

Из полученных данных видно, что из ризопланы растений отобрано больше микроорганизмов. Их можно распределить в следующем порядке: бактерии > дрожжи > актинобактерии. Так, например, для травосмеси группы выделенных микроорганизмов можно расположить в следующем порядке: бактерии – 190 > дрожжи – 41 > актинобактерии – 42.

На основании полученных экспериментов было установлено, что как в ризосфере, так и ризоплане, численность микроорганизмов, увеличенная под влиянием поллютанта, поддерживается на высоком уровне.

Литература

- 1 Пат. 2253209 Российская Федерация, МПК А01В79/02. Способ биорекультивации нефтезагрязненных почв / заявитель и патентообладатель Назаров А.В., Иларионов С.А., Горелов В.В. – заявл. 06.11.2003; опубл. 10.06.2005. – 6 с.
- 2 Macnaughton, S.J., Stephen, J.R., Venosa, A.D., Davis, G.A., White, D.C. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill // *Applied Environmental Microbiology*. – 1999. - № 65. – P. 3566–3574.
- 3 Yi Zhong, Jian Wang, Yizhi Song, Yuting Liang Microbial community and functional genes in the rhizosphere of alfalfa in crude oil-contaminated soil // *Front. Environ. Sci. Eng.* - 2012. - № 6(6). – pp. 797–805.
- 4 Турковская О.В., Муратова А.Ю. Биодegradация органических поллютантов в корневой зоне растений // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциированных микроорганизмов с растениями. – М.: Наука, 2005. С. 180-208.
- 5 Muratova A., Golubev S., Wittenmayer L., Dmitrieva T., Bondarenkova A., Hirche F., Merbach W., Turkovskaya O. Effect of the polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene on root exudation of *Sorghum bicolor* (L.) Moench // *Environ. Experim. Bot.* – 2009. – № 3, Vol. 66. – P. 514-521
- 6 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. - М.: МГУ, 1991. - С. 59 – 75.
- 7 Практикум по микробиологии / под. ред. А.Н. Нетрусова. - М.: Academia, 2005. - С.597.
- 8 Wilkinson S., Nicklin S., Faul J.L. Biotransformations: Bioremediation technology for health and environmental protection –36 /Eds. V.P.Singh, R.D.Stapleton. – Amsterdam, London, New York, Oxford, Paris, Shannon, Tokyo: Elsevier, 2002.
- 9 Киреева Н.А., Водопьянов В.В. Мониторинг растений, используемых для фиторемедиации нефтезагрязненных почв // Экология и промышленность России. – 2007. С. 46-47.
- 10 Водопьянов В.В., Киреева Н.А., Григориади А.С., Якупова А.Б. Влияние нефтяного загрязнения почвы на ризосферную микробиоту и моделирование процессов биодegradации углеводов // Вестник ОГУ № 6 (100), 2009. С. 545 – 547.

УДК 631.82:631.45

Т.Д. Мукашева, Л.В. Игнатова, Р.Ж. Бержанова, Е.В. Бражникова, М.Д. Троценко,
А.Д. Успенская, Д.К. Юлдашева, С. Шукешева
Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
e-mail: Ignat_lv@mail.com

Антагонистическая активность почвенных мицелиальных грибов и дрожжей

Для разработки биопрепаратов, используемых в растениеводстве, проведен скрининг культур, обладающих антагонистической активностью, используя различные методы: посев культур на агаризованную среду перпендикулярным штрихом, метод лунок и агаровых блочков.

Ключевые слова: антагонистическая активность, штаммы-антагонисты, экзометаболит, биопрепарат.

Т.Д. Мукашева, Л.В. Игнатова, Р.Ж. Бержанова, Е.В. Бражникова, М.Д. Троценко,
А.Д. Успенская, Д.К. Юлдашева, С.Шукешева

Мицелиальды топырақ саңырауқұлақтарының және ашытқыларының антагонистік белсенділігі

Өсімдік шаруашылығында қолданылатын биопрепаратты жасау үшін, антагонистік белсенділікке ие культуралардың скринингі жасауда әртүрлі тәсілдер қолданылды: перпендикулярлы штрихпен культураны агарлы ортаға егу, лункалар және агарлы блоктар әдісі.

Түйінк сөздер: антагонистік белсенділік, антагонист штамдар, экзометаболит, биопрепарат.

Наряду с другими микроорганизмами, в жизни почвы и ее плодородии большое значение имеют микромицеты. Они активно участвуют в разложении органических остатков, синтезе и минерализации гумуса, освобождении элементов корневого питания растений, в круговороте азота, образовании структуры почвы, стимуляции или угнетении роста растений, синтезе ферментов, аминокислот и других биологически активных соединений. По мере интенсификации сельскохозяйственного производства возникает проблема активизации и регуляции биологических процессов, протекающих в почвах, занятых различными сельскохозяйственными культурами, разработки эффективных мер борьбы с вредителями растений и возбудителями болезней.

Большинство сортов сельскохозяйственных культур в среднем реализуют только 20-25% генетического потенциала продуктивности. При обеспечении защиты от возбудителей болезней,

вредителей и сорняков они способны формировать значительно больший урожай. Среднемировой уровень потерь вследствие поражения сельскохозяйственных растений фитопатогенными микроорганизмами оценивается в 12%. Это определяет важность защиты растений как одного из факторов интенсивного растениеводства. Из всех известных ныне инфекционных болезней растений 83% вызываются грибами, 9 – вирусами и 7 – бактериями. Значительный ущерб посевам в ряде случаев причиняют простейшие (*Protozoa*) [1, 2].

Химическая защита растений от фитопатогенов пока занимает ведущее место в арсенале мер борьбы, особенно в системах интенсивных технологий возделывания сельскохозяйственных культур. Однако она не является экологически безопасной и должна сочетаться с биологическими средствами защиты. Последние следует рассматривать как важную, неотъемлемую компоненту интегрированной системы защиты в современном растениеводстве, а в ряде случаев и как единственное средство контроля фитопатогенов [3-5].

Материалы и методы

Объектами исследований явились 70 изолятов почвенных микромицетов, выделенных ранее из агроценозов кормовых культур Алматинской области.

Тест - объекты фитопатогенные грибы *Fusarium graminearum* и *Alternaria alternata*

Питательные среды. Для выращивания мицелиальных грибов и дрожжей использовали следующие среды: Сабуро и Чапека [6].

Для оценки антагонистической активности использовали методы: посев культур на агаризованную среду перпендикулярным штрихом, метод лунок и агаровых блочков [4].

Результаты и их обсуждение

В связи с вышеизложенным, целью наших исследований был скрининг штаммов микромицетов, обладающих высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов.

При проведении скрининга культур, обладающих антагонистической активностью были изучены 70 изолятов почвенных микромицетов из коллекции кафедры биотехнологии. В качестве тест объектов использовали фитопатогенные грибы *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata*, изолированные ранее из пораженных органов растений и ризосферной почвы зерновых культур. Изучение антагонистической активности штаммов микромицетов в отношении фитопатогенов проводили в лабораторных условиях, используя различные методы: посев культур на агаризованную среду перпендикулярным штрихом, метод лунок и агаровых блочков. Во всех методах об антагонистической активности судили по зоне подавления роста тест-культуры, измеренной в мм.

В результате экспериментов было показано, что антибиотической активностью обладали 24 культуры из 70 изученных. Они различались по зоне подавления роста, диаметр которой варьировал от 10 до 32 мм. Показано, что максимальной антибиотической активностью обладали штаммы Мр1 и Zh: диаметр зоны подавления роста фитопатогенов составлял от 29,53±0,24 до 30,60±0,23 мм и от 30,77±0,51 до 31,43±0,24 мм соответственно. Минимальная активность отмечена у штаммов AN(12,62±0,53мм), U(11,50±0,23мм), Ак(11,23±0,19мм). Фитопатогены были угнетены в сильной степени, что визуально выражалось в формировании редкого мицелия, прижатого к субстрату.

Для описания типов взаимоотношений между микромицетами и фитопатогенами *Fusarium graminearum* и *Alternaria alternata* использовали шкалу Джонсона и Карла. Рассчитывали индекс антагонизма по каждому штамму в баллах, согласно представленной шкале (гиперпаразитизм). Оценка гиперпаразитической активности показала, что штаммы Asp, AC5, T7, T14 и AC8 проявляли низкую активность в отношении фитопатогенных микромицетов. У этих штаммов наблюдался смешанный рост с фитопатогенами, что соответствует 0 баллам. Штамм Л1 характеризовался обоюдным подавлением при контакте с фитопатогеном, то есть после соприкосновения с фитопатогеном колонии обоих микроорганизмов прекращали расти. Эти данные соответствовали 1 баллу. Обладая невысокой антибиотической активностью, штаммы AC4, OR, Rh2, AN, Az, L1, U, T12, O C, и Ак являлись гиперпаразитами. У них наблюдалось обоюдное подавление при контакте с фитопатогеном и через некоторое время штамм-антагонист продолжал расти поверх колонии фитопатогена. Уровень гиперпаразитической активности составил 2 балла для всех вышеизложенных тест- объектов. У штаммов Мр2, Wh, T8, М проявлялась ярко выраженная гиперпаразитическая активность, составляющая для всех изученных тест- объектов 4 балла, при котором наблюдалось

подавление фитопатогена, то есть штамм-антагонист обрастал колонию фитопатогена. У штаммов Zh и Mp1 наблюдалась максимальная гиперпаразитическая активность (в соответствии с рисунком 1), которая характеризовалась тем, что штамм-антагонист продолжал расти с неизменной скоростью поверх колонии фитопатогена, тем самым подавляя его рост. Такое взаимоотношение между штаммом-антагонистом и фитопатогеном соответствовало 5 баллам. Гиперпаразиты сильно ингибировали рост патогена, полностью покрывали фитопатогенные микромицеты, образуя на колониях очаги спороношения.

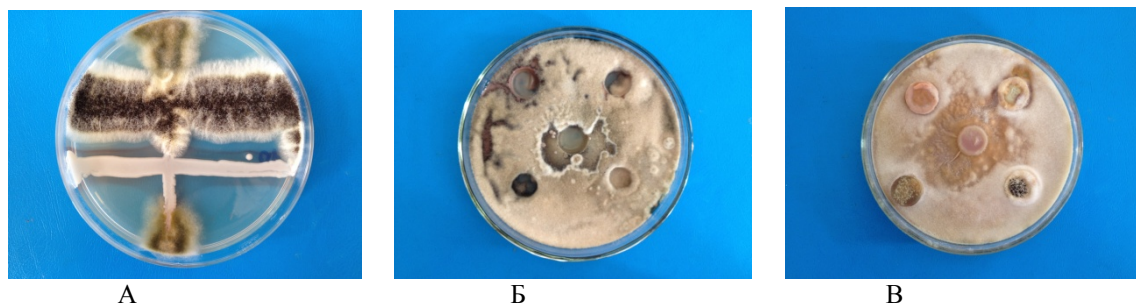


Рисунок 1 - Чувствительность *Alternaria alternata* к штамму Mp1 (А – метод перпендикулярных штрихов; Б – метод лунок; В – метод блочков)

Также были отмечены существенные морфологические изменения фитопатогенных грибов под воздействием штаммов-антагонистов: отсутствие воздушного мицелия, лизис и израстание уже формировавшегося мицелия, ингибирование роста и потемнение мицелия патогена.

Используя метод лунок, было показано, что максимальная антагонистическая активность культуральной жидкости была отмечена у штаммов Mp1(29,41±1,32мм), AC4(26,92±1,14мм), Zh (26,72±1,23мм), T8(27,12±0,85мм) по отношению к *Alternaria alternata* (рисунок 1) и у штаммов Mp1(27,64±1,08мм), T8(26,49±0,61мм) по отношению к *Fusarium graminearum*. Минимальной антагонистической активностью по отношению к фитопатогенам *Alternaria alternata* и *Fusarium graminearum* отличались такие штаммы, как: Ak(12,22±0,51мм), Л1(12,47±0,52мм), О(12,15±0,58мм), U(11,36±0,46мм) по отношению к *Alternaria alternata* и у штаммов Л1(9,57±0,47мм), О(10,84±0,54мм) по отношению к *Fusarium graminearum*. Диаметр зоны подавления роста фитопатогенов составлял от 6 до 30 мм.

Методом агаровых блочков было показано, что максимальной антагонистической активностью обладали штаммы Mp1(26,06±0,45мм), AC4(25,92±1,01мм), Zh(26,17±0,21мм), T8(27,49±0,59мм) в отношении *Alternaria alternata* (рисунок 1) и штаммы Mp1(25,24±0,66мм), М(27,88±0,79мм) в отношении *Fusarium graminearum*. Минимальную активность показали штаммы О(14,52±0,82мм), Ак(11,83±0,49мм), U(11,36±0,34мм) в отношении фитопатогенов. Диаметр зоны подавления роста патогенов составлял от 6 до 28 мм.

Благодаря простоте применения, доступности и отсутствию больших материальных затрат на их проведение вышеописанные методы (метод перпендикулярных штрихов, метод лунок и агаровых блоков) занимают ведущее место в оценке биологической активности микроорганизмов-антагонистов.

Анализируя данные по скринингу микромицетов, обладающих антагонистической активностью, полученные различными методами, можно сделать вывод о том, что активные штаммы можно обнаружить, используя все вышеописанные методы. Однако наиболее результативным являлся метод лунок. Так, зоны подавления роста фитопатогенов активных штаммов полученные этим методом варьировали от 15,23±0,46 до 29,41±1,32 мм. Кроме того, этот метод позволяет оценить морфологические изменения штаммов-антагонистов и фитопатогенов и дает максимальные данные по результатам исследований. Тогда как при применении методов перпендикулярных штрихов и агаровых блочков у тех же штаммов зоны подавления роста были меньше, от 14,21±0,41 до 26,06±0,45 мм.

В результате скрининга по признаку антифунгальной активности в отношении *Fusarium* (*Fusarium graminearum*) и *Alternaria* (*Alternaria alternata*) из 70 культур отобрано 24 штаммов в

качестве возможной основы биопрепаратов с высокой зоной подавления роста ($32,11 \pm 0,23$ мм) и максимальным гиперпаразитизмом от 4 до 5 баллов.

Литература

1. Сенчакова Т.Ю., Свистова И.Д. Спектр биологической активности микромицетов чернозема // Проблемы медицинской микологии. - 2009. - №1. - С.30-34.
2. Громовых Т.П., Литовка Ю.А., Громовых В.С., Махова Е.Г. Эффективность использования *Trichoderma asperellum* (штамм МГ-97) и влияние на развитие фузариоза на сеянцах *Larix sibirica* // Микология и фитопатология. - 2002. - Том 36, вып. 4. - С. 70-76.
3. Grosch R., Scherwinski K., Lottmann J., Berg G. Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community // Mycological Research. - 2006. - V.110. - P. 1464-1474.
4. Садыкова В.С., Ковалева Г.К., Чижмотря Н.М., Гаврилова А.Г., Новицкий И.А. Антимикробная активность грибов рода *Trichoderma* и *Trametes* в отношении условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus* // Сибирский медицинский журнал. - 2006. - Т.66, № 8. - С. 17-20.
5. Druzhinina, I., Seidl-Seiboth V., Herrera-Estrella A., Horwitz B.A., Kenerley C.M., Monte E., Mukherjee P.K., Zeilinger S., Grigoriev I.V. Trichoderma: the genomics of opportunistic success // Nature Reviews Microbiology. - 2011. - V. 9. - P. 749-759.
6. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. - Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2004. - 221 с.

УДК 504.42:579.26

Т.Д. Мукашева¹, Л.В. Игнатова¹, Р.Ж. Бержанова¹, Е.В. Бражникова¹,
Б.А. Брагин², В.А. Мельников²

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г.Алматы, Казахстан

²ТОО «Казэкопроект», Казахстан, г.Алматы

Общая микробиологическая характеристика донных отложений Каспийского моря

Представлены данные по определению численности и биомассы различных групп микроорганизмов в донных отложениях Каспийского моря.

Ключевые слова: донные отложения, бактерии, актиномицеты, микромицеты, Каспийское море.

T.D. Mukasheva, L.V. Ignatova, R.Zh. Berzhanova, Y.V. Brazhnikova, B.A. Bragin, V.A. Melnikov

General microbiological characteristics of bottom sediments of the Caspian sea

The data on the determination of the number and biomass of different groups of microorganisms in bottom sediments of the Caspian Sea are presented.

Донные отложения - это особая динамическая система со сложными физико-химическими показателями и биологическим составом. Донные отложения водных экосистем представляют собой экологическую нишу, богатую органическим веществом и благоприятную среду для обитания микроорганизмов многих физиологических групп. Как известно, большую роль в функционировании морских экосистем играют гетеротрофные микроорганизмы (бактерии, дрожжи, грибы), которые взаимодействуют друг с другом, а также с внешними биотическими и абиотическими факторами. Микроорганизмы занимают ведущее место в кругообороте органических и неорганических соединений, регенерации биогенных элементов и др. соединений. Микроорганизмы донных отложений по сравнению с обитателями водной массы являются автохтонными, т.е. типичными и постоянными их обитателями [1,2].

Материалы и методы

Материалом исследования служили образцы донных отложений Каспийского моря.

Определение общей численности микроорганизмов проводили методом прямого счета [3,4]. Биомассу микроорганизмов вычисляли на основании данных прямого счета отдельных морфологических групп: палочек, кокков, дрожжей и др. - в зависимости от формы клеток и их размеров. Биомассу микроорганизмов выражали в весовых единицах на определенный вес грунта - мг/г влажного грунта [3,4].