

**Н.М. Жданова, С.В. Олішевська, А.І. Василевська,  
В.Л. Айзенберг, І.М. Курченко, Л.В. Артишкова, Л.Т. Наконечна,  
Г.П. Капічон**

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, МСП, Д 03680, Україна  
тел.: 8 (044) 526 11 89; e-mail: snezhanaolsh@rambler.ru

## **СКРИНІНГ ШТАМІВ МІКРОМІЦЕТІВ, ЩО ЗДАТНІ РОСТИ ТА РУЙНУВАТИ ЦЕЛЮЛОЗОВМІСНИЙ СУБСТРАТ**

*Досліджено 700 штамів мікроскопічних грибів, віднесених до 151 виду 57 родів. Гриби виділені з екопів природного та антропогенного походження: забруднених важкими металами ґрунтів, забруднених радіонуклідами лісової підстилки, ґрунтів зони відчуження ЧАЕС, уражених грибами книг, поверхні стін тощо. Показано, що інтенсивність росту та ступінь руйнування фільтрувального паперу проявлялися на рівні виду та штаму грибів. Виявлено 48 штамів серед видів родів *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Corynascus*, *Emericella*, що через 21 добу руйнували фільтрувальний папір.*

*К л ю ч о в і с л о в а:* скринінг, мікроскопічні гриби, руйнування фільтрувального паперу.

Відомо, що в природі щорічно кількість целюлозо- та лігнінвмісної фітомаси рослинних решток становить близько  $1 \times 10^{13}$  тон, в тому числі відходів підприємств сільського господарства та різних галузей промисловості. В ферментативному руйнуванні целюлози та лігніну беруть участь, як правило, різні групи бактерій та грибів. Серед останніх суттєва роль належить мікроскопічним грибам [1 – 8]. Рослинні відходи різного типу шляхом гідролізу за участю грибних або мікробних целюлаз можуть бути використані для отримання біопалива (етанолу) як альтернативного нафті та її продуктам джерела палива [8, 9].

Метою представленої роботи було вивчення здатності різних видів та штамів мікроскопічних грибів рости та руйнувати целюлозовмісний субстрат.

### **Матеріали і методи**

Об'єктами дослідження були 700 штамів мікроскопічних грибів, що ідентифіковані до 151 виду 57 родів. Штами грибів зберігаються в музеї культур відділу фізіології та систематики мікроміцетів ІМВ НАН України. Гриби були виділені з різних місць природного та антропогенного походження, а саме: забруднених важкими металами (переважно іонами  $Cu^{+2}$ ) ґрунтів ряду областей України, забруднених радіонуклідами лісової підстилки, ґрунтів зони відчуження ЧАЕС, а також з уражених грибами книг, поверхні стін тощо.

© Н.М. Жданова, С.В. Олішевська, А.І. Василевська, В.Л. Айзенберг, І.М. Курченко, Л.В. Артишкова, Л.Т. Наконечна, Г.П. Капічон, 2008



Для визначення здатності штамів грибів рости та руйнувати целюлозовмісний субстрат користувалися класичним методом, в якому фільтрувальний папір слугував єдиним джерелом вуглецю [10]. Досліди виконували в 3-х повторностях в умовах стаціонарного культивування при  $25 \pm 2$  °С, облік проводили протягом 7, 14, 21-ї доби і до 2-х місяців. Характер колонізації грибами фільтрувального паперу та ступінь його руйнування визначали візуально за п'ятибальною шкалою. За контроль приймали середовище з грибним інокулюмом (без внесення фільтрувального паперу) та середовище з фільтрувальним папером (без внесення грибного інокулюму). В подальшому активні щодо руйнування фільтрувального паперу штами грибів були проведені через декілька пасажів, щоб підтвердити прояв цієї властивості.

### Результати та їх обговорення

Серед досліджених найбільшою кількістю штамів були представлені види родів відділу анаморфних грибів — мітоспорові гриби родин *Moniliaceae* і *Dematiaceae*, у понад 5 разів меншою кількістю — відділів *Ascomycota* та найменшою — *Zygomycota* (рис. 1 А, Б, В). Решта родів грибів представлені поодинокими видами та одним-двома штамами.

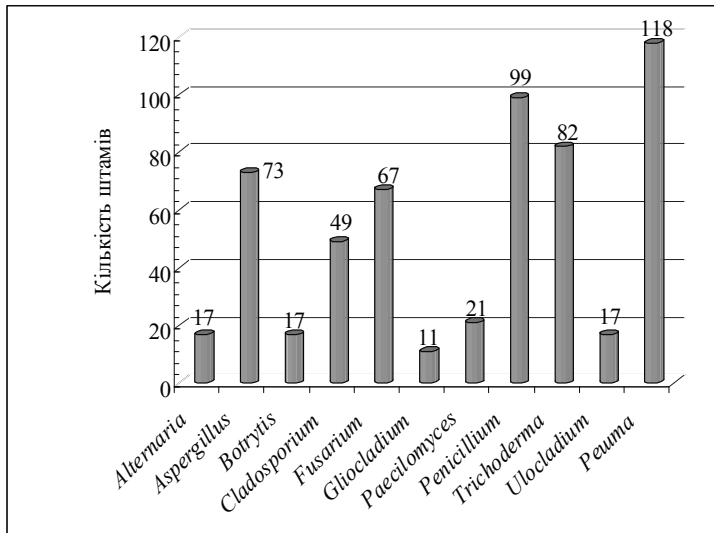


Рис. 1. Роди мітоспорових грибів (А), грибів відділів *Zygomycota* (Б) та *Ascomycota* (В), досліджені щодо росту на фільтрувальному папері

Fig 1. Strains of mitosporic (A), *Zygomycota* (B) and *Ascomycota* (B) fungi investigated respecting to the growth on the filter paper

Результати проведених досліджень показали, що 85 штамів мікроміцетів (що становить 8,2 % від загальної кількості вивчених) не здатні до росту в наведених умовах, що може бути обумовлено їх фізіолого-біохімічними особливостями. Решта штамів грибів росли на фільтрувальному папері, причому переважна більшість (понад 60 %) за оцінкою 3 — 4 бали. Значно менша кількість (48, що становить майже 7 %) штамів грибів руйнувала субстрат за оцінкою 5 балів, тобто за наявності в зразках фільтрувального паперу “зон просвітління” та розриву. Саме такий

характер руйнування паперу протягом 21-ї доби вважали першорядним критерієм добору активних штамів грибів.

Слід зазначити, що 46 досліджених штамів родів *Penicillium*, *Aspergillus* та *Myrothecium*, *Chaetomium*, переважно темнопігментованих (меланінвмісних) *Botrytis*, *Ulocladium*, інтенсивно росли на папері, але руйнували його за довший період (протягом одного – двох місяців).

Отримані нами результати свідчать, що найбільша кількість штамів мікроміцетів – деструкторів фільтрувального паперу виявлена у видів родів *Trichoderma* та *Penicillium* і вдвічі менше – у *Aspergillus* та *Fusarium* (рис. 2).

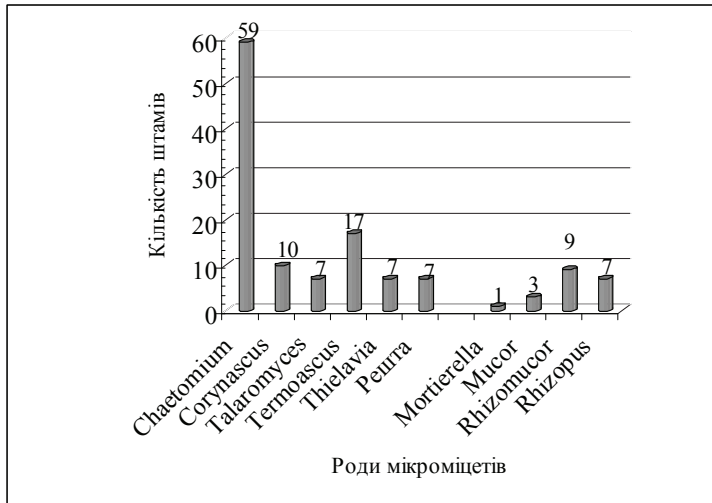


Рис. 2. Розподіл штамів мікроміцетів-деструкторів фільтрувального паперу по родах

Fig 2. Distribution of micromycetes-destroyers strains of the filter paper respecting to geneza

При дослідженні родини Moniliaceae з 10 видів (82 штами) роду *Trichoderma* 5 видів (16 штамів): *T. viride*, *T. harzianum*, *T. polysporum*, *T. parceranosum*, *Trichoderma sp.* інтенсивно руйнували фільтрувальний папір (рис. 2). Серед 35 видів (99 штамів) роду *Penicillium* здатність щодо деструкції субстрату виявили у 6 видів (11 штамів): *P. jenseni*, *P. funiculosum*, *P. velutinum*, *P. sclerotiorum*, *P. multicolor*, *P. waksmani*). Серед 10 видів (73 штами) роду *Aspergillus* інтенсивним ростом та деструкцією субстрату відрізнялись 4 штами (з 8 досліджених) *A. flavipes*. За даними деяких авторів (Свиридова із співавт., 2001), мікроміцети родів *Aspergillus* та *Penicillium* беруть участь у більш глибокій трансформації целюлозовмісних субстратів, ніж представники роду *Trichoderma*, зокрема, через більшу збалансованість комплексів целюлозолітичних ферментів у пеніциліїв. При цьому комплекс целюлозолітичних ферментів грибів роду *Trichoderma* здатен гідролізувати як нативну целюлозу, так і її розчинні похідні [4, 8].

З 11 видів (67 штамів) роду *Fusarium* було виявлено 6 активних штамів одного виду *F. oxysporum*, що відомий як фітопатоген. Всього 2 активних штами (серед 11 досліджених) виявлено серед 2 видів роду *Gliocladium*.

На фільтрувальному папері не росли 4 види роду *Paecilomyces* (21 штам), *Metarrhizium anisopliae* (7 штамів), поодинокі штами *Beauveria bassiana* та *Acremonium humicola*.

З досліджених 34 видів (176 штамів) родини Dematiaceae виявлено лише один штам *Curvularia inaequalis*, який руйнував папір через 1 місяць росту. За даними літератури, активні целюлозолітики відомі серед видів роду *Alternaria* та *Cladosporium* [1, 4], але у наших дослідженнях серед 5 видів роду *Cladosporium* (49 штамів), *Alternaria alternata* (17 штамів) та *Aureobasidium pullulans* (12 штамів) не виявлено активних штамів, що, певно, може бути обумовлено їх фізіолого-біохімічними особливостями. При цьому майже половина штамів грибів цієї родини, зокрема всі штами *Metarrhizium anisoplea*, окремі штами родів *Cladosporium*, *Humicola*, *Hormoconis* та інші зовсім не росли на фільтрувальному папері.

Серед 7 видів грибів відділу Zygomycota (20 штамів) було досліджено поодинокі штами *Mortierella vinacea*, *Mucor plumbeus*, *Rhizopus stolonifer* (7 штамів), *Rhizomucor pusillus* (8 штамів). Лише один штам *Rhizopus stolonifer* (з 4 досліджених) руйнував фільтрувальний папір через 1,5 місяця росту. Решта штамів характеризувалася низькою здатністю до росту на вказаному субстраті, чим підтверджується загальновідома назва цих видів як “цукристі”.

Серед грибів відділу Ascomycota було досліджено 8 видів (59 штамів) роду *Chaetomium*. Серед них деструкцію целюлозовмісного субстрату через 1 - 2 місяці росту спостерігали лише у окремих штамів *Ch. globosum*, *Ch. aureum* та *Ch. cochlioides* (всього 10 штамів).

Штами термотолерантних грибів *Corynascus sp.* (чотири з дев'яти досліджених) та *Emericella sp.* (один з двох досліджених) активно руйнували фільтрувальний папір. На середовищі з фільтрувальним папером не росли *Thermoascus aurantiacus* (7 штамів з 10) та *T. termophylus* (2 досліджені штами).

Таким чином, в нашій роботі показано, що переважна більшість досліджених штамів мікроскопічних грибів, виділених з екотопів антропогенного та природного походження, здатна рости на фільтрувальному папері та 7 % їх в короткий термін (через 21 добу) руйнувати субстрат з утворенням “зон просвітління” та розриву.

Отримані нами результати в основному узгоджуються з даними літератури, що серед чисельної кількості видів мікроміцетів активними целюлозолітиками переважно є гриби родів *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* [1, 2, 8]. В наших дослідженнях активні штами виявлено у *Trichoderma* – 19, 5 %, *Penicillium* – 11, 1 %, *Fusarium* – 9, 0 % та *Aspergillus* – 8, 2 % (від загальної кількості штамів кожного з родів).

Показано, що інтенсивність росту та ступінь руйнування фільтрувального паперу проявлялися на рівні виду та штаму грибів.

Відібрані штами мікроміцетів будуть слугувати об'єктами для подальших досліджень як потенційні агенти біотехнологічної конверсії целюлозовмісних відходів різноманітних галузей промисловості.

Робота виконувалась за підтримки цільової комплексної програми наукових досліджень НАН України № 19 на 2007–2009 рр. “Біомаса як паливна сировина” (“Біопалива”).



## ЛІТЕРАТУРА

1. Лизак Ю. Целлюлозолитические свойства некоторых видов темноокрашенных гифомицетов // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1971. — 23 с.
2. Колеснева Г. Целлюлозолитические свойства грибов рода *Penicillium* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1972. — 27 с.
3. Мусич Е. Г. Целлюлозоразрушающие грибы в разных типах почв Украинской ССР // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1975. — 22 с.
4. Билай В. И., Билай Т. И., Мусич Е. Г. Трансформация целлюлозы грибами. — Киев: Наук. думка, 1982. — 296 с.
5. Исаева Е. В., Рязанова Т. В., Чупрова Н. А. Биоконверсия твердого остатка вегетативной части тополя и топинамбура // Химия растительного сырья.— 2002, № 2. — С. 149–150.
6. Варнайте Р. Н., Раудонене В. З. Биоконверсия растительных отходов озимой ржи микромицетами // Микология и фитопатология. — 2004. — 38, № 6.—С. 80–83.
7. Терехова В. А., Семенова Т. А. Структура сообществ микромицетов и их синэкологические взаимодействия с базидиальными грибами в ходе разложения растительных остатков // Микробиология. — 2005. — 74, № 1.— С. 104–110.
8. *Renewable biological systems for alternative sustainable energy production* (FAO Agricultural Services Bulletin — 128) / Ed by Kazuhisa Miyamoto. — Osaka, Japan: FAO, 1997. — 486 p.
9. Рабинович М. Л. Производство этанола из целлюлозосодержащих материалов: потенциал российских разработок // Прикладная биохимия и микробиол. — 2006. — 42, № 1. — С. 5–32.
10. *Методы экспериментальной микологии*. Справочник / Под ред. В. И. Билай. — Киев: Наук. думка, 1982. — 561 с.

**Н. Н. Жданова, С. В. Олишевская, А. И. Василевская,  
В. Л. Айзенберг, И. Н. Курченко, Л. В. Артышкова,  
Л. Т. Наконечная, А. П. Капичон**

Институт микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д 03680, Украина  
тел.: 8 (044) 526 11 89; e-mail: snezhanaolsh@rambler.ru

## СКРИНИНГ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ, СПОСОБНЫХ РАСТИ И РАЗРУШАТЬ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИЙ СУБСТРАТ

### Реферат

Исследовано 700 штаммов микроскопических грибов, отнесенных к 151 виду 57 родов. Грибы выделены из экотопов природного и антропогенного происхождения: загрязненных тяжелыми металлами почв, загрязненных радионуклидами лесной подстилки, почв зоны отчуждения ЧАЭС, пораженных грибами книг, поверхности стен. Показано, что интенсивность роста и степень разрушения фильтровальной бумаги проявлялись на уровне вида и штамма грибов. Выявлены 48 штаммов среди видов родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Corynascus*, *Emericella*, способные через 21 сутки разрушать фильтровальную бумагу.

К л ю ч е в ы е с л о в а: скрининг, микроскопические грибы, разрушение фильтровальной бумаги.



**N. M. Zhdanova, S. V. Olishevskaya, A. I. Vasylevska, I. M. Kurchenko,  
V. L. Ayzenberg, V. L. Artysheva, L. T. Nakonechna, G. P. Kapichon**

D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU,  
akad. Zabolotnogo str., 154, Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine  
tel.: 8 (044) 526 11 89; e-mail: snezhanaolsh@rambler.ru

## **SCREENING OF MICROMYCETES STRAINS GROWN AND DISRUPTED THE CELLULOSE SUBSTRATE**

### **Summary**

The screening of fungi which are able to grow and disrupt the cellulose substrate has been performed among 700 strains of 151 species of 57 genera. These fungi were isolated from different natural and anthropogenic ecotopes: heavy metals polluted soils, radioactive forest litter, radioactive substrates of the alienation zone from Chernobyl Nuclear Power Plant, books and walls contaminated by microfungi. It has been shown that the degree of filter paper disruption depended on species and interspecies variation. It was found 48 strains of genera *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Corynascus*, *Emericella* rapidly grown and disrupted filter paper through 21 days.

**Key words:** screening, microfungi, disruption of filter paper.

