

Московский Государственный Университет  
имени М.В.Ломоносова  
Биологический факультет  
Кафедра микологии и альгологии

Эколого-физиологическая характеристика  
микроскопических грибов, выделенных из илов  
Белого моря

***Исполнитель:***  
Студент 4-го курса  
Комиссаров Никита  
Сергеевич  
***Научный  
руководитель:***  
д.б.н., профессор  
Кураков А.В.

Москва, 2017

- Морские илы являются уникальными морскими местообитаниями, для которых характерны низкие температуры, повышенное содержание солей и давление, изменение доступности органических и минеральных соединений, а также ограниченное поступление в их толщу кислорода и света.
- Донные отложения, особенно северных морей, остаются крайне малоизученными, хотя, согласно немногочисленным исследованиям, видовое разнообразие грибов в них очень высоко.
- **Целью работы** было выяснить влияние условий, типичных для морских экотопов, на рост штаммов разных видов микроскопических грибов, изолированных из илов Белого моря и их эколого-физиологическая характеристика.
- В **задачи** исследования входило:
  1. Определение температурных диапазонов и оптимумов роста штаммов;
  2. Выяснение их способности к росту на средах с высоким содержанием солей и лимитированной обеспеченности кислородом;
  3. Оценка способности и скорости роста штаммов на различных органических субстратах.

Из коллекции включающей более 200 изолятов (работа аспирантки А. Хуснуллиной) было отобрано 20 штаммов, выделенных из образцов ила литорали - *Acremonium tubakii*, *Memnoniella dichroa*, *Penicillium roqueforti* и *P. solitum*.

И с глубин 10-30 м.:

- *Cladosporium cladosporioides*;
- *C. salinae*;
- *Eupenicillium limosum*;
- *Fusarium oxysporum*;
- *Lecanicillium muscarium*;
- *Mucor hiemalis*;
- *Paradendryphiella salina*;
- *Pseudeurotium hygrophilum*;
- *Purpureocillium lilacinum*;
- *Simplicillium lamellicola*;
- *Talaromyces diversus*, *T. rugulosus*, *T. variabilis*;
- *Tolypocladium cylindrosporum*, *T. inflatum*;
- *Umbelopsis longicollis*.

Определяли эколого-физиологические свойства изолятов, которые могли указывать на их адаптированность к обитанию в илах:

1. Температурный диапазон и оптимумы скорости роста при их инкубации на сусло-агаре при  $+5^{\circ}\text{C}$ ,  $+10^{\circ}\text{C}$ ,  $+15^{\circ}\text{C}$ ,  $+20^{\circ}\text{C}$ ,  $+25^{\circ}\text{C}$ ,  $+30^{\circ}\text{C}$  и  $+35^{\circ}\text{C}$ ;
2. Скорость роста на сусло-агаре с содержанием NaCl 0‰, 25‰, 30‰, 35‰, 40‰ и 50‰;
3. Способность роста на крахмале, отваре из ламинарии, хитине, кератине и целлюлозе в качестве источника углерода в среде Чапека;
4. Возможность роста в анаэробных условиях при низких температурах ( $+5^{\circ}\text{C}$ );
5. Способность к росту на загрязненной нефтью воде с содержанием NaCl 25‰ при  $+5^{\circ}\text{C}$ .

- Для установления способности выделенных изолятов расти в анаэробных условиях осуществлялась их инкубация в анаэробных боксах «GENbox Anaer» при температуре +5°C.





- Для изучения способности отобранных штаммов разлагать сырую нефть, производилось приготовление воды, содержащей 25‰ NaCl и грибную суспензию на основе дистиллированной стерильной воды и добавление 1% нефти, взятой из месторождений западного Казахстана.



## Температурные границы роста и оптимумы изолятов

Изолят	мм/ч						
	+5°C	+10°C	+15°C	+20°C	+25°C	+30°C	+35°C
<i>Acremonium tubakii</i>	-	0,1	0,13	0,18	<b>0,21</b>	0,2	0,1
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,1	0,15	0,21	<b>0,25</b>	0,19	0,12	0,05
<i>C. salinae</i>	0,15	0,16	0,15	<b>0,2</b>	0,16	0,07	-
<i>Eupenicillium limosum</i>	-	0,05	0,09	0,11	0,13	<b>0,15</b>	0,1
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,11	0,13	0,16	<b>0,24</b>	0,22	0,17	0,1
<i>Lecanicillium muscarium</i>	-	0,07	0,1	0,13	<b>0,15</b>	0,1	-
<i>Memnoniella dichroa</i>	-	0,1	0,12	<b>0,16</b>	0,13	0,11	0,05
<i>Mucor hiemalis</i>	0,55	0,57	0,6	0,63	<b>0,72</b>	-	-
<i>Paradendryphiella salina</i>	0,08	0,14	0,11	<b>0,19</b>	0,18	0,1	-
<i>Penicillium roqueforti</i>	0,15	0,16	<b>0,22</b>	0,19	0,13	0,13	0,1

## Введение

## Материалы

## Методы

## Результаты

## Выводы

Изолят	мм/ч						
	+5°C	+10°C	+15°C	+20°C	+25°C	+30°C	+35°C
<i>Penicillium solitum</i>	0,05	0,22	<b>0,23</b>	0,22	0,2	0,2	0,1
<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	-	0,04	0,17	0,18	<b>0,23</b>	0,05	-
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	-	0,1	0,15	0,17	<b>0,22</b>	0,2	0,12
<i>Simplicillium lamellicola</i>	0,04	0,1	<b>0,14</b>	0,12	0,12	0,11	-
<i>Talaromyces diversus</i>	-	-	0,13	0,16	<b>0,19</b>	0,17	0,15
<i>T. rugulosus</i>	0,04	0,05	0,05	0,1	0,11	<b>0,12</b>	0,1
<i>T. variabilis</i>	-	0,07	0,1	0,12	0,13	<b>0,16</b>	0,11
<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>	0,15	0,17	0,17	0,19	<b>0,23</b>	0,12	0,05
<i>T. inflatum</i>	0,19	0,23	0,24	<b>0,3</b>	0,24	0,19	-
<i>Umbelopsis longicollis</i>	0,14	0,18	0,2	0,28	<b>0,32</b>	0,22	-

Коэффициент вариации данных – 10-25%.



При температурах  $+10^{\circ}\text{C}$  и выше росли все штаммы, кроме *Talaromyces diversus*, но при более низких температурах ( $+5^{\circ}\text{C}$ ) способность обладать относительно хорошей скоростью роста была установлена только у *Cladosporium cladosporioides*, *C. salinae*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor hiemalis*, *Paradendryphiella salina*, *Penicillium roqueforti*, *P. solitum*, *Simplicillium lamellicola*, *Talaromyces rugulosus*, *Tolypocladium cylindrosporum*, *T. inflatum* и *Umbelopsis longicollis*.

Некоторые из них были психротолерантными (оптимум при  $+15^{\circ}\text{C}$ ) (*P. roqueforti*, *P. solitum* и *S. lamellicola*) или близкими к ним, но большинство – мезофилами.

Введение

Материалы

Методы

Результаты

Выводы

### Влияние концентрации NaCl на рост изолятов

Изолят	мм/ч					
	0‰	25‰	30‰	35‰	40‰	50‰
<i>Acremonium tubakii</i>	<b>0,21</b>	0,18	0,16	0,15	0,13	0,1
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<b>0,2</b>	0,17	0,16	0,16	0,15	0,1
<i>C. salinae</i>	0,17	0,23	<b>0,26</b>	0,23	0,18	0,16
<i>Eupenicillium limosum</i>	<b>0,15</b>	0,13	0,12	0,1	0,08	0,05
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,24	<b>0,28</b>	0,22	0,2	0,16	0,12
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,15	<b>0,17</b>	0,13	0,12	0,1	0,06
<i>Memnoniella dichroa</i>	0,16	<b>0,2</b>	0,15	0,13	0,12	0,09
<i>Mucor hiemalis</i>	0,59	<b>0,88</b>	0,47	0,42	0,4	0,26
<i>Paradendryphiella salina</i>	0,2	<b>0,24</b>	0,16	0,12	0,1	0,08
<i>Penicillium roqueforti</i>	0,22	<b>0,49</b>	0,24	0,22	0,21	0,18

## Введение

## Материалы

## Методы

## Результаты

## Выводы

Вид/штамм	мм/ч					
	0‰	25‰	30‰	35‰	40‰	50‰
<i>Penicillium solitum</i>	0,25	<b>0,26</b>	0,25	0,24	0,24	0,21
<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	<b>0,23</b>	0,21	0,15	0,125	0,09	0,05
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0,13	0,14	0,14	0,15	0,18	<b>0,2</b>
<i>Simplicillium lamellicola</i>	0,12	<b>0,16</b>	0,14	0,13	0,12	0,1
<i>Talaromyces diversus</i>	<b>0,19</b>	0,16	0,14	0,13	0,12	0,1
<i>T. rugulosus</i>	0,13	<b>0,28</b>	0,15	0,14	0,12	0,1
<i>T. variabilis</i>	0,12	<b>0,15</b>	0,14	0,12	0,1	0,05
<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>	<b>0,23</b>	0,15	0,14	0,13	0,12	0,1
<i>T. inflatum</i>	<b>0,31</b>	0,17	0,16	0,15	0,14	0,09
<i>Umbelopsis longicollis</i>	0,28	<b>0,33</b>	0,29	0,24	0,23	0,05

Коэффициент вариации данных 4-15%.

Введение

Материалы

Методы

Результаты

Выводы

Было установлено, что все изоляты галотолерантны, а виды *C. salinae*, *Fusarium oxysporum*, *Lecanicillium muscarium*, *Memnoniella dichroa*, *Mucor hiemalis*, *Paradendryphiella salina*, *Penicillium roqueforti*, *P. solitum*, *Simplicillium lamellicola*, *Talaromyces rugulosus*, *T. variabilis* и *Umbelopsis longicollis* обладали оптимумами роста на среде с содержанием хлорида натрия как в воде Белого моря 25-30%.

Введение

Материалы

Методы

Результаты

Выводы

## Рост исследованных штаммов на различных органических субстратах

Изолят	мм/ч					
	Сусло	Ламинария	Крахмал	Хитин	Кератин	Целлюлоза
<i>Acremonium tubakii</i>	0,18	0,15	<b>0,2</b>	-	0,05	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,17	0,06	<b>0,21</b>	0,05	-	-
<i>C. salinae</i>	<b>0,26</b>	0,1	0,09	0,05	-	-
<i>Eupenicillium limosum</i>	<b>0,28</b>	0,22	0,2	0,1	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	<b>0,13</b>	0,1	0,05	-	-	0,04
<i>Lecanicillium muscarium</i>	<b>0,17</b>	0,1	0,16	-	-	-
<i>Memnoniella dichroa</i>	<b>0,2</b>	0,18	0,1	0,05	-	-
<i>Mucor hiemalis</i>	<b>0,88</b>	0,49	0,05	-	-	0,06
<i>Paradendryphiella salina</i>	0,24	<b>0,38</b>	0,29	0,06	0,05	0,04
<i>Penicillium roqueforti</i>	<b>0,49</b>	-	0,22	-	-	-

## Введение

## Материалы

## Методы

## Результаты

## Выводы

Изолят	мм/ч					
	Сусло	Ламинар ия	Крахма л	Хитин	Кератин	Целлюл оза
<i>P. solitum</i>	0,25	0,15	<b>0,26</b>	0,06	0,03	-
<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	0,21	0,27	<b>0,39</b>	-	-	-
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0,14	0,18	<b>0,23</b>	0,1	0,05	-
<i>Simplicillium lamellicola</i>	0,16	<b>0,22</b>	0,15	-	-	-
<i>Talaromyces diversus</i>	<b>0,16</b>	-	0,14	-	-	-
<i>T. rugulosus</i>	<b>0,28</b>	-	0,07	-	-	-
<i>T. variabilis</i>	<b>0,15</b>	-	0,05	-	-	-
<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>	0,15	<b>0,28</b>	0,05	-	-	0,04
<i>T. inflatum</i>	0,17	<b>0,21</b>	0,11	0,07	-	-
<i>Umbelopsis longicollis</i>	<b>0,33</b>	-	-	-	-	-

Коэффициент вариации данных – 10-25%



Большинство штаммов лучше развивалось на сусло-агаре, но также были выявлены изоляты, которые с более высокой скоростью росли на отваре ламинарии (*Paradendryphiella salina*, *Simplicillium lamellicola*, *Tolyrocladium cylindrosporum* и *T. inflatum*), крахмале (*Acremonium tubakii*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium solitum*, *Pseudeurotium hygrophilum*, *Purpureocillium lilacinum*), несколько штаммов усваивали хитин и даже более труднодоступные соединения (кератин и целлюлозу), имеющие место в илах.

- Способность к росту в анаэробных условиях установлена у штаммов *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium solitum* и *Tolypocladium cylindrosporium* при температуре +25°C, а у *F. oxysporum* и *M. hiemalis* и при температуре +5°C.



Рис. 1. Рост *Mucor hiemalis* в анаэробных условиях.



Рис. 3. Мицелий и споры *Fusarium oxysporum* в анаэробных условиях.



Рис. 4. Споры *Fusarium oxysporum*, образованные в аэробных условиях.

Ни один из 9 испытанных штаммов: *Cladosporium cladosporioides*, *C. salinae*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor hiemalis*, *Paradendryphiella salina*, *Penicillium roqueforti*, *P. solitum*, *Simplicillium lamellicola*, *Tolypocladium cylindrosporum*, *T. inflatum* и *Umbelopsis longicollis* не рос при +5°C в засоленной воде с сырой нефтью при инкубации в течение 30 суток.

Ни визуальное изучение, ни микроскопия загрязненной воды не обнаружила развития грибов на сырой нефти и уменьшения нефтяной пленки, что указывает на сложность удаления нефти из донных отложений и северных холодных морей.

- Изучено влияние условий, типичных для морских экотопов, на рост 20 штаммов разных видов микроскопических грибов, изолированных из илов Белого моря.
- Установлено, что все эти изоляты галотолерантны, многие с оптимумами роста на среде с содержанием хлорида натрия как в воде Белого моря, половина из них психротолерантны, также среди них есть небольшая группа факультативно-анаэробных видов. Для некоторых это было показано впервые. Все изученные штаммы, за исключением *Umbelopsis longicollis*, могли разлагать субстраты, характерные для морских илов.
- Были выявлены виды, наиболее приспособленных к обитанию как в аэробных, так и в анаэробных слоях ила. К первым относят *Cladosporium salinae*, *Paradendryphiella salina*, *Penicillium solitum*, *Pseudeurotium hygrophilum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Simplicillium lamellicola* и *Tolypocladium inflatum*, ко вторым - *Fusarium oxysporum* и *Mucor hiemalis*.



Спасибо за внимание!