

## ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ

Россихина О.Н.

научный руководитель канд. биол. наук Прудникова С.В.

*Сибирский федеральный университет*

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биополимеры оксипроизводных жирных кислот, синтезируемые многими микроорганизмами в условиях несбалансированного роста. ПГА обладают пластичностью, термостойкостью, оптической активностью, антиоксидантными свойствами, характеризуются биоразрушаемостью и биосовместимостью, что делает их весьма перспективным материалом для использования во многих сферах человеческой деятельности: от пищевой промышленности до медицины. Способность к деструкции в естественных условиях окружающей среды дает биополимерам неоспоримое преимущество перед синтетическими пластиками: при их разложении не выделяется опасных, токсичных, канцерогенных соединений. ПГА разрушаются ПГА-деградирующими микроорганизмами – бактериями и грибами, обладающими ПГА-деполимеразами. Отмечено, что микромицеты являются более активными деструкторами ПГА, так как их ПГА-деполимеразы обладают большей активностью.

Работа посвящена изучению видового разнообразия почвенных микромицетов, осуществляющих биоразрушение ПГА в естественных условиях окружающей среды. Целью работы являлось выделение и идентификация микромицетов-деструкторов, проявляющих в отношении ПГА деполимеразную активность.

Эксперимент проводили на территории дендрария, расположенного в Академгородке (г. Красноярск), на высокой террасе левого берега р. Енисей. Исследовали образцы полимеров двух типов: гомополимера 3-гидроксибутирата (ПЗГБ) и сополимера 3-гидроксибутирата с 3-гидроксигексаноатом (ПЗГБ/ЗГГ), синтезированные в культуре *Wautersia eutropha* B5786 по технологии Института биофизики СО РАН.

Образцы в виде пленок (диаметр 30 мм, толщина 0,08-0,1 мм) помещали в чехлы из мелкочаеистого газа и закладывали в почву на глубине 3-5 см. Длительность эксперимента составила около 5 месяцев (с 23 июня по 4 ноября 2012 г.). Периодически образцы извлекали из почвы, тщательно отмывали и взвешивали. Контрольные образцы почвы и соскобы с пленок полимеров высевали на питательные среды: выделение микромицетов проводили на сусло-агаре, деполимеразную активность выявляли методом прозрачных зон на минеральном агаре с добавлением порошкообразного полимера ПЗГБ или ПЗГБ/ЗГГ. Идентификацию грибов проводили на основании морфологических и культуральных признаков.

В ходе эксперимента учитывали общее количество микромицетов в контрольной почве в динамике. Было выявлено, что численность микромицетов в июле была минимальной и составила  $(0,2 \pm 0,1) \times 10^3$ , а в октябре и ноябре увеличилась на 2 порядка (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика численности микромицетов в почве дендрария

Варианты опыта	Количество микромицетов, тыс. КОЕ в 1 г почвы				
	Май	Июнь	Июль	Октябрь	Ноябрь

Контрольная почва	(1,6±0,57)	(1,7±0,57)	(0,2±0,1)	(10,0±5,7)	(14,3±10,0)
-------------------	------------	------------	-----------	------------	-------------

Такая динамика типична и объясняется жарким и засушливым летом 2012 года и более благоприятными для развития грибов погодными условиями в сентябре и октябре (таблица 2).

Таблица 2 – Погодные условия в период проведения эксперимента

Показатели	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
Температура, °С	10,3	19,9	20,1	14,7	11,4	0,9
Кол-во осадков, мм	24	37	53	68	37	71

Аналогичную тенденцию наблюдали при учете численности грибов в почвенных пробах с поверхности полимерных пленок (рисунок 1). При этом достоверные различия были обнаружены только для двух последних месяцев экспозиции – октября и ноября.

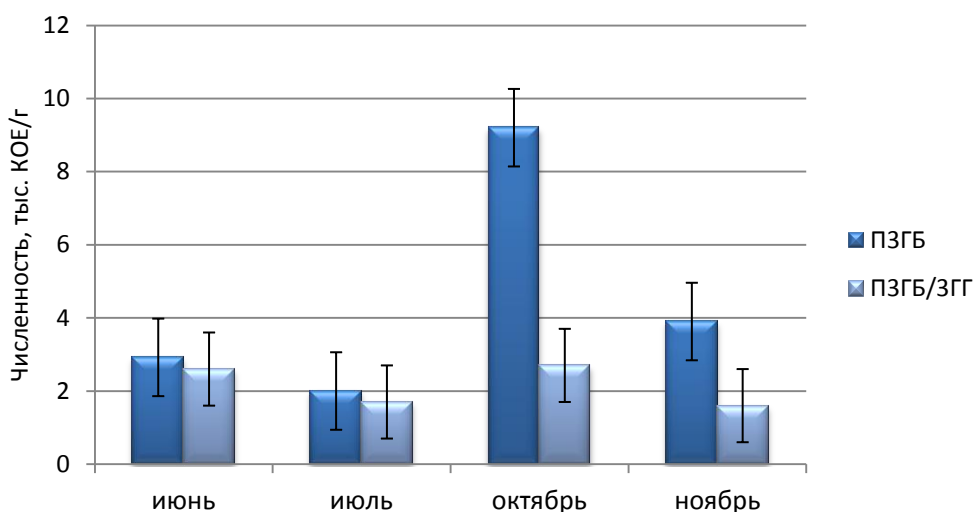


Рисунок 1 – Динамика численности микромицетов на поверхности пленок разных типов полимеров

Помимо общей численности изучали видовое разнообразие микромицетов. В общей сложности в чистую культуру было выделено 37 изолятов, 7 из которых проявляли деполимеразную активность. Микромицеты-деструкторы относились к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Acremonium* и *Pythium* (таблица 3).

Таблица 3 – Видовое разнообразие почвенных микромицетов

Период выявления	Выделенные микромицеты
Июнь	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Fuzarium sp.</i>
Июль	<i>Pythium sp.</i> , <i>Thermomyces lanuginosus</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Penicillium sp.</i>
Октябрь	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Fuzarium sp.</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Penicillium oxalicum</i> , <i>Thermomyces lanuginosus</i> .
Ноябрь	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> ,

<i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Penicillium oxalicum</i> , <i>Thermomyces lanuginosus</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>Humicola sp.</i> , <i>Acremonium sp.</i> , <i>Pythium sp.</i>
---

Сравнительный анализ показал, что по видовому составу деструкторы ПЗГБ/ЗГГ и ПЗГБ существенно не отличались, среди них количественно преобладали микромицеты рода *Penicillium*, составляя в среднем до 34% от общей численности, и *Purpureocillium* – до 20 % (рисунок 2). Однако изолят из рода *Pythium* (*Pythium sp.17*) проявлял деполимеразную активность только в отношении ПЗГБ/ЗГГ.

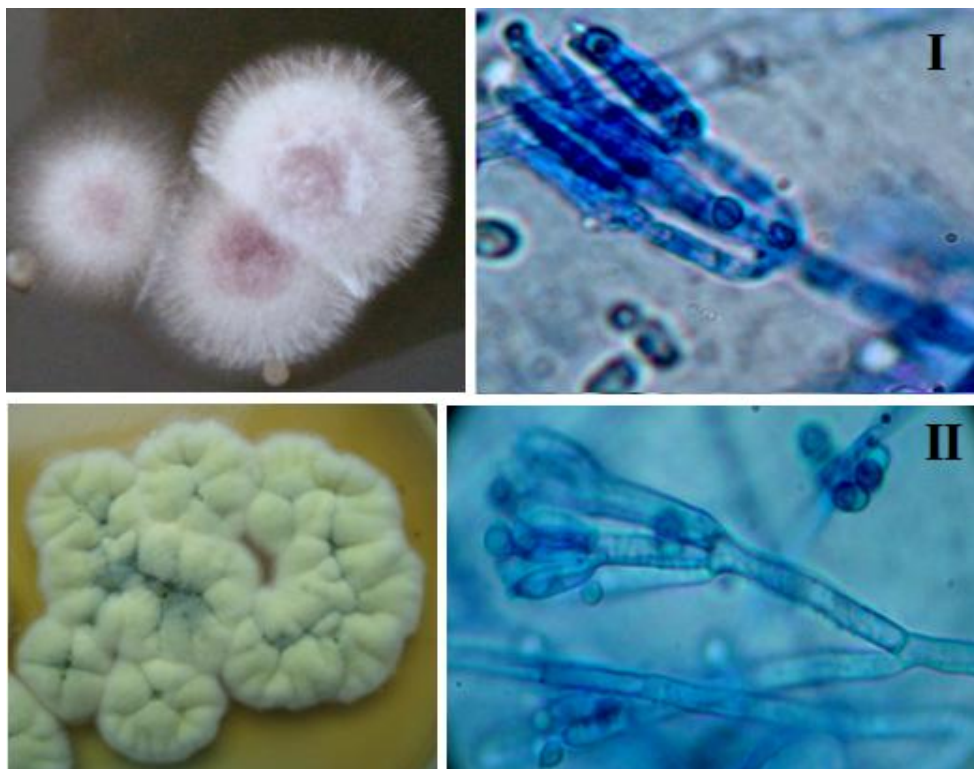


Рисунок 2 - Морфология мицелия и конидиального спороношения микромицетов-деструкторов: I - *Purpureocillium lilacinum*, II - *Penicillium chrysogenum*.

Таким образом, микромицеты играют важную роль в деградации полимера и являются его активными деструкторами. К числу наиболее распространенных и многочисленных микромицетов-деструкторов можно отнести представителей родов *Purpureocillium* и *Penicillium*, обнаруженных на обоих типах полимеров.

#### Литература

1. Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. Разрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение. – Красноярск: Красноярский писатель, 2011. – 392 с.
2. Козловский А.Г., Желифонова В.П., Винокурова Н.Г., Антипова Т.В., Иванушкина Н.Е. Изучение биodeградации поли-β-гидроксibuтирата микроскопическими грибами // Микробиология. Т. 68. №3. 1999. - с. 360-346.