

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS*, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ПОВЕРХНІ ГРАНУЛ МІНЕРАЛЬНИХ ДОБРИВ

Л.А. Шевченко

кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник

Інститут сільськогосподарської мікробіології

та агропромислового виробництва НААН (м. Чернігів, Україна)

доцент

Національний університет "Чернігівська політехніка" (м. Чернігів, Україна)

e-mail: shevchenkolyubov@ukr.net; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2637-1999>

Т.С. Сасіна

аспірантка

Інститут сільськогосподарської мікробіології

та агропромислового виробництва НААН (м. Чернігів, Україна);

e-mail: taniateri5@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4021-9202>

Досліджено характер антагоністичної взаємодії бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. cereus* 3/7, попередньо виділених із поверхні гранул мінеральних добрив, і фітопатогенних мікроміцетів, а також встановлено ступінь пригнічення розвитку міцелію грибів у лабораторних умовах. Антагоністичні властивості бактеріальних штампів визначали методом подвійних зустрічних культур. Інгібувальну активність мікробної культури оцінювали за відсотком пригнічення тест-культури при сумісному культивуванні з антагоністами. Найбільший інгібувальний вплив проти збудника альтернаріозу мали штами *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. amyloliquefaciens* B-22. Ріст міцелію *F. culmorum* 50716, *F. moniliforme* 156 та *F. oxysporum* 311 найбільше обмежував штамп *B. amyloliquefaciens* B-22 (68,5%, 85,5% та 62,9% відповідно). Серед досліджуваних культур бактерій штамп 5/13 на 71,1% пригнічував розвиток *F. solani* ЕК 1. Проти фітопатогену *N. oryzae* 5000 досліджувані штами *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. amyloliquefaciens* B-22 показали високий рівень інгібувальної активності — 96,6 та 83,7% відповідно. Проти фітопатогену *N. oryzae* 3000 показники інгібування були дещо нижчими. *B. cereus* 3/7 незначною мірою пригнічував ріст фітопатогенних грибів роду *Nigrospora* — 27,7% (*N. oryzae* 5000) та 31,6% (*N. oryzae* 3000). За результатами дослідження антагоністичної активності бактерій *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. cereus* 3/7, виділених із поверхні гранул мінеральних добрив, встановлено, що штами B-22 та 3/7 проявляють досить високу фунгістатичну дію до фітопатогенних тест-культур. *B. cereus* 3/7 є найменш ефективним у пригніченні росту фітопатогенних мікроміцетів.

Ключові слова: антагонізм, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, фітопатогенні мікроміцети.

ВСТУП

Однією з важливих властивостей бактеріальних штампів, селекціонованих для застосування в сільському господарстві, є їхня здатність проявляти антагоністичну активність щодо патогенних видів мікроорганізмів, особливо якщо йдеться про пошук біоагентів для створення біопрепаратів.

Спороутворюючі бактерії роду *Bacillus* найчастіше обираються як потенційні агенти біопрепаратів, що зумовлено низкою їхніх важливих властивостей, зокрема високою фізіологічною активністю та широким спектром метаболітів. Особливо цінною є здатність бацил синтезувати фітогормональні речовини, анти-

біотичні сполуки, ферменти, токсини тощо [11; 38]. Не менш важливою є їхня участь у процесах трансформації сполук та обміну таких макроелементів, як нітроген і фосфор. Зручність використання бактерій роду *Bacillus* у біотехнологічних процесах пояснюється також їхньою високою толерантністю до дії несприятливих чинників довкілля [5–6; 35; 37].

Значна кількість представників *Bacillus* довела свою ефективність проти широкого спектра патогенів рослин. Серед спороутворюючих бактерій роду *Bacillus* за антагоністичними властивостями щодо фітопатогенних грибів вид *B. amyloliquefaciens*, за узагальнюючими даними А. Мелентьєва, можна віднести до умовної

групи “часто згадуються”. До видів, які “частіше всього” проявляють антагонізм, належать *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. cereus* [3].

Метою дослідження є з'ясування характеру антагоністичної взаємодії бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. cereus* 3/7, попередньо виділених із поверхні гранул мінеральних добрив, і фітопатогенних мікроміцетів, та встановлення ступеня пригнічення розвитку міцелію грибів у лабораторних умовах.

Загалом, представники роду *Bacillus* є активними продуцентами низки біологічно активних речовин, серед яких важливе значення мають сполуки фунгіцидного та бактерицидного спрямування, що дозволяє розглядати їх як перспективних агентів для біоконтролю фітопатогенів.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Досліджено та описано низку механізмів реалізації конкурентної взаємодії між мікроорганізмами, зокрема між групами агрономічно корисних бактерій і фітопатогенних мікроміцетів. Пригнічення росту та розвитку фітопатогенів може відбуватися шляхом прямого антагонізму, який виникає внаслідок фізичного контакту або високого ступеня селективності до збудника, та/або непрямого антагонізму, що є результатом дій, які не передбачають прямого контакту з патогеном.

Серед фунгіцидних і фунгістатичних механізмів, що властиві бактеріям, у літературних джерелах описані конкуренція за поживний субстрат (проявляється у швидкості росту); синтез низки речовин, специфічна дія яких спрямована на інгібування синтезу клітинної стінки грибів або порушення проникності клітинних мембран; синтез літичних екзоферментів (хітинази, β -1,3-глюканази тощо), що здатні руйнувати клітинні стінки грибів при контакті з ними [3; 10; 17; 19–20; 32–33]. До перерахованих способів варто ще віднести гіперпаразитизм, хижацтво, антибіоз, перехресний захист та індуквану стійкість [22]. Останній пов'язаний зі стимулюванням захисних механізмів рослини-господаря непатогенними мікроорганізмами та є непрямою формою антагонізму [30]. На відміну від гіперпаразитизму, мікробне хижацтво є більш загальним, неспецифічним і, як правило, забезпечує менш передбачуваний рівень контролю захворювання [22].

За результатами аналізу літературних джерел, бактерії роду *Bacillus* мають високий потенціал синтезу вторинних метаболітів і частіше згадуються як продуценти різних типів антимікробних речовин. С.А. Dunlap та ін. про-

аналізували геном штаму *B. amyloliquefaciens* AS 43.3 та ідентифікували певний кластер генів, що кодують такі вторинні метаболіти, як ліпопептиди (сурфактин, ітурин, фенгіцин), сидерофор (бацилібактин) та антибіотик бацілізин [14]. Про синтез бактеріями *B. amyloliquefaciens* поліпептидів ітуруну та сурфактину, активних проти фітопатогенних грибів *Aspergillus* ssp., *Fusarium* ssp. та *Bipolaris sorokiniana*, повідомляє L.B. Benitez зі співавторами [8]. Описана також здатність штаму *B. amyloliquefaciens* WH1 за допомогою синтезу ліпопептидного антибіотику сурфактину пригнічувати ріст грибів (*Rhizoctonia solani*) [34]. А синтез циклічного ліпопептиду фенгіцину з антибактеріальною та протигрибною активністю штамом *B. amyloliquefaciens* MEP218 описаний у роботі D.B. Medeot зі співавторами [27]. S.H. Ji та ін. методом подвійних культур встановили, що *B. amyloliquefaciens* CNU114001 пригнічує розвиток патогенних грибів родів *Alternaria*, *Botrytis*, *Penicillium*, та ідентифікували антифунгальну речовину як відомий ліпопептид ітурин [23].

Синтез літичних ферментів, зокрема хітинази, як один з ефективних механізмів, що пригнічує розвиток фітопатогенних грибів, описаний для багатьох ґрунтових бактерій. Зокрема, *B. cereus* унаслідок розщеплення клітинних стінок живих клітин грибів і деструкції мертвого міцелію засвоює розчинні вуглець та азот як єдине джерело N та C. Посилаючись на відповідні джерела, автори роблять припущення про можливість розкладу міцелію грибів бацилами в ґрунті [4; 13].

Антагоністичну активність представників роду *Bacillus*, пов'язану з хітинолітичною активністю бактерій, що супроводжується морфологічними змінами міцелію при сумісному культивуванні мікроорганізмів, описали А.А. Рой та О.С. Харкевич [4]. Також хітиназна активність бактерій виду *B. amyloliquefaciens* V656, здатних інгібувати ріст мікроміцетів, описана в роботах J. Wang зі співав. [39] та S. El-Aassar та ін. [15]. Утім, дані про синтез гідролітичних ферментів мікроорганізмами поодинокі. Є припущення, що лізис клітинної стінки патогенних грибів відбувається внаслідок координованої дії гідролітичних ферментів, таких як хітиназа, ламінараза, целюлаза та протеаза [19; 20].

Щодо конкурентного взаємовпливу, то, згідно з суперечливою думкою D. Backhouse та A. Stewart [7], дія бацил на патогенні гриби не є результатом конкуренції за поживні речовини. Цей тип конкурентної взаємодії між мікроорганізмами в роботі [28] класифікований як непрямий антагонізм, або ж пасивний [1], який може реалізовуватись через механізм конкуренції та/або індукції резистентності

організму господаря. Однак у конкуренції за поживні речовини можуть бути залучені інші механізми, пов'язані із синтезом вторинних метаболітів, описаних вище. Зважаючи на те, що в ґрунтовому середовищі більшість корисних мікроорганізмів мають інтенсивніший ріст, ніж патогенні види, основна задача яких полягає в подоланні захисних механізмів рослин, не-патогенні представники швидше контамінують (заселяють) субстрат та адаптують ферментативну систему для розщеплення відповідних полімерних сполук.

Проаналізовані літературні джерела вказують на те, що, крім синтезу вторинних метаболітів, бактерії здатні використовувати й інші способи інгібування чи повного знищення клітин фітопатогенів. Однак нам не відомі точні антагоністичні механізми в складних мікробних угрупованнях ґрунтів, які часто лежать в основі посиленого пригнічення хвороб. Хоча інгібування, ймовірно, пов'язане зі структурою мікробного угруповання з урахуванням (антагоністичних) функцій, залишаються питання щодо організмів або комбінацій організмів, які задіяні фізично, та їх фізіолого-біохімічної активності, що важливо для супресивного впливу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Антагоністичні властивості бактеріальних штамів визначали методом подвійних зустрічних культур на картопляно-сахарозному агарі (КСА). Для визначення антифунгальної активності бактерій методом подвійних культур у чашки Петрі засівали міцелій гриба методом уколу та на відстані 6 см від уколу підсівали бактеріальний штам методом штриха. Посів здійснювали в чашках Петрі діаметром 90 мм із шаром середовища завтовшки 6 мм. Чашки Петрі розміщували в термостаті за температури $26 \pm 2^\circ\text{C}$. Повторність досліду — триразова. Контрольними варіантами слугували чисті культури гриба та бактерії, посіяні в окремі чашки. На 7-му добу проводили облік результатів. Інгібувальну активність визначали, орієнтуючись на діаметри колоній у контрольному та дослідних варіантах, за формулою $(D_K - D_0)/D_K$, де D_K — діаметр колонії в контролі, D_0 — у досліді, виражаючи показники у відсотках [2]. Залежно від ступеня дії антагоніста на культуру, ефект оцінювали як інгібуючий, індиферентний або стимулюючий.

Тест-об'єктами були фітопатогенні мікроміцети: *Fusarium culmorum* Sacc. 50716, *F. moniliforme* J. Sheld., *F. oxysporum* Schltdl., *A. alternata*, *F. moniliforme*, *F. culmorum* 50716, *F. oxysporum*, *F. solani* ЕК 1 (із колекції лабораторії рослинно-мікробних взаємодій Інституту сіль-

ськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН). Штами бактерій *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. cereus* 3/7 були виділені з поверхні гранул мінеральних добрив у лабораторії ґрунтової мікробіології ІСМАВ НААН.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед обраних тест-культур для визначення антагоністичної активності бацит є патогенні види, які завдають значних збитків широкому колу сільськогосподарських культур зернової, олійної та овочевої груп [24–26; 31]. Зокрема, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. є причиною появи раннього фітофторозу та бурі плямистості рослин картоплі [18; 29; 36]. У продуктах, заражених альтернаріозом, можуть накопичуватися метаболіти грибів (мікотоксини), що є небезпечними для людини та сільськогосподарських тварин [40]. Гриби роду *Fusarium*, добре відомі своєю вираженою фітопатогенністю та синтезом токсинів, пов'язані з розвитком фузаріозної сухої гнилі бульб картоплі та є причиною втрати 60% бульб, що зберігаються [9]. Також відомо, що фузарії синтезують низку токсинів (трихотеценові мікотоксини — дезоксиніваленон, ніваленон, діацетоксіціпренол та еніатини), що можуть спричиняти появу гострих токсикозів у тварин та людини при споживанні такої продукції [12; 16; 21].

За результатами дослідження антагоністичної активності бактерій роду *Bacillus* встановлено, що досліджувані штами *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *Bacillus cereus* 3/7 проявили інгібувальний вплив щодо фітопатогенних мікроміцетів у лабораторних дослідженнях *in vitro* (рис. 1). До збудника альтернаріозу *A. alternata* найбільший інгібувальний вплив мали штами *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. amyloliquefaciens* B-22, ступінь інгібування росту міцелію становив 97,2 та 84,4% відповідно. При цьому штам *B. cereus* 3/7 пригнічував ріст гриба лише на 32,0%.

У пригніченні росту збудників фузаріозу більш ефективними також були штами *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та меншою мірою *B. cereus* 3/7. Для грибів *F. culmorum* 50716, *F. moniliforme* 156 та *F. oxysporum* 311 найбільшу інгібувальну активність виявив штам *B. amyloliquefaciens* B-22 (68,5%, 85,5% та 62,9% відповідно), тоді як для штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 відповідні показники становили 61,1%, 51,8% та 48,1% (рис. 2). Деяко інша активність спостерігалася щодо мікроміцета *F. solani* ЕК 1,

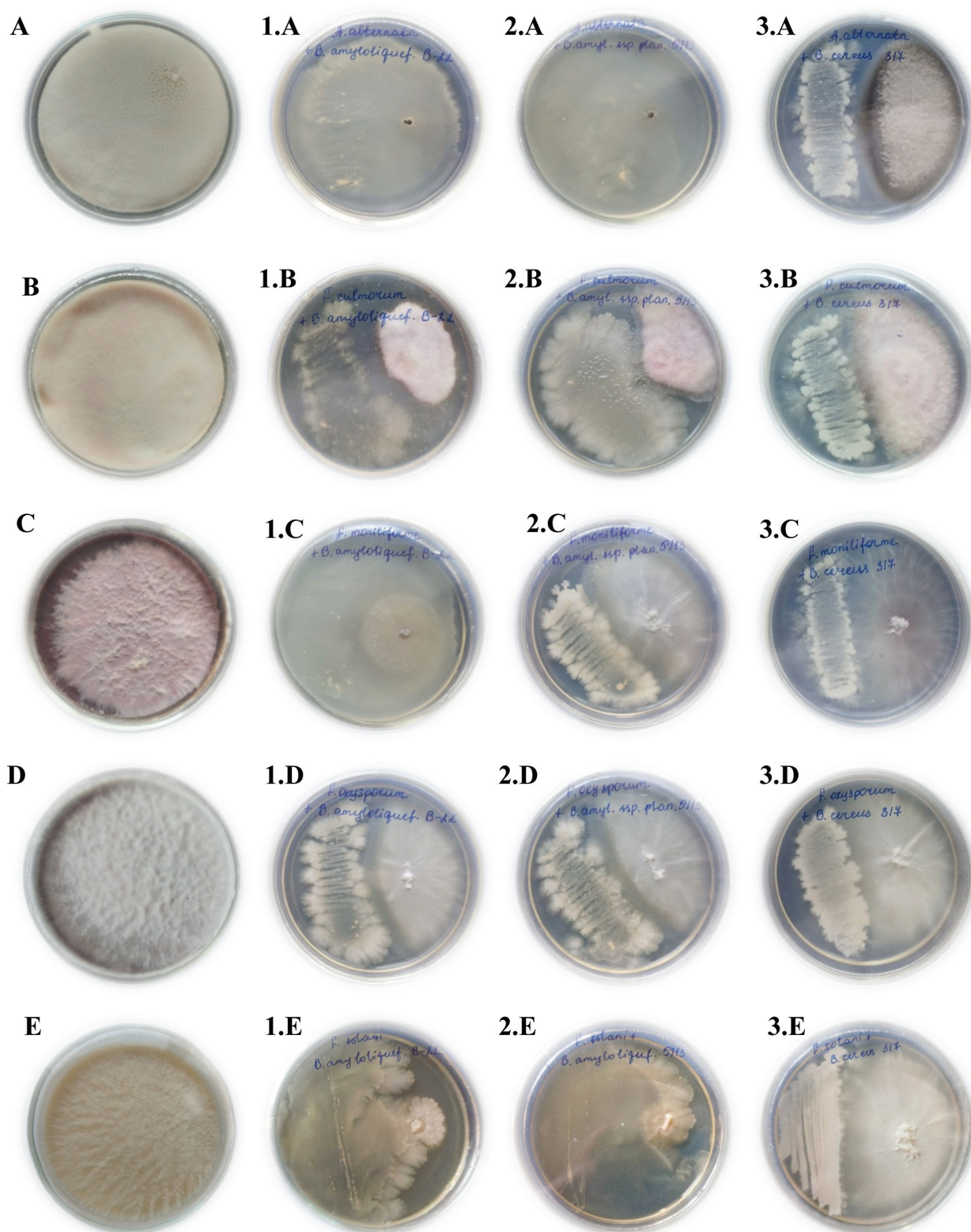


Рис. 1. Антагоністична активність *Bacillus* до фітопатогенних мікроміцетів

Джерело: виконано авторами на основі власних досліджень.

Примітка: 1 — *Bacillus amyloliquefaciens* B-22; 2 — *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 51/3; 3 — *B. cereus* 317; A — *Alternaria alternata* 89; B — *Fusarium culmorum* Sacc. 50716; C — *F. moniliforme* 156; D — *F. oxysporum* 311; E — *F. solani* EK1.

Антагоністична активність бактерій роду *Bacillus*, виділених із поверхні гранул мінеральних добрив

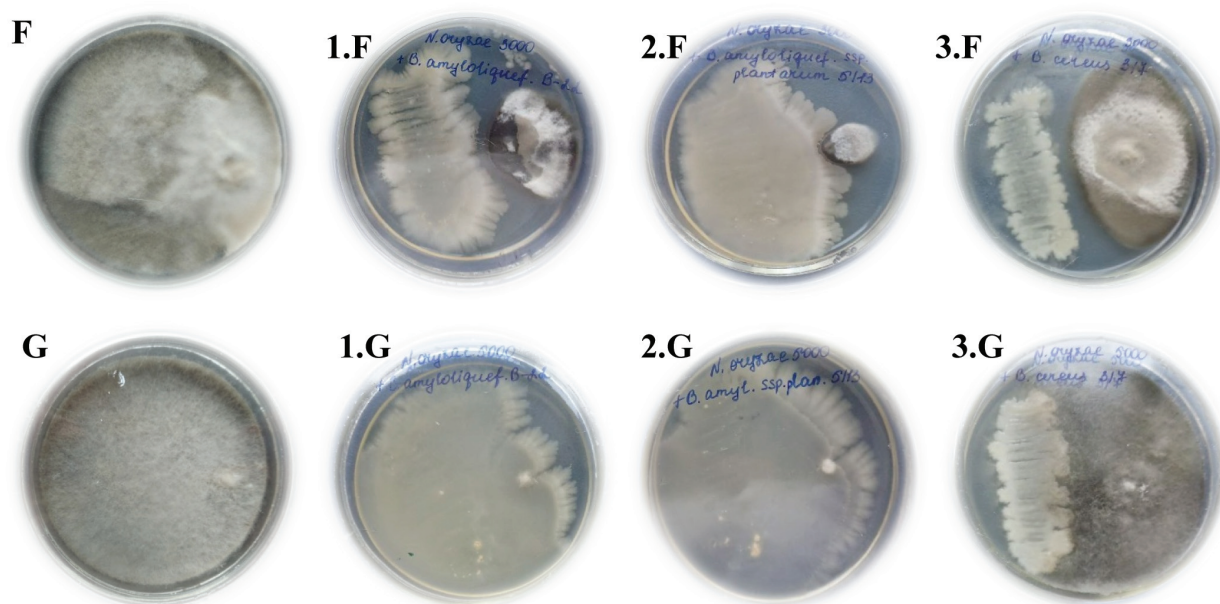


Рис. 1 (продовження). Антагоністична активність *Bacillus* до фітопатогенних мікроміцетів

Джерело: виконано авторами на основі власних досліджень.

Примітка: 1 — *Bacillus amyloliquefaciens* B-22; 2 — *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13; 3 — *B. cereus* 3/7; F — *Nigrospora oryzae* 3000; G — *N. oryzae* Berk. 5000.

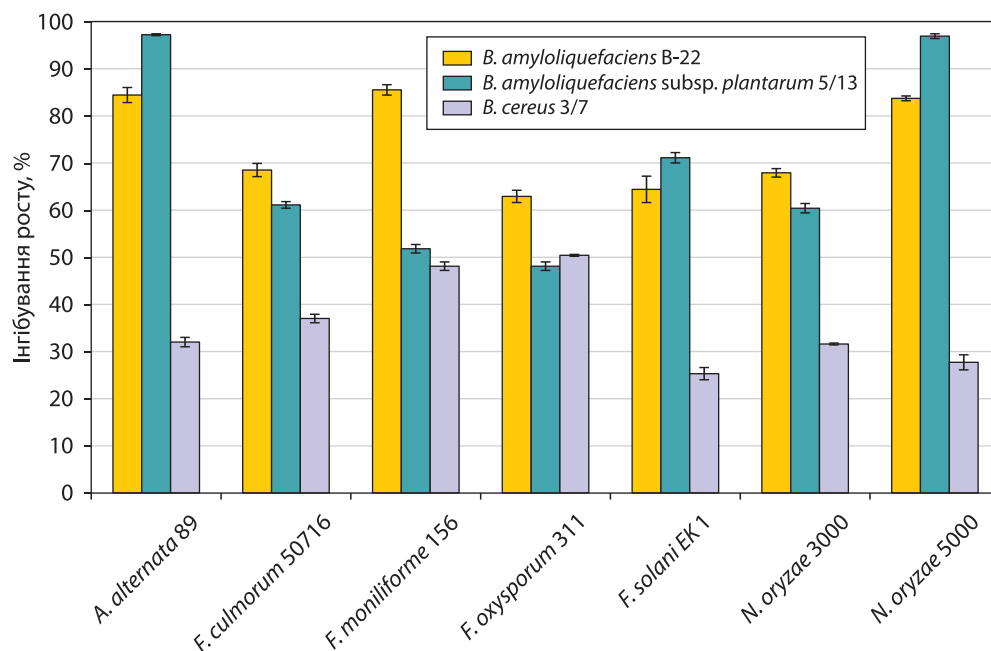


Рис. 2. Інгібувальна активність бактерій щодо фітопатогенів

Джерело: розроблено авторами на основі власних досліджень.

який найбільше пригнічувався штамом *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 (71,1%) та меншою мірою *B. amyloliquefaciens* B-22 (64,4%). *B. cereus* 3/7 проявив інгібувальний вплив до вищезгаданого гриба на 25,3%, що є для нього

найнижчим показником інгібування досліджуваних фітопатогенів.

Проти фітопатогену *N. oryzae* 5000 досліджувані штами *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. amyloliquefaciens* B-22 пока-

зали високий рівень інгібувальної активності — 96,6% та 83,7% відповідно. Проти фітопатогену *N. oryzae* 3000 показники інгібування були дещо нижчими: 67,9% для штаму *B. amyloliquefaciens* B-22 та 60,4% для *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13. Водночас встановлено, що штам *B. cereus* 3/7 незначною мірою пригнічував ріст фітопатогенних грибів роду *Nigrospora* — 27,7% (*N. oryzae* 5000) та 31,6% (*N. oryzae* 3000).

Отже, досліджувані агрономічно цінні штами бактерій проявляють фунгістатичну дію до наведених вище фітопатогенних мікроорганізмів, хоча й різною мірою. *B. cereus* 3/7 є найменш ефективним у пригніченні росту тест-культур фітопатогенних мікроміцетів.

Оскільки механізм антагонізму залежить від штамових особливостей бактерій і виду фітопатогенного гриба, виникає необхідність у проведенні подальших детальних досліджень з урахуванням можливої комплексної природи антагоністичної активності бактерій, виділених із поверхні гранул мінеральних добрив.

ВИСНОВКИ

Досліджувані агрономічно цінні штами бактерій *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 та *B. cereus* 3/7 проявляють фунгістатичну дію до фітопатогенних мікроорганізмів по-різному. *B. cereus* 3/7 є найменш ефективним у пригніченні росту тест-культур фітопатогенних мікроміцетів. Зважаючи на отримані під час лабораторних досліджень результати, можемо припустити, що швидка колонізація субстрату (агаризованого поживного середовища) штамами бактерій роду *Bacillus* за їх одночасного культивування з фітопатогенними мікроміцетами в умовах *in vitro* потенційно може бути реалізована в зоні ризосфери рослин. Відповідно, асоційовані з рослиною корисні мікроорганізми, завдяки швидкій колонізації, обмежуватимуть доступ до субстрату патогенним видам.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л. Екологія грибів. Львів: ЛНУ, 2013. 628 с.
2. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / за ред. В.В. Волкогона. К.: Аграрна наука, 2010. 464 с.
3. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohn в агроэкосистемах. М.: Наука, 2007. 147 с.
4. Рой А.А., Харкевич О.С. Міколітична активність фосфатмобілізуювальних ґрунтових бактерій роду *Bacillus* Cohn. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2015. № 1. С. 66–76.
5. Abbas A., Khan S.U., Khan W.U., Saleh T.A., Khan M., Ullah S., Ali A., Ikram M. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus. Biologies*. 2019. Vol. 342 (5–6). P. 124–135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crv.2019.05.002>
6. Ahmad Z., Wu J., Chen L., Dong W. Isolated *Bacillus subtilis* strain 330-2 and its antagonistic genes identified by the removing PCR. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. P. 1–13.
7. Backhouse D., Stewart A. Interactions between *Bacillus* species and sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Soil Biol. and Biochem.* 1989. Vol. 21, No. 1. P. 173–176.
8. Benítez L.B., Velho R.V., Lisboa M.P., Medina L.F., Brandelli A. Isolation and characterization of antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* LBM5006. *J. of Microbiol.* 2010. Vol. 48 (6). P. 791–797. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0164-0>
9. Bojanowski A., Avis T.J., Pelletier S., Tweddell R.J. Management of potato dry rot. *Postharvest Biol. Technol.* 2013. Vol. 84. P. 99–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.04.008>
10. Bressan W., Figueiredo J.E.F. Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic to *Fusarium moniliforme* in maize. *Journal of Plant Pathology*. 2010. Vol. 92 (2). P. 343–347.
11. Chaihar M., Chunhaleuchanon S., Kozo A., Lumyong S. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. *KMITL Sci. Tech. J.* 2008. Vol. 8. P. 18–23.
12. Delgado J.A., Schwarz P.B., Gillespie J., Rivera-Varas V.V., Secor G.A. Trichothecene mycotoxins associated with potato dry rot caused by *Fusarium graminearum*. *Phytopathol.* 2010. Vol. 100. P. 290–296. DOI: <https://doi.org/10.1094/phyto-100-3-0290>
13. Dighton J. Fungi in Ecosystem processes. New York-Basel: Marcel Dekker Inc., 2003. 432 p.
14. Dunlap C.A., Browman M.J., Schisler D.A. Genomic analysis and secondary metabolite production in *Bacillus amyloliquefaciens* AS 43.3: A biocontrol antagonist of *Fusarium* head blight. *Biological Control*. 2013. Vol. 64, Issue 2. P. 166–175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.002>
15. El-Aassar S., Ghanem K., Sabry A., Ghanem N. Purification and characterization of chitinases produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioseparation*. 1992. Vol. 3, No. 1. P. 37–46. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf010885d>
16. Ellner F.M., Mycotoxins in potato tubers infected by *Fusarium sambucinum*. *Mycotoxin Res.* 2002. Vol. 18. P. 57–61. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02946697>
17. Emmert E.A.B., Handelsman J. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol.* 1999. Vol. 171. P. 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13405.x>
18. Ganie S.A., Ghani M.Y., Nissar Q., Jabeen N., Anjum Q., Ahanger F.A., Ayaz A. Status and symptomatology of early blight (*Alternaria solani*) of potato (*Solanum tuberosum* L.) in Kashmir valley. *African Journal of Agricultural Research*. 2013. Vol. 8 (41). P. 5104–5115. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7338>

19. Gruber S., Seidl-Seiboth V. Self versus non-self: fungal cell wall degradation in *Trichoderma*. *Microbiol.* 2012. Vol. 158. P. 26–34. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.052613-0>
20. Gupta C.P., Kumar B., Dubey R.C., Maheshwari D.K. Chitinase mediated destructive antagonistic potential of *Pseudomonas aeruginosa* GRC against *Sclerotinia sclerotiorum* causing charcoal rot of peanut. *Bio. Control.* 2006. Vol. 51. P. 821–835. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-006-9000-1>
21. Herrmann M., Zocher R., Haese A. Enniatin production by *Fusarium* strains and its effect on potato tuber tissue. *AEM.* 1996. Vol. 62. P. 393–398. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.62.2.393-398.1996>
22. Heydari A., Pessarakli M. A Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences.* 2010. Vol. 10. P. 273–290. DOI: <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.273.290>
23. Ji S.H., Paul N.C., Deng J.X., Kim Y.S., Yun B.-S., Yu S.H. Biocontrol Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against Fungal Plant Diseases. *Mycobiology.* 2013. Vol. 41, Issue 4. P. 234–242. DOI: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.4.234>
24. Louis B., Waikhom S.D., Singh W.M., Talukdar N.C., Roy P. Diversity of Ascomycetes at the potato interface: new devastating fungal pathogens posing threat to potato farming. *Plant Pathology Journal.* 2014. Vol. 13 (1). P. 18–27. DOI: <https://doi.org/10.3923/ppj.2014.18.27>
25. Mamaghani N.A., Masiello M., Somma S., Moretti A., Saremi H., Haidukowski M., Altomare C. Endophytic *Alternaria* and *Fusarium* species associated to potato plants (*Solanum tuberosum* L.) in Iran and their capability to produce regulated and emerging mycotoxins. *Heliyon.* 2024. Vol. 10, e26385. 18 p. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26385>
26. Marak M.C.N., Kayang H. Isolation and identification of endophytic fungi associated with *Solanum tuberosum* L. of south-west Garo Hills, Meghalaya. *IJAASST.* 2018. Vol. 5 (1). P. 58–65.
27. Medeot D.B., Fernandez M., Morales G.M., Jofré E. Fengycins From *Bacillus amyloliquefaciens* MEP218 Exhibit Antibacterial Activity by Producing Alterations on the Cell Surface of the Pathogens *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* and *Pseudomonas aeruginosa* PA01. *Front. Microbiol.* 2020. Vol. 10 (3107). P. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03107>
28. Pal K.K., McSpadden G.B. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor.* 2006. Vol. 2. P. 1117–1142. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>
29. Park J., Kim S., Jo M., An S., Kim Y., Yoon J., ... Kim Y. Isolation and Identification of *Alternaria alternata* from Potato Plants Affected by Leaf Spot Disease in Korea: Selection of Effective Fungicides. *J. of Fungi.* 2024. Vol. 10. P. 53. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof10010053>
30. Park K., Ahn I.-P., Kim C.-H. Systemic resistance and expression of the pathogenesis-related genes mediated by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 against anthracnose disease in cucumber. *Mycobiology.* 2001. Vol. 29 (1). P. 48–53.
31. Pinto V.E.F. Patriarca A. *Alternaria* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology.* New York: Humana Press, 2017. P. 13–32. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_2
32. Pleban S., Chernin L. Chet I. Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*. *Appl. Microbiol.* 1997. Vol. 25. P. 284–288. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00224.x>
33. Podile A.R., Prakash A.P. Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF 1. *Canadian Journal of Microbiology.* 1996. Vol. 42 (6). P. 533–538. DOI: <https://doi.org/10.1139/m96-072>
34. Qi G., Zhu F., Du P., Yang X., Qiu D., Yu Z., Chen J., Zhao X. Lipopeptide induces apoptosis in fungal cells by a mitochondria-dependent pathway. *Peptides.* 2010. Vol. 31 (11). P. 1978–1986. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.08.003>
35. Raaijmakers J.M., Vlami M., Souza J.T. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2002. Vol. 81. P. 537–547.
36. Saharan G.S., Mehta N., Meena P.D., *Alternaria* Diseases of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management. Springer Singapore, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-0021-8>
37. Shafi J., Tian H., Ji M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2017. Vol. 31, Issue 3. P. 446–459. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
38. Silo-Suh L.A., Lethbridge B.J., Raffel S.J., He H., Clardy J., Handelsman J. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. Vol. 60. P. 2023–2030.
39. Wang J., Liu J., Wang X. Application of electrospray ionization mass spectrometry in rapid typing of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2004. Vol. 39 (1). P. 98–102. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01547.x>
40. Yuldashova Z.Z., Sodikov B.S., Khamiraev U.K. *Alternaria* disease of potato and its control (review). *EPRA International Journal of Research & Development.* 2023. Vol. 8 (5). P. 168–172. DOI: <https://doi.org/10.36713/epra13285>

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *BACILLUS* BACTERIA ISOLATED FROM THE SURFACE OF MINERAL FERTILIZER GRANULES

Shevchenko L.

Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture of NAAS (Chernihiv, Ukraine)

Associate Professor

Chernihiv Polytechnic National University (Chernihiv, Ukraine)

e-mail: shevchenkolyubov@ukr.net; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2637-1999>

Sasina T.

Postgraduate student

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture of NAAS (Chernihiv, Ukraine)

e-mail: taniateri5@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4021-9202>

The nature of the antagonistic interaction between the bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 and *B. cereus* 3/7, previously isolated from the surface of mineral fertilizer granules, and phytopathogenic micromycetes was investigated, and the degree of inhibition of the development of fungal mycelium in laboratory conditions was established. The antagonistic properties of bacterial strains were determined by the method of double counter cultures. The inhibitory activity of the microbial culture was estimated by the percentage of inhibition of the test culture when co-cultivated with antagonists. The strains *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 and *B. amyloliquefaciens* B-22 had the greatest inhibitory effect against the causative agent of *Alternaria* blight. The growth of mycelium of *F. culmorum* 50716, *F. moniliforme* 156 and *F. oxysporum* 311 was most limited by the *B. amyloliquefaciens* B-22 strain (68.5%, 85.5% and 62.9% respectively). Among the bacterial cultures studied, strain 5/13 inhibited the development of *F. solani* EK 1 by 71.1%. Against the phytopathogen *N. oryzae* 5000, the studied strains *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 and *B. amyloliquefaciens* B-22 showed a high level of inhibitory activity — 96.6 and 83.7%, respectively. Against the phytopathogen *N. oryzae* 3000, the inhibition rates were somewhat lower. *B. cereus* 3/7 slightly inhibited the growth of phytopathogenic fungi of the genus *Nigrospora* — 27.7% (*N. oryzae* 5000) and 31.6% (*N. oryzae* 3000). According to the results of the study of the antagonistic activity of the bacteria *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13 and *B. cereus* 3/7, isolated from the surface of mineral fertilizer granules, it was found that strains B-22 and 3/7 exhibit a fairly high fungistatic effect on phytopathogenic test cultures. *B. cereus* 3/7 is the least effective in inhibiting the growth of phytopathogenic micromycetes.

Keywords: antagonism, bacteria isolated from the surface of granules, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, phytopathogenic micromycetes.

REFERENCES

1. Antoniak, H.L. (2013). Ecology of fungi. Lviv: LNU.
2. Volkohon, V.V. (Ed.). (2010). Experimental soil microbiology. K.: Agrarian Science.
3. Melentyev, A.I. (2007). Aerobic spore-forming bacteria *Bacillus* Cohn in agroecosystems. Moscow: Nauka.
4. Roy, A.A., & Harkevych, O.S. (2015). Mycolytic activity of phosphate-mobilising soil bacteria of the genus *Bacillus* Cohn. *Microbiology and biotechnology*, 1, 66–76.
5. Abbas, A., Khan, S.U., Khan, W.U., Saleh, T.A., Khan, M., Ullah, S., Ali, A., & Ikram, M. (2019). Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus. Biologies*, 342 (5–6), 124–135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2019.05.002>
6. Ahmad, Z., Wu, J., Chen, L., & Dong, W. (2017). Isolated *Bacillus subtilis* strain 330-2 and its antagonistic genes identified by the removing PCR. *Sci. Rep.*, 7, 1–13.
7. Backhouse, D., & Stewart, A. (1989). Interactions between *Bacillus* species and sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Soil Biol. and Biochem.*, 21 (1), 173–176.
8. Benitez, L.B., Velho, R.V., Lisboa, M.P., Medina, L.F., & Brandelli, A. (2010). Isolation and characterization of antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* LBM5006. *J. of Microbiol.*, 48 (6), 791–797. doi: <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0164-0>
9. Bojanowski, A., Avis, T.J., Pelletier, S., & Tweddell, R.J. (2013). Management of potato dry rot. *Postharvest Biol. Technol.*, 84, 99–109. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.04.008>
10. Bressan, W., & Figueiredo, J.E.F. (2010). Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic to *Fusarium moniliforme* in maize. *Journal of Plant Pathology*, 92 (2), 343–347.
11. Chaihar, M., & Chunhaleuchanon, S., Kozo, A., & Lumyong S. (2008). Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. *KMITL Sci. Tech. J.*, 8, 18–23.
12. Delgado, J.A., Schwarz, P.B., Gillespie, J., Rivera-Varas, V.V., & Secor, G.A. (2010). Trichothecene mycotoxins associated with potato dry rot caused by *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, 100 (3), 290–296. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-3-0290>
13. Dighton, J. (2003). Fungi in Ecosystem processes. New York-Basel: Marcel Dekker Inc.
14. Dunlap, C.A., Browman, M.J., & Schisler, D.A. (2013). Genomic analysis and secondary metabolite production in *Bacillus amyloliquefaciens* AS 43.3: A biocontrol antagonist of *Fusarium* head blight. *Biological Control*, 64 (2), 166–175. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.002>
15. El-Aassar, S., Ghanem, K., Sabrys, A., & Ghanem, N. (1992). Purification and characterization of chitinases produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioseparation*, 3 (1), 37–46. doi: <https://doi.org/10.1021/jf010885d>
16. Ellner, F.M. (2002). Mycotoxins in potato tubers infected by *Fusarium sambucinum*. *Mycotoxin Res*, 18, 57–61. doi: <https://doi.org/10.1007/bf02946697>
17. Emmert, E.A.B., & Handelsman, J. (1999). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol.*, 171, 1–9. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13405.x>
18. Ganie, S.A., Ghani, M.Y., Nissar, Q., Jabeen, N., Anjum, Q., Ahanger, F. A., & Ayaz, A. (2013). Status and symptomatology of early blight (*Alternaria solani*) of potato (*Solanum tuberosum* L.) in Kashmir valley. *African Journal of Agricultural Research*, 8 (41), 5104–5115. doi: <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7338>

19. Gruber, S., & Seidl-Seiboth, V. (2012). Self versus non-self: fungal cell wall degradation in *Trichoderma*. *Microbiol*, 158, 26–34. doi: <https://doi.org/10.1099/mic.0.052613-0>
20. Gupta, C.P., Kumar, B., Dubey, R.C., & Maheshwari, D.K. (2006). Chitinase mediated destructive antagonistic potential of *Pseudomonas aeruginosa* GRC against *Sclerotinia sclerotiorum* causing charcoal rot of peanut. *Bio. Control*, 51, 821–835. doi: <https://doi.org/10.1007/s10526-006-9000-1>
21. Herrmann, M., Zocher, R., & Haese, A. (1996). Enniatin production by *Fusarium* strains and its effect on potato tuber tissue. *AEM*, 62, 393–398. doi: <https://doi.org/10.1128/aem.62.2.393-398.1996>
22. Heydari, A., & Pessarakli, M.A. (2010). Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10, 273–290. doi: <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.273.290>
23. Ji, S.H., Paul, N.C., Deng, J.X., Kim, Y.S., Yun, B.-S., & Yu, S.H. (2013). Biocontrol Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against Fungal Plant Diseases. *Mycobiology*, 41, 4, 234–242. doi: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.4.234>
24. Louis, B., Waikhom, S.D., Singh, W.M., Talukdar, N.C., & Roy, P. (2014). Diversity of Ascomycetes at the potato interface: new devastating fungal pathogens posing threat to potato farming. *Plant Pathology Journal*, 13 (1), 18–27. doi: <https://doi.org/10.3923/ppj.2014.18.27>
25. Mamaghani, N.A., Masiello, M., Somma, S., Moretti, A., Saremi, H., Haidukowski, M., & Altomare, C. (2024). Endophytic *Alternaria* and *Fusarium* species associated to potato plants (*Solanum tuberosum* L.) in Iran and their capability to produce regulated and emerging mycotoxins. *Heliyon*, 10 (e26385), 18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26385>
26. Marak, M.C.N., & Kayang, H. (2018). Isolation and identification of endophytic fungi associated with *Solanum tuberosum* L. of south-west Garo Hills, Meghalaya. *IJAASST*, 5 (1), 58–65.
27. Medeat, D.B., Fernandez, M., Morales, G.M., & Jofré, E. (2020). Fengycins From *Bacillus amyloliquefaciens* MEP218 Exhibit Antibacterial Activity by Producing Alterations on the Cell Surface of the Pathogens *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* and *Pseudomonas aeruginosa* PA01. *Front. Microbiol*, 10 (3107), 1–12. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03107>
28. Pal, K.K., & McSpadden, G.B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, 2, 1117–1142. doi: <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>
29. Park, J., Kim, S., Jo, M., An, S., Kim, Y., Yoon, J., & Kim, Y. (2024). Isolation and Identification of *Alternaria alternata* from Potato Plants Affected by Leaf Spot Disease in Korea: Selection of Effective Fungicides. *J. of Fungi*, 10, 53. doi: <https://doi.org/10.3390/jof10010053>
30. Park, K., Ahn, I.-P., & Kim, C.-H. (2001). Systemic resistance and expression of the pathogenesis-related genes mediated by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 against anthracnose disease in cucumber. *Mycobiology*, 29 (1), 48–53.
31. Pinto, V.E.F., & Patriarca, A. (2017). *Alternaria* species and their associated mycotoxins. Mycotoxigenic Fungi. *Methods in Molecular Biology*. New York: Humana Press, 13–32. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_2
32. Pleban, S., Chernin, L., & Chet, I. (1997). Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*. *Appl. Microbiol*, 25, 284–288. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00224.x>
33. Podile, A.R., & Prakash, A.P. (1996). Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF 1. *Canadian Journal of Microbiology*, 42 (6), 533–538. doi: <https://doi.org/10.1139/m96-072>
34. Qi, G., Zhu, F., Du, P., Yang, X., Qiu, D., Yu, Z., Chen, J., & Zhao, X. (2010). Lipopeptide induces apoptosis in fungal cells by a mitochondria-dependent pathway. *Peptides*, 31 (11), 1978–1986. doi: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.08.003>
35. Raaijmakers, J.M., Vlam, M., & Souza, J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 537–547.
36. Saharan, G.S., Mehta, N., & Meena, P.D. (2016). *Alternaria* Diseases of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management. Springer Singapore. doi: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-0021-8>
37. Shafi, J., Tian, H., & Ji, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31 (3), 446–459. doi: <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
38. Silo-Suh, L.A., Lethbridge, B.J., Raffel, S.J., He, H., Clardy, J., & Handelsman, J. (1994). Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol*, 60, 2023–2030.
39. Wang, J., Liu, J., & Wang, X. (2004). Application of electrospray ionization mass spectrometry in rapid typing of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis*. *Lett. Appl. Microbiol*, 39 (1), 98–102. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01547.x>
40. Yuldashova, Z.Z., Sodikov, B.S., & Khamiraev, U.K. (2023). *Alternaria* disease of potato and its control (review). *EPRA International Journal of Research & Development (IJRD)*, 8 (5), 168–172. doi: <https://doi.org/10.36713/epri13285>

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

ШЕВЧЕНКО Любов Анатоліївна, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, Україна 14035); доцент, Національний університет “Чернігівська політехніка” (вул. Шевченка, 95, м. Чернігів, Україна, 14030; e-mail: shevchenkolyubov@ukr.net; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2637-1999>).

САСІНА Тетяна Сергіївна, аспірантка, Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, Україна, 14035; e-mail: taniateri5@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4021-9202>).