

СООБЩЕСТВА МИКРОМИЦЕТОВ ПЕЩЕР КАК ИСТОЧНИК ШТАММОВ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Сафина И.Р., Хижняк С.В.

ФГБОУ ВПО Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск

В последние десятилетия в мире наблюдается растущий интерес к использованию психрофильных и психротолерантных микроорганизмов в биотехнологии (Russell, 1998; Lettinga et al., 2001; Margesin et al., 2008). При этом основным источником психрофильных и психротолерантных изолятов до сих пор остаются Арктика и Антарктика (Wang et al., 2009; Ganzert et al., 2011), в отдельных случаях – альпийские почвы (Zhang et al., 2010). Исследования, проведённые в Красноярском государственном аграрном университете, показали, что низкотемпературные карстовые пещеры Средней Сибири являются уникальным природным источником психрофильных и психротолерантных бактерий и грибов (Хижняк и др., 2003, Нестеренко, 2007; Хижняк, 2009). Показано, что психрофильные и психротолерантные бактерии сибирских пещер могут быть использованы в сельскохозяйственной биотехнологии в качестве эффективного при низких температурах начала вегетационного периода и безопасного для теплокровных биологического средства защиты растений от болезней (Хижняк и др., 2009; Ланкина, 2010).

Целью настоящего исследования являлось изучение перспектив использования пещерных микробных сообществ в качестве источника штаммов микромицетов для биологической борьбы с болезнями сельскохозяйственных растений. Объектами исследования служили психрофильные и психротолерантные микромицеты, выделенные авторами из микробных сообществ низкотемпературных (температура воздуха и грунта +4...+6°C) пещер Средней Сибири – Айдашинская (41/25), Большая Орешная (43470/215), Ручейная (1300/85), Темная (2500/55), Торгашинская (2965/176), Ледяная (720/32), Караульная-2 (540/34), Женевская (6020/90), Кубинская (3000/274), Партизанская (6649/125), Маячная (1100/60), Парлагольская (600/34) и Западного Кавказа – Сарма (13000/1550), Снежная (19000/1370) (в скобках показаны протяжённость и глубина пещеры, м). Выделение изолятов из образцов и их лабораторные исследования выполняли по методикам, принятым при изучении пещерных микроорганизмов (Нестеренко, 2007; Хижняк, 2009). Тест-культурами при изучении антагонистической активности изолятов служили фитопатогенные грибы *Bipolaris sorokiniana*, *Alternaria tenuissima*, *A. infectoria*.

Выделенные из пещер Красноярского края психрофильные и психротолерантные микромицеты представлены главным образом р.р. *Chrysosporium* и *Mucor*, обнаружены также представители р.р. *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Doratomyces*. Среди психрофильной и психротолерантной микобиоты пещеры Сарма (Кавказ) преобладают представители р. *Mucor*, выявлены также представители р.р. *Penicillium*, *Fusarium* и неидентифицированные мицелиальные и диморфные грибы. Температурный оптимум роста выделенных штаммов варьирует в пределах +17...+24°C, максимальная температура роста – в пределах +22...+28°C (табл. 1).

Таблица 1 – Типичные показатели роста автохтонных пещерных микромицетов в сравнении с мезофильными почвенными грибами (прирост мицелия приведён на 1 точку роста в экспоненциальной фазе)

Источник изолятов	Показатель	Температура, °C		
		4...8	14...17	20...22
<i>Zygomycota</i>				
Пещеры Сибири	время прорастания спор, час	5 – 22	5 – 6	5 – 6
	прирост мицелия, мкм/ч	1,6 – 8,6	29,1	34,7
Пещера Сарма	время прорастания спор, час	5 – 24	5 – 12	5 – 8
	прирост мицелия, мкм/ч	15 – 25	25 – 40	32 – 47
Почвы Сибири	время прорастания спор, час	70 – 112	10 – 12	6 – 8
	прирост мицелия, мкм/ч	0,6 – 1,8	6 – 8	35,2 – 39,3
<i>Ascomycota, Deuteromycota</i>				
Пещеры Сибири	время прорастания спор, час	5 – 24	4 – 20	5 – 6
	прирост мицелия, мкм/ч	0,8 – 1,6	0,4 – 12	0,8 – 15
Пещера Сарма	время прорастания спор, час	18 – 24	8 – 10	8 – 10
	прирост мицелия, мкм/ч	1,0 – 1,6	12 – 15	12 – 20
Почвы Сибири	время прорастания спор, час	70 – 100	5 – 6	4 – 5
	прирост мицелия, мкм/ч	0,1 – 0,5	15 – 20	40 – 49

В отличие от пещеры Сарма, в расположенной в том же районе и близкой по своим морфологическим и микроклиматическим характеристикам пещере Снежная микромицеты представлены исключительно аллохтонными мезофильными формами. Такие различия можно объяснить разной историей этих пещер как географических объектов. Судя по костным останкам (Рудко П., Сухачёв В., личное сообщение), поступление органического вещества в пещеру Сарма шло на протяжении исторически длительного периода, задолго до проникновения в пещеру человека. Это позволило сформироваться сообществам микроорганизмов, эволюционно адаптированным к условиям подземной среды. В этом плане пещера Сарма сходна с пещерами Средней Сибири, в которые также шёл исторически длительный занос органического вещества. В то же время пещера Снежная до проникновения человека (1971 -1972 гг., экспедиция спелеоклуба МГУ, рук. М. Зверев) была изолирована от внешней среды снежной "пробкой" на входе, крупнейшим в Европе подземным ледником и глыбовыми завалами в верхней части пещеры. Это исключало поступление с поверхности органического вещества, которое могло бы поддерживать в пещере автохтонное сообщество микромицетов. После же проникновения человека на оставляемых экспедициями органических остатках начали развиваться занявшие возникшую экологическую нишу аллохтонные мезофильные грибы, способные к росту при низкой температуре.

Из 73 проанализированных изолятов пещерных микромицетов 34 проявили антагонистическую активность в отношении фитопатогенных грибов, что проявляется в статистически значимом ингибировании прорастания конидий и развития мицелия тест-культуры в присутствии их культурального фильтрата. При этом более половины изученных изолятов являются сильными антагонистами и подавляют прорастания конидий тест-культур на 75-100% (рис. 1).

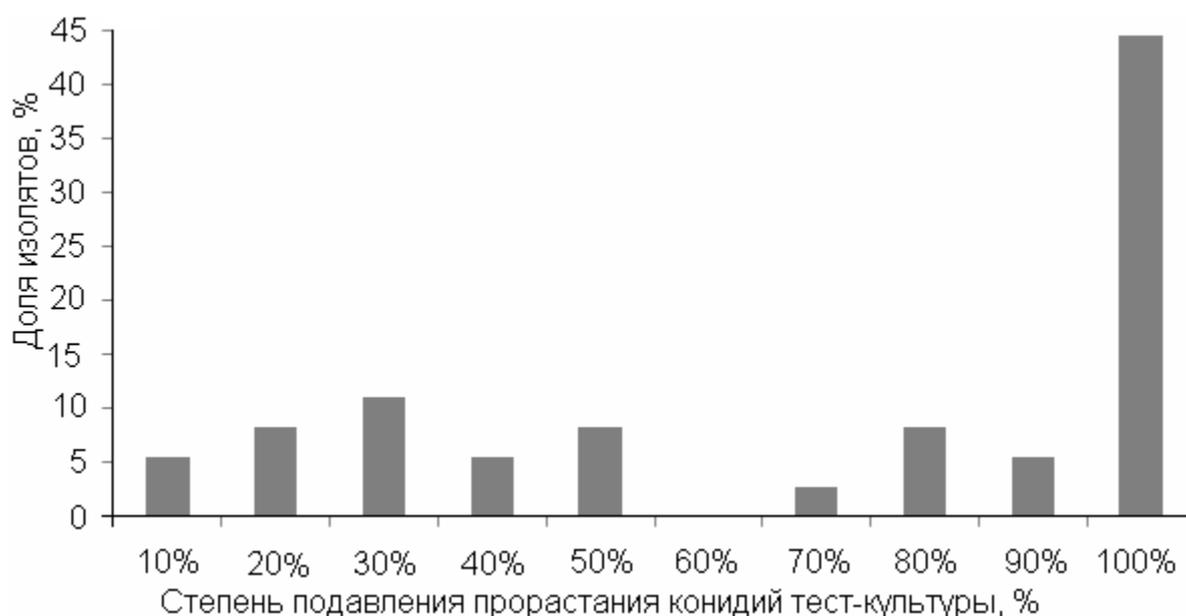


Рисунок 1 – Распределение изолятов по степени антагонизма в отношении фитопатогенных грибов на примере *B. sorokiniana*

По относительной встречаемости антагонистов среди проанализированных изолятов лидируют представители р. р. *Cladosporium*, *Doratomyces* и *Chrysosporium*. Среди грибов, относящихся к данным родам, сильную антибиотическую активность в отношении грибов р. *Bipolaris* проявили соответственно 100, 90 и 80 % изолятов. Наибольшую активность в отношении одновременно *B. sorokiniana*, *A. tenuissima* и *A. infectoria* проявили изоляты Тм-1, Т-30, П-31, П-33, Л-85, О-97, Руч-102, Кем-104, Кем-108, М-117.

Кроме подавления прорастания конидий отмечен ярко выраженный эффект полного или частичного конкурентного вытеснения грибов р.р. *Bipolaris*, *Alternaria* и *Fusarium* при совместном культивировании с пещерными изолятами в диапазоне температур от +4 до +20°C (температура почвы в первой половине вегетационного периода). Таким образом, можно констатировать, что психрофильные и психротолерантные микромицеты, входящие в состав микробных сообществ пещер

Средней Сибири и Западного Кавказа, могут быть использованы в качестве безопасных для теплостойких биопрепаратов для защиты зерновых культур от корневых гнилей.

Список литературы:

1. Ланкина, Е.П. Бактериальные сообщества пещер как источник штаммов для биологической защиты растений от болезней: Автореф. дисс. ... канд.биол. наук: 03.02.08. / Е.П Ланкина. – Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2010. – 19 с.
2. Нестеренко, Е. В. Микромитеты карстовых полостей Средней Сибири: Автореф. дисс. ... канд.биол. наук: 3.00.16 / Е. В. Нестеренко. – Красноярск, 2007. – 19 с.
3. Хижняк, С.В. Психрофильные и психротолерантные гетеротрофные микроорганизмы карстовых полостей средней Сибири / Хижняк С.В. и др. // Экология. – 2003. - № 4. - С.261-266.
4. Хижняк, С.В. Оценка эффективности психрофильных пещерных микроорганизмов в биологической борьбе с обыкновенной корневой гнилью зерновых / С.В. Хижняк, Е.П. Ланкина, И.Р. Илиенц (Сафина) // Вестник КрасГАУ. – 2009. – № 6. – С. 49-52.
5. Ganzert, L. *Arthrobacter livingstonensis* sp. nov. and *Arthrobacter cryotolerans* sp. nov., salt-tolerant and psychrotolerant species from Antarctic soil / L. Ganzert, F. Bajerski, K. Mangelsdorf et. al. // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2011. – 61(Pt 4). – P. 979-984.
6. Lettinga, G., Rebac, S., Zeeman, G. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment // *Trends in Biotechnology* Volume 19, Issue 9, 1 September 2001, Pages 363-370
7. Margesin R. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of cold-adapted bacteria and yeasts/ Margesin R., Gander S., Zacke G., et. al. // *Extremophiles.*- 2003 .- Vol. 7.- №. 6.- P. 451 - 458
8. Russell, N. J. (1998) Molecular adaptations in psychrophilic Bacteria: potential for biotechnological applications. *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology* 61, 1-21.
9. Wang, F. *Arthrobacter psychrochitiniphilus* sp. nov., a psychrotrophic bacterium isolated from Antarctica / F. Wang, Y. Gai, M. Chen et. al. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* – 2009. – 59. – P. 2759-2762
10. Zhang, D.C. *Arthrobacter alpinus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine soil / D.C. Zhang, P. Schumann, H.C. Liu et. al. // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2010. – 60(9). – P. 2149-2153.