

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ФИТО-ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЯХ

Научный руководитель
вед.н.с., д.б.н. Александрова А.В.

Выполнил студент II курса
магистратуры
Сайнчук А.Д.

Москва 2021

Актуальность работы

- Множество исследований указывают на серьезное экологическое загрязнение природных вод.
- Для решения проблемы загрязнения вод развивают и активно внедряют очистные сооружения.
- Биологические методы очистки вод обладают рядом преимуществ: эффективностью удаления антропогенных загрязнителей, сокращением использования химических агентов, простотой и доступностью.
- Роль бактерий в фито-очистке активно изучается, в то время как вкладу микроскопических грибов на сегодняшний день уделяют значительно меньше внимания.



Цель:

Получение максимально широких сведений о микроскопических грибах, присутствующих в фито-очистных сооружениях при различных условиях.

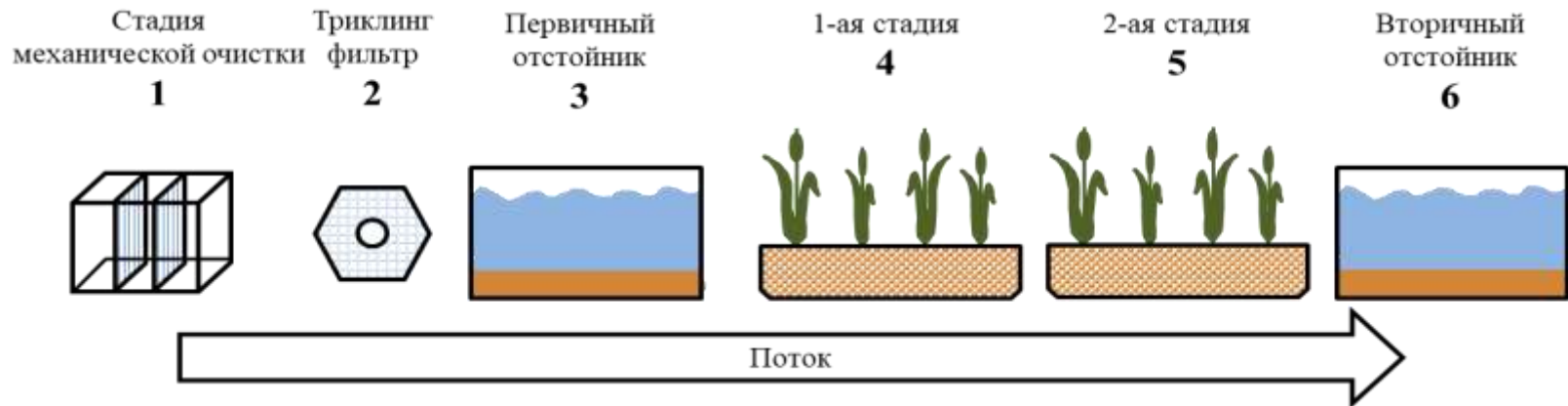
Задачи:

1. Выявить видовой состав культивируемых микромицетов, присутствующих на различных участках ФОС в контрастных климатических зонах
2. Выявить виды, наиболее характерные для ФОС разных климатических зон
3. Проанализировать основные факторы, влияющие на состав культивируемых микромицетов в различных ФОС
4. Выявить виды, потенциально способствующие биодegradации поллютантов, и оценить их встречаемость
5. Выявить виды, потенциально представляющие угрозу экосистемам ФОС, и оценить их встречаемость

*ФОС – фито-очистное сооружение

Материалы и методы

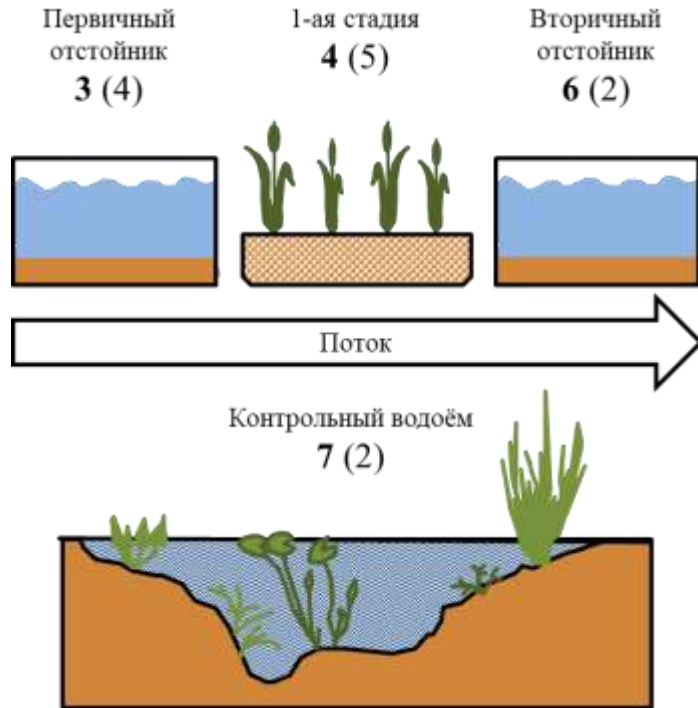
Обобщенная схема исследованных фито-очистных сооружений



- Субстраты: донные осадки, прикорневая почва, песок и пена.
- Материалы для работы были предоставлены сотрудниками Института водных проблем – группой Н.М. Щегольковой.

Объем проанализированного материала

В Таиланде

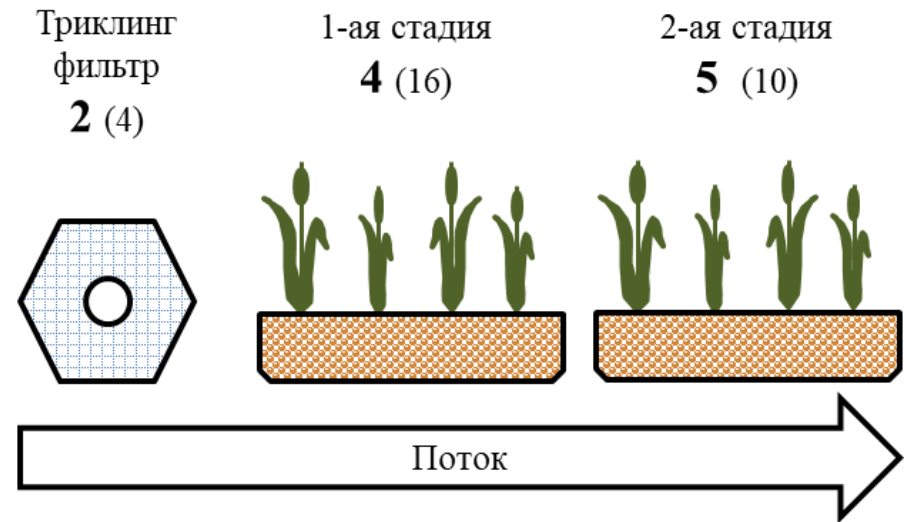


Количество ФОС: 4

Тип растительности: *Canna / Typha*

Количество образцов: 13

Во Франции



Количество ФОС: 6

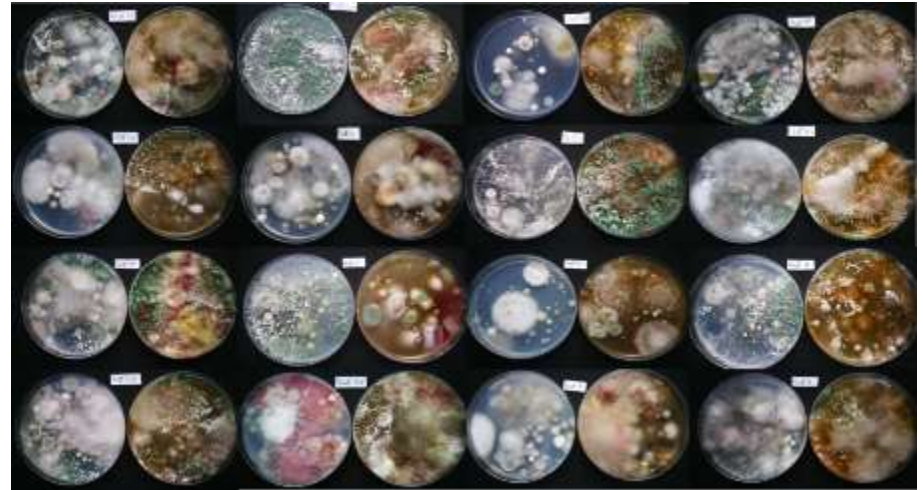
Тип растительности: *Phragmites australis*

Количество образцов: 30

Материалы и методы

Почвенный посев

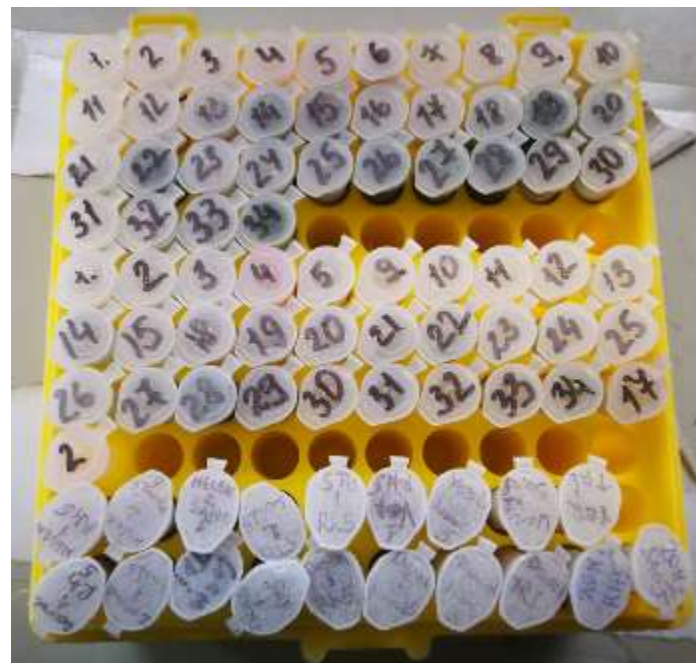
- Почвенный посев – из серийных разведений.
- Подсчет общего числа колониобразующих единиц (КОЕ) и количества различных морфотипов колоний.
- Выделение чистых культур, их идентификация и формирование коллекции.
- Подготовка материала для молекулярной идентификации.



Материалы и методы

Обработка результатов

- Представленность видов оценивали по показателям относительного обилия и частоты встречаемости.
- В качестве показателя разнообразия видов в работе был использован индекс Шеннона.
- Для получения наглядной картины сравнения состава микромицетов из разных субстратов и зон ФОС использовали метод ординации. Был проведен анализ методом главных компонент в программе PCO3.



Результаты и обсуждение

Таиланд

- Суммарно выявлено 42 вида и 3 морфологических типа неспорулирующих культур из 13 образцов.
- Индекс разнообразия Шеннона изменялся в пределах 1,09 – 2,24.

Таб.1 Преобладающие виды (выявлены более чем в одной трети проанализированных образцов) виды из ФОС Таиланда

Вид	Встречаемость, %
<i>Curvularia lunata</i>	92
<i>Penicillium miczynskii</i>	69
<i>Talaromyces aculeatus</i>	69
<i>Trichoderma harzianum</i>	62
<i>Penicillium ochrochloron</i>	62
<i>Trichoderma reesei</i>	54
<i>Furcasterigmium furcatum</i>	46
<i>Aspergillus terreus</i>	46
<i>Aspergillus aculeatus</i>	31

- Вид *Curvularia lunata* – фитопатоген.
- *Trichoderma harzianum* удаляет стойкие органические загрязнители.
- *Penicillium ochrochloron* разрушает полициклические углеводороды.
- *Furcasterigmium furcatum* часто встречается во влажных местообитаниях.
- *Aspergillus terreus* удаляет широкий спектр загрязнителей, в особенности: тяжелые металлы (Cr, Ni, Pb, Fe) и пестициды.

Результаты и обсуждение

Таиланд

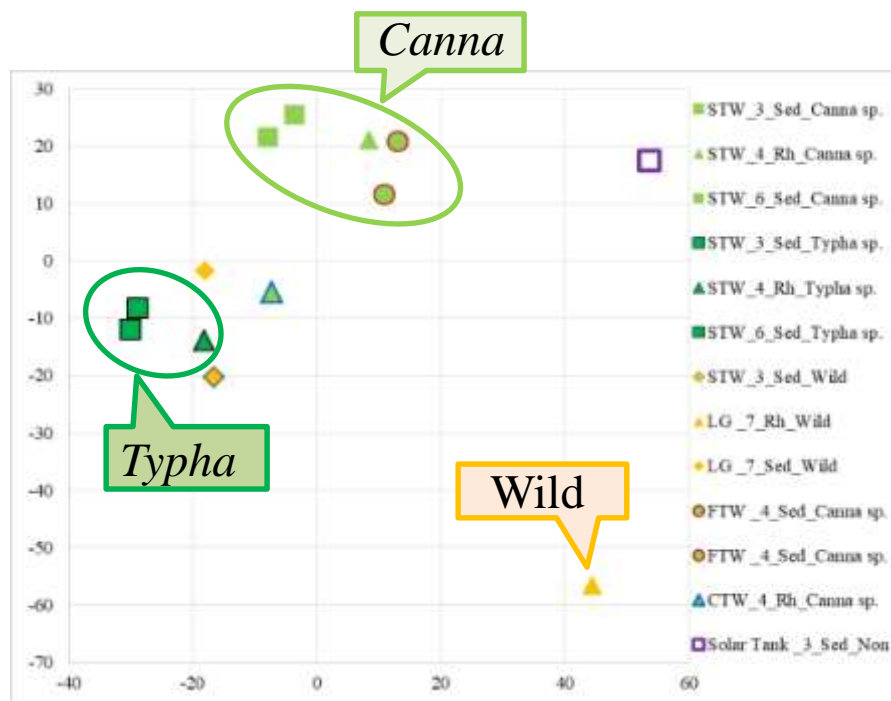
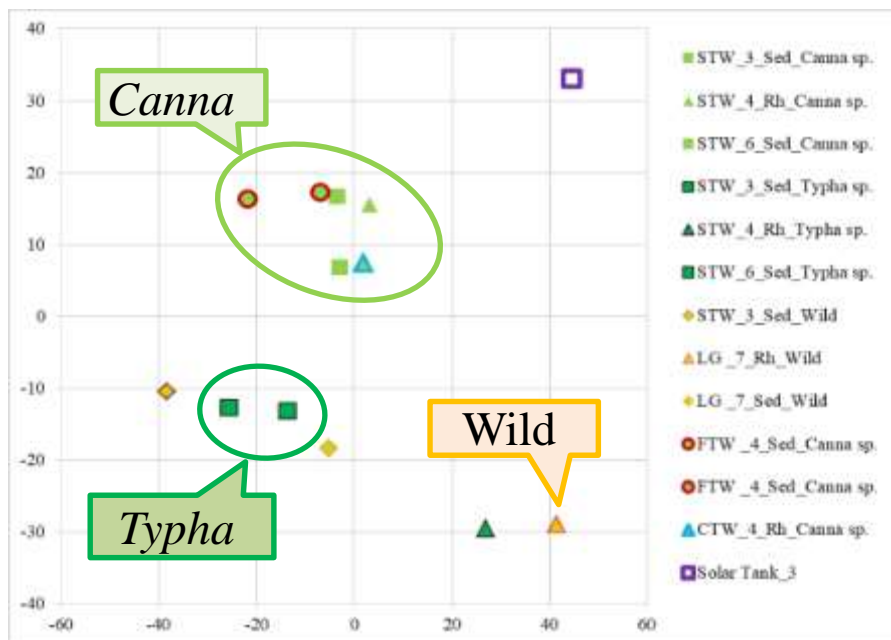


Рис.1 Результаты ординации комплекса микромицетов из ФОС Таиланда с учетом присутствия/ отсутствия видов (Метод Брея-Куртиса)

Рис.2 Результаты ординации комплекса микромицетов из ФОС Таиланда с учетом относительного обилия

Таб.2 Обозначения цветом и формой на диаграмме ординации микромицетов из ФОС Таиланда

Растительность	Субстрат	
Canna	●	Седименты в ФОС
Typha	■	Седименты в отстойнике
Wild	◆	Седименты в естественном водоеме
Non	▲	Прикорневая почва

- Уникальными для ФОС с *Canna* стали *Aspergillus terreus* и *Aspergillus carneus*.
- Уникальными для ФОС с *Typha* стали: *Penicillium sclerotigenum*, *Sarocladium kiliense*, *Talaromyces purpureogenus* и *Alternaria botrytis*.

Результаты и обсуждение

Франция

- Суммарно выявлено 70 видов микромицетов и 7 неспорулирующих культур из 30 образцов.
- Индекс разнообразия Шеннона изменялся в пределах – 0,63 – 2,67.

Таб.3 Преобладающие виды (выявлены более чем в одной трети проанализированных образцов) из ФОС Франции

Вид	Встречаемость, %
<i>Fusarium roseum</i>	83
<i>Trichoderma harzianum</i>	57
<i>Bionectria solani</i>	47
<i>Trichoderma asperellum</i>	43
<i>Aspergillus tubingensis</i>	43
<i>Trichocladium griseum</i>	43
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	37
<i>Mucor hiemalis</i>	30

- *Fusarium roseum* и *Bionectria solani* являются фитопатогенами.
- *Trichoderma harzianum* удаляет стойкие органические загрязнители.
- С меньшей частотой встречались *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, участвующие в биоремедиации.
- Отмечен *Penicillium roqueforti*.

Результаты и обсуждение Франция

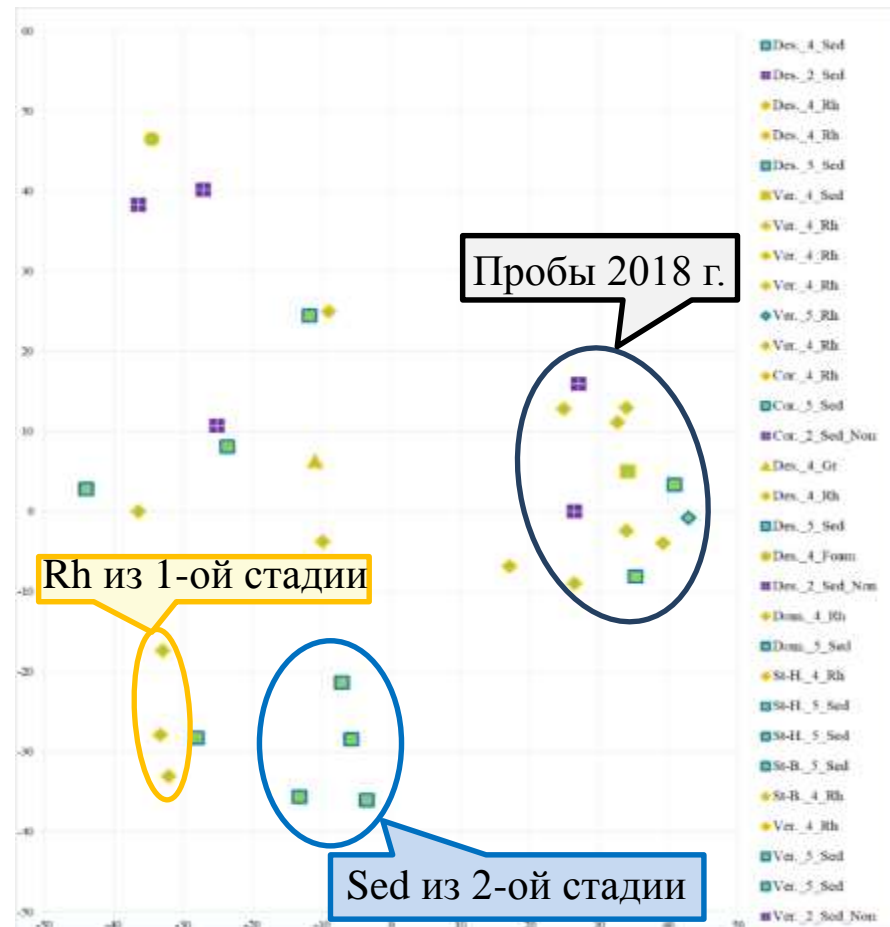
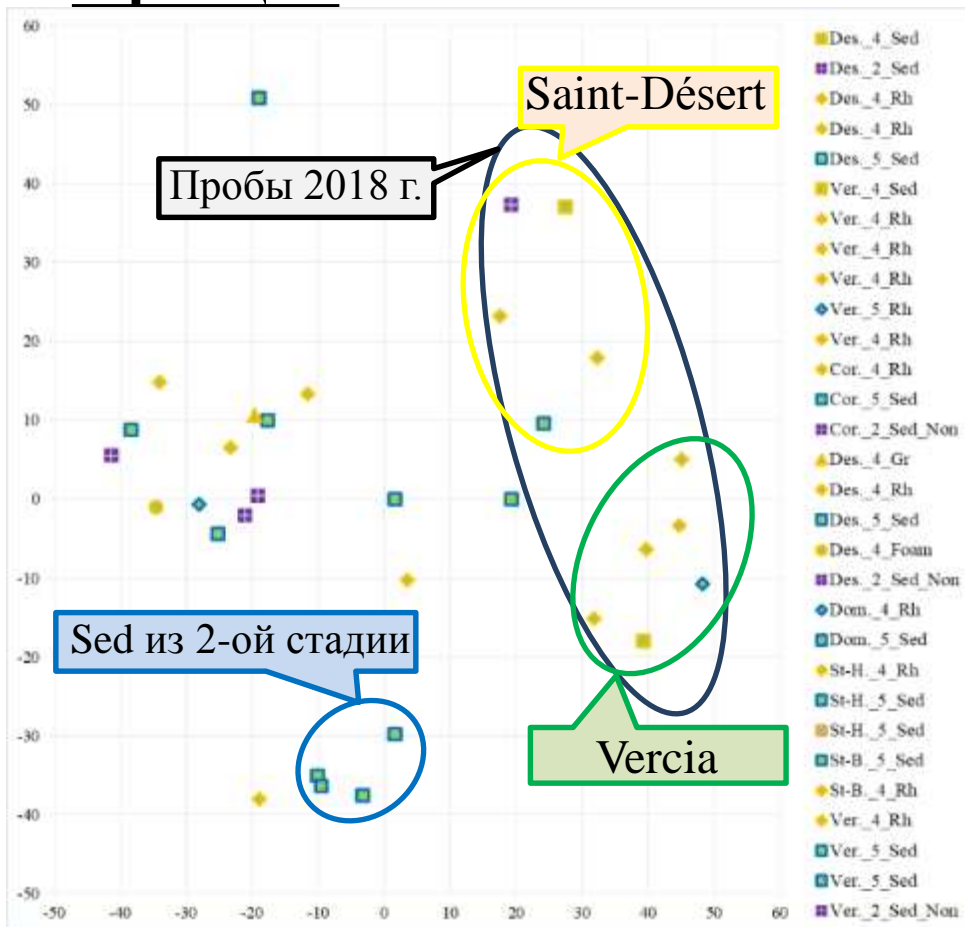


Рис.3 Результаты ординации комплекса микромицетов из ФОС Франции с учетом присутствия/ отсутствия видов (Метод Брея-Куртиса)

Рис.4 Результаты ординации комплекса микромицетов из ФОС Франции с учетом относительного обилия

► Таб.4 Обозначения цветом и формой на диаграмме ординации микромицетов из ФОС Франции

Зона отбора образцов	Растительность	Субстрат
4 (1ая стадия ФОС)	<i>Phragmites australis</i>	■ Седименты в ФОС
5 (2ая стадия ФОС)	None	+ Седименты в триклинг фильтре
		◆ Прикорневая почва
		● Пена после аварии
		▲ Гравий

Обобщение результатов

- Суммарно выявлено 112 видов микровицетов и 10 неспорулирующих культур.

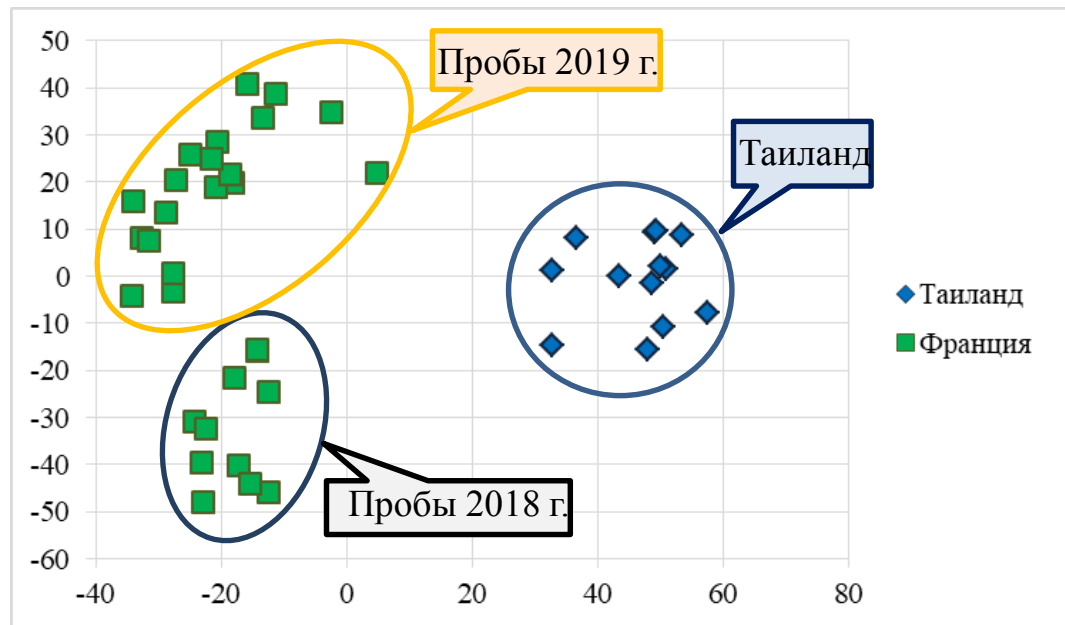


Рис.5 Результаты ординации комплекса микровицетов из фито-очистных сооружений Таиланда и Франции с учетом присутствия/отсутствия видов

- Общие виды: *Acremonium murorum*, *Arthrinium arundinis*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aureobasidium pullulans*, *Furcaterigmium furcatum*, *Fusarium solani*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium velutinum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Trichoderma harzianum*.

Обобщение результатов

- Более 20 идентифицированных культур потенциально участвуют в процессах разложения и удаления широкого спектра загрязняющих веществ. Основные из них – *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma harzianum*, представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* и *Rhodotorula*.
- Фитопатогенны: *Alternaria alternata*, *Bionectria solani*, *Bipolaris sorokiniana*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Fusarium solani*, *Ilyonectria destructans*, *Plectosphaerella cucumerina* и представители родов *Clonostachys* и *Raecilomyces*.
- Токсинообразующие виды: *Aspergillus flavus*, *Bipolaris sorokiniana*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. carneum*, *P. expansum*, *P. verrucosum*.



Выводы

1. Культивируемые микроскопические грибы были выявлены на всех исследованных стадиях цикла фито-очистки в различных климатических зонах. Их видовое богатство варьировало от 3 до 15 видов на анализируемый образец, а видовое разнообразие, оцененное при помощи индекса Шеннона, в пределах 0,63 – 2,67, что говорит о сильной гетерогенности образцов и вместе с тем о достаточно высоком разнообразии, сравнимым с таковыми показателями для почв.
2. В фито-очистных сооружениях Таиланда преобладали виды: *Curvularia lunata*, *Penicillium miczynskii*, *Talaromyces aculeatus*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma reesei*, *Furcariopsis furcatum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus aculeatus*.
3. В фито-очистных сооружениях Франции преобладали: *Fusarium roseum*, *Trichoderma harzianum*, *Bionectria solani*, *Trichoderma asperellum*, *Aspergillus tubingensis*, *Trichocladium griseum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Mucor hiemalis*, *Mucor circinelloides*, *Penicillium corylophilum*, *Rhodotorula* sp.

4. Общими для разных климатических зон оказались виды: *Acremonium murorum*, *Arthrinium arundinis*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aureobasidium pullulans*, *Furcasterigmium furcatum*, *Fusarium solani*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium velutinum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Trichoderma harzianum*.
5. Ключевую роль в формировании комплекса микроскопических грибов, судя по результатам ординации, играет наличие и тип растительности. Особенности устройства ФОС, такие как наличие нескольких стадий очистки и субстрат, также, вероятно, имеют влияние на сообщество микромицетов.
6. Более 20 идентифицированных видов способны участвовать в процессах биоремедиации. К этой группе относятся: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma harzianum*, представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* и *Rhodotorula*.

7. Как потенциально угрожающие экосистеме ФОС, можно отметить фитопатогенные виды: *Alternaria alternata*, *Bionectria solani*, *Bipolaris sorokiniana*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Fusarium solani*, *Ilyonectria destructans*, *Plectosphaerella cucumerina*. Частота встречаемости и относительное обилие некоторых фитопатогенов были довольно велики, например в Таиланде – *Curvularia lunata*, во Франции – *Fusarium roseum*.
8. Среди выделенных микромицетов были отмечены токсинообразующие виды: *Aspergillus flavus*, *Bipolaris sorokiniana*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. carneum*, *P. expansum*, *P. verrucosum*.



Спасибо за внимание!



Благодарности

- Особая благодарность за кураторство, внимание и содействие в работе – **Александровой Алине Витальевне.**
- За предоставленные для работы материалы–
Щегольковой Наталье Михайловне и Харитонову Сергею.

Источники использованных фотографий:

[1] – <https://ecoportal.info/fakty-zagryazneniya-vody-v-mire/>

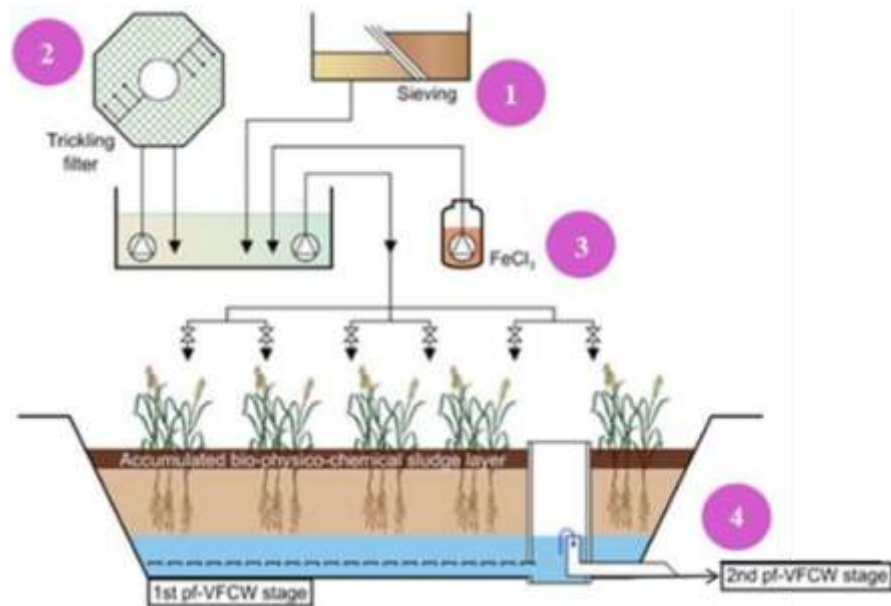
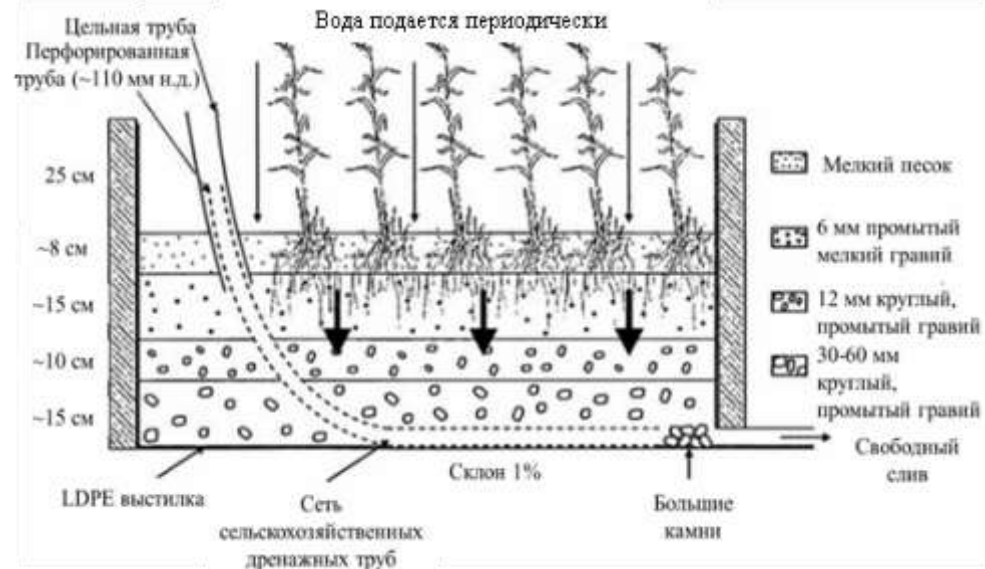
[2] – Amman J. Constructed wetland manual. Turkey: EACPI, 2016. 48 p.

Литература:

1. Рыбка К. Ю., Щеголькова Н. М., Алмашин Д. С., Скрипчинский А. К.

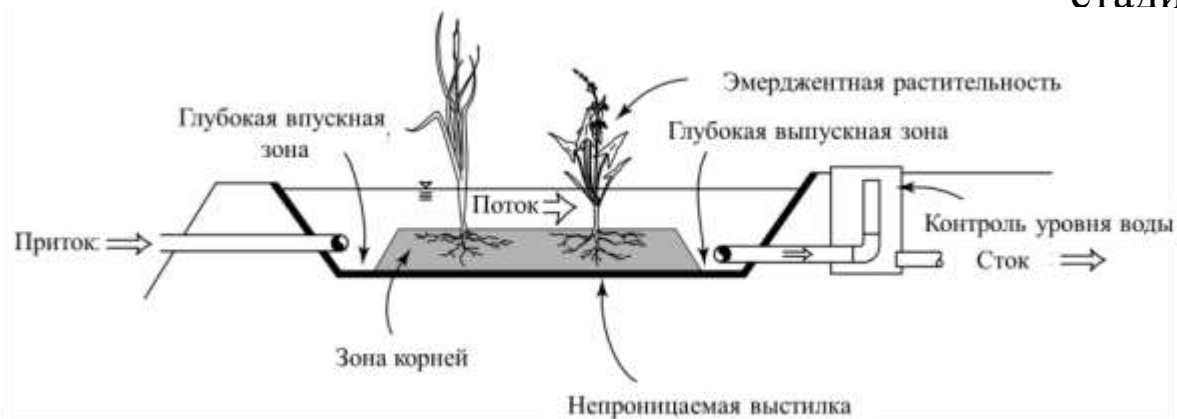
Фито-системы для очистки сточных вод: современное решение

экологических проблем // Наилучшие доступные технологии водоснабжения и водоотведения. 2015. №2. С. 50–59.



▲ Фито-очистное сооружение с вертикальным подповерхностным потоком (VF), где LDPE – полиэтилен низкой плотности

▲ Схематическое изображение фито-очистного сооружения «AZOE-NP». Цифрные обозначения на рисунке: (1) – решетка; (2) – триклинг фильтр; (3) – устройство для закачки FeCl₃; (4) – 1-ая стадия фито-фильтрации



◀ Фито-очистное сооружение с открытой водной поверхностью (FWS)