

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ПРИСУТСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ

CHANGE OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MICROMYCETES IN THE PRESENCE OF NANOPARTICLES

Сырбу Т.¹, Тимуш И.¹, Горинчой В.², Пушкашу Б.², Маслоброд С.³

¹ ИМБ, Республика Молдова

MD-2028, Республика Молдова, ул. Академическая, 1
E-mail: tfsirbu@gmail.com, timus_ion@mail.ru

² ИХ, Республика Молдова

MD-2028, Республика Молдова, ул. Академическая, 3
E-mail: viorina@inbox.ru, b_puscasu@yahoo.fr

³ ИГФЗР, Республика Молдова

MD-2002, Республика Молдова, ул. Лесная, 20
E-mail: maslobrod37@mail.ru

Sirbu T.¹, Timus I.¹, Gorincioi V.², Pushkashu B.², Maslobrod S.N.³

¹ Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova
MD-2028, Republic of Moldova, Academiei Str., 1

E-mail: tfsirbu@gmail.com, timus_ion@mail.ru

² Institute of Chemistry, Republic of Moldova

MD-2028, Republic of Moldova, Academiei Str., 3
E-mail: viorina@inbox.ru, b_puscasu@yahoo.fr

³ Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova

MD-2002, Republic of Moldova, Padurii Str., 20
E-mail: maslobrod37@mail.ru

Из почвы Молдовы были выделены микромицеты, из которых выбраны 11 штаммов принадлежащих к роду *Trichoderma* (5 штаммов) и *Penicillium* (6 штаммов), у которых определяли антифунгальную активность по отношению к ряду тест-культур — 5 штаммов фитопатогенных грибов — возбудителей болезней сельскохозяйственных растений, часто встречающихся в Молдове. Штаммы выращивали на агаризованной среде Чапека с добавлением в среду наночастиц (НЧ) в концентрациях: Со — 0,0001 %; Си, ZnO, Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ — 0,001 %. Проведенные исследования показали, что добавление в среду НЧ Со не повлияло на антифунгальную активность в присутствии НЧ Си и ZnO (4,5–9,2 %) у представителей рода *Trichoderma*. Лучшие результаты получены при добавлении в среду Fe₂O₃ или Fe₂ZnO₄ (5,3–30,4 %). У представителей рода *Penicillium* замечено также, что наилучшие результаты при определении антифунгальной активности соответствовали вариантам опытов при добавлении НЧ Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ (увеличение зон задержки роста от 6,4 до 33,3 %). Таким образом, согласно полученным результатам, можно констатировать, что присутствие НЧ различной химической природы оказывают определенное действие на изменение антифунгальной активности микромицетов по отношению к фитопатогенам, вызывающие разного рода заболевания важных сельскохозяйственных культур, возделываемых в Молдове. У представителей рода *Trichoderma* и *Penicillium* обнаружена возможность повышения антифунгальной активности по отношению к тому или иному фитопатогену, варьируя состав среды культивирования добавлением в неё тех или иных НЧ.

Ключевые слова: антифунгальная активность, микромицеты, наночастицы.

Для цитирования: Сырбу Т., Тимуш И., Горинчой В., Пушкашу Б., Маслоброд С. ИЗМЕНЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ПРИСУТСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ. Аграрная наука. 2019; (2): 110–114.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-2-110-114>

Micromycetes were isolated from Moldavian soil, from which 11 strains belonging to the genus Trichoderma (5 strains) and Penicillium (6 strains) were selected, in which antifungal activity was determined in relation to a number of test cultures — 5 strains of phytopathogenic fungi that cause diseases of agricultural plants, often found in Moldova. The strains were grown on the agar medium Czapek with the addition of nanoparticles (NPs) to the medium in concentrations: Co — 0.0001%; Cu, ZnO, Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ and Fe₂CuO₄ — 0.001%. Studies have shown that the addition of Co NP to the medium did not affect the antifungal activity in the presence of Cu NP and ZnO NP (4.5–9.2%) in representatives of the genus Trichoderma. The best results were obtained by adding Fe₂O₃ or Fe₂ZnO₄ (5.3–30.4%) to the medium. In representatives of the genus Penicillium, it was also noted that the best results in determining the antifungal activity corresponded to the variants of experiments with the addition of NPs Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ and Fe₂CuO₄ (an increase in the growth inhibition zones from 6.4 to 33.3%). Thus, according to the obtained results, it can be stated that the presence of NPs of various chemical natures have a definite effect on the change in the antifungal activity of micromycetes against phytopathogens, causing various diseases of important crops cultivated in Moldova. The representatives of the genus Trichoderma and Penicillium found the possibility of increasing antifungal activity against to one or another phytopathogen, varying the composition of the cultivation medium by the addition of certain NPs to it.

Key words: antifungal activity, micromycetes, nanoparticles.

For citation: Sirbu T., Timus I., Gorincioi V., Pushkashu B., Maslobrod S.N. CHANGE OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MICROMYCETES IN THE PRESENCE OF NANOPARTICLES. Agrarian science. 2019; (2): 110–114. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-2-110-114>

В настоящее время нанотехнологии нашли применение в различных областях. Одним из перспективных направлений создания экологически безопасных средств защиты и стимуляторов роста для растений являются нанотехнологии [1, 2]. Основными областями применения нанотехнологий стали биотехнология, производство и переработка продукции сельского хозяйства, сельскохозяйственное машиностроение, технический сервис. В растениеводстве применение нанопрепаратов дает повышение устойчивости к неблагоприятным погодным условиям и увеличение урожайности в полто-

ра-два раза почти всех продовольственных и технических культур. В Российском государственном аграрном университете имени Тимирязева, например, применяют биологически активные нанопорошки железа для активизации ферментативных систем растений. Этот препарат влияет на всхожесть, увеличивает устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды и повышает урожайность сельскохозяйственных культур [3].

В сообщении Миацаканяна и Прачуяна (...) было показано различное антибактериальное влияние нанокон-
позитного фильтра с наночастицами Ag на *Enterococcus*

faecali. и грамотрицательные (*Escherichia coli*) бактерии, при этом увеличение концентрации Ag в фильтре может усилить антимикробный эффект нанокompозитного фильтра против *E. faecalis* [4].

Доказано, что наночастицы меди и никеля оказывают ингибирующее действие против штаммов *S. epidermidis*, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Наибольшее влияние они оказывали на сахаролитическую активность этих штаммов. Также отмечается что, наночастицы Cu способны восстанавливать чувствительность штаммов *E. coli* к некоторым бета-лактоаминным антибиотикам (ампициллин) и аминогликозидам (гентамицин), а штаммов *P. aeruginosa* — к цефалоспорином III поколения (цефтазидим) [5].

Целью исследований было изучение влияния различных наночастиц на антифунгальную активность микромицетов.

Материалы и методы

В опытах использовали 11 штаммов мицелиальных грибов из Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов, принадлежащие р. *Trichoderma* (5 штаммов) и *Penicillium* (6 штаммов). Культуры были выращены на агаризованной среде Чапека с добавлением наночастиц в концентрации (%) Co — 0,0001, Cu, ZnO, Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ — 0,001. Контролем служили варианты со средой Чапека без наночастиц.

Наночастицы Co, Cu ZnO были синтезированы и предоставлены нам сотрудниками из Юго-Западного Государственного Университета (г. Курск, Россия), а наночастицы Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ — из Института Химии Молдовы. Размер наночастиц (НЧ) разный (нм): НЧCo — 15–20; НЧCu — 2–3; НЧZnO 20–30; НЧFe₂O₃ — 7–10; НЧFe₂ZnO₄ — 10–17 и НЧFe₂CuO₄ — 30–50 [6, 7].

Антифунгальную активность определяли методом агаровых блоков [8]. В опытах был использован спектр из 5 штаммов фитопатогенных грибов: *Aspergillus niger*; *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*; *Fusarium oxysporum* — возбудителей болезней сельскохозяйственных растений, часто встречающихся в Молдове.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью встроенного статистического пакета Excel (MS Office 2007).

Результаты и обсуждения

В таблице 1 представлены результаты определения антифунгальной активности штаммов микромицетов р. *Trichoderma*, выращенных на среде Чапека с добавлением наночастиц. Видно, что у штамма *T. virens* CNMN FD 13 антифунгальная активность увеличилась на 5,3–9,2% по отношению к таким фитопатогенам, как *A. niger*, *B. cinerea* и *F.*

oxysporum после культивирования на среде Чапека с добавлением наночастиц Cu, ZnO, Fe₂O₃ или Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄.

Особо следует отметить увеличение антифунгальной активности этого штамма по отношению к *A. alternata* в варианте опытов при культивировании гриба с добавлением в среду Fe₂ZnO₄ — на 25,8 % по сравнению с контролем, тогда как это же соединение способствовало незначительному повышению антифунгальной активности по отношению к *F. solani* (на 4,2%).

Для штамма *T. lignorum* CNMN FD 14 культивирование в присутствии наночастиц способствовало повышению антифунгальной активности практически по отношению ко всем 5 тест-культурам. Так, например, по отношению к *A. niger* антифунгальная активность повышалась на 13,3–33,3% в присутствии в среде Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ или Fe₂CuO₄. Увеличение зон задержки роста *A. alternata* происходило, если в среде присутствовали соединения Fe₂O₃ и Fe₂ZnO₄ (на 5,0 и 28,3% соответственно). Зоны

Таблица 1.

Влияние наночастиц на антифунгальную активность микромицетов рода *Trichoderma*

Штаммы	Вариант	Тест-культуры (% по отношению к контролю)				
		<i>A. niger</i>	<i>Alt. alternate</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>
<i>Trichoderma virens</i> CNMN FD 13	Контроль	100±0,02	100±0,04	100±0,04	100±0,05	100±0,04
	+ Cu	80,0±0,03	100±0,02	97,3±0,03	96,1±0,03	108,0±0,03
	+ Co	100±0,03	91,3±0,02	98,6±0,05	91,3±0,02	100±0,03
	+ ZnO	108,6±0,03	100±0,05	101,4±0,07	101,9±0,03	109,2±0,03
	+ Fe ₂ O ₃	105,3±0,04	90,3±0,04	105,3±0,07	101,1±0,04	88,1±0,05
	+Fe ₂ ZnO ₄	102,1±0,04	125,8±0,04	108,5±0,04	104,2±0,04	81,1±0,04
	+Fe ₂ CuO ₄	105,3±0,04	101,1±0,06	107,5±0,02	102,1±0,02	82,2±0,04
<i>Trichoderma lignorum</i> CNMN FD 14	Контроль	100 ± 0,06	100±0,06	100±0,04	100±0,05	100±0,05
	+ Cu	r. creștere	101,9±0,03	100±0,04	103,0±0,02	106,1±0,04
	+ Co	r. creștere	100±0,05	97,7±0,12	98,0±0,03	97,6±0,02
	+ ZnO	r. creștere	103,0±0,02	102,3±0,08	103,0±0,05	104,9±0,02
	+ Fe ₂ O ₃	113,3±0,12	105,0±0,06	117,3±0,06	116,3±0,04	117,4±0,05
	+Fe ₂ ZnO ₄	125,0±0,06	128,3±0,03	93,3±0,04	101,3±0,04	130,4±0,05
	+Fe ₂ CuO ₄	133,3±0,09	90,0±0,01	100,0±0,04	110,0±0,05	104,4±0,05
<i>Trichoderma koningii</i> CNMN FD 15	Контроль	100±0,05	100±0,04	100±0,08	100±0,07	100±0,06
	+ Cu	78,3±0,03	102,1±0,05	96,6±0,07	102,2±0,09	95,5±0,08
	+ Co	76,7±0,03	99,0±0,05	93,1±0,12	100±0,08	100±0,08
	+ ZnO	85,0±0,06	103,1±0,04	105,2±0,03	106,7±0,04	104,5±0,08
	+ Fe ₂ O ₃	112,0±0,05	124,7±0,06	113,3±0,08	100,0±0,07	93,1±0,04
	+Fe ₂ ZnO ₄	120,0±0,05	118,5±0,04	120,0±0,08	107,6±0,07	112,6±0,02
	+Fe ₂ CuO ₄	100,0±0,05	114,8±0,04	120,0±0,08	70,0±0,07	108,1±0,02
<i>Trichoderma harzianum</i> CNMN FD 16	Контроль	100±0,04	100±0,05	100±0,04	100±0,02	100±0,1
	+ Cu	111,1±0,08	100±0,05	98,5±0,08	100±0,05	112,8±0,11
	+ Co	85,7±0,05	98,1±0,03	98,5±0,06	99,0±0,06	98,0±0,04
	+ ZnO	88,9±0,11	100±0,05	102,9±0,06	101,9±0,03	108,5±0,07
	+ Fe ₂ O ₃	110,8±0,08	105,8±0,02	103,4±0,08	115,7±0,04	114,5±0,04
	+Fe ₂ ZnO ₄	116,1±0,04	110,5±0,02	108,0±0,02	102,4±0,06	126,3±0,04
	+Fe ₂ CuO ₄	103,2±0,04	125,6±0,04	122,7±0,04	115,7±0,04	138,2±0,04
<i>Trichoderma viride</i> CNMN FD 17	Контроль	100±0,05	100±0,05	100±0,05	100±0,05	100±0,05
	+ Cu	104,4±0,03	99,0±0,05	100±0,04	102,1±0,05	99,0±0,07
	+ Co	88,2±0,15	98,0±0,03	100±0,07	102,1±0,08	97,0±0,06
	+ ZnO	95,6±0,08	101,0±0,03	100,9±0,04	100,0±0,07	101,0±0,02
	+ Fe ₂ O ₃	107,3±0,03	96,0±0,05	96,0±0,05	96,0±0,05	120,0±0,05
	+Fe ₂ ZnO ₄	108,7±0,05	104,0±0,05	120±0,05	104,0±0,05	120,0±0,05
	+Fe ₂ CuO ₄	130,4±0,04	96,0±0,05	132,0±0,04	96,0±0,05	132,0±0,05

Таблица 2.

Антифунгальная активность штаммов р. *Penicillium*, культивируемых в присутствии наночастиц

Штаммы	Вариант	Тест-культуры (% по отношению к контролю)				
		<i>A. niger</i>	<i>Alt. alternata</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>
<i>Penicillium funiculosum</i> CNM FP 01	Контроль	100±0,08	100±0,04	100±0,06	100±0,03	100±0,04
	+ Cu	106,8±0,04	103,9±0,10	80,7±0,03	113,1±0,06	115,4±0,13
	+ Co	93,2±0,04	94,1±0,07	75,4±0,03	96,7±0,03	105,8±0,10
	+ ZnO	109,1±0,08	125,5±0,10	84,2±0,06	101,6±0,06	115,4±0,07
	+ Fe ₂ O ₃	102,2±0,04	96,0±0,04	80,7±0,03	123,0±0,06	108,5±0,07
	+Fe ₂ ZnO ₄	86,7±0,08	153,1±0,07	75,4±0,03	118,0±0,06	106,4±0,04
	+Fe ₂ CuO ₄	100,0±0,08	143,0±0,48	84,2±0,06	96,7±0,03	97,9±0,04
<i>Penicillium funiculosum</i> CNMN FD 11	Контроль	100±0,08	100±0,07	100±0,04	100±0,12	100±0,09
	+ Cu	104,4±0,04	102,0±0,08	111,3±0,10	98,3±0,18	97,1±0,03
	+ Co	91,1±0,04	92,2±0,08	92,5±0,10	86,44±0,10	88,41±0,06
	+ ZnO	111,1±0,09	102,0±0,08	113,2±0,06	101,7±0,06	102,9±0,03
	+ Fe ₂ O ₃	102,4±0,05	114,3±0,06	97,7±0,12	102,3±0,08	95,0±0,05
	+Fe ₂ ZnO ₄	114,3±0,08	108,6±0,06	102,3±0,08	84,1±0,04	107,7±0,09
	+Fe ₂ CuO ₄	102,4±0,12	123,0±0,06	88,6±0,08	81,8±0,08	105,1±0,05
<i>Penicillium corylophilum</i> CNMN FD 20	Контроль	100±0,6	100±0,03	100±0,08	100±0,06	100±0,05
	+ Cu	83,3±0,06	100,0±0,04	133,3±0,08	110,0±0,06	90,5±0,05
	+ Co	66,7±0,13	93,6±0,04	100,0±0,08	75,0±0,06	85,7±0,05
	+ ZnO	83,3±0,06	108,5±0,07	102,2±0,04	83,3±0,03	109,5±0,05
	+ Fe ₂ O ₃	83,3±0,06	100,0±0,09	133,3±0,12	110,0±0,06	90,5±0,05
	+Fe ₂ ZnO ₄	94,5±0,11	108,2±0,06	107,1±0,08	90,0±0,11	85,7±0,05
	+Fe ₂ CuO ₄	83,3±0,06	103,3±0,06	110,7±0,06	85,0±0,06	109,5±0,05
<i>Penicillium corylophilum</i> CNM FP 04	Контроль	100±0,05	100±0,09	100±0,07	100±0,05	100±0,03
	+ Cu	111,0±0,02	113,3±0,08	100,0±0,10	100,0±0,08	111,8±0,03
	+ Co	95,6±0,04	100,0±0,08	92,5±0,04	96,9±0,06	100,0±0,03
	+ ZnO	96,7±0,06	111,1±0,04	101,9±0,06	114,1±0,06	114,5±0,04
	+ Fe ₂ O ₃	107,4±0,04	125,0±0,09	100±0,07	93,7±0,03	111,8±0,03
	+Fe ₂ ZnO ₄	94,7±0,04	125,0±0,09	109,8±0,10	119,1±0,05	98,7±0,04
	+Fe ₂ CuO ₄	92,6±0,05	127,8±0,05	94,1±0,07	120,6±0,03	114,5±0,04
<i>Penicillium verrucosum</i> CNM FP 02	Контроль	100±0,08	100±0,07	100±0,04	100±0,07	100±0,06
	+ Cu	102,1±0,14	95,8±0,11	100,0±0,11	106,4±0,08	105,1±0,09
	+ Co	89,4±0,07	95,8±0,04	85,7±0,07	97,9±0,04	94,9±0,07
	+ ZnO	106,4±0,04	102,1±0,11	106,1±0,04	108,5±0,07	101,7±0,12
	+ Fe ₂ O ₃	86,7±0,08	82,3±0,07	89,8±0,04	127,1±0,11	101,7±0,09
	+Fe ₂ ZnO ₄	93,3±0,08	100,0±0,07	93,9±0,04	129,2±0,04	108,3±0,03
	+Fe ₂ CuO ₄	111,1±0,04	87,5±0,07	89,8±0,08	125,0±0,14	100,0±0,11
<i>Penicillium piceum</i> CNMN FD 21	Контроль	100±0,07	100±0,07	100±0,04	100±0,06	100±0,03
	+ Cu	103,7±0,07	96,2±0,06	108,5±0,07	106,8±0,06	100,0±0,05
	+ Co	92,6±0,07	88,7±0,04	95,7±0,07	98,3±0,07	91,7±0,09
	+ ZnO	101,9±0,04	96,2±0,06	106,4±0,11	100,0±0,03	100,0±0,05
	+ Fe ₂ O ₃	100,0±0,07	100,0±0,07	117,0±0,11	105,0±0,06	97,1±0,03
	+Fe ₂ ZnO ₄	115,7±0,04	115,7±0,04	108,5±0,07	115,0±0,06	111,4±0,05
	+Fe ₂ CuO ₄	103,9±0,04	100,0±0,07	102,1±0,07	98,3±0,03	94,3±0,10

задержки роста *B. cinerea* увеличились на 17,3 % только при наличии в среде Fe₂O₃ и на 16,3% увеличились зоны *F. solani*. Рост *F. oxysporum* более активно задерживали метаболиты *T. lignorum* CNMN FD 14, если в среде присутствовали наночастицы Cu (на 6,1%), ZnO (4,9%), Fe₂O₃ (17,4 %) и более всего — Fe₂ZnO₄ (на 30,4 %).

Добавление в среду культивирования ZnO незначительно повысило антифунгальную активность *T. koningii* CNMN FD 15 по отношению к *B. cinerea*, *F. solani* и *F. oxysporum* (на 4,5 — 6,7%), тогда как такие наночастицы как Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ способствовали ее увеличению в большей степени (на 7,6–24,7%). Особенно это четко видно по изменению зон задержки роста *B. cinerea* (на 3,3 -20,0% больше, чем в контроле) и *A. alternata* (14,8 -24,7%).

При сравнении изменения антифунгальной активности *T. harzianum* CNMN FD 16 на синтез комплекса биоактивных веществ при культивировании штамма в среде, было замечено, что она в равной степени увеличилась по отношению к *F. solani* (на 15,7%), если в среде присутствовали такие соединения, как Fe₂O₃ или Fe₂CuO₄. В меньшей степени изменилась антифунгальная активность изучаемого штамма по отношению к *A. niger* (на 10,8 -16,1%) в присутствии Fe₂O₃ и Fe₂ZnO₄. 3 вещества, содержащие Fe (Fe₂O₃, Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄), также способствовали увеличению антифунгальной активности этого штамма (на 5,8,10,5 и 25,6% соответственно 2 контролю) по отношению к *A. alternata*. 2 вещества — Fe₂ZnO₄ и Fe₂CuO₄ также вызывали увеличение антифунгальной активности по отношению к *B. cinerea*.

Обращает внимание факт повышения антифунгальной активности к *F. oxysporum* под влиянием присутствия в среде 5 из 6 проверенных веществ, причем уровень активности варьировал в достаточно широких пределах: от 8,5% (ZnO) до 38,2% (Fe₂CuO₄) по сравнению с контролем.

Способность сдерживать рост ряда тест-культур фитопатогенных грибов у *T. viride* CNMN FD 17 существенно отличалась от таковой у других 4-х выбранных для исследований штаммов р. *Trichoderma*. Так, например, следует отметить незначительное увеличение активности по отношению к *A. niger*, *A. alternata* и *F. solani* (на 4,04, % к контролю) ряда веществ и существенное увеличение — к другим

тест-культурам (на 20,0–32,0%), которое происходило, в основном, при наличии в среде таких соединений, как FeCuO_4 (на 30,0–32,0%) и Fe_2O_3 или Fe_2ZnO_4 (на 20,0%).

Итак, изучение изменения антифунгальной активности 5 штаммов р. *Trichoderma* под влиянием присутствующих в среде наночастиц показало, что менее всего происходило увеличение активности по отношению к выбранным тест-культурам у штамма *T. virens* CNMN FD 13 (увеличение зон задержки роста на 5,3–25,8% к контролю) и *T. koningii* CNMN FD 15 (на 4,5–24,7% к контролю). У других штаммов отмечалось увеличение активности в большей степени (до 30,4–33,4 % к К) по отношению к *A. niger*, *B. cinerea* и *F. oxysporum*. Замечено также, что у 5 выбранных штаммов грибов менее всего наночастицы способствовали увеличению активности у штаммов р. *Trichoderma* по отношению к *F. solani*. Так, например, она повысилась на 10,0–16,3% у *T. lignorum* 11 на 15,7%, у *T. harzianum* и всего на 4,0–7,6% у *T. viride* и *T. koningii*, а у *T. virens* только на 1,1–4,2%.

Изменение антифунгальной активности по отношению к фитопатогенным грибам под влиянием присутствующих в среде наночастиц изучали также и у 6 штаммов представителей р. *Penicillium*.

В таблице 2, где представлены полученные данные проведенных исследований, видно, что уровень активности изменялся в довольно широких пределах: можно заметить и минимальное значение (на 5,1% больше, чем в контроле по отношению к *F. oxysporum* при наличии в среде Fe_2CuO_4 у *P. funiculosum* CNMN FD 11 и *P. verrucosum* CNM FP 02 (при Cu в среде) и максимальные (на 43,0 и 53,1% по отношению к *A. alternata* при наличии в среде FeCuO_4 и Fe_2ZnO_4 соответственно).

Обращает внимание факт отсутствия повышения активности по отношению к *B. cinerea* у *P. funiculosum* CNM FP 01 и *A. niger* у *P. corylophilum* CNMN FD 20, к *Alt. alternata* у *P. verrucosum* CNM FP 02 в вариантах опытов с добавлением в среду проверяемых наночастиц. Также замечено незначительное повышение антифунгальной активности под влиянием наночастиц к *A. niger* у *P. funiculosum* CNM FP 01 (на 6,8–9,1% к контролю), к *Alt. alternata* (на 8,2–8,5%) у *P. corylophilum* CNMN FD 20, к *F. oxysporum* (на 9,5% к контролю) *P. corilophilum* CNMN FD 20, а также заслуживает внимание явление существенного повышения антифунгальной активности по отношению к *Alt. alternata* (на 25,5–53,1% к контролю) у штамма *P. funiculosum* CNM FP 01, на 13,3–27,8% у штамма *P. corylophilum* CNM FD 04, и по отношению к *B. cinerea* на 7,1–33,3% у *P. corylophilum* CNMN FD 20.

При сравнении антифунгальной активности штаммов р. *Penicillium*, которые относятся к одному виду — *P. funiculosum* CNM FP 01 и *P. funiculosum* CNMN FD 11 было замечено следующее: в присутствии наночастиц ZnO и штамма *P. funiculosum* CNMN FD 11 антифунгальная активность было немного выше (9,1 и 11,1% к контролю соответственно), а при наночастицах в среде Fe_2ZnO_4 у штамма *P. funiculosum* CNM FP 01 антифунгальная активность к *A. niger* была ниже чем активность к *Alt. alternata* в большей степени, чем у *funiculosum* CNMN FD 11.

При добавлении наночастиц в среду штамм *P. funiculosum* CNM FP 01 гораздо активно задерживал рост представителей р. *Fusarium*: зоны задержки роста превышали контроль на 13,1 — 23,0%, тогда как метаболиты штамма *P. funiculosum* CNMN FD 11 были слабее (превышали контроль на 5,1–7,7%).

Анализируя полученные данные определения антифунгальной активности 2-х штаммов вида *P.*

corylophilum CNMN FD 20 и CNM FP 04 можно отметить, следующее: присутствие в среде наночастиц незначительно повышает антифунгальную активность по отношению к *A. niger* у штамма *P. corylophilum* CNM FP 04, и *Alt. alternata* (на 11,1–27,8%) и к *F. solani* (на 14,1–20,6% к контролю) и только у штамма *P. corylophilum* CNMN FD 20 замечено существенное увеличение активности по отношению к *B. cinerea* (на 7,1–33,3% к контролю), тогда как другой штамм — *P. corylophilum* CNM FP 04, к этому фитопатогену активен гораздо в меньшей степени даже при добавлении в среду наночастиц разной химической природы (на 1,9–9,8% к контролю).

Наночастицы, добавленные в среду, на которой рос штамм *P. verrucosum* CNM PF 02 по отношению к 3-м из 5-ти тест-культур, незначительно повысили антифунгальную активность. у *P. verrucosum* CNM FP 02 (на 6,1–11,1% к контролю) и только представляет интерес увеличение активности этого штамма к *F. solani* (на 8,5–29,2% к контролю). Не повысилась активность этого штамма практически ни в одном опытном варианте при добавлении исследуемых наночастиц по отношению к такому широко распространенному в Молдове фитопатогену, как *Alt. alternata*. Для штамма *P. piceum* CNMN FD 21 только Fe_2ZnO_4 способствовал увеличению антифунгальной активности против *Alt. alternata* (на 15,7%). У других тест-культур зоны задержки роста при добавлении наночастиц увеличивались на 5,0–17,0% по сравнению с контролем.

То есть, при изучении изменения антифунгальной активности 6 штаммов р. *Penicillium* под влиянием добавленных в среду культивирования наночастиц различной химической природы было выявлено, что менее всего антифунгальная активность увеличилось у штаммов *P. piceum* CNMN FD 21, причем это происходило при действии Fe_2O_3 и FeZnO_4 (на 5,0–17,0% к контролю).

У штамма *P. verrucosum* CNM FP 02 также при добавлении в среду наночастиц увеличение антифунгальной активности было несущественным — зоны задержки роста стали больше на 6,1–11,1% по сравнению с контролем, за исключением вариантов опытов, где в среду были добавлены Fe_2ZnO_4 и Fe_2CuO_4 : метаболиты этого пеницилла активнее задерживали рост *F. solani*, чем другие тест-культуры (на 25,0–29,2% к контролю).

При анализе результатов проведенных исследований была обнаружена возможность повышения антифунгальной активности по отношению к тому или иному фитопатогену, варьируя состав среды добавлением наночастиц. Замечено, что, например, для активации штамма рода *Trichoderma* и повышения антифунгальной активности по отношению к такому широко распространенному фитопатогену как *Alt. alternata* лучше всего вести культивирование на среде с добавлением наночастиц Fe_2ZnO_4 , так как практически у всех штаммов происходит увеличение антифунгальной активности на 10,5–28,3% по сравнению с контролем, а к *F. oxysporum* — наночастиц Fe_2ZnO_4 или Fe_2CuO_4 , т.к. было замечено увеличение размера зон задержки роста этого тест-фитопатогена на 12,6–39,2% у некоторых представителей рода *Trichoderma*.

Повышение антифунгальной активности у представителей р. *Penicillium*, как показали результаты экспериментов, также в большинстве вариантов опытов было замечено при добавлении в среду Fe_2ZnO_4 и Fe_2CuO_4 : диаметр зон задержки роста таких фитопатогенов как *Alt. alternata*, *F. solani* превышая значение в контроле на 18,0–53,1%.

Следует также принять во внимание и некоторые индивидуальные особенности изученных штаммов р.

Trichoderma и *Penicillium*. Так, например, интересен факт повышения антифунгальной активности на 12,8% у *Tr. harzianum* CNMN FD 16 по отношению к *F. oxysporum* при добавлении в среду наночастиц Cu или у *P. corylophilum* CNM FP 04 по отношению к *A. alternata* (на 13,3%) и особенно вариант опыта с добавлением наночастиц Cu в среду при росте *P. corylophilum* 20, когда было отмечено повышение активности этого штамма по отношению к *B. cinerea* на 33,3% по сравнению с контролем. Также строго индивидуальной особенностью можно считать и увеличение зоны задержки роста на 25,5% у *Alt. alternata* под воздействием *P. funiculosum* CNM FP 01 выращенного в среде с добавлением наночастиц ZnO_4 т.к. в некоторых других вариантах опытов эти наночастицы выдавали повышение антифунгальной активности у других штаммов р. *Trichoderma* и р. *Penicillium* по отношению к фитопатогенам в интервале 4,5–11,1%, а только на 15,4% у *P. funiculosum* CNM FP 01 по отношению к *F. oxysporum*.

Относительно влияния наночастиц Fe_2O_3 также можно отметить, что их присутствие в срезе культивирования способствовало в ряде опытов повышению антифунгальной активности изучаемых штаммов

р. *Trichoderma* на 5,0–17,4% и только на 20,0% и 24,7% к *F. oxysporum* и *Alt. alternata* соответственно.

Для представителей р. *Penicillium* можно отметить, как одну из индивидуальных особенностей способность задерживать рост фитопатогенов, увеличивающуюся при наличии в среде таких наночастиц, как Fe_2O_3 на 8,5–17,0 % и в единичных вариантах опытов — на 27,1% к *F. solani* и на 33,3% — *B. cinerea*.

Практически не было замечено изменения антифунгальной активности (её повышение) при добавлении в среду наночастиц Co ни у одного из изучаемых микроорганизмов, за исключением варианта в котором замечено увеличение антифунгальной активности на 2, 1% у *T. viride* CNMN FD 17 по отношению к *F. solani*.

Вывод

У представителей рода *Trichoderma* и *Penicillium* обнаружена возможность повышения антифунгальной активности по отношению к тому или иному фитопатогену, варьируя состав среды культивирования добавлением в неё тех или иных НЧ. Это было заметно при использовании НЧ Fe_2ZnO_4 .

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасова Е.Ю., Коростелева В.П., Пономарев В.Я. Применение нанотехнологий в сельском хозяйстве // Журнал Вестник Казанского технологического университета. 2012, № 21, том 15, с. 121–122.
2. Нанотехнологии в сельском хозяйстве [Текст]: проспект / Курск. обл. науч. б-ка им. Н. Н. Асеева, отд. патент-технич. и с.-х. лит.; сост. Н. И. Кугутина. Курск, 2012. с. 19.
3. Kotzybik K., Gräf V., Kugler L., Dominic A. Stoll, Greiner R., Geisen R., Schmidt-Heydt M. Influence of different nanomaterials on growth and mycotoxin production of *Penicillium verrucosum* // PLOS. Published: 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150855>
4. Мнацаканян Н.С., Трчунян А.А. Антибактериальная активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий нанокompозитного фильтра на основе пористого минерала туфа и наночастиц серебра: различные эффекты и зависимость от концентрации серебра // Микробиология. 2016, т.116, № 4, с. 327–334.
5. Мамонова И.А. Влияние наночастиц переходной группы металлов на антибиотикорезистентные штаммы микроорганизмов // Автореферат дис. канд. биол. наук, Москва. 2013. 25 с.
6. Mirgorod Yu.A., Borodina V.G. Preparation and bactericidal properties of silver nanoparticles in aqueous tea leaf // Inorg. Mat. 2013, № 49(10), с. 980–983.
7. Миргород Ю.А., Борщ Н.А., Бородин В.Г., Юрков Г.Ю. Получение и характеристика хлопчатобумажной ткани, модифицированной наночастицами меди // Химическая промышленность. 2012, № 89(6), с. 310–316.
8. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. // Москва: Наука, 2004. 528 с.

ОБ АВТОРАХ:

Сырбу Т., кандидат биологических наук
Тимуш И., аспирант
Горинчой В., научный сотрудник
Пушкашу Б., научный сотрудник
Маслоброд С., доктор биологических наук

REFERENCES

1. Tarasova E.Y., Korosteleva V.P., Ponomarev V.E. The use of nanotechnology in agriculture // Journal Bulletin of Kazan Technological University. 2012, № 15(21), pp. 121–122.
2. Nanotechnologies in agriculture [Text]: prospectus / Kursk. region scientific b-ka them. N. N. Aseeva, Dep. patent technical and s.-kh. lit.; status N.I. Kugutin. Kursk, 2012. p. 19.
3. Kotzybik K., Gr f V., Kugler L., Dominic A. Stoll, Greiner R., Geisen R., Schmidt-Heydt M. Influence of different nanomaterials on growth and mycotoxin production of *Penicillium verrucosum* // PLOS. Published: 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150855>
4. Mnatzakanean N.S., Trchunean A.A. Antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria of a nanocomposite filter based on a porous tuff mineral and silver nanoparticles: various effects and dependence on silver concentration // Microbiology. 2016, № 116(4), pp. 327–334.
5. Mamonova I.A. Effect of transition metal nanoparticles on antibiotic-resistant strains of microorganisms // PhD-thesis, Moscow, 2013. 25 c.
6. Mirgorod Yu.A., Borodina V.G. Preparation and bactericidal properties of silver nanoparticles in aqueous tea leaf extract // Inorg. Mat. 2013, № 49(10), с. 980–983.
7. Mirgorod Y.A., Borsh N.A., Borodina V.G., Yurkov G.I. Preparation and characterization of cotton fabric modified with copper nanoparticles // Chemical Industry. 2012, № 89(6), pp. 310–316.
8. Egorov N.S. Fundamentals of the theory of antibiotics // Moscow: Nauka, 2004, 528 p.

ABOUT THE AUTHORS:

Sirbu T., PhD in Biology,
Timus I., PhD-student,
Gorincioi V., scientific researcher,
Pushkashu B., scientific researcher,
Maslobrod S., PhD in Biology