з гіпсокартону, виявився найсильнішим антагоністом, про що свідчить переважання пригнічуючої, фунгіцидної та фунгістатичної дії на тест-культури.

К л ю ч о в і с л о в а: антагоністичні властивості, мікроскопічні гриби, фунгіцидність, фунгістатичність, гіпсокартон.

Серед різноманітних форм взаємодії мікроорганізмів, що знаходяться у природних та антропогенних екотопах, найчастіше трапляються антагоністичні взаємовідносини, які характеризуються тим, що один вид мікроорганізмів пригнічує розвиток інших. Залежно від спадкових особливостей, а також різних екологічних факторів і умов культивування мікроскопічні гриби можуть проявляти різні антагоністичні взаємодії [4, 5, 12, 15].

На попередніх етапах нашої роботи під час дослідження грибостійкості гіпсокартону на контрольних зразках виявлено ріст грибів під впливом лише високої відносної вологості повітря раніше, ніж на дослідних зразках, штучно заражених суспензією тест-культур [13]. При цьому спостерігався розвиток *Chaetomium globosum* F-41224, а при дослідженні грибостійкості на газоні тест-культур домінував *Stachybotrys chartarum* F-41215. На підставі експериментів, проведених трьома методами, було встановлено, що гіпсокартон має мікобіоту, представлену 54 видами, серед яких найчастіше траплялись *Alternaria infectoria* F-41218, *Aspergillus flavipes* F-41213, *Chaetomium globosum* F-41224 і *Stachybotrys chartarum* F-41215 [13, 14].

Туркова зі співавт. показали, що при дослідженні грибостійкості матеріалів поєднання деяких видів мікроміцетів є досить невдалим, оскільки вони характеризуються взаємним антагонізмом [15]. Серед

тест-культур для випробування з грибостійкості (ГОСТ 9.048-89) також є види-антагоністи [11], тому цілком можливо, що наявність мікобіоти у досліджених зразках впливає на результати випробувань з грибостійкості. Зважаючи на це, метою роботи було вивчити антагоністичні взаємодії між мікроскопічними грибами, що найчастіше контамінують гіпсокартон, та рекомендованими для визначення грибостійкості тест-культурами.

Матеріали і методи. Визначення міжвидових взаємодій мікроскопічних грибів проводили за методом агарових блоків [15], який дозволяє виявити характер взаємодії між культурою-газоном і культурою-блоком, з нашими модифікаціями: засів спорової суспензії проводили глибинним способом, а не поверхнево; на газоні культур розміщували по одному блоку замість трьох.

Як культури-газони використовували тест-культури, рекомендовані ГОСТ 9.048-89: *Aspergillus niger* F-73001 Tiegh., *A. terreus* F-16718 Thom, *Aureobasidium pullulans* F-159 (de Bary) G. Arnaud, *Paecilomyces variotii* F-16724 Bainier, *Penicillium chrysogenum* F-16719 Thom, *P. ochrochloron* F-16715 Biourge, *Scopulariopsis brevicaulis* F-16716 (Sacc.) Bainier, *Trichoderma viride* F-16713 Pers. Культуррами-блоками були виділені з гіпсокартону *Alternaria infectoria* F-41218 E.G. Simmons, *Aspergillus flavipes* F-41213 (Bain. & Sart.) Thom & Church, *Chaetomium globosum* F-41224 Kunze ex Fr., *Stachybotrys chartarum* F-41215 (Ehrenb.) S. Hughes. Експеримент проводили у трьох повторностях протягом 14 діб [3, 11, 15]. Для визначення взаємодій використовували середовище Чапека та модифіковане нами середовище Чапека з додаванням 5 % подрібненого гіпсокартону як джерела живлення (ГКС).

Взаємодії видів мікроскопічних грибів оцінювали за комплексом ознак (розвитком культури-блоку порівняно з контролем, швидкістю росту культури-блоку, діаметром зони затримки росту газону, його зміною протягом дослідження, поширенням культури-блоку по поверхні тест-культури) за системою, що включає такі категорії [15]:

I. повне пригнічення культурою-блоком газону. У цьому випадку культура-блок настільки активна за швидкістю росту і антагоністичними властивостями, що газон практично не розвивається, і всю площу середовища займають колонії культури-блоку;

II. фунгіцидність – типова взаємодія блоку з антибіотичними властивостями. При цьому утворюються чіткі зони пригнічення росту газону внаслідок дифузії в агар речовин з фунгіцидними властивостями;

III. фунгістатична дія культури-блоку. Газон у зонах затримки росту спочатку не розвивається, але потім ця зона зменшується, і на її місці спостерігається сповільнений ріст культури;

IV. взаємодія культури-блоку з відсутніми або слабо вираженими антагоністичними властивостями. Ріст культури-блоку повністю пригнічується газоном. При цьому дія газону проявляється як за рахунок антифунгальних властивостей культури, так і кількості посівного матеріалу;

V. фунгістатична дія культури-газону на культуру-блок. Характер взаємодій такий, як і в категорії IV, проте пригнічуюча дія газону виражена меншою мірою. Колонії культури-блоку досягають не більше

8 мм у діаметрі, навіть ріст культур, що ростуть швидко, є дуже обмеженим;

VI. нейтральна взаємодія двох культур, які розвиваються рівномірно. Культура-блок має розвинуті колонії, які мають розміри контрольних блоків.

Результати. Встановлено, що на середовищі Чапека найчастіше виявляли категорію взаємодії II – фунгіцидність культури-блоку, рідше фунгістатичність (III). Однак, розвиток *A. infectoria* F-41218 здебільшого пригнічувався газонами тест-культур, окрім *A. pullulans* F-159 (табл. 1).

Таблиця 1

Взаємодія між газонами тест-культур і блоками культур, виділених з гіпсокартону, на середовищі Чапека

Газон \ Блок	<i>A. niger</i> F-73001	<i>A. terreus</i> F-16718	<i>A. pullulans</i> F-159	<i>P. variotii</i> F-16724	<i>P. chrysogenum</i> F-16719	<i>P. ochrochloron</i> F-16715	<i>S. brevicaulis</i> F-16716	<i>T. viride</i> F-16713
<i>A. infectoria</i> F-41218	IV	V	I	V	IV	IV	V	IV
<i>A. flavipes</i> F-41213	III	II	II	II	III	II	II	III
<i>C. globosum</i> F-41224	III	II	I	II	III	II	II	II
<i>S. chartarum</i> F-41215	III	III	II	III	III	II	III	III

Примітка: I – пригнічення культурою-блоком газону; II – фунгіцидна дія блоку; III – фунгістатична дія культури-блоку; IV – взаємодія культури-блоку з відсутніми або слабо вираженими антагоністичними властивостями; V – фунгістатична дія культури-газону на культуру-блок; VI – нейтральна взаємодія двох культур.

На ГКС відмічено посилення антагоністичних властивостей культур, виділених з гіпсокартону, та переважання їх фунгіцидної і пригнічуючої дії. Так, *C. globosum* F-41224 діяв здебільшого фунгіцидно на блоки тест-культур на середовищі Чапека, а на ГКС повністю інгібував їх розвиток. Вид *S. chartarum* F-41215 пригнічував ріст *A. terreus* F-16718 і *P. variotii* F-16724 за наявності гіпсокартону у середовищі (табл. 2).

Таблиця 2

Взаємодія між газонами тест-культур і блоками культур, виділених з гіпсокартону, на середовищі з гіпсокартоном

Газон \ Блок	<i>A. niger</i> F-73001	<i>A. terreus</i> F-16718	<i>A. pullulans</i> F-159	<i>P. variotii</i> F-16724	<i>P. chrysogenum</i> F-16719	<i>P. ochrochloron</i> F-16715	<i>S. brevicaulis</i> F-16716	<i>T. viride</i> F-16713
<i>A. infectoria</i> F-41218	V	V	II	V	V	V	V	V
<i>A. flavipes</i> F-41213	III	II	II	III	III	II	II	III
<i>C. globosum</i> F-41224	II	II	I	I	I	I	I	II
<i>S. chartarum</i> F-41215	II	II	II	II	II	II	II	II

Примітка: позначення як у таблиці 1.

Виявлено збільшення діаметру зони інгібування тест-культур на середовищі з гіпсокартоном. Встановлено, що найбільш активним антагоністом щодо тест-культур був *C. globosum* F-41224, меншу активність проявляли *S. chartarum* F-41215 і *A. flavipes* F-41213. *A. infectoria* F-41218 характеризувався найнижчою антагоністичною активністю (табл. 3).

Таблиця 3

**Інгібування тест-культур на середовищі з гіпсокартоном (ГКС)
порівняно з середовищем Чапека (СЧ)**

Вид гриба	Діаметр зони інгібування, мм							
	<i>A. infectoria</i> F-41218		<i>A. flavipes</i> F-41213		<i>C. globosum</i> F-41224		<i>S. chartarum</i> F-41215	
	СЧ	ГКС	СЧ	ГКС	СЧ	ГКС	СЧ	ГКС
<i>A. niger</i> F-73001	12±1,67	12±0,67	12±1,67	17±2,54	27±1,67	37±1,67	15±0,67	20±1,67
<i>A. terreus</i> F-16718	12±2,33	12±0,67	12±1,67	17±1,67	28±1,67	40±1,67	15±0,67	17±1,67
<i>A. pullulans</i> F-159	50±2,33	55±3,33	40±2,67	50±3,33	65±3,33	85±3,67	45±2,67	55±3,67
<i>P. variotii</i> F-16724	20±2,67	20±2,67	30±3,67	35±3,33	40±2,67	50±2,67	25±1,67	29±2,67
<i>P. chrysogenum</i> F-16719	10±0,67	10±1,67	20±1,67	25±1,83	43±2,67	53±2,78	24±1,67	28±2,67
<i>P. ochrochloron</i> F-16715	10±0,67	15±2,33	15±1,67	25±1,83	40±2,67	51±2,56	20±1,67	30±2,67
<i>S. brevicaulis</i> F-16716	12±0,98	12±0,67	17±2,67	23±2,67	50±3,67	50±1,67	25±2,33	35±1,67
<i>T. viride</i> F-16713	10±0,67	10±0,67	20±2,67	20±2,67	30±2,67	30±1,67	20±1,67	25±1,67
Контроль (діаметр колонії блоку без газону)	30±2,33	28±1,67	10±1,67	10±1,67	30±1,67	35±2,67	12±0,67	13±1,67

Примітка: діаметр блоку 5 мм.

Слід зазначити, що серед культур-блоків найсильнішим антагоністом виявився *C. globosum* F-41224, про що свідчить переважання категорій взаємодій I (пригнічення), II (фунгіцидність) і III (фунгістатичність). Загалом, антагоністична активність мікроскопічних грибів, виділених з гіпсокартону, щодо тест-культур зростає у ряду: *Alternaria infectoria* F-41218 → *Aspergillus flavipes* F-41213 → *Stachybotrys chartarum* F-41215 → *Chaetomium globosum* F-41224.

Обговорення. Порівнюючи отримані нами результати з даними інших авторів, слід зауважити, що антагоністична активність *C. globosum* F-41224, виділеного з гіпсокартону, була значно вищою порівняно з активністю цього виду на середовищі Чапека, встановленою Турковою із співавт. [15]. Так, величина зон пригнічення росту грибів у наших експериментах досягала 27–85 мм, у той час як за даними цих авторів вона становила від 12 до 22 мм.

За нашими даними *C. globosum* F-41224 не проявляв контактного антагонізму, а характеризувався фунгіцидною і фунгістатичною дією на середовищі Чапека та пригнічував розвиток усіх тест-культур на середовищі з додаванням гіпсокартону. Отримані нами результати щодо ряду видів мікроміцетів узгоджуються з даними про високу

антагоністичну активність *S. chartarum* F-41215 щодо *Aspergillus flavus*, *Penicillium shaze*, *Fusarium semitectum* і *Rhizopus* sp [6, 8]. Штами роду *Alternaria* характеризувались фунгіцидною, фунгістатичною дією та контактним антагонізмом. Виділена нами з гіпсокартону *A. infectoria* F-41218 проявляла таку активність лише при взаємодії з *A. pullulans* F-159 та пригнічувалась газонами всіх інших тест-культур. Відомо, що види роду *Aspergillus* характеризуються різноманітними категоріями взаємодій – від контактного антагонізму до повного пригнічення; для *A. flavipes* F-41213 описано антагоністичну дію щодо *A. fumigatus* і *Trichophyton mentagrophytes* [4–6, 12, 15]. Виділений нами з гіпсокартону *A. flavipes* F-41213 проявив лише фунгіцидну та фунгістатичну дію на тест-культури.

Антагоністична активність тест-культур за отриманими нами даними зростала у ряду: *Aureobasidium pullulans* F-159 → *Penicillium ochrochloron* F-16715 → *Paecilomyces variotii* F-16724 → *Scopulariopsis brevicaulis* F-16716 → *Penicillium chrysogenum* F-16719 → *Trichoderma viride* F-16713 → *Aspergillus terreus* F-16718 → *Aspergillus niger* F-73001, що узгоджується з даними літератури [5, 12, 15]. Так, *T. viride*, *A. niger*, *A. terreus* і *P. chrysogenum* часто трапляються в ґрунтах і відомі як сильні антагоністи. *A. pullulans* F-159 у нашому експерименті не виявив описаної для цього виду фунгіцидної, фунгістатичної та стимулюючої дії на ріст культур, виділених з гіпсокартону [6, 9, 15].

Відомо, що антагоністична активність грибів корелює як із швидкістю їх росту, так і з утворенням культурою біологічно активних метаболітів (антибіотиків, токсинів тощо) [4, 7, 15].

Антагоністична активність мікроміцетів *A. flavipes* F-41213, *C. globosum* F-41224 та *S. chartarum* F-41215, виділених з гіпсокартону, була досить високою, причому найчастіше виявляли фунгіцидну дію та пригнічення тестових культур. Розвиток *A. infectoria* F-41218 пригнічувався газонами всіх тест-культур, окрім *A. pullulans* F-159. Зазначені види здатні синтезувати широкий спектр метаболітів, які характеризуються антибіотичними властивостями [1, 2, 9, 16].

Вищий бал грибостійкості та наявність росту грибів на зразках гіпсокартону без обробки тест-культурами раніше, ніж у досліді можна пояснити наявністю пригнічуючої, фунгіцидної та фунгістатичної дії мікроміцетів, виділених з гіпсокартону.

Підсумовуючи результати дослідження взаємодій між мікроскопічними грибами слід зазначити, що антагоністична активність грибів, виділених з гіпсокартону, щодо тест-культур зростає в ряду: *Alternaria infectoria* F-41218 < *Aspergillus flavipes* F-41213 < *Stachybotrys chartarum* F-41215 < < *Chaetomium globosum* F-41224. Штам *C. globosum* F-41224, виділений з гіпсокартону, виявився найсильнішим антагоністом, про що свідчить переважання пригнічуючої, фунгіцидної та фунгістатичної дії на тест-культури. Такі взаємодії можуть бути обумовлені високою швидкістю росту та синтезом *C. globosum* метаболітів, що мають антифунгальні властивості [3, 10, 15]. Використання зазначених мікроміцетів як тест-культур для визначення грибостійкості гіпсокартону є цілком доцільним після вивчення можливості їх взаємного поєднання та ростових характеристик.

Ю.Б. Письменная, И.Н. Курченко, А.Г. Суббота

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГИПСОКАРТОНА

Резюме

Цель. Исследовать антагонистические взаимодействия между микроскопическими грибами, чаще всего контаминирующими гипсокартон, и рекомендованными для определения грибостойкости тест-культурами. **Методы.** Для определения взаимодействий между тест-культурами и штаммами, выделенными из гипсокартона, использовали метод агаровых блоков. **Результаты.** Установлено, что выделенные из гипсокартона виды *Alternaria infectoria* F-41218 E.G. Simmons, *Aspergillus flavipes* F-41213 (Bain. & Sart.) Thom & Church, *Chaetomium globosum* F-41224 Kunze ex Fr., *Stachybotrys chartarum* F-41215 (Ehrenb.) S. Hughes подавляют развитие тест-культур микромицетов, рекомендованных для испытаний грибостойкости. Антагонистическая активность грибов, выделенных из гипсокартона, по отношению к тест-культурам возрастает в ряду: *Alternaria infectoria* F-41218 < *Aspergillus flavipes* F-41213 < *Stachybotrys chartarum* F-41215 < *Chaetomium globosum* F-41224. Показано усиление антагонистической активности культур, выделенных из гипсокартона, и изменение категорий взаимодействия с преобладанием полного подавления тест-культур на среде с добавлением гипсокартона. **Вывод.** Таким образом, *C. globosum* F-41224, выделенный из гипсокартона, оказался самым сильным антагонистом, о чем свидетельствует преобладание угнетающего, фунгицидного и фунгистатического действия на тест-культуры.

Ключевые слова: антагонистические свойства, микроскопические грибы, фунгицидность, фунгистатичность, гипсокартон.

Yu.B. Pysmenna, I.M. Kurchenko, A.G. Subbota

*D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy
of Sciences of Ukraine
154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine*

ANTAGONISTIC PROPERTIES OF MICROSCOPIC FUNGI ISOLATED FROM PLASTERBOARD

Summary

The **aim** was to study the antagonistic interactions between microscopic fungi that often contaminate plasterboard, and test cultures which recommended determining the fungus resistance. **Methods.** Determination of interactions between test-cultures and strains isolated from plasterboard was carried out by agar block method. **Results.** The isolated from plasterboard *Alternaria infectoria* F-41218 E.G. Simmons, *Aspergillus flavipes* F-41213 (Bain. & Sart.) Thom & Church, *Chaetomium globosum* F-41224 Kunze ex Fr., *Stachybotrys chartarum* F-41215 (Ehrenb.) S. Hughes strains inhibited the growth of test-cultures, recommended for study fungal resistance. Antagonistic activity of isolated from plasterboard fungi against the test-cultures increased in order *Alternaria infectoria* F-41218 < *Aspergillus flavipes* F-41213 < *Stachybotrys chartarum* F-41215 < *Chaetomium globosum* F-41224. It was shown that the increase of antagonistic activity of isolated from plasterboard cultures and changing of interaction categories to complete inhibition of test-

culture growth on medium with plasterboard. **Conclusion.** Thus, *C. globosum* F-41224 isolated from plasterboard was the strongest antagonist, as evidenced by the prevalence of inhibition, fungistatical and fungicidal effects against the test-cultures.

Key words: antagonistic properties, microscopic fungi, fungistatical and fungicidal effects, plasterboard.

1. Andersen B., Nielsen K.F., Jarvis B.B. Characterization of *Stachybotrys* from water-damaged buildings based on morphology, growth, and metabolite production. *Mycologia*. 2002; 94(3): 392–403.
2. Andersen B., Ulf T. Secondary metabolites produced by *Altemaria infectoria* and their use as chemotaxonomic markers. *Mycotoxin research*. 1996; 12(2): 54–60.
3. Bilay V.I., ed. [Methods of Experimental Mycology. Reference Guide]. Kiev: Nauk. Dumka, 1982. Russian.
4. Bilay V.I. [Microscopic fungi producing antibiotics]. Publ. House Acad. Sci.: Kiev, 1961. Russian.
5. Chet I., Inbar J. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1994; 48(1): 37–43.
6. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi. Second ed. Eching: IHW-Verlag, 2007.
7. Egorov N.S. [Fundamentals of theory of antibiotics]. 6th ed. Moscow: MGU Science, 2004. Russian.
8. Ezekiel C.N., Nwangburuka C.C., Anokwuru C.P. Fungal diversity and antagonistic interactions of *Stachybotrys chartarum* in soils within Babcock University. *ActaSAT-ECH*, 2009; 3(1): 90–97.
9. Eziashi E.I., Omamor I.B., Odigie E.E. Antagonism of *Trichoderma viride* and effects of extracted water soluble compounds from *Trichoderma* species and benlate solution on *Ceratocystis paradoxa*. *African Journal of Biotechnology*. 2010; 6(4): 388–392.
10. Fogle M.R., Douglas D.R., Jumper C.A., Straus D.C. Growth and mycotoxin production by *Chaetomium globosum*. *Mycopathologia*. 2007; 164(1): 49–56.
11. GOST 9.048-89. [Technical items. Laboratory test methods for resistance to fungi]. Introduced. 06.26.1989. Russian.
12. Lugauskas A.Y., Mikulskene A.I., Shlyauzhene D.Y. [Catalog of micromycetes – biodestructors of plastics]. Moscow: Nauka, 1987. Russian.
13. Pysmenna Y.B., Subbota A.G., Nakonechna L.T. [The mycobiota in studying the resistance of plasterboard to microscopic fungi]. *Mikrobiol Z.*, 2015; 77(5): 55–61. Russian.
14. Pysmenna Y.B., Subbota A.G., Nakonechna L.T., Kurchenko I.M. [The species composition of micromycetes isolated from plasterboard]. *Mikrobiol Z.*, 2016; 78(1): 54–62. Russian.
15. Turkova Z.A., Titkova O.A. [Fungal relations between species used for technical product testing, and antibiotic properties]. In: Gorlenko M.V., [Microorganisms and lower plants – destroyers of materials and products]. Moscow: Nauka, 1979. p. 33–46. Russian.
16. Zaichenko A.M., Andrienko E.V., Tsyganenko E.S. [Macrocyclic trichothecene mycotoxins: toxic to warm-blooded]. *Modern problems of toxicology*. 2008; (4): 32–37. Russian.

Отримано 18.08.2016