

* * *

УДК 579.22/.26:582.288

DOI 10.17816/snv202114

Статья поступила в редакцию 25.03.2020

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* THOM 1910, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ Г. СУРГУТА

© 2020

Мантрова Мария Викторовна, младший научный сотрудник научно-образовательного центра
Института естественных и технических наук
Сургутский государственный университет
(г. Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, Российская Федерация)

Аннотация. Статья посвящена изучению эколого-физиологических свойств четырех штаммов вида *Penicillium chrysogenum* Thom 1910, выделенных на территории г. Сургута из почвы, воды и поверхности синтетических полимеров, в зависимости от источника углеродного питания и температуры; рассмотрены также фитотоксические свойства данных штаммов в отношении нескольких тест-объектов. Культурально-морфологические признаки штаммов схожи между собой на средах с сахарозой, лактозой, маннитом, крахмалом и целлюлозой, вариабельны на средах с сорбитом и глицерином. Самые высокие средние значения радиальной скорости роста зафиксированы на средах со спиртами – сорбитом и глицерином. Общие культурально-морфологические признаки характерны для штаммов при культивировании в одном температурном режиме; низкая температура +5°C более способствует росту колоний, чем высокая +37°C, оптимальной является +25°C; полученные данные подтверждают принадлежность *P. chrysogenum* к мезофильным (психротолерантным) видам. Все штаммы токсичны в отношении проростков редиса; в отношении проростков пшеницы, а также элодеи и ряски токсичны вариабельно; не токсичны для семян пшеницы и редиса. Полученные результаты могут быть полезны в изучении экологии штаммов *P. chrysogenum*, а также в идентификации данного вида.

Ключевые слова: микромицеты; *Penicillium chrysogenum* Thom 1910; культурально-морфологические и физиологические признаки; радиальная скорость роста; источники углеродного питания; фитотоксичность; температурные границы роста; психротолерантный вид.

Введение

Эколого-физиологические свойства различных штаммов *Penicillium chrysogenum* Thom 1910 неодинаковы [1, с. 214]. Вид *P. chrysogenum* распространен по всему земному шару – в почве, на гниющей растительности и пищевых продуктах [2, р. 246], – в широком диапазоне климатических условий [3, с. 296].

Как почвенный обитатель *P. chrysogenum* типичен для каштановых почв умеренного климата, сероземов субтропических полупустынь и красномезом тропиков [4, с. 120]; является доминирующим в микромицетных комплексах дерново-подзолистой почвы северного умеренного климата (Московская область) [5, с. 107]; встречается в тундровых почвах субарктического климата (Полярный Урал) [6, с. 41, табл. 2] и в почвах полярных (арктических) пустынь (о. Эллеф-Рингнес) [7, с. 220]. Кроме фоновых *P. chrysogenum* доминирует в микоценозах городских почв: дерново-подзолистой городской, урбаноземах, реплантоземах (г. Москва) [8, с. 81–83].

Представителей данного вида часто выделяют из воздуха внутренних помещений, пыли, с различных плесневелых поверхностей [8, с. 139]. *P. chrysogenum* является доминирующим в составе аэромикоты жилых помещений (г. Москва) [9, с. 6], часто встречающимся в воздухе хранилищ документов (Российская национальная библиотека) [10, с. 12] и музейных залов (г. Санкт-Петербург) [11, с. 130].

Микромицеты *P. chrysogenum* выделяются часто с поверхности полимерных [1, с. 213] и целлюлозных материалов, кожи, кирзы, резины, красок, корродирующего металла [12, с. 186], из авиационного топлива [13, с. 444]; являются самыми распространен-

ными среди грибов, выделенных с поверхности конструкционных материалов и из пыли воздуха на Российском сегменте Международной космической станции [14, с. 29, 38]. Таким образом, *P. chrysogenum* является эвриотопным видом [8, с. 144].

P. chrysogenum – продуцент органических кислот, антибиотиков и микотоксинов. Самый известный антибиотик – пенициллин – впервые получен из колонии *P. chrysogenum* [15, с. 300], занимает первое место среди антибиотических препаратов благодаря своей высокой антибактериальной активности в сочетании с низкой токсичностью [16, с. 3]. Продуцируемый *P. chrysogenum* микотоксин пеницилловая кислота вызывает микотоксикозы человека и животных, обладает фитотоксичностью по отношению к прорастанию семян и развитию высших растений [17, с. 293].

По отношению к температуре *P. chrysogenum* является мезофильным (психротолерантным) видом – оптимальная температура роста 26°C, минимальная 6°C, максимальная 38°C [1, с. 214; 2, р. 246].

Цель работы: дать сравнительную эколого-физиологическую характеристику четырех штаммов вида *P. chrysogenum*, выделенных на территории г. Сургута: сравнение культурально-морфологических свойств и кинетики роста в зависимости от температуры и источника углеродного питания, а также комплексное исследование фитотоксичности штаммов.

Объекты исследований: четыре штамма микроскопических грибов вида *P. chrysogenum*, выделенные на территории г. Сургута из почвы (штамм № 9), воды водопроводной (штамм № 10), с поливинилхлоридной (штамм № 18) и полиэтиленовой поверхностей (штамм № 46) труб.

Материалы и методика исследований

Выделение чистых культур грибов проводили чашечным методом Коха – посевом серийных разведений почвенной суспензии и воды трубопроводной на чашки Петри с питательной средой Чапека [18, с. 5–6; 19, с. 122–125], а также соскобом с поверхности материалов (труб). Видовую идентификацию штаммов провели сотрудники лаборатории мицелиальных грибов отдела «Всероссийская коллекция микроорганизмов» Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина РАН.

Для исследования динамики роста колоний в зависимости от источника углеродного питания споры грибов высевали уколом на среду Чапека с исследуемым источником углерода (сахароза, лактоза, глицерин, маннит, сорбит, целлюлоза, крахмал) в 3%-ной концентрации. Диаметры колоний измеряли через каждые 48 часов инкубации при 25°C в течение 14 суток (336 ч.) [20, с. 142–144]. Радиальную скорость роста (K_r , мм/ч.) рассчитывали по формуле [20, с. 154]: $K_r = (r - r_0) / (t - t_0)$; r_0 – радиус колонии в начальный момент времени t_0 , мм; r – радиус колонии в момент времени t , мм.

Для исследования влияния температуры на рост грибов их споры высевали уколом на среду Чапека и культивировали при температурах 5°C, 25°C и 37°C. По истечении 17 дней оценивали их культурально-морфологические свойства (цвет, структура колоний, реверс) и измеряли диаметры колоний.

Фитотоксические свойства культуральной жидкости грибов в отношении семян и проростков пшеницы и редиса, элодеи и ряски определяли по общепринятым методикам [20, с. 122–124, 321–324]. Коэффициент фитотоксичности ингибирования роста корней проростков пшеницы и редиса (A_ϕ , %) рассчитывали по формуле [20, с. 322]: $A_\phi = 100 - ((D_x - D_n) / (D_k - D_n) \times 100)$; D_x – средняя длина корней проростков через 24 ч. в опыте (мм); D_k – средняя длина корней проростков через 24 ч. в контроле (мм); D_n – начальная длина корней проростков (мм). В отношении элодеи и ряски фиксировали убыль или прирост биомассы в сравнении с исходными показателями. Таким образом, провели комплексную оценку фитотоксичности штаммов – в отношении нескольких тест-объектов, – растений разных экологических групп (наземные и водные), на разных стадиях развития (семена, проростки, взрослые растения).

Результаты исследований и их обсуждение

Важная экологическая характеристика популяций микромицетов – средняя радиальная скорость роста. По этому показателю популяции микроскопических грибов делят на медленнорастущие (0,03–0,12 мм/ч.) и быстро растущие (0,5 мм/ч.); медленнорастущие грибы отличаются высокой гидролитической активностью и играют ведущую роль в разложении полимеров растительного опада [21, с. 73]. Согласно результатам исследования (табл. 1) все штаммы *P. chrysogenum* являются медленнорастущими, – средние значения радиальной скорости роста варьируют от 0,056 мм/ч. до 0,104 мм/ч.

Распределение средних значений радиальной скорости роста грибов на средах с сахарами, спиртами и

природными полимерами (табл. 1) следующее: у штамма № 9 скорость роста выше на средах с сахарозой, сорбитом и крахмалом; у штамма № 10 самые высокие средние значения скорости роста – на средах с сахарозой, глицерином и крахмалом; у штамма № 18 – на средах с сахарозой, глицерином и целлюлозой; у штамма № 46 – на средах с лактозой, сорбитом и крахмалом. Таким образом, самые высокие средние значения радиальной скорости роста зафиксированы на среде с сахарозой у штаммов № 9, № 10 и № 18; лактозой – у штамма № 46; сорбитом – у штаммов № 9 и № 46, глицерином – у штаммов № 10 и № 18; крахмалом – у штаммов № 9, № 10 и № 46, целлюлозой – у штамма № 46. Таким образом, для исследуемых штаммов из дисахаридов сахароза предпочтительнее лактозы, что соответствует литературным данным [22, с. 54]; из спиртов предпочтительнее сорбит и глицерин; из природных полимеров крахмал. Согласно З.Э. Беккер [22, с. 57] наивысшей питательностью для грибов обладают спирты с 6-ю атомами углерода (маннит, сорбит), меньшей – трехатомные спирты (глицерин), очень слабой – одноатомные (этиловый, метиловый). Среды с глицерином применяются для видовой идентификации рода *Penicillium* [2, р. 8, 383]. Самые высокие средние значения радиальной скорости роста на средах со всеми источниками углеродного питания у всех штаммов *P. chrysogenum* (табл. 1) зафиксированы на средах с сорбитом (штамму № 9 и № 46) и глицерином (штаммы № 10 и № 18).

Морфология колоний исследуемых штаммов *P. chrysogenum* при росте на средах с сахарами, спиртами и природными полимерами (табл. 2) имела сходства и различия как в пределах одного штамма на разных средах, так и в пределах всех штаммов на одной среде. На средах с сахарозой, лактозой, маннитом и крахмалом все штаммы похожи и соответствуют описанию вида в определителях [2, р. 226, 246–247], – колонии бархатистые пепельно-сине-зеленые, выделяют лимонно-желтый экссудат, среду окрашивают в лимонный цвет, обратная сторона колонии (реверс) лимонно-желтая. На среде с глицерином цвет колоний штаммов № 9, № 10 и № 18 (табл. 2) бежевый, на среде с сорбитом у штаммов № 9 и № 18 (табл. 2) наблюдалась рыхлая структура колоний, которая характерна также для всех штаммов на среде с целлюлозой. Самый устойчивый по культурально-морфологическим признакам штамм № 46 (табл. 2) – одинаковый на всех средах (кроме среды с целлюлозой).

Культивирование штаммов при разных температурах значительно влияет на их морфологию и диаметр колоний (табл. 3, табл. 4). Понижение температуры до +5°C значительно сдерживает рост колоний штамма № 18, повышение до 37°C – рост колоний штамма № 46. В целом, температура +5°C более способствует росту колоний исследуемых штаммов, чем 37°C, оптимальной является 25°C (табл. 3), что подтверждает принадлежность *P. chrysogenum* к мезофильным (психротолерантным) видам [1, с. 214; 2, р. 246].

При культивировании штаммов в одинаковых температурных режимах наблюдалось сходство их культурально-морфологических признаков. При 25°C колонии бархатистые серо-сине-зеленые с лимонным

экссудатом, реверс лимонно-желтый, среда окрашена в желтый цвет. При 5°C и 37°C колонии бархатистые, белые, мелкие (диаметр в 6–10 раз меньше, чем при 25°C), складчатые, реверс лимонно-желтый (менее выражен), среда не окрашена. Варианты морфологии колонии и ее реверса при 5°C, 37°C и 25°C на примере штамма № 10 (17 сут.) представлены в табл. 4.

Согласно исследованиям фитотоксичности штаммов (табл. 5) в отношении проростков редиса штаммы № 10, № 18 и № 46 высоко токсичны (74,5–100%), штамм № 9 средне токсичен (40,4%). В отношении проростков пшеницы штаммы № 10 и № 46 высоко токсичны – более 50%, а штаммы № 9 и № 18 заметно стимулируют развитие данных тест-культур на 45,1% и 51,4% соответственно. В отношении семян пшеницы и редиса в большинстве случаев наблюдается незначительное увеличение всхожести под действием культуральной жидкости грибов, небольшое снижение всхожести пшеницы замечено под действием штамма № 46 (на 3%), редиса –

штамма № 18 (на 10%). В отношении водных растений – элодеи и ряски – угнетение роста вплоть до полной гибели наблюдалось под влиянием штаммов № 9 и № 10; штаммы № 18 и № 46 не проявляют токсичности, наоборот, замечен небольшой стимулирующий эффект. Таким образом, штаммы № 9 и № 10 высоко токсичны в отношении элодеи и ряски, штаммы № 18 и № 46 не токсичны и даже несколько стимулируют данные водные тест-объекты. Таким образом, все штаммы токсичны в отношении проростков редиса, № 10 и № 46 также и в отношении пшеницы, а № 9 и № 18 ощутимо стимулируют ее развитие; на всхожесть семян практически не влияют – незначительно ее повышают или снижают. Согласно литературным данным, *P. chrysogenum* токсичен по отношению к прорастанию семян и развитию высших растений [17, с. 293]. По результатам исследования фитотоксичности штаммов *P. chrysogenum* выявлен как угнетающий, так и стимулирующий эффект, в отношении семян токсичности не выявлено.

Таблица 1 – Средние значения радиальной скорости роста (мм/ч.) аборигенных штаммов *P. chrysogenum* на средах с различными источниками углерода

№ штамма	Источники углеродного питания						
	сахароза	лактоза	глицерин	манит	сорбит	крахмал	целлюлоза
9	0,080 ± 0,013	0,069 ± 0,012	0,080 ± 0,015	0,059 ± 0,011	0,082 ± 0,014	0,070 ± 0,012	0,059 ± 0,013
10	0,069 ± 0,006	0,064 ± 0,018	0,071 ± 0,023	0,070 ± 0,015	0,069 ± 0,012	0,064 ± 0,012	0,060 ± 0,012
18	0,082 ± 0,022	0,069 ± 0,007	0,104 ± 0,011	0,081 ± 0,007	0,092 ± 0,019	0,061 ± 0,011	0,067 ± 0,017
46	0,074 ± 0,010	0,097 ± 0,019	0,067 ± 0,007	0,056 ± 0,010	0,104 ± 0,036	0,085 ± 0,007	0,065 ± 0,022

Таблица 2 – Морфология колоний штаммов *P. chrysogenum* № 18 и № 46 на среде Чапека с дисахаридом лактозой, спиртами глицерином и сорбитом и природным полимером целлюлозой

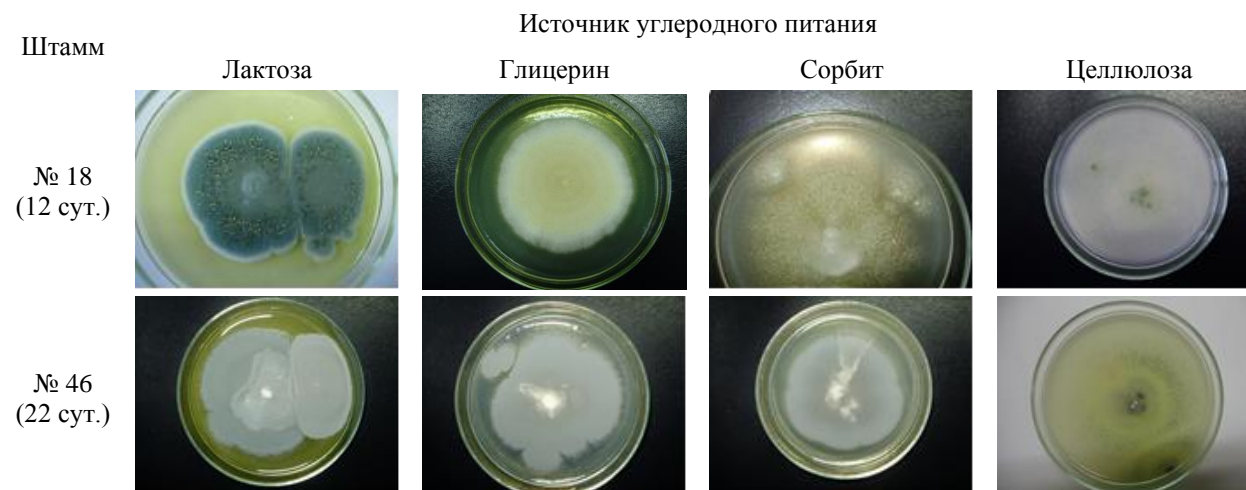
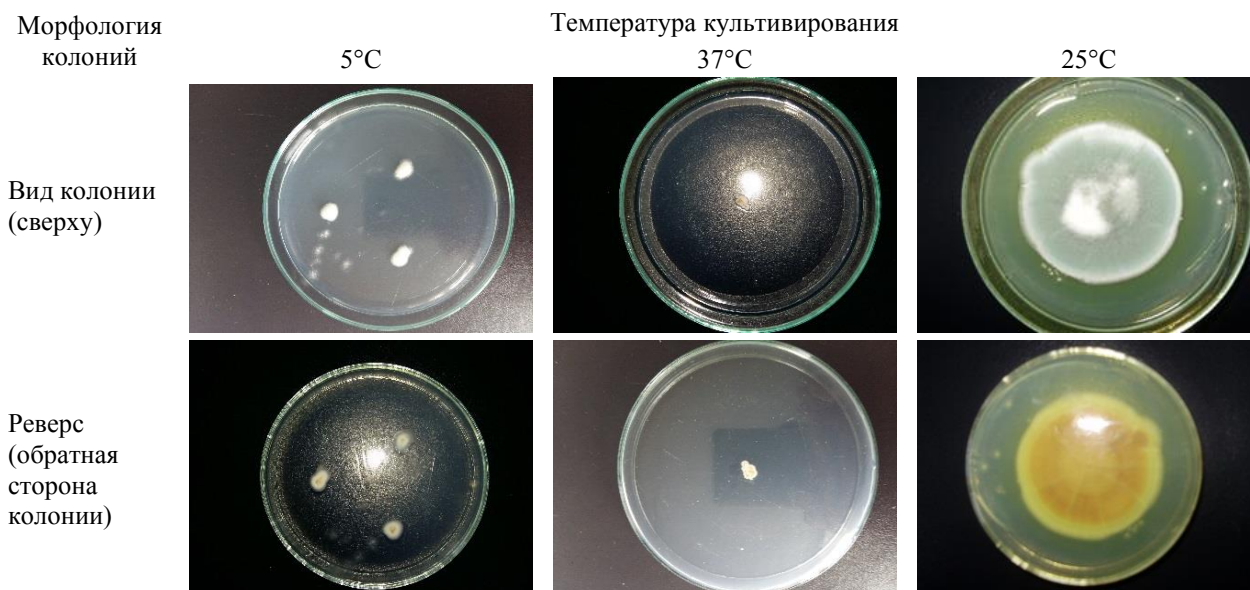


Таблица 3 – Влияние температуры культивирования на диаметр колоний (мм) штаммов *P. chrysogenum* (17 сут.)

№ изолята	Температура культивирования		
	5°C	37°C	25°C
9	5,58 ± 0,15	7,37 ± 0,24	56
10	7,67 ± 0,17	4	50
18	1,27 ± 0,09	5,25 ± 0,16	55
46	8,67 ± 0,33	2	55
Средний общий диаметр	5,79	4,65	54

Таблица 4 – Морфология штамма № 10 *P. chrysogenum* (17 сут.) на среде Чапека при разных температурных условиях культивирования**Таблица 5** – Фитотоксичность штаммов *P. chrysogenum* в отношении растений (тест-объектов)

Тест-объект	Показатель	контроль (среда Чапека-Докса)	Штаммы <i>P. chrysogenum</i>			
			9	10	18	46
Пшеница	Всхожесть, %	83	84	86	86	80
	Прирост корней за 24 ч., мм	13,77	19,98 ± 0,07	5,99 ± 0,07	20,84 ± 0,34	6,65 ± 0,29
	Коэффициент фитотоксичности, %	0	-45,10 ± 0,48	56,52 ± 0,53	-51,37 ± 2,46	51,71 ± 2,10
Редис	Всхожесть, %	88	94	94	78	98
	Прирост корней за 24 ч., мм	6,93	4,13 ± 0,23	0	0	1,77 ± 0,32
	Коэффициент фитотоксичности, %	0	40,40 ± 3,30	100	100	74,51 ± 4,61
Элодея	Прирост/убыль биомассы в сравнении с исходными показателями (массы для элодеи и количества растений для ряски)		гибель 100%	гибель 100%	прирост на 1–2%	прирост на 1–2%
Ряска			гибель 96%	гибель 98%	прирост на 9%	прирост на 5%

Выводы
и перспективы дальнейших изысканий
по данному направлению

1. По результатам исследования кинетики роста в зависимости от источника углеродного питания в среде все исследуемые штаммы *P. chrysogenum* являются медленно растущими; средние значения радиальной скорости роста варьируют от 0,056 мм/ч. до 0,104 мм/ч. Самые высокие средние значения скорости роста зафиксированы на средах со спиртами: сорбитом (у штаммов № 9 и № 46) и глицерином (штаммы № 10 и № 18). Культурально-морфологические признаки штаммов схожи между собой на средах с сахарозой, лактозой, маннитом, крахмалом и целлюлозой, варьибельны на средах с сорбитом и глицерином. Самый устойчивый по морфологии колоний штамм № 46.

2. По результатам исследования культурально-морфологических признаков штаммов *P. chrysogenum* в зависимости от температуры культивирования выявлено значительное влияние температурного фактора на морфологию и диаметр колоний; культурально-морфологические признаки схожи у всех штаммов в

пределах одного температурного режима. В целом, низкая температура +5°C более способствует росту колоний исследуемых штаммов, чем высокая 37°C, оптимальной является 25°C (табл. 3), что подтверждает принадлежность *P. chrysogenum* к мезофильным (психротолерантным) видам [1, с. 214; 2, р. 246].

3. По результатам исследования фитотоксичности штаммов *P. chrysogenum* выявлен как угнетающий, так и стимулирующий эффект, в отношении семян токсичности не выявлено. В отношении проростков редиса три штамма (№ 10, № 18 и № 46) высоко токсичны, один штамм (№ 9) средне токсичен; в отношении проростков пшеницы два штамма высоко токсичны (№ 10 и № 46), два штамма (№ 9 и № 18), наоборот, проявили стимулирующий эффект; в отношении элодеи и ряски два штамма (№ 9 и № 10) высоко токсичны, два штамма (№ 18 и № 46) не токсичны и даже незначительно стимулируют данные водные тест-объекты.

Перспективой исследования является расширение количества изучаемых штаммов вида *P. chrysogenum* с целью выявления возможных штаммовых различий, что дополнит сведения об экологии данного вида.

Список литературы:

1. Лугаускас А.Ю., Микульскене А.И., Шляуже-не Д.Ю. Каталог микромицетов – биодеструкторов полимерных материалов. М.: Наука, 1987. 340 с.
2. Food and Indoor Fungi / R.A. Samson, J. Houbraeken, U. Thrane, J.C. Frisvad, B. Andersen. Utrecht, 2010. 246 p.
3. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / пер. с англ. К.Л. Тарасова и Ю.Н. Ковалева. М.: Мир, 2001. 468 с.
4. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология: учебник. М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.
5. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.
6. Кирцидели И.Ю., Новожилов Ю.К., Богомолва Е.В., Дроздова И.В. Комплексы микромицетов в почвах тундровых ценозов, сформированных на кислых горных породах Полярного Урала // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44, вып. 1. С. 37–46.
7. Кирцидели И.Ю. Почвенные микромицеты полярных пустынь острова Элlef-Рингнес (Канадский арктический архипелаг) // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 3. С. 217–225.
8. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
9. Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н. Аэромикота жилых помещений г. Москвы // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37, вып. 6. С. 1–11.
10. Горяева А.Г., Великова Т.Д., Добрусина С.А. Микобиота воздуха и композитов бумаги с полимерными покрытиями в Российской национальной библиотеке // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44, вып. 1. С. 10–18.
11. Кирцидели И.Ю., Богомолва Е.В. Формирование сообществ микромицетов в воздухе музеев Санкт-Петербурга // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42, вып. 2. С. 128–136.
12. Каневская И.Г. Биологическое повреждение промышленных материалов. Л.: Наука, 1984. 232 с.
13. Кондратюк Е.А., Харкевич Е.С., Захарченко В.А., Наконечная Л.Т., Рой А.А., Жданова Н.Н., Пашкевич Р.Е. Биоповреждение авиационного топлива ТС-1 микроскопическими грибами // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 5. С. 442–448.
14. Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы: география и экология: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2013. 50 с.
15. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология / пер. с нем. М.: Мир, 1995. 343 с.
16. Лурье Л.М. Изучение физиологии высокоактивных штаммов *Penicillium chrysogenum* в связи с биосинтезом бензилпенициллина: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1963. 22 с.
17. Берестецкий О.А., Боровков А.В. Фитотоксические метаболиты почвенных пенициллиев // Микробиологический журнал. 1979. Т. 41, вып. 3. С. 291–302.
18. Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А. Практикум по биологии почв. М.: Изд-во МГУ, 2002. 120 с.
19. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: учеб. пособие. М.: МГУ, 1995. 224 с.
20. Методы экспериментальной микологии: справочник / И.А. Дудка [и др.]; под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 551 с.
21. Бакаева М.Д. Комплексы микромицетов нефтезагрязненных и рекультивируемых почв: дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2004. 183 с.
22. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 230 с.

**COMPARATIVE ECOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* THOM 1910
STRAINS FOUND ON THE TERRITORY OF SURGUT**

© 2020

Mantrova Maria Viktorovna, junior researcher of Scientific and Educational Center
of Institute of Natural and Technical Sciences

Surgut State University (Surgut, Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra, Russian Federation)

Abstract. The paper deals with ecological and physiological properties of four strains of the species *Penicillium chrysogenum* Thom 1910, taken on the territory of Surgut from soil, water and the surface of synthetic polymers, depending on the source of carbon nutrition and temperature. The author also considers phytotoxic properties of these strains in relation to several test objects. The cultural and morphological characteristics of the strains are similar to each other in places with sucrose, lactose, mannitol, starch and cellulose, and are variable in places with sorbitol and glycerol. The highest average values of the radial growth rate were recorded in places with alcohols – sorbitol and glycerine. General cultural and morphological characteristics are typical for strains when cultivated in the same temperature regime; a low temperature of +5°C contributes more to the growth of colonies than a high temperature of +37°C, the optimal one is +25°C; the obtained data confirm that *P. chrysogenum* belongs to mesophilic (psychrotolerant) species. All strains are toxic to radish seedlings; variably toxic to wheat seedlings, Canada water weed and duckweed and non-toxic to wheat and radish seeds. The obtained results can be used for studying the ecology of *P. chrysogenum* strains, as well as for identifying this species.

Keywords: micromycetes; *Penicillium chrysogenum* Thom 1910; cultural-morphological and physiological characteristics; radial growth rate; sources of carbon nutrition; phytotoxicity; temperature limits of growth; psychrotolerant species.