

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У РОСЛИННИЦТВІ

Пирог Т.П.^{1,2}, Палійчук О.І.¹, Іутинська Г.О.², Шевчук Т.А.²

¹Національний університет харчових технологій,
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна
e-mail: tapirog@nift.edu.ua

*Поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження є препаратами мультифункціонального призначення, оскільки їм притаманний широкий спектр фізико-хімічних і біологічних властивостей (здатність до зниження поверхневого натягу і емульгування різних субстратів, антимікробна та антиадгезивна активність). Завдяки цьому мікробні ПАР є перспективними для застосування у різних галузях промисловості і сільському господарстві. В огляді наведено сучасні дані літератури щодо використання мікробних ПАР (ліпопептидів, рамно- та софороліпідів) для біоремедіації сільськогосподарських ґрунтів, виробництва пестицидів, контролю чисельності фітопатогенних мікроорганізмів, стимуляції росту рослин. Наведено дані власних досліджень антимікробної щодо фітопатогенних бактерій активності ПАР, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 та *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, а також ролі цих ПАР у деструкції нафтових забруднень ґрунту, у тому числі й комплексних з важкими металами.*

Ключові слова: поверхнево-активні речовини мікробного походження, сільське господарство, деструкція ксенобіотиків, фітопатогени

Синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР) широко використовуються в різних галузях промисловості, у зв'язку з чим попит на них постійно зростає. Разом з тим темпи розвитку біотехнології на сучасному етапі та підвищена увага до збереження довкілля зумовили великий інтерес дослідників до біодеградабельних і нетоксичних мікробних ПАР, які можуть стати альтернативою хімічним аналогам [1–3].

Мікробні ПАР завдяки унікальним фізико-хімічним і біологічним властивостям можуть використовуватися у різноманітних галузях промисловості, таких як харчова, медична, нафтовидобувна, а також для очищення довкілля [3–6]. Останніми роками стали з'являтися повідомлення про застосування ПАР мікробного походження у сільському господарстві [7–12].

У табл. 1 наведено перелік основних виробників мікробних ПАР у світі, а також галузі їх застосування [13].

Роль мікробних ПАР як препаратів для захисту рослин зумовлена їх використанням для біоремедіації сільськогосподарських ґрунтів, виробництва пестицидів, контролю чисельності фітопатогенів, участю у процесах рослинно-мікробної взаємодії і стимуляції росту рослин [8–12, 14–18].

Таблиця 1

Виробники мікробних ПАР у світі (станом на 2014 р.) [13]

Компанія	Країна	Продукт	Галузь застосування
TeeGene Biotech	Великобританія	Рамноліпіди і ліпепептиди	Фармацевтика, косметика, антимікробні та протипухлинні засоби
AGAE Technologies LLC	США	Рамноліпіди	Фармацевтика, косметика, біоремедіація, підвищення нафтовидобутку
Jeneil Biosurfactant Co. LLC	США	Рамноліпіди	Засоби для чищення, підвищення нафтовидобутку
Paradigm Biomedical Inc.	США	Рамноліпіди	Фармацевтична галузь
Rhamnolipid Companies, Inc.	США	Рамноліпіди	Сільське господарство , фармацевтика, косметика, біоремедіація, підвищення нафтовидобутку, харчова промисловість
Fraunhofer IGB	Німеччина	Целобіозоліпіди, манозил-еритритолліпіди	Засоби для чищення, гелі для душу, шампуні, фармацевтика
Saraya Co. Ltd.	Японія	Софороліпіди	Засоби для чищення, засоби гігієни
Ecover Belgium	Бельгія	Софороліпіди	Засоби для чищення, косметика, біоремедіація, фармацевтика, боротьба з шкідниками
Groupe Soliance	Франція	Софороліпіди	Косметика
MG Intobio Co. Ltd.	Південна Корея	Софороліпіди	Косметика, засоби гігієни
Synthezyme LLC	США	Софороліпіди	Засоби для чищення, косметика, харчова промисловість, емульгування сирої нафти, виробництво фунгіцидів
Allied Carbon Solutions (ACS) Ltd Japan	Японія	Софороліпіди	Сільськогосподарська продукція , екологічні дослідження

Біоремедіація сільськогосподарських угідь. За останні десятиліття в навколишнє середовище потрапила величезна кількість промислових відходів, сільськогосподарських хімікатів і продуктів їхньої часткової трансформації, що не мають аналогів або рідко трапляються в природі. Це спричинило величезний негативний вплив на всі рівні організації живої матерії і, без сумніву, порушило ту рівновагу, яка створювалася впродовж мільйонів років, унаслідок чого виникла реальна загроза сталому функціонуванню екосистем.

Ґрунт і водні системи здатні накопичувати велику кількість різних за складом, фізико-хімічними властивостями і концентрацією забруднюючих речовин. Наявність ксенобіотиків у навколишньому середовищі є наслідком їх нецільового використання, недосконалості технологій і очисних систем.

Процеси видобутку, транспортування, переробки нафти постійно супроводжуються аварійними викидами сировини у водойми і ґрунт [19]. Дотепер для очищення води і ґрунту від нафти переважно використовують біопрепарати, що являють собою ліофілізовану біомасу (або пасту) нафтоокиснювальних бактерій. Проте мікроорганізми, інтродуковані в забруднені нафтою екосистеми, потребують певного часу на адаптацію до нових умов існування. У зв'язку з цим більш ефективним (порівняно з біоаугментацією) є інший спосіб очищення – біостимуляція, що передбачає використання різних речовин, у тому числі й поживних, стимулюючих автохтонну (природну) мікробіоту. Ефективними стимуляторами природної нафтоокиснювальної мікробіоти є мікробні ПАР, причому найефективніше видалення вуглеводнів досягається за використання мікроорганізмів, здатних асимілювати нафту з одночасним синтезом ПАР [20, 21].

Різні за хімічною природою мікробні ПАР, а також їх продуценти можуть бути використані у процесах ремедіації ґрунтів та води від поліароматичних вуглеводнів, вуглеводнів нафти, дизельного мастила, а також важких токсичних металів і комплексних забруднень (вуглеводні та метали) завдяки екологічній безпечності, здатності емульгувати гідрофобні сполуки, утворювати комплекси з важкими металами та підвищувати ефективність деструкції деяких ксенобіотиків [19–26].

Das із співавт. [22] показали ефективність інтродукції продуцентів ПАР *Bacillus subtilis* DM-04, *Pseudomonas aeruginosa* M і *P. aeruginosa* NM у забруднений нафтою ґрунт: на 120 добу загальний рівень нафтових вуглеводнів знизився з 84 до 21–39 г/кг ґрунту, у той час як у контрольному варіанті (без додавання мікроорганізмів) цей показник становив 83 г/кг. Fan із співавт. [23] показали, що за внесення *Candida tropicalis* SK21, здатного до синтезу ПАР, у забруднений нафтою ґрунт (16,3 г/кг), на 180 добу розклалося 83 % вуглеводнів, тоді як у варіантах без дріжджів – всього 61 %. Можливість використання клітин *Pseudomonas cepacia* CCT6659, гліколіпідів, синтезованих цим штамом, а також суміші ПАР і клітин продуцента для біоремедіації ґрунтів від нафти описано у праці [24]. Розкладання нафти на 83 % спостерігали через 10 діб за сумісного використання гліколіпідів і клітин *P. cepacia* CCT6659. У роботі [25] показано використання *Acinetobacter* sp. D3-2, який синтезує ліпопептиди, для деструкції нафти (82 %) при 30 °C і за наявності 3 % NaCl. Індійські вчені [26] виділили та ідентифікували штам *Planomicrobium chinense* B6, здатний до розкладання дизельного палива, що містить C₁₄–C₃₆ лінійні *n*-алкани, завдяки синтезу емульгатора. Стійкість штаму B6 до високих температур, токсичних металів та помірної концентрації солі робить його перспективним для застосування у процесах біоремедіації ґрунтів в умовах тропічного клімату.

Juwarkar із співавт. [27] показали, що 0,1 % дирамноліпідів *P. aeruginosa* BS2 ефективно вилучали метали з ґрунту у послідовності Cd²⁺ = Cr²⁺ > Pb²⁺ = Cu²⁺ > Ni²⁺. Крім того, ефективними у процесах ремедіації ґрунту

від Pb^{2+} і Cd^{2+} виявилися аніонні ПАР, синтезовані морськими мікроорганізмами [28]. Liu із співавт. [29] встановили, що промивання ґрунту дирамноліпідами (0,02 М) супроводжувалося видаленням 15,35 % Cu^{2+} і 14,42 % Pb^{2+} .

Підвищення ефективності розкладання фенатрену *P. aeruginosa* за присутності катіонів кадмію при додаванні рамноліпідів описано у роботі Maslin і Maier [30]. Singh із співавт. [31] показали, що за промивання ґрунту, забрудненого нафтою, сумішшю сурфактину і фенгіцину *B. subtilis* A21 вдалося видалити 64,5 % вуглеводнів, а також 44,2 % кадмію, 35,4 % кобальту, 40,3 % свинцю, 32,2 % нікелю, 26,2 % міді та 32,07 % цинку.

Наші дослідження [19] показали високу ефективність застосування невисоких (5–10 %) концентрацій препаратів ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 у вигляді культуральної рідини для очищення ґрунту від нафти, в тому числі й за наявності катіонів токсичних металів. Встановлено, що після обробки культуральною рідиною штамів IMB Ac-5017, IMB B-7405 та IMB B-7241 ступінь деструкції комплексних з важкими металами (0,01–0,5 мМ Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) нафтових забруднень у ґрунті (21,4 г/кг) через 20–30 діб становив 85–95%.

Обмеження та перспективи використання мікробних поверхнево-активних речовин. Більшість сучасних оглядів літератури та експериментальних статей висвітлюють позитивні результати використання мікробних ПАР у процесах біоремедіації, проте критичне виділення певних негативних аспектів застосування поверхнево-активних речовин дозволить швидше реалізувати такі біотехнології на практиці.

Обмеження використання мікробних ПАР у природоохоронних технологій полягає у тому, що більшість досліджень проведено у лабораторних умовах, які дають змогу лише продемонструвати принципову можливість застосування певних підходів. Необхідно зазначити, що не завжди використання ПАР приводить до підвищення ефективності ремедіації: в деяких випадках позитивного впливу ПАР не спостерігають. Крім того, спектр досліджуваних ПАР за хімічною природою дуже обмежений і в основному представлений рамноліпідами [21].

Маловивченим залишається питання впливу концентрацій ПАР на процеси біоремедіації. З одного боку, мікробні ПАР є нетоксичними, проте з іншого, вони здатні проявляти антимікробні властивості. Крім того, у деяких випадках за високої концентрації ПАР можуть знижувати швидкість процесу очищення, негативно впливаючи на мікроорганізми-деструктори. Так, сурфактин у концентрації 40 мг/л негативно впливав на ремедіацію ґрунтів від дизельного палива, а за концентрації 400 мг/л повністю її інгібував [32].

Іншим цікавим питанням використання ПАР у природоохоронних технологіях є їхня біодеградабельність. З одного боку, така властивість мікробних ПАР – це їх перевага перед синтетичними аналогами, проте з іншого – вони можуть розкластися у навколишньому середовищі швидше, ніж проявляють свою дію. Так, Lin із співавт. [33] повідомляють, що ефективність процесу ремедіації значно підвищувалася на початку досліду після додавання ПАР, проте на кінець експерименту результати були однакові з контрольними (без ПАР). Описано явище, коли рамноліпіди

розкладалися швидше, ніж дизельне паливо, і очищення не відбувалося [34]. Вирішення цієї проблеми вчені пов'язують з використанням деструкторів, не здатних споживати ПАР як джерело вуглецю.

У більшості досліджень вчені використовують монокультури мікроорганізмів-деструкторів, у той час як все більшу увагу привертають консорціями. Це пов'язано з тим, що виживання мікроорганізмів у складі консорціумів є вищим порівняно з монокультурами. Показано, що за використання двох консорціумів (до складу входять представники родів *Pseudomonas* і *Bacillus*), які утворюють ПАР, ступінь розкладання нафти у ґрунті (2 %) біля коренів пшениці (*Triticum aestivum*) і гірчиці (*Brassica juncea*) був достатньо високим і становив 73–75 % через 150–180 діб [35].

Окрім інтродукції консорціумів у забруднене середовище, цікавим є підхід, який передбачає виділення автохтонної мікробіоти, створення рекомбінантних продуцентів ПАР методами генної інженерії з подальшим введенням таких мікроорганізмів в екосистеми [21], проте його реалізація вважається малоімовірною.

З іншого боку, успіх використання ПАР у природоохоронних технологіях залежить від багатьох факторів: природа забрудника, особливості взаємодії ПАР і мікроорганізма-деструктора або автохтонної мікробіоти, біодеградабельність і токсичність ПАР тощо.

Розробка ефективної технології біоремедіації з використанням мікробних поверхнево-активних речовин повинна включати такі етапи [21]: моніторинг забрудненої ділянки, визначення характеру забруднення і аналіз автохтонної мікробіоти; вибір мікроорганізма-деструктора (за процесу біоаугментації), сумісного з природною мікробіотою; визначення способу введення ПАР (екзогенне внесення, стимуляція синтезу ПАР автохтонною мікробіотою); визначення оптимальної концентрації ПАР для уникнення прояву антимікробних властивостей, а також швидкої біодеградації; проведення досліджень як в лабораторних, так і польових умовах.

Контроль чисельності фітопатогенів. Мікробним ПАР притаманна антимікробна активність, завдяки чому вони можуть бути використані для пригнічення фітопатогенних бактерій та грибів. Найвища щодо фітопатогенів антимікробна активність притаманна поверхнево-активним ліпопептидам [5, 15, 18, 36, 37].

Ліпопептиди. Продуцентами цих ПАР є бактерії родів *Bacillus* (*Paenibacillus*) та *Pseudomonas*. Найвивченішими ліпопептидами є сурфактин, перші повідомлення про який датуються кінцем 60-х років ХХ ст. [38], а також ітурін та фенгіцин. Ці циклічні ліпопептиди синтезуються бактеріями роду *Bacillus*. Значно пізніше почали вивчати ліпопептиди псевдомонад, першим з яких був віскозин *Pseudomonas fluorescens*, описаний у 1990 р. [39].

За хімічною структурою циклічні ліпопептиди поділяються на:

– **лактони**, в яких N-кінцевий амінокислотний залишок пептидного ланцюга зв'язаний амідним зв'язком з β-гідроксигірними кислотами, а карбоксильна група C-кінцевої амінокислоти ковалентно замикає кільце, взаємодіючи з β-гідроксильною групою,

– **лактами**, в яких N-кінцевий амінокислотний залишок пептидного ланцюга зв'язаний амідним зв'язком з β-аміножирними кислотами,

а С-кінець пептидного ланцюга замкнутий на β -аміногрупу жирнокислотного залишку.

Найвища антифунгальна активність притаманна ітурину і фенгіцину, що зумовлено більшою довжиною жирнокислотного ланцюга порівняно з сурфактином, завдяки чому ці ліпопептиди легше проникають крізь клітинні мембрани грибів. Сурфактин характеризується вищою антибактеріальною активністю (табл. 2).

Таблиця 2

Ліпопептиди, використовувані для контролю фітопатогенних грибів і бактерій [18, 37]

Хвороби рослин	Фітопатоген	Продуцент ПАР	Ліпопептид, що інгібує фітопатоген
Коренева гниль бобів	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Bacillus subtilis</i> M4	Ітурін/Фенгіцин
Сіра хвороба цвілі яблук	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>B. subtilis</i> M4	Фенгіцин
Коренева інфекція арабідопсису	<i>Pseudomonas syringae</i> *	<i>B. subtilis</i> 6051	Сурфактин
Борошниста роса гарбузових	<i>Podosphaera fusca</i>	<i>B. subtilis</i>	Ітурін/Фенгіцин
Фузаріоз пшениці, ячменю і качанів кукурудзи	<i>Gibberella zeae</i> (анаморф <i>Fusarium graminearum</i>)	<i>B. subtilis</i> JA; JA026	Фенгіцин
Бура гниль цукрових буряків	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 96.578	Тензин
Пустульна плямистість сої	<i>Xanthomonas axonopodis</i> * <i>pv. glycines</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> KPS46	Сурфактин
Стовбурава гниль	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Сурфактин/ Фенгіцин
Пірикуляріоз рису	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Chromobacterium</i> sp. C61	Хромобактоміцин
Фузаріози, коренева гниль	<i>Fusarium</i> spp., <i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> LBM 5006	Ітурін/Фенгіцин
Етіювання цитрусових	<i>Spiroplasma citri</i> *	Бактерії роду <i>Bacillus</i>	Сурфактин
Філодія конюшини, стовбур пасльонових	<i>Acholeplasma laidlawii</i> **	Бактерії роду <i>Bacillus</i>	Сурфактин

Примітка: * – фітопатогенні бактерії, ** – фітопатогенні мікоплазми.

У табл. 3 наведено мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) мікробних ліпопептидів щодо деяких фітопатогенних грибів.

Ендofітні та ризосферні бактерії – продуценти ліпопептидів. З точки зору впливу на рослину бактеріальні ендofіти мають перевагу перед бактеріями, які населяють ризосферу, оскільки вони існують у тканинах рослин, завжди перебувають у контакті з їх клітинами, завдяки чому можуть ефективніше спричиняти позитивну дію [40, 41]. Проте ризосферні бактерії здатні колонізувати коріння рослин, і ця мікроекосистема є одним з первинних джерел ендofітної колонізації.

Ендофіти можуть спричиняти прямий (безпосередній) або опосередкований стимулювальний вплив на рослину [40]. Пряма стимулювальна дія полягає у здатності ендофітних бактерій: (і) полегшувати доступ з навколишнього середовища до рослини необхідних поживних речовин (азот, фосфор і залізо) або (ii) синтезувати гормональні сполуки (ауксини, цитокініни). Непряме стимулювання росту рослин відбувається завдяки тому, що ендофітні бактерії запобігають ураженню рослин різними патогенами (бактерії, гриби, нематоди), оскільки синтезують антибіотики, ферменти, що руйнують клітинні стінки патогенів, а також і поверхнево-активні речовини, яким притаманна антимікробна дія [40, 41].

Таблиця 3

**Антимікробна активність мікробних ліпопептидів
щодо фітопатогенних грибів [18]**

Фітопатогенні гриби	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл) ліпопептидів			
	марихізину	поліпептину	ітурину	фенгіцину
<i>Botrytis cinerea</i>	>200	25	20	50
<i>Rhizoctonia solani</i>	200	12,5	–	–
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	200	–	40	–
<i>Verticillium alboatrum</i>	200	–	–	200
<i>Fusarium graminearum</i>	200	12,5	>320	25

П р и м і т к а: «–» – даних немає.

Нижче наведено дані щодо здатності ендофітних бактерій синтезувати ліпопептиди.

Синтез антимікробних ліпопептидів ендофітними бактеріями [42]:

Ендофітні бактерії

Bacillus subtilis

Bacillus amyloliquefaciens

Bacillus megaterium

Bacillus circulans

Bacillus tequilensis

Bacillus polymyxa

Bacillus macerans

Streptomyces sp.

Pseudomonas sp.

Синтезовані ліпопептиди

Сурфактин, ітурин, ліхенізин, пумілацидін, баціломіцин, мікосубтілін, фенгіцин, пліпастатин

Сурфактин, ліхенізин, пумілацидін, фенгіцин

Сурфактин, ліхенізин, пумілацидін, ітурин, баціломіцин, мікосубтілін, фенгіцин, пліпастатин

Фенгіцин, пліпастатин, ітурин

Сурфактин, ітурин, фенгіцин

Поліміксин

Сурфактин, ітурин, фенгіцин

Даптоміцин

Віскозин, масетолід, ентолізин

Ендофітні штами *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, ізольовані з кількох сортів кукурудзи, синтезують комплекс ліпопептидів, до складу якого входять ітурин А, фенгіцин, баціломіцин [43]. Ліпопептидний комплекс за концентрації 500 мкг на диск пригнічував ріст фітопатогенних грибів *Fusarium moniliforme*. Обробка насіння арабідопсису суспензією клітин *B. subtilis* SG JW.03 супроводжувалася інгібуванням мікобіоти насіння і підвищенням ефективності його проростання [43].

Здатність до синтезу ліпопептидів (сурфактин, фенгіцин, бациломіцин, ітурін) виявлена також і у **ризосферних бактерій** *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, причому в природних умовах існування у ризосфері також спостерігається утворення біологічно необхідної кількості таких ПАР [15, 44–46].

Штам *B. subtilis* NCD-2, виділений з ризосфери бавовника, проявляв антагоністичні властивості щодо фітопатогенних грибів, зокрема, *Rhizoctonia solani* – збудника кореневої гнилі цієї важливої сільськогосподарської культури [44]. Антифунгальна активність штаму NCD-2 зумовлена синтезом ліпопептиду фенгіцину. Мутант *B. subtilis* NCD-2 (NCDΔfen), нездатний до синтезу цього ПАР, не інгібував ріст *R. solani*. Насіння бавовника обробляли суспензією клітин вихідного штаму NCD-2 і фенгіцин-дефіцитного мутанту NCDΔfen, а також водою (контроль), після чого висівали у попередньо інфікований фітопатогенним грибом ґрунт і через 16 діб визначали кількість здорових і інфікованих проростків. Встановлено, що після обробки насіння суспензією ПАР-синтезуювального штаму кількість неуразжених фітопатогеном проростків була найвищою і становила майже 46 % від їх загальної кількості, у той час як після обробки суспензією мутантного штаму і водою знижувалася до 20 і 12,5 % відповідно [44].

У лабораторних умовах синтез ліпопептидів ризосферними бактеріями підвищувався за наявності у середовищі фітопатогенних грибів [45]. Так, штам *B. amyloliquefaciens* SQR9 синтезує комплекс антимікробних сполук: ліпопептиди фенгіцин, сурфактин, бациломіцин D і сідерофор бацилібактин. У відповідь на присутність певного фітопатогенного гриба відбувалися зміни у складі синтезованого комплексу: за наявності *Fusarium oxysporum* основним компонентом комплексу був бациломіцин D; *Verticillium dahliae* kleb, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Phytophthora parasitica* виявилися індукторами синтезу фенгіцину, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* – сурфактину, а бацилібактин синтезувався у відповідь на присутність кожного з досліджуваних фітопатогенних грибів.

За наявності фітопатогенних грибів родів *Pythium* і *Fusarium* у складі комплексу антимікробних ліпопептидів, синтезованих штамами *B. amyloliquefaciens/subtilis*, спостерігали збільшення вмісту ітуруну і фенгіцину, яким притаманна висока антифунгальна активність [15]. Передбачається, що фітопатогенні гриби утворюють певні сигнальні речовини, які є індукторами синтезу ітуруну і фенгіцину, причому для індукції синтезу цих компонентів ПАР немає необхідності у прямому контакті фітопатогенів і бактерій роду *Bacillus*.

Рамноліпіди. Рамноліпіди є одними з найвідоміших поверхнево-активних гліколіпідів, перші повідомлення про які з'явилися ще у 40-х рр. ХХ ст. [47]. Вони складаються з однієї або двох молекул рамнози, приєднаних до однієї, двох (рідко трьох) молекул β-гідроксиаліфатичних кислот. Залежно від кількості молекул вуглеводів і жирних кислот зазвичай розрізняють монорамномоно-, монорамноди-, дирамномоно- та дирамнодиліпіди. Понад 60 гомологів рамноліпідів синтезується представниками роду *Pseudomonas*, серед яких найвивченішими є штами *Pseudomonas aeruginosa* [48].

Приклади антимікробної дії рамноліпідів на фітопатогенні мікроорганізми наведено у табл. 4.

Рамноліпіди здатні пригнічувати формування зооспор рослинних патогенів, стійких до комерційних хімічних пестицидів, а також можуть стимулювати імунітет рослин, що в свою чергу суттєво знижує ураження їх патогенами [8, 50]. Так, після обробки рамноліпідами виноградна лоза стає менш чутливою до *B. cinerea*, регулярна обробка перцю розчином рамноліпідів у концентрації 150 мг/л унеможлиблювала ураження цих рослин фітопатогенними грибами *Phytophthora capsici* [8]. Використання рамноліпідів у концентрації 1 мг/мл для обприскування арабідопсису супроводжувалося зменшенням у 5 разів діаметру некротичних листя, спричинених *B. cinerea*, і повним знищенням спор біотрофних ооміцетів *Hyaloperonospora arabidopsidis* [50].

Таблиця 4

**Використання рамноліпідів для контролю чисельності
фітопатогенів [49]**

Фітопатогени	Представники	Ефект дії рамноліпідів	Рамноліпіди	Продукент
Гриби	<i>Alternaria alternata</i>	Інгібування росту	Суміш моно-і дирамноліпідів	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> LBI
	<i>Botrytis cinerea</i>	Інгібування росту	Дирамноліпід	<i>P. aeruginosa</i> B5
		Інгібування росту	Дирамноліпід	<i>P. aeruginosa</i> 47T2
		Інгібування проростання спор і росту міцелію	Суміш моно-і дирамноліпідів	<i>P. aeruginosa</i>
	<i>Phytophthora</i> sp.	Лізис зооспор	Суміш моно-і дирамноліпідів	<i>P. aeruginosa</i>
	<i>Pythium</i> sp.	Інгібування рухливості зооспор, лізис зооспор	Не визначено	<i>P. aeruginosa</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Інгібування росту	Дирамноліпід	<i>P. aeruginosa</i> B5
Бактерії	<i>Erwinia carotovora</i>	Інгібування росту	Суміш моно-і дирамноліпідів	<i>P. aeruginosa</i> 47T2
	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Інгібування росту	Дирамноліпід	<i>P. aeruginosa</i> B5
	<i>Xanthomonas campestris</i>	Інгібування росту	Дирамноліпід	<i>P. aeruginosa</i> B5
	<i>Serratia marcescens</i>	Інгібування росту	Суміш моно-і дирамноліпідів	<i>P. aeruginosa</i> 47T2
Віруси	X-вірус картоплі, вірус мозаїки червоної конюшини	Зниження кількості вірусів, зменшення локальних уражень	Не визначено	<i>P. aeruginosa</i>

Дріжджі *Rhodotorula glutinis* є антагоністами грибів *Alternaria alternata*, які уражують плоди томатів черрі [9]. Поєднання *R. glutinis* з рамноліпідами (500 мкг/мл) виявилось ефективнішим для пригнічення інфекції *A. alternata*, ніж застосування або тільки дріжджів, або тільки рамноліпідів. Обробка плодів розчином рамноліпиду супроводжувалася прискоренням колонізації дріжджів *R. glutinis* на поверхні плодів, що суттєво подовжувало термін їх зберігання після збору врожаю [9].

Fusarium verticillioides є збудником фузаріозу качанів кукурудзи, який призводить до значних втрат врожаю. Крім того, *F. verticillioides* синтезує канцерогенний мікотоксин фумонізін, що робить уражену цим збудником кукурудзу непридатною до вживання [51]. Потенційними агентами для біоконтролю цих патогенних грибів є ендоефітні бактерії роду *Bacillus*, проте вони виявилися чутливими до фузаринової кислоти, синтезованої фітопатогенами. У той же час обробка насіння кукурудзи розчином рамноліпиду (продуцент *P. aeruginosa* SS14) концентрацією 50 мг/л супроводжувалося підвищенням урожаю і унеможливленням колонізації кукурудзи *F. verticillioides*. Рамноліпід, синтезований *P. aeruginosa* KVD-HM52, у вищій концентрації (200 мг/л) повністю пригнічував розвиток *F. oxysporum* на помідорах [51].

Комплекс рамноліпідів *P. aeruginosa* ZJU211 (ССТСС M209237) проявляв антифунгальну активність щодо диморфних фітопатогенних грибів *Mucor circinelloides* і *Verticillium dahliae*, ізольованих з уражених томатів [52]. За концентрації 150–200 мкг/мл рамноліпідів рівень біомаси *M. circinelloides* і *V. dahliae* знижувався на 80–90 %, причому як в умовах гіфального, так і пелетного росту грибів. Зазначимо, що диморфні гриби, на відміну від звичайних, завдяки здатності рости як у вигляді міцелію, так і дріжджоподібних клітин, є значно стійкішими до несприятливих умов існування. Диамноліпіди, виділені з комплексу ПАР, характеризувалися вищою антифунгальною активністю, ніж монорамноліпіди. Так, показник LD_{50} для ди- і монорамноліпідів щодо *M. circinelloides* ССТСС M210113 (гіфальна форма) становив 25 і 316 мкг/мл відповідно, у той час як для пелетної форми – 120 (диамноліпід) і 1800 мкг/мл (монорамноліпід). Значення LD_{50} щодо *V. dahliae* АТСС 7611 (гіфи) ди- і монорамноліпідів становило 102 і 1250 мкг/мл відповідно [52].

Рамноліпідам притаманна також і інсектицидна активність. Так, диамноліпід, синтезований *Pseudomonas* sp. EP-3, у концентрації 40 мкг/мл спричиняв 50 %-ву загибель попелиці персикової (*Myzus persicae*), а у разі підвищення концентрації до 100 мкг/мл – повну загибель шкідника [53].

Софороліпіди. Ці поверхнево-активні речовини синтезуються, головним чином, дріжджами родів *Torulopsis* і *Candida* та містять дисахарид софорозу, зв'язаний глікозидним зв'язком з передостаннім атомом вуглецевого ланцюгу жирної кислоти C_{16} – C_{19} . Вперше ці гліколіпіди були описані у 60 рр. ХХ ст. [16]. Інтерес до софороліпідів зумовлений можливістю їх використання як ефективних антиадгезивних агентів, а також препаратів для очищення довкілля від ксенобіотиків [16]. У сільському господарстві софороліпіди завдяки антимікробним властивостям використовуються для контролю чисельності фітопатогенних грибів, зокрема *Phytophthora* sp. і *Pythium* sp. Встановлено, що ці гліколіпіди інгібують міцеліальний ріст фітопатогенів (за концентрації 500 мг/л), а також спри-

чиняють лізис зооспор та знижують їх рухливість. Ефективною концентрацією софороліпідів, що забезпечувала зниження на 80 % рухливості зооспор, була 100 мг/л. Найвищий ступінь лізису (80 %) спостерігався для зооспор *Phytophthora capsici* за наявності 100 мг/л софороліпідів [16].

Дія поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ас-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 на фітопатогенні бактерії. За хімічною природою ПАР *R. erythropolis* IMB Ас-5017 є комплексом гліко- (трегалозомоно- і диміколати), нейтральних (цетиловий спирт, пальмітинова кислота, метиловий ефір *n*-пентадеканової кислоти, міколових кислот) і фосфоліпідів (фосфатидилглицерин, фосфатидилетаноламін). У складі ПАР *A. calcoaceticus* IMB В-7241 виявлено гліко- і аміноліпіди. *N. vaccinii* IMB В-7405 синтезує комплекс нейтральних, гліко- і аміноліпідів [54].

Встановлено, що після обробки упродовж 2 год препаратами ПАР (0,15–0,4 мг/мл) штамів IMB Ас-5017 та IMB В-7241 виживання клітин (10^5 – 10^7 в мл) фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas* і *Xanthomonas* становило 0–40 %. Як приклад, у табл. 5 наведено дію препаратів *A. calcoaceticus* IMB В-7241 у вигляді супернатанту і розчину ПАР на деякі фітопатогенні бактерії родів *Xanthomonas*, *Pseudomonas* і *Pectobacterium*.

За наявності препаратів ПАР (0,085–0,85 мг/мл) *N. vaccinii* IMB В-7405 кількість клітин більшості досліджуваних фітопатогенних бактерій знижувалася на 95–100 % через 2 год (табл. 6).

Дані, наведені у табл. 5 і 6, показують можливість застосування як антимікробних щодо фітопатогенних бактерій препаратів у вигляді супернатанту культуральної рідини (без додаткового виділення ПАР), що значно здешевлює технологію одержання. Зазначимо, що одним з факторів, що стримулюють промислове виробництво мікробних ПАР, є дорога процедура виділення і очищення цільового продукту, що являє в більшості випадків екстракцію органічними розчинниками.

Таблиця 5

Вплив ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 на деякі фітопатогенні бактерії родів *Xanthomonas*, *Pseudomonas* і *Pectobacterium*

Тест-культура	Препарат	Вживання клітин (%) через	
		1 год	2 год
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	супернатант	20	Н.в.
	розчин ПАР	18	Н.в.
<i>Xanthomonas vesicatoria</i> 7790	супернатант	2	0
	розчин ПАР	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> УКМ В-1027	супернатант	27	18
	розчин ПАР	35	9
<i>Pseudomonas corrugate</i> 9070	супернатант	97	40
	розчин ПАР	75	26
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i> УКМ В-1154	супернатант	85	35
	розчин ПАР	34	33
<i>Pectobacterium carotovorum</i> УКМ В-1095	супернатант	94	37
	розчин ПАР	95	33

П р и м і т к и: Н.в. – не визначали. Під час визначення виживання клітин похибка не перевищувала 5 %.

Таблиця 6

Антимікробна активність ПАР *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 щодо фітопатогенних бактерій родів *Xanthomonas* і *Pseudomonas*

Тест-культура	Препарат	Вживання клітин (%) через 2 год
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	супернатант	4,5
	розчин ПАР	0,6
<i>Xanthomonas vesicatoria</i> 7790	супернатант	2,0
	розчин ПАР	4,3*
<i>Pseudomonas syringae</i> УКМ В-1027	супернатант	4,7
	розчин ПАР	3,5*
<i>Pseudomonas corrugate</i> 9070	супернатант	Н.в.
	розчин ПАР	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i> УКМ В-1154	супернатант	0
	розчин ПАР	3,3

П р и м і т к и: Н.в. – не визначали. Під час визначення виживання клітин похибка не перевищувала 5 %. Концентрація ПАР у препаратах 0,85 мг/мл (* – 0,085 мг/мл).

У табл. 7 наведено дані щодо антимікробної активності ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на олієвмісних субстратах.

Таблиця 7

Мінімальна інгібуюча концентрація поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на олієвмісних субстратах

Олія як субстрат для синтезу ПАР	Тест-культура	МІК, мкг/мл
Рафінована	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	25
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	21
	<i>Pectobacterium carotovorum</i> УКМ В-1095	85
Відпрацьована після смаження м'яса	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	85
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	14
	<i>P. carotovorum</i> УКМ В-1095	90
Відпрацьована після смаження картоплі	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	14
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	16
	<i>P. carotovorum</i> УКМ В-1095	52

П р и м і т к а: Під час визначення МІК похибка не перевищувала 5 %.

Нижча антимікробна активність ПАР, синтезованих на відпрацьованій після смаження м'яса олії, порівняно з активністю препаратів, одержаних на олії після смаження картоплі, може бути пояснена так. З літератури [55, 56] відомо, що під час смаження картоплі та м'яса відпрацьована олія характеризується різним складом і, зокрема, містить різні токсичні речовини. Так, в результаті потрапляння катіонів заліза, що містяться у м'ясі, у пересмажену олію спостерігається підвищення ступеня її окиснення і термічної деградації [55]. Крім того, під час смаження м'яса утворюються токсичні гетероциклічні аміни [55, 56], які можуть бути інгібіторами ферментів, відповідальних за синтез складових комплексу ПАР з антимікробними властивостями.

Зазначимо, що у літературі є лише окремі роботи, в яких автори визначали мінімальну інгібуючу концентрацію мікробних ПАР щодо фітопатогенних бактерій. Так, мінімальна інгібуюча концентрація сурфактину, синтезованого *B. subtilis* 6051, щодо бактерій *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 становила 25 мкг/мл [57]. МІК рамноліпідів щодо фітопатогенних грибів *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Alternaria* становила 16–75 мкг/мл, МІК софороліпідів щодо *Glomerella cingulata* – 50 мкг/мл [58].

Крім того, відомості про антимікробні властивості мікробних ПАР, синтезованих на олієвмісних відходах, є небагаточисельними. Хоча ще на початку ХХІ ст. повідомлялося про використання відходів виробництва соєвої олії для отримання рамноліпідів *P. aeruginosa* AT110, яким були притаманні фунгіцидні властивості щодо *Aspergillus niger* та *Gliocadium virens* (16 мкг/мл); *Chaetonium globosum*, *Penicillium crysogenum* і *Aureobasidium pullulans* (32 мкг/мл), *Botrytis cinerea* і *Fusarium solani* (18 мкг/мл) [59].

Регуляція рослинно-мікробної взаємодії. Для проявлення позитивного впливу ризосферних бактерій на рослину необхідною є взаємодія цих бактерій з рослинною поверхнею (коріння). Така взаємодія забезпечується рухливістю ризобактерій, їх здатністю утворювати біоплівки на поверхні коренів і вивільненням молекул кворумних сигналів. Кворум-сенсорні молекули, такі як ацил-гомосерин лактон, необхідні для синтезу антифунгальних сполук ризобактеріями [8]. Ацил-гомосерин лактон і ацил-гомосерин лактон-подібні молекули регулюють також утворення екзополісахаридів, необхідних для формування біоплівки. У свою чергу регуляторами синтезу кворум-сенсорних молекул є рамноліпіди [48].

Рамноліпіди належать до так званих мікроб-асоційованих молекулярних структур (microbe-associated molecular patterns, МАРPs), своєрідних тригерів, що зумовлюють неспецифічний імунітет рослин [50]. Так, моно- і дирамноліпіди, синтезовані *P. aeruginosa*, і дирамноліпіди *Burkholderia plantarii* спричиняють захисні реакції в клітинах винограду, зокрема, збільшення транспорту Ca^{2+} , вільних радикалів, активацію мітоген-активованого протеїн-кіназного шляху (mitogen-activated protein kinase kinase (МАРКК) pathways). Рамноліпіди викликають індукцію так званих захисних генів, у тому числі генів, відповідальних за синтез білків патогенезу і генів, залучених до біосинтезу оксиліпіну і фітоалексину (факторів імунітету) [12]. Залежно від концентрації рамноліпіди здатні активувати запрограмовану загибель клітин через синтез мікроцидних білків (аналогія апоптозу). Рамноліпіди здатні стимулювати гени захисту в клітинах тютюну, пшениці і арабідопсису [50].

Подібно до рамноліпідів, потужними МАРP-елісіторами (елісітор – речовина, що індукує загальну і неспецифічну стійкість рослин) є ліпопептиди. Так, сурфактин, масетолід А і фенгіцин зумовлюють системну стійкість в клітинах тютюну, томатів і квасолі [8].

Стимуляція росту рослин. Дослідженнями, проведеними у відділі хімії та біотехнології горючих копалин Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглекімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України (м. Львів) встановлено, що комплекси мікробних ПАР (позаклітинних рамноліпідів і полісахаридів *Pseudomonas* sp. PS-17, клітинно-зв'язаних трегалозоліпідів, жирних кис-

лот і каротиноїдів та позаклітинного ліпоамінополісахаридного комплексу *Gordonia rubripertincta* УКМ Ас-122) є регуляторами росту і фізіологічних процесів рослин (злакових, бобових, олійних), а також вони можуть підсилювати дію біодобрив, засобів захисту рослин, фітогормонів [60].

Показано, що передпосівне оброблення насіння злакових, бобових, олійних культур такими препаратами сприяло підвищенню енергії проростання насіння, ростових, біохімічних показників рослин, врожайності. Так, встановлено, що рамноліпідний комплекс (0,01–0,05 г/л) є ефективним регулятором росту злакових культур, зокрема, ячменю, жита, а також пшениці.

Крім того, комплекси ПАР доцільно використовувати при вирощуванні рослин у несприятливих умовах. Так, оброблення препаратами насіння ріпаку, пшениці, гороху польового сприяло підвищенню їх стійкості до посухи, дефіциту органічних і мінеральних складових ґрунту, різноманітних забруднень ґрунту.

Вплив ПАР на рослини пов'язаний, ймовірно, із підвищенням проникності клітинних мембран, що сприяє біодоступності поживних та інших екзогенних речовин, а також з активуванням метаболічних процесів ґрунтової мікробіоти. Ще одним поясненням дії мікробних ПАР на рослини може бути вплив на ріст клітин шляхом розтягнення: у біотесті на відрізках колеоптилів пшениці встановлено, що їх приріст був на 12–16 % більшим, ніж без ПАР. Крім того, застосування комплексів мікробних ПАР спільно з індоліл-3-оцтовою кислотою (ІОК) сприяло підвищенню активності цього фітогормону. Аналогічний вплив ПАР на ІОК визначено і у біотесті на ризогенез живців квасолі. Результати свідчать про можливість зменшення робочої дози ІОК у 2–4 рази у композиціях з ПАР, що дозволило рекомендувати останні для підвищення ефективності стимуляторів росту рослин [60].

Показано, що мікробні ПАР сприяють підвищенню функціональної активності симбіотичних й асоціативних азотфіксаторів родів *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Enterobacter*. Розроблено біодобрива підвищеної активності шляхом додавання ПАР при культивуванні азотфіксаторів або виготовлення збалансованих композицій, доведено їх ефективність у лабораторних і польових випробуваннях. Застосування таких біодобрив дало змогу підвищити вегетативну масу рослин на 21–43 % порівняно з добривами без ПАР. Встановлено, що позитивна дія ПАР пов'язана з їх впливом на синтез екзополісахаридів бактеріями, їх азотфіксувальну активність, тобто з інтенсифікацією процесів засвоєння рослинами азоту.

Властивості комплексів ПАР використано при розробленні агрозасобів для живлення та захисту винограду. Встановлено, що комплекс позаклітинних рамноліпідів і полісахаридів *Pseudomonas* sp. PS-17 (0,01г/л) сприяв збільшенню активності препарату Мікроком-В (мікроелементи) у разі некореневого підживлення саджанців винограду. Такий ефект пояснюється здатністю ПАР покращувати контакт препаратів з поверхнею листя та регулювати їх транспорт у рослинні клітини [60].

Мікробні поверхнево-активні речовини і виробництво пестицидів.

Поверхнево-активні речовини застосовують при виготовленні емульсій пестицидів, які використовуються для боротьби з сільськогосподарськими шкідниками і хворобами рослин, а також для знищення бур'янів і видалення листя бавовнику. Поверхнево-активні речовини повинні забезпечити легке емульгування, достатнє змочування листя, хорошу липкогенність препаратів, стійкість емульсій і суспензій. Крім того, ПАР підвищують ефективність фунгіцидів, інсектицидів і гербіцидів і тому є складовими цих отрутохімікатів [8].

На даний час у виробництві пестицидів використовуються хімічно синтезовані ПАР, які важко піддаються розкладанню, накопичуються у ґрунтах та ґрунтових водах, а також у рослинах. Альтернативою хімічним аналогом є нетоксичні біодеградабельні мікробні поверхнево-активні речовини.

Перспективними для виробництва пестицидів є мікробні софороліпіди, які можуть бути ад'ювантами гербіцидів, що забезпечує високу адгезію останніх до поверхні рослин і збільшує їх проникність до кутикули [16]. Лактонні софороліпіди, синтезовані *Candida (Starmerella) bombicola*, та кислі софороліпіди *Candida kuoii* утворюють емульсії з ліпофільним компонентом гербіцидів, які є набагато стійкішими упродовж тривалішого часу, ніж емульсії на основі синтетичних ПАР. Крім того, використання софороліпідів як компонентів емульсій забезпечує низький рівень піноутворення, а отже, мінімізує ризик несправності насосів та розпилюючих пристроїв [16].

Отже, проаналізована література останніх років продемонструвала можливість використання нетоксичних біодеградабельних мікробних ПАР (ліпопептидів, рамно- та софороліпідів) у рослинництві для очищення сільськогосподарських угідь від ксенобіотиків, контролю чисельності фітопатогенних грибів, бактерій і мікоплазм, виробництва пестицидів та стимуляції росту рослин.

Проте на теперішній час промисловий випуск мікробних ПАР обмежений лише невеликою кількістю фірм-виробників (табл. 1), хоча виробництво синтетичних ПАР у світі становить 15 млн т/рік, а до 2020 р. очікується збільшення їх обсягу до 24 млн т [48]. Така ситуація зумовлена недостатньо високою ефективністю мікробних технологій одержання поверхнево-активних речовин, основними причинами якої є високі витрати на біосинтез і очищення цільового продукту, а також невисока концентрація синтезованих ПАР. Разом з тим вирішення таких проблем – це лише питання часу, про що засвідчують публікації останніх років щодо оптимізації процесів біосинтезу ПАР на дешевих субстратах з використанням як фізіологічних основ інтенсифікації технологій їх одержання, так і вдосконаленням штамів-продуцентів методами генетичної та метаболічної інженерії [2, 3, 8, 48].

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Пирог Т.П.^{1,2}, Палийчук О.И.¹, Иутинская Г.А.², Шевчук Т.А.²

¹Национальный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

Резюме

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) микробного происхождения являются препаратами мультифункционального назначения, поскольку они обладают широким спектром физико-химических и биологических свойств (способность к снижению поверхностного натяжения и эмульгирования различных субстратов, антимикробная и антиадгезивная активность). Благодаря этому микробные ПАВ являются перспективными для применения в различных отраслях промышленности и сельском хозяйстве. В обзоре представлены современные литературные данные по использованию микробных ПАВ (липopeптидов, рамно- и софоролипидов) для биоремедиации сельскохозяйственных почв, производства пестицидов, контроля численности фитопатогенных микроорганизмов, стимуляции роста растений. Приведены данные собственных исследований антимикробной по отношению к фитопатогенным бактериям активности ПАВ, синтезированных *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 и *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, а также роли этих ПАВ в деструкции нефтяных загрязнений почвы, в том числе и комплексных с тяжелыми металлами.

Ключевые слова: поверхностно-активные вещества микробного происхождения, сельское хозяйство, деструкция ксенобиотиков, фитопатогены.

PROSPECTS OF USING MICROBIAL SURFACTANTS IN PLANT GROWING

Pirog T.P.^{1,2}, Paliichuk O.I.¹, Iutyńska G.O.², Shevchuk T.A.²

¹ National University of Food Technologies,
68 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

² Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine

Summary

Surfactants of microbial origin are multifunctional preparations, since they have a wide range of physicochemical and biological properties (ability to reduce surface tension and emulsification of various substrates, antimicrobial and anti-adhesion activity). Thereby microbial surfactants are promising for application in various industries and agriculture. The review presents modern literature data concerning use of microbial surfactants (lipopeptides, rhamnno- and sophorolipids) for bioremediation of agriculture soils, production of pesticides, control of the number of phytopathogenic microorganisms, stimulation of plant growth. The data of our own studies of the antimicrobial activity of the surfactant synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Nocardia vaccinii*

IMV B-7405 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, as well as the role of these surfactants in the destruction of oil contamination of the soil, including complex with heavy metals.

Keywords: surface-active substances of microbial origin, agriculture, destruction of xenobiotics, phytopathogens.

1. Marchant R, Banat IM. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? *Biotechnol. Lett.* 2012; 34(9):1597–605. doi: 10.1007/s10529-012-0956-x.
2. Paulino BN, Pessôa MG, Mano MC, Molina G, Neri-Numa IA, Pastore GM. Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016; 100(24): 10265–93. doi: 10.1007/s00253-016-7980-z.
3. Santos DK, Rufino RD, Luna JM, Santos VA, Sarubbo LA. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(3): 401. doi: 10.3390/ijms17030401.
4. Campos JM, Stamford TL, Sarubbo LA, de Luna JM, Rufino RD, Banat IM. Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnol. Prog.* 2013; 29(5): 1097–108. doi: 10.1002/btpr.1796.
5. Fracchia L, Banat JJ, Cavallo M, Ceresa C, Banat IM. Potential therapeutic applications of microbial surface-active compounds. *AIMS Bioengineering*, 2015; 2(3): 144–62. doi: 10.3934/bioeng.2015.3.144
6. De Almeida DG, Soares Da Silva RC, Luna JM, Rufino RD, Santos VA, Banat IM, Sarubbo LA. Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 1718. doi: 10.3389/fmicb.2016.01718.
7. Cheowtirakul C, Linh ND. The study of biosurfactant as a cleaning agent for insecticide residue in leafy vegetables. *Au. J. T.* 2010; 14(2): 75–87.
8. Sachdev DP, Cameotra SS. Biosurfactants in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 97(3): 1005–16. doi: 10.1007/s00253-012-4641-8.
9. Yan F, Xu S, Chen Y, Zheng X. Effect of rhamnolipids on *Rhodotorula glutinis* biocontrol of *Alternaria alternata* infection in cherry tomato fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 2014; 97: 32–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.017>.
10. Harjot PK, Bhairav P, Sukhvir K. A review on applications of biosurfactants produced from unconventional inexpensive wastes in food and agriculture industry. *World J. Pharm. Res.* 2015; 8(4): 827–42.
11. Sinumvayo JP, Ishimwe N. Agriculture and food applications of rhamnolipids and its production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Chem. Eng. Process Technol.* 2015; 6. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7048.1000223>.
12. Mnif I, Ghribi D. Glycolipid biosurfactants: main properties and potential applications in agriculture and food industry. *J. Sci. Food Agric.* 2016; 96(13): 4310–20. doi: 10.1002/jsfa.7759.
13. Sekhon Randhawa KK, Rahman PK. Rhamnolipid biosurfactants – past, present, and future scenario of global market. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 454. doi: 10.3389/fmicb.2014.00454.
14. Karpenko OV, Koretska NI, Shcheglova NS, Karpenko IV, Baranov VI. Gramineae plants growth stimulation by surface-active rhamnolipids. *Biotechnologia acta.* 2013; 6(6): 94–9.

15. Cawoy H, Debois D, Franzil L, De Pauw E, Thonart P, Ongena M. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microb. Biotechnol.* 2015; 8(2): 281–95. doi: 10.1111/1751-7915.12238.
16. de Oliveira MR, Magri A, Baldo C, Camilios-Neto D, Minucelli T, Colabone PC. Review: sophorolipids a promising biosurfactant and it's applications. *IJBR.* 2015; 6(2): 161–74.
17. da Silva VL, Lovaglio RB, Tozzi HH, Takaki M, Contiero J. Rhamnolipids: a new application in seeds development. *J. Med. Biol. Sci. Res.* 2015; 1(8): 100–6.
18. Cochran SA, Vederas JC. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: a gold mine of antibiotic candidates. *Med. Res. Rev.* 2016; 36(1): 4–31. doi: 10.1002/med.21321.
19. Pirog T, Iutynska G, Sofilkanych A, Konon A. [Microbial surfactants in environmental technologies]. K.: Nauk. Dumka, 2016. 278 p. Ukrainian.
20. Tyagi M, da Fonseca MM, Carvalho CC. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation.* 2011; 22(2): 231–41.
21. Ławniczak Ł, Marecik R, Chrzanowski Ł. Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 97(6): 2327–39.
22. Das K, Mukherjee AK. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresour. Technol.* 2007; 98(7): 13–1345.
23. Fan MY, Xie RJ, Qin G. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with yeast. *Environ. Technol.* 2014; 35 (1–4): 391–9.
24. Silva EJ, Rocha E, Silva NM, Rufino RD, Luna JM, Silva RO, Sarubbo LA. Characterization of a biosurfactant produced by *Pseudomonas cepacia* CCT6659 in the presence of industrial wastes and its application in the biodegradation of hydrophobic compounds in soil. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2014; 117: 36–41. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.02.012.
25. Bao M, Pi Y, Wang L, Sun P, Li Y, Cao L. Lipopeptide biosurfactant production bacteria *Acinetobacter* sp. D3-2 and its biodegradation of crude oil. *Environ. Sci. Process Impacts.* 2014; 16(4): 897–903. doi: 10.1039/c3em00600j.
26. Das R, Tiwary BN. Isolation of a novel strain of *Planomicrobium chinense* from diesel contaminated soil of tropical environment. *J. Basic. Microbiol.* 2013; 53(9): 723–32. doi: 10.1002/jobm.201200131.
27. Juwarkar AA, Dubey KV, Nair A, Singh SK. Bioremediation of multi-metal contaminated soil using biosurfactant – a novel approach. *Indian J. Microbiol.* 2008; 48(1): 142–6.
28. Das P, Mukherjee S, Sen R. Biosurfactant of marine origin exhibiting heavy metal remediation properties. *Bioresour. Technol.* 2009; 100(20): 4887–4890.
29. Liu X, Wang JT, Zhang M, Wang L, Yang YT. Remediation of Cu-Pb-contaminated loess soil by leaching with chelating agent and biosurfactant. *Huan. Jing. Ke. Xue.* 2013; 34(4): 1590–97.
30. Maslin PM, Maier RM. Rhamnolipid enhanced mineralization of phenanthrene in organic metal co-contaminated soils. *Bioremed. J.* 2000; 4(4): 295–308.

31. Singh AK, Cameotra SS. Efficiency of lipopeptide biosurfactants in removal of petroleum hydrocarbons and heavy metals from contaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2013; 20(10): 7367–76. doi: 10.1007/s11356-013-1752-4.
32. Whang LM, Liu PW, Ma CC, Cheng SS. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J. Hazard. Mater.* 2008; 151(1): 155–63.
33. Lin TC, Pan PT, Young CC, Chang JS, Chang TC, Cheng SS. Evaluation of the optimal strategy for ex situ bioremediation of diesel oil-contaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2011; 18(9): 1487–96. doi: 10.1007/s11356-011-0485-5.
34. Chrzanowski Ł, Ławniczak Ł, Czaczyk K. Why do microorganisms produce rhamnolipids? *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012; 28(2): 401–19.
35. Kumar R, Bharagava RN, Kumar M, Singh SK, Govind K. Enhanced Biodegradation of mobil oil hydrocarbons by biosurfactant producing bacterial consortium in wheat and mustard rhizosphere. *Pet. Environ. Biotechnol.* 2013; 4:5, <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7463.1000158>.
36. Sumi CD, Yang BW, Yeo IC, Hahm YT. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Can. J. Microbiol.* 2015; 61(2): 93–103. doi: 10.1139/cjm-2014-0613.
37. Meena KR, Kanwar SS. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015:473050. doi: 10.1155/2015/473050.
38. Kakinuma A, Oachida A, Shima T, Sugino H, Isano M, Tamura G, Arima K. Confirmation of the structure of surfactin by mass spectrometry. *Agric. Biol. Chem.* 1969; 33(11): 1669–72.
39. Neu TR, Poralla K. Emulsifying agent from bacteria isolated during screening for cells with hydrophobic surfaces. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1990; 32(5): 521–525.
40. Brader G, Compant S, Mitter B, Trognitz F, Sessitsch A. Metabolic potential of endophytic bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2014; 27: 30–7. doi: 10.1016/j.cop-bio.2013.09.012.
41. Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Orozco-Mosqueda Mdel C, Glick BR. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol. Res.* 2016; 183: 92–9. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008.
42. Beltran-Gracia E, Macedo-Raygoza G, Villafaña-Rojas J, Martinez-Rodriguez A, Chavez-Castrillon YY, Espinosa-Escalante FM, Di Mascio P, Ogura T, Beltran-Garcia MJ. Production of lipopeptides by fermentation processes: endophytic bacteria, fermentation strategies and easy methods for bacterial selection. In: *Fermentation Processes* (Ed. Angela Jozala), InTech, 2017: 199–222. doi: 10.5772/64236.
43. Gond SK, Bergen MS, Torres MS, White JFJr. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiol. Res.* 2015; 172: 79–87. doi: 10.1016/j.micres.2014.11.004.
44. Guo Q, Dong W, Li S, Lu X, Wang P, Zhang X, Wang Y, Ma P. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 plays a major role in biocontrol of cotton seedling damping-off disease. *Microbiol. Res.* 2014; 169(7–8): 533–40. doi: 10.1016/j.micres.2013.12.001.
45. Li B, Li Q, Xu Z, Zhang N, Shen Q, Zhang R. Responses of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to different soilborne fungal pathogens through the alteration

- of antifungal compounds production. *Front. Microbiol.* 2014; 5:636. doi: 10.3389/fmicb.2014.00636.
46. Chowdhury SP, Hartmann A, Gao X, Borriss R. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Front. Microbiol.* 2015; 6:780. doi: 10.3389/fmicb.2015.00780.
 47. Jarvis FG, Johnson MJ. A glyco-lipide produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Am. Chem. Soc.* 1949; 71(12): 4124–26.
 48. Chong H, Li Q. Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microb. Cell Fact.* 2017; 16(1):137. doi: 10.1186/s12934-017-0753-2.
 49. Vatsa P, Sanchez L, Clement C, Baillieux F, Dorey S. Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11(12): 5095–108. doi: 10.3390/ijms11125095.
 50. Sanchez L, Courteaux B, Hubert J, Kauffmann S, Renault JH, Clément C, Baillieux F, Dorey S. Rhamnolipids elicit defense responses and induce disease resistance against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic pathogens that require different signaling pathways in *Arabidopsis* and highlight a central role for salicylic acid. *Plant Physiol.* 2012; 160(3): 1630–41. doi: 10.1104/pp.112.201913.
 51. Borah SN, Goswami D, Sarma HK, Cameotra SS, Deka S. Rhamnolipid biosurfactant against *Fusarium verticillioides* to control stalk and ear rot disease of maize. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 1505. doi: 10.3389/fmicb.2016.01505.
 52. Sha R, Meng Q. Antifungal activity of rhamnolipids against dimorphic fungi. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2016; 62(5): 233–9.
 53. Kim SK, Kim YC, Lee S, Kim JC, Yun MY, Kim IS. Insecticidal activity of rhamnolipid isolated from *Pseudomonas* sp. EP-3 against green peach aphid (*Myzus persicae*). *J. Agricult. Food Chem.* 2011; 59: 934–8.
 54. Pirog TP, Konon AD, Sofilkanich AP, Iutinskaia GA. Effect of surface-active substances of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* K-8 on phytopathogenic bacteria. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2013; 49(4): 360–7. doi:10.1134/S000368381304011X.
 55. Choe E, Min DB. Chemistry of deep-fat frying oils. *J. Food Sci.* 2007; 72(5): 77–86.
 56. Totani N, Ono M, Burenjargal M, Ojiri Y. Carbonyl compounds vaporize from oil with steam during deep-frying. *J. Oleo Sci.* 2007; 56(9): 449–56.
 57. Bais HP, Fall R, Vivanco JM. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant. Physiol.* 2004; 134(1): 307–19.
 58. Cortes-Sanchez A, Hernandez-Sanchez H, Jaramillo-Flores M. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiol. Rec.* 2013; 168(1): 22–32.
 59. Abalos A, Pinazo A, Infante MR, Casals M, Garcí'a F, Manresa A. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir.* 2001; 17(5): 1367–71.
 60. Karpenko EV. [Scientific principles of the development of biotechnologies of surfactants with polyfunctional properties]. Thesis for the degree of Doctor of Technical Sciences (03.00.20); National University of Food Technologies, Kyiv, 2015. 44 p. Ukrainian.

Отримано 19.09.2017