

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДЕЛОВ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ И ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ИЗОЛЯТОВ

Исламова Н. А.<sup>1</sup>, Бухарина И. Л.<sup>1</sup>, Камашева А. А.<sup>2</sup>, Латыпова Р.<sup>1</sup>, Лебедева М. А.<sup>2</sup>, Пашкова А. С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия (426034, Ижевск, ул. Университетская, 1), e-mail: islamovanadezhda@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия», Ижевск, Россия (426069, Ижевск, ул. Студенческая, 11), e-mail: buharin@udmlink.ru

Выделен ряд изолятов микроскопических грибов, включая арбускулярные микоризные грибы, эндофиты и другие группы грибов, из корней древесных растений и почв в насаждениях города Ижевска. В экспериментах изучены особенности роста микроскопических грибов на субстратах с различными концентрациями хлорида натрия. Результаты показали, что разные концентрации раствора соли в питательной среде вызвали ингибирование роста, но даже при весьма высокой концентрации, преодолев 7–12-дневный адаптационный период, начинался рост мицелия грибов. Изоляты грибов с высоким потенциалом выносливости будут использованы в лабораторном эксперименте по инокуляции тестовых культур растений и их выращивании в моделируемых условиях среды, включая субстраты с разными концентрациями солей, в том числе солей тяжелых металлов. Проведенные исследования подтверждают способность микроскопических грибов адаптироваться к неблагоприятным внешним условиям и тем самым выступать в качестве индикаторных организмов.

Ключевые слова: эндотрофные микроскопические грибы, коллекция изолятов, консортивные связи, устойчивость, шкалы токсичности

## RESEARCH OF LIMITS OF STABILITY OF FUNGI AND FORMATION OF A COLLECTION OF PERSPECTIVE ISOLATES

Islamova N. A.<sup>1</sup>, Bukharina I. L.<sup>1</sup>, Kamasheva A. A.<sup>2</sup>, Latypova R.<sup>1</sup>, Lebedeva M. A.<sup>2</sup>, Pashkova A. S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Udmurt State University, Izhevsk, Russia (426034, Izhevsk, street Universitetskaya, 1), e-mail: islamovanadezhda@mail.ru

<sup>2</sup>Izhevsk State Agricultural Academy, Izhevsk, Russia (426069, Izhevsk, street Studencheskaya, 11) e-mail: buharin@udmlink.ru

Allocated a number of isolates of fungi including AMF and other groups of fungi. In experiments features of growth of fungi on various concentration of chloride of sodium were studied. Results showed that different concentration of solution of salt in a nutrient medium caused growth inhibition, but, nevertheless, even at very high concentration, having overcome 7 – 12 days period, growth of a mycelium of fungi began. Isolates of fungi with a high potential of endurance will be used in laboratory experiment on an inoculation of test cultures of plants and their cultivation in the controlled environment conditions, including substrates with different concentration of salts, including salts of heavy metals. The conducted researches confirm ability of fungi to adapt for adverse external conditions and by that to act as indicator organisms.

Keywords: endophyte fungi, collection of isolates, symbiosis, tolerance, toxicity scales

В последнее время большое значение придается изучению и использованию биоразнообразия как ресурса разработки биотехнологий. Изучение свойств живых организмов позволяет использовать биологические возможности и свойства живых организмов, а также связи между живыми организмами, в разработке биотехнологий во многих отраслях. Это мониторинг состояния среды, разработка экологических биотехнологий защиты растений, повышения их выносливости к стрессовым факторам

среды. Все это необходимо в лесном хозяйстве, аграрном производстве, зеленом строительстве городов и природообустройстве.

Наиболее надежные и доступные методы диагностики антропогенных нарушений основаны на ряде микробиологических показателей, потому что из всех представителей биоты микроорганизмы наиболее чутко реагируют на изменение условий обитания [2]. Аналитическими индикаторами в данном случае могут выступать, к примеру, микроскопические грибы. Основой анализа являются подавление или стимуляция роста микроорганизмов, изменение их внешнего вида, размеров и формы в результате изменения химического состава питательной среды [1, 4]. Поскольку микроскопические грибы в этом плане являются слабоизученным звеном, весьма актуальны исследования реакции этих микроорганизмов на различные стрессовые факторы и установление пределов толерантности к ним. Кроме того, системных исследований по влиянию тяжелых металлов на пигментсинтезирующую способность дрожжевых грибов на сегодняшний день не имеется. Известно лишь только то, что дрожжи обладают способностью сорбировать тяжелые металлы [3].

Исходя из этого целями нашей работы являются тестирование изолятов микроскопических грибов на действие различных концентраций химических веществ и неблагоприятных факторов среды, формирование банка экологических характеристик (показатели пределов выносливости, включая металл-резистентность) и коллекции изолятов микроскопических грибов, перспективных и востребованных для разработки биотехнологических методов повышения выносливости растений.

Также известно, что дрожжи рода *Rhodotorula* имеют большое количество каротиноидов и в зависимости от химического состава среды их обитания могут менять окраску [5]. Поэтому одной из задач исследовательской работы являются изучение металл-резистентности дрожжевого пигментсодержащего гриба *Rhodotorula mucilaginosa* и разработка шкалы оценки токсичности субстратов и нарушенных земель.

### **Материалы и методы исследования**

Методом посева корневой системы древесных растений, а также анализа ДНК корней и почв, отобранных в насаждениях города Ижевска (Удмуртская республика), выделен целый ряд изолятов микроскопических грибов, включая арбускулярные микоризные грибы, эндофиты и другие группы грибов, экологическая роль которых требует изучения и уточнения. Важным фактом является то, что все эти грибы и их популяции адаптированы к техногенным условиям.

В экспериментах были изучены особенности роста микроскопических грибов на субстратах с различными концентрациями хлорида натрия.

Для опыта использовалась твердая питательная агаровая среда, в которую был внесен NaCl в следующих концентрациях: К (Контроль) – без соли; 0,5 моль/л; 1 моль/л; 1,5 моль/л.

В качестве тестируемых использовались изоляты грибов, выделенные из корней древесных растений, произрастающих на территории г. Ижевска. Растения имели хорошее жизненное состояние, несмотря на неблагоприятные экологические условия среды. Перечень тестируемых микроскопических грибов представлен в таблице 1.

**Таблица 1**

Список изолятов грибов, используемых в эксперименте

№	Вид	Вид древесного растения, из корней которого выделен изолят гриба	Место отбора
1	<i>Cylindrocarpon radicicola</i>	Ель колючая	Парк им. Кирова
2	<i>Arthopyreniaceae sp.</i>	Клен ясенелистный	Насаждения СЗЗ* промышленного предприятия «Ижсталь»
3	<i>Leptosphaeria sp.</i>	Клен американский	Насаждения СЗЗ* промышленного предприятия «Ижсталь»
4	<i>Fusarium oxysporum</i>	Клен американский	Насаждения СЗЗ* предприятия «Керамблок»
5	<i>Fusarium equiseti</i>	Ель колючая	Парк им. Кирова

Примечание: \* — санитарно-защитная зона.

Опыт проводили в трехкратном повторении. Грибы инкубировали при комнатной температуре 24–25 °С в течение 2 месяцев. Учет результатов в первый месяц наблюдения проводили через каждые 3 суток после посева. Измеряли диаметр культуры гриба.

#### **Результаты и их обсуждение**

Результаты эксперимента представлены на рисунках 1–4.

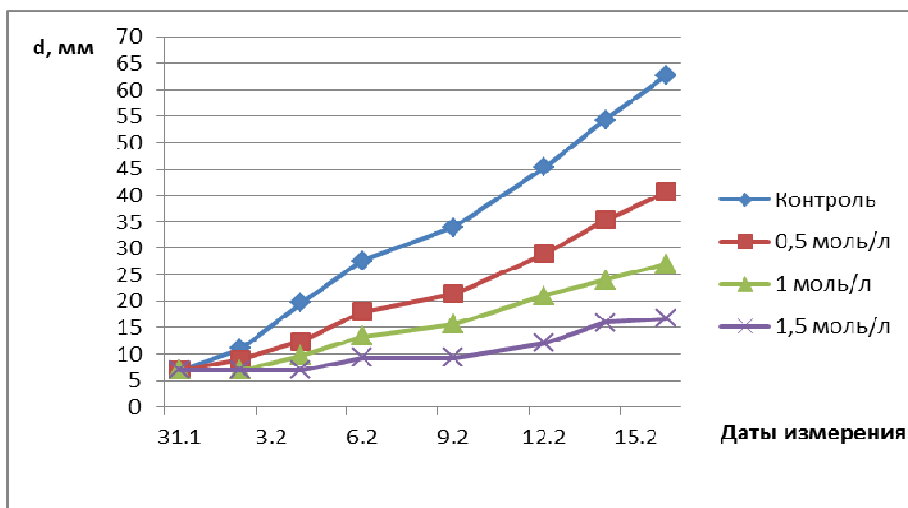


Рис. 1. Динамика размеров культуры *Cyindrocarpon radicicola* на субстратах с разной концентрацией NaCl

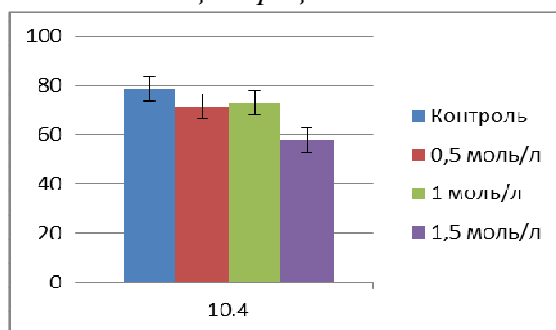


Рис. 2. Размеры культуры *Cyindrocarpon radicicola* (2 месяца после посева), мм

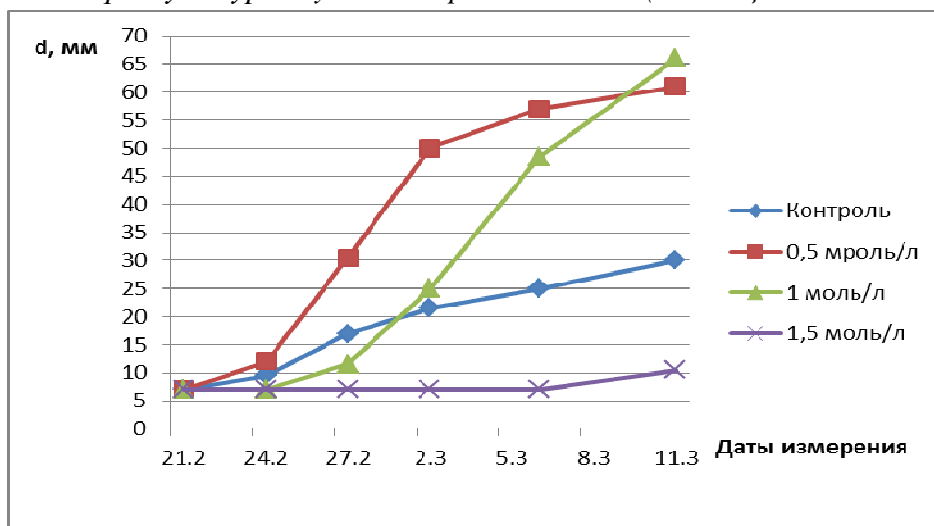


Рис. 3. Динамика размеров культуры *Fusarium equiseti* на субстратах с разной концентрацией NaCl

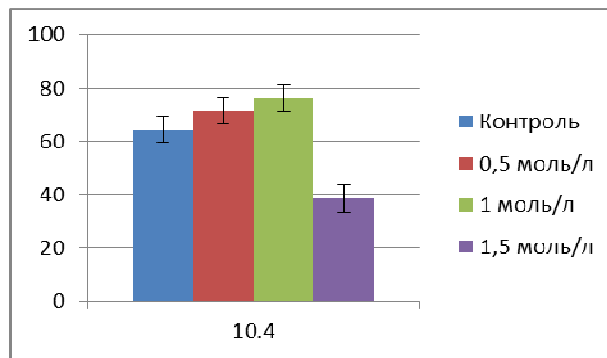


Рис. 4. Размеры культуры *Fusarium equiseti* (1,5 месяца после посева), мм

На графиках показаны скорости роста мицелия гриба в зависимости от концентрации NaCl. Разные концентрации раствора соли в питательной среде вызывали ингибирование роста. Тем не менее даже при весьма высокой концентрации после преодоления адаптационного периода в 7–12 дней начинался рост мицелия большинства изучаемых грибов.

Последние измерения, проведенные через 2 месяца после посева, показали, что у грибов *Fusarium equiseti* и *Arthopyreniaceae sp. Pleosporales* существенной разницы в размерах мицелия в разных вариантах опыта не наблюдалось, за исключением варианта с максимальной концентрацией соли. А у гриба *Fusarium equiseti* растворы NaCl 0,5 и 1 моль/л, наоборот, стимулировали его рост. Изменилась и структура изолята, что свидетельствует о переходе гриба к спороношению.

Изоляты грибов с высоким потенциалом выносливости будут использованы в лабораторном эксперименте по инокуляции тестовых культур растений и их выращиванию в моделируемых условиях среды (климатические камеры), включая субстраты с разными концентрациями солей, в том числе солей тяжелых металлов. Планируются наблюдение роста и развития инокулированных растений, определение пределов их выносливости в ранние этапы онтогенеза. Будет проведен отбор образцов корневой системы растений для проведения контрольного ДНК-анализа грибов.

Вторую серию экспериментов планируется провести с культивированием дрожжевого пигментсодержащего гриба *Rhodotorula mucilaginosa* на субстратах с градиентом содержания солей металлов (на примере цинка и хрома) и дальнейшим определением концентрации пигмента, образующегося в грибе, а также установлением корреляции степени пигментации гриба с концентрацией химических веществ в субстрате. После этого будет разработана шкала оценки токсичности субстрата, основанная на степени пигментации культивируемого гриба с эталонным образцом.

## Заключение

Результаты исследований подтверждают способность микроскопических грибов выступать в качестве индикаторных организмов для определения неорганических соединений в объектах окружающей среды. По чувствительности они сопоставимы с традиционными физическими методами анализа. С их помощью можно значительно упростить анализ состояния природных объектов, оценивая степень общего загрязнения на начальных стадиях и степень токсичности объекта для живого организма. Это служит основанием для дальнейших анализов с использованием более сложных и дорогостоящих методов [4]. Кроме того, изоляты эндотрофных симбиотических грибов можно предложить для использования в экспериментах по повышению выносливости сельскохозяйственных и древесных культур путем инокуляции семян.

### Список литературы

1. Брагинский Л. П. // Проблемы аналитической химии. М.: Наука. – 1977. – Т. 1. – С. 27–38.
2. Крупей К. Биоиндикационные возможности пигментсинтезирующих дрожжей рода *Rhodotorula* // Australian Journal Scientific Research. – 2014. – № 1 (6). С. 249–254.
3. Лозовая О. Г., Касаткина Т. П., Подгорский В. С. Поиск биосорбентов тяжелых металлов среди дрожжей различных таксонометрических групп // Мікробіологічний журнал. – 2004. – Т. 66, № 2. – С. 92–101.
4. Шеховцова Т.Н. Биологические методы анализа // Соросовский Образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 11. С. 17–21.
5. Goodwin T. W. Carotenoids in fungi and non-photosynthetic bacteria. Progr. Industr. Microbiol. – 1972. – P. 29–88.

### Рецензенты:

Фатыхов И.Ш., д.с.-х.н., профессор, заведующий кафедрой растениеводства ФГБОУ ВПО «Ижевская ГСХА», г. Ижевск;

Туганаев В.В., д.б.н., профессор, профессор кафедры общей экологии и природопользования ФГБОУ ВПО «УдГУ», г. Ижевск.