

**МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА,
ОРДЕНА ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени М. В. ЛОМОНОСОВА**

факультет почвоведения

А-24760

На правах рукописи

ИВАНУШКИНА Наталия Евгеньевна

УДК 631.466.1

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ
И ВОДНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА РОСТ
И РАЗВИТИЕ ПОЧВЕННЫХ ГРИБОВ**

(Специальность 03.00.07 — микробиология)

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва
1984

Микроорганизмы почвы.

Работа выполнена на кафедре биологии почв факультета почвоведения Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, ст. н. с. Т. Г. Мирчинк.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, доцент Л. В. Гарибова,

кандидат биологических наук, ст. н. с. Ф. Г. Бондаревская.

Ведущее учреждение — Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева.

Защита состоится «*11*» *февраля* 1985 г.
в 15 ч. 30 мин. в аудитории М-2 на заседании специализированного совета К 053.05.16; МГУ им. М. В. Ломоносова; 119899, Москва, Ленинские горы, МГУ, факультет почвоведения, Ученый совет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке факультета почвоведения МГУ.

Автореферат разослан «*24*» *декабря* 1984 г.

Приглашаем Вас принять участие в обсуждении диссертации на заседании специализированного совета, а отзывы на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 119899, Москва, Ленинские горы, МГУ, факультет почвоведения, Ученый совет.

Ученый секретарь
специализированного совета

И. П. Бабьева

Актуальность проблемы. Одной из насущных задач почвенной микробиологии является разработка представлений об основных закономерностях функционирования микробных сообществ. В число этих задач входит и изучение места и роли почвенных грибов.

Наряду с решением общих экологических проблем не менее актуальным представляется разработка вопросов аутоэкологии, т.е. взаимоотношения отдельных видов микроорганизмов, в том числе и грибов, с окружающей средой, выяснение того, как виды функционируют в конкретных физико-химических условиях среды, как адаптируются к этим условиям, как на них реагирует (Звягинцев и др., 1976; Миртин, Демкина, 1977; Планка, 1981).

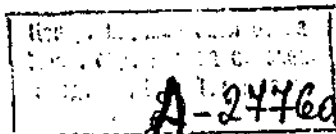
К числу наиболее значимых факторов среды, от которых зависит развитие грибов, можно отнести концентрацию субстрата и гидротермические факторы - температуру и влажность. В настоящее время еще мало данных, позволяющих количественно оценить реакцию почвенных грибов на изменения окружающей среды и установить для них пределы температуры и влажности. Нет четкого представления о том, существуют ли различия в этих характеристиках между организмами из разных местообитаний.

Цель работы. В направлении изучения аутоэкологии отдельных представителей типичных комплексов микроицетов из контрастных почв определить границы жизнеспособности и жизнедеятельности различных видов грибов в зависимости от температуры и водного (осмотического) потенциала при различных концентрациях питательного субстрата; найти оптимумы прорастания, роста и дифференциации таллома изучаемых организмов.

Основные задачи исследования.

1. Определение границ жизнеспособности грибов из контрастных местообитаний в зависимости от температуры и осмотического потенциала среды.
2. Определение границ, в которых возможен рост мицелия изучаемых грибов.
3. Изучение влияния концентрации глюкозы на рост грибов в различных условиях температуры и осмотического потенциала.
4. Изучение особенностей цикла развития в зависимости от температуры, осмотического потенциала, концентрации глюкозы.

Научная новизна. В работе с использованием количественных критериев определены границы жизнеспособности и жизнедеятельно-



сти популяций представителей типичных комплексов грибов-микромикетов из контрастных типов почв. Изучено влияние изменения концентрации субстрата в широких интервалах температуры и влажности на рост и дифференциацию таллома. Доказано наличие экотипов у популяций одного вида из контрастных местообитаний.

Практическая ценность. Определены пределы жизнеспособности и жизнедеятельности грибов организмов, следовательно пределы, в которых они могут осуществлять процессы превращения веществ в почве. Полученные данные могут быть использованы при диагностике микробиологического состояния почвы, а также в качестве одного из критериев при разработке принципов рационального природопользования. Полученные результаты использованы в курсе "Почвенная микология" на кафедре биологии почв факультета почвоведения МГУ.

Апробация работы. Основные положения диссертации были доложены на VI конференции молодых ученых факультета почвоведения МГУ (Москва, 1983), на заседании московского отделения ВМО (Москва, 1984), а также на заседании кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ (1983).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 работ.

Объем работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов. Материалы диссертации изложены на 218 страницах машинописного текста, 24 рисунков, 27 таблиц и список литературы из 256 названий (из них 162 - зарубежные).

О Б Ъ Е К Т Ы И М Е Т О Д Ы И С С Л Е Д О В А Н И Я

В качестве объектов исследования были использованы штаммы трех видов грибов, входящих в состав комплекса типичных микромикетов двух контрастных типов почв: дерново-подзолистой и светлого серозема (Озерская, 1960; Генджиев, 1978): а именно *Penicillium frequentans* Westling. - типичный для дерново-подзолистой почвы; *Aspergillus terreus* Thom. - для светлого серозема; *Sclerotium sclerosporioides* /Fries./ de Vries. с высокой частотой встречаемости обнаруживаемый и в том и в другом типе почв.

Грибы выделяли из дерново-подзолистой почвы, перенесенной на территорию почвенного стационара МГУ и засаженой различными видами древесной растительности и светлого серозема типичного легко-суглинистого под эфемерной растительностью из Туркменской ССР. Посев почвенных образцов производили по схеме прикладной микологии, используя среду Чапека. Выделенные грибы определяли на

основания культуральных и морфологических признаков на среде Чапека по определителям Пидопличко (1972), Левкиной (1974), Тома и Рапера (Thom, Raper , 1949), Рапера и Фенелл (Raper, Fennell , 1965). Все изученные грибы относятся к классу Deuteromycetes несовершенных грибов, в цикле развития которых отсутствует половая стадия, а бесполое спороношение представлено экзогенными спорами - конидиями. Для статистической достоверности результатов и определения разброса внутри вида было взято по 10 штаммов каждого вида и, соответственно, по 10 штаммов *Cladocarpoides* как из дерново-подзолистой почвы, так и из серозема.

Все эксперименты проводили, используя среду, предложенную Финди и Тринчи (Fiddy, Trinci , 1975), в качестве источника углерода использовали глюкозу в концентрациях: 0,001%, 0,002%, 0,005%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 1%, кроме того среду без глюкозы, поскольку все изучаемые грибы способны расти на среде без добавления источника углерода, используя агар.

Среды с пониженным осмотическим потенциалом получали при добавлении в исходную среду смеси солей KCl , NaCl , Na_2SO_4 . Величину потенциала определяли криоскопическим методом (Судинчик, 1979).

температура заморзания (°C)	потенциал (бар)	a_w	KCl М	NaCl М	Na_2SO_4 М
-4.48	- 54	0,96	0,35	0,58	0,23
-9.20	-III	0,92	1,00	1,25	0,35

Потенциал исходной среды был равен -2,5 бар (температура заморзания $-0,2^{\circ}$).

Для определения интенсивности прорастания конидий капли споровой суспензии растирали шпатель на чашке со средой, содержащей 0,01% глюкозы. Споровую суспензию получали общепринятым методом. Прорастание определяли через 24 часа после посева, для чего просматривали по 10 полей зрения, учитывая отдельно количество проросших и непроросших конидий. Интенсивность прорастания рассчитывали как отношение числа проросших конидий к общему количеству просмотренных конидий.

При определении радиальной скорости роста для стандартизации посева споровую суспензию наносили на агаризованную среду

ушком швейной иглы, причем на каждую чашку - по четыре капли, в двух повторных чашках для каждой концентрации глицери.

Измерения диаметра колонии проводили с помощью измерителя четыре раза в течение 1-14 суток, в зависимости от роста организмов. За диаметр колонии в момент измерения принимали среднее арифметическое измерений, выполненных в двух перпендикулярных направлениях. Затем рассчитывали скорость роста за определенный промежуток времени и далее среднюю скорость роста за все время опыта (Церт, 1978).

Для наблюдений цикла развития капли споровой суспензии наносили на чашку со средой, содержащей 0,001%, 0,01%, 0,1% или 1% глицери, после чего растирали шпателем. В чашки предварительно помещали по два предметных стекла, которые затем заливали тонким слоем среды (15 мл в чашку). Наблюдения осуществлялись через 15, 24, 36, 44 часа после посева и далее каждые сутки вплоть до 14 дней. Для этого стекло помещали под микроскоп с фотонасадкой и фотографировали ($\times 10$). При наблюдениях отмечали: а) интенсивность прорастания конидий по методике, описанной выше; б) длину неветвящихся проростков, среднюю величину рассчитывали после измерения 10-20 проростков в разных полях зрения; в) надклетку субстратного мицелия, степень ветвления гиф; г) интенсивность развития воздушного мицелия; д) образование репродуктивных органов, их размеры, форму.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проделанной работы получены данные о влиянии температуры и водного (осмотического) потенциала на пределы и интенсивность прорастания конидий; на изменение радикальной скорости роста; на особенности прохождения стадий цикла развития грибов-микромитетов. При этом результаты о пределах прорастания конидий можно рассматривать как показатель жизнеспособности организмов, а скорость роста может характеризовать пределы жизнедеятельности.

Прорастание конидий грибов

Все изученные грибы, выделенные из типичных комплексов микромитетов двух контрастных почв (*Penicillium frequentans*, *Aspergillus terreus*, *Glaucosporium glaucosporioides*), прорастали в разных температурных интервалах, что в значительной степени определялось их местообитанием.

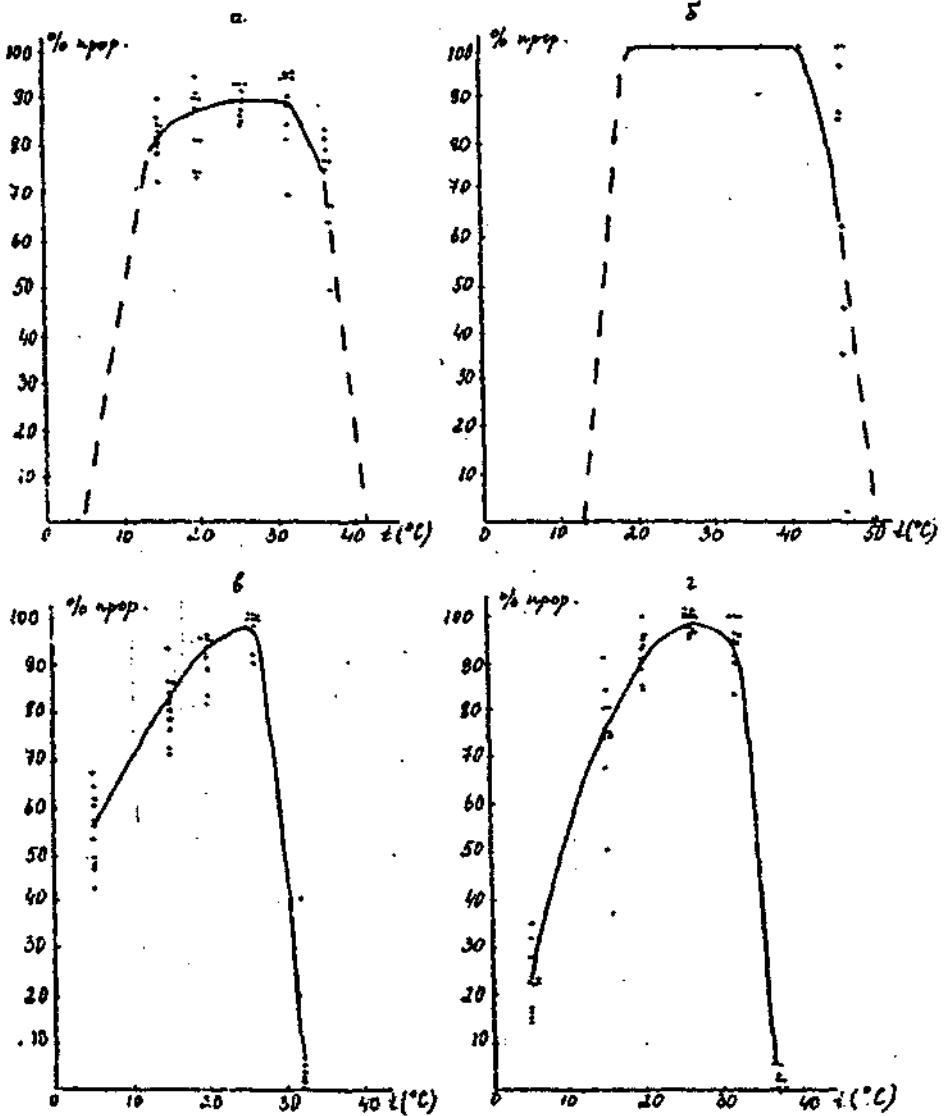


Рис. I. Прорастание конидий грибов при разных температурах:
а. *P. frequentans*, б. *A. terreus*, в. *Cl. cladosporioides*
из дерн.-подз. почвы, г. *Cl. cladosporioides* из серозема.

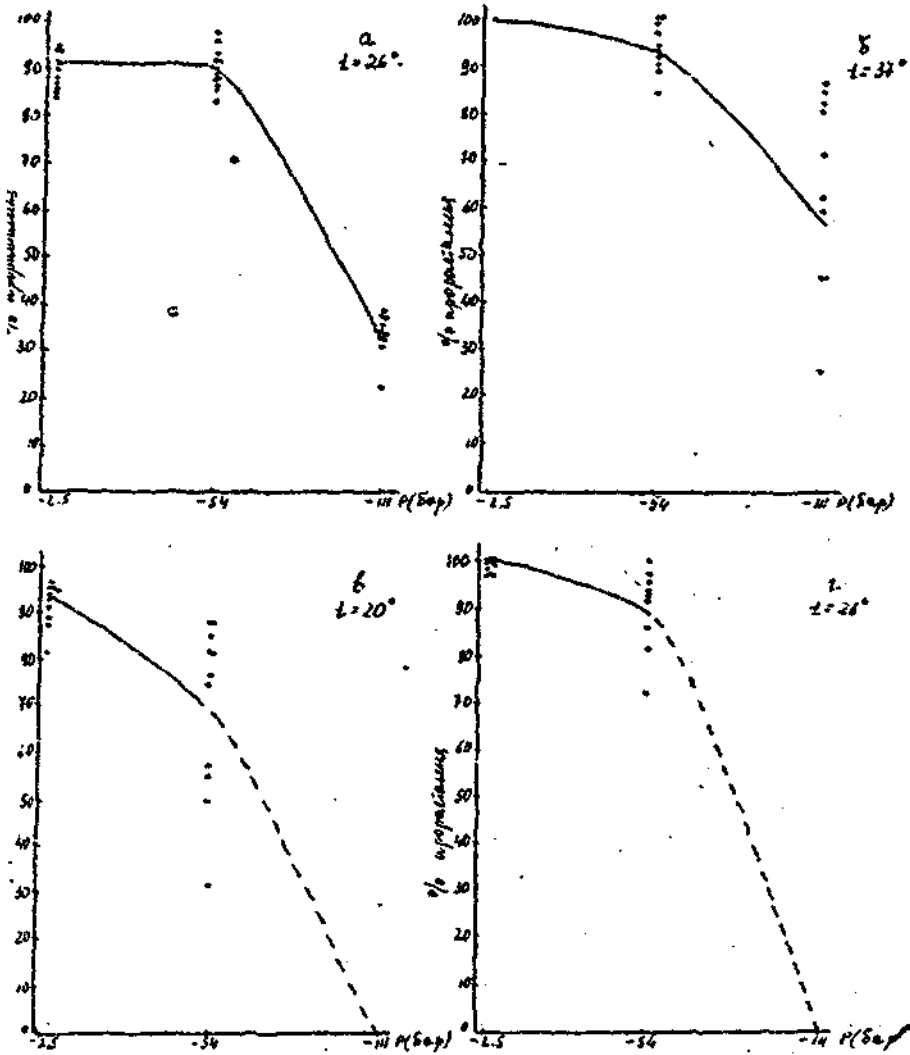


Рис. 2. Прорастание конидий грибов при разных осмотических потенциалах среды: *A. P. frequentans*, *G. A. terreus*, *B. Cl. cladosporioides* из дерн.-подс. почвы, *G. Cl. cladosporioides* из серозема.

Так, популяция *P. frequentans*, характерная для типичного комплекса микромететов дерново-подзолистой почвы, прорастает в пределах от 15° до 37° (рис. 1а). Отмечено, что вся изученная популяция этого вида ведет себя однотипно при всех температурах. Намы показано, что снижение потенциала до -54 бар практически не влияет на интенсивность прорастания (рис. 2а) и продолжительность лаг-периода, тогда как при потенциале -III бар при значительном снижении интенсивности прорастания заметно возрастает лаг-период, причем неодинаково у всех 10 штаммов популяции, часть прорастало через 48 часов, тогда как другие через 72 часа, и даже через 96 часов, т.е. в этих условиях штаммы популяции различались между собой не столько по величинам интенсивности прорастания, сколько по продолжительности лаг-периода.

Популяция *A. terreus* типичная для комплекса серозема, прорастает при более высоких температурах, чем *P. frequentans* (рис. 1б). Прорастание полностью отсутствует при температурах ниже 20°. Однако в интервале от 20° до 42° идет с одинаковой интенсивностью на очень высоком уровне у всех 10 штаммов и только при температуре 47° проявляется неоднородность популяции - наряду со стопроцентным прорастанием, у некоторых штаммов оно может полностью отсутствовать. Конидии *A. terreus* с достаточно высокой интенсивностью прорастали при обоих исследуемых осмотических потенциалах (рис. 2б), однако, с уменьшением потенциала интенсивность прорастания падала, увеличивались различия между отдельными штаммами популяции, возрастал лаг-период прорастания.

Штаммы популяции *Cl. cladosporioides* независимо от местобитания прорастали в более низких интервалах температур, чем *P. frequentans* и *A. terreus*, при этом различия в интервалах между популяцией из дерново-подзолистой почвы и из серозема были незначительными, но интенсивность прорастания различалась (рис. 1в, 1г): при низких температурах (5°, 15°) - выше у штаммов из дерново-подзолистой почвы, тогда как при более высоких (32°) - выше у популяции из серозема. Конидии *Cl. cladosporioides* прорастали при потенциале -54 бар на достаточно высоком уровне (рис. 2в, 2г), причем интенсивность и однородность прорастания была выше у популяции из серозема, по сравнению со штаммами из дерново-подзолистой почвы. При потенциале -III бар прорастание не отмечалось даже через 20 дней у штаммов обеих популяций.

На основании изучения прорастания конидий выше описанных

популяций грибов, можно отметить общие для всех закономерности: лаг-период прорастания независимо от температуры не превышает 24 часов, интенсивность прорастания остается практически неизменной в определенном оптимальном интервале температур, значительно уменьшается при экстремальных, особенно высоких температурах, различия в величинах интенсивности прорастания у штаммов одной популяции возрастает по мере приближения к экстремальным условиям, особенно заметно у штаммов *A. terreus* при 47° и *S. cladosporioides* из дерново-подзолистой почвы при 32°. Снижение осмотического потенциала приводит к уменьшению интенсивности прорастания, увеличению различий между отдельными штаммами популяции, а при потенциале -III бар происходит и значительное возрастание лаг-периода в отличие от действия температуры, величина которой не влияет на лаг-период, т.е. экстремальные условия, как по температуре, так и по потенциалу приводят к проявлению большей гетерогенности популяций, хотя и по разным показателям.

Радиальная скорость роста грибов

Радиальная скорость роста является одним из показателей, характеризующих жизнедеятельность грибов, наряду с такими как накопление биомассы, удельная скорость роста, интенсивность дыхания. Использование ее обусловлено рядом причин: в естественной среде обитания образование колоний на поверхностях различных твердых сред - частое явление, разрастание колоний гриба по поверхности субстрата происходит с постоянной скоростью, скорость роста изменяется под воздействием различных факторов, что позволяет количественно оценить степень их влияния на организм, наконец, скорость роста легко определяется (Звягинцев, 1973; Перт, 1978).

Радиальная скорость роста изучаемых грибов определялась нами при изменении температуры, осмотического потенциала и концентрации глюкозы.

Из всех изученных грибов только популяция *A. terreus* росла при всех тех температурах и величинах осмотического потенциала, что и прорастала, т.е. различия в пределах прорастания и роста не наблюдались. Оптимальной для роста была температура 37°, уменьшение скорости роста происходило в ряду температур 37°, 32°, 42°, 26°, 20°, 47° (рис. 36). Популяция, единственная из всех исследованных, росла при обоих изучавшихся потенциалах (-54 бар и -III бар)

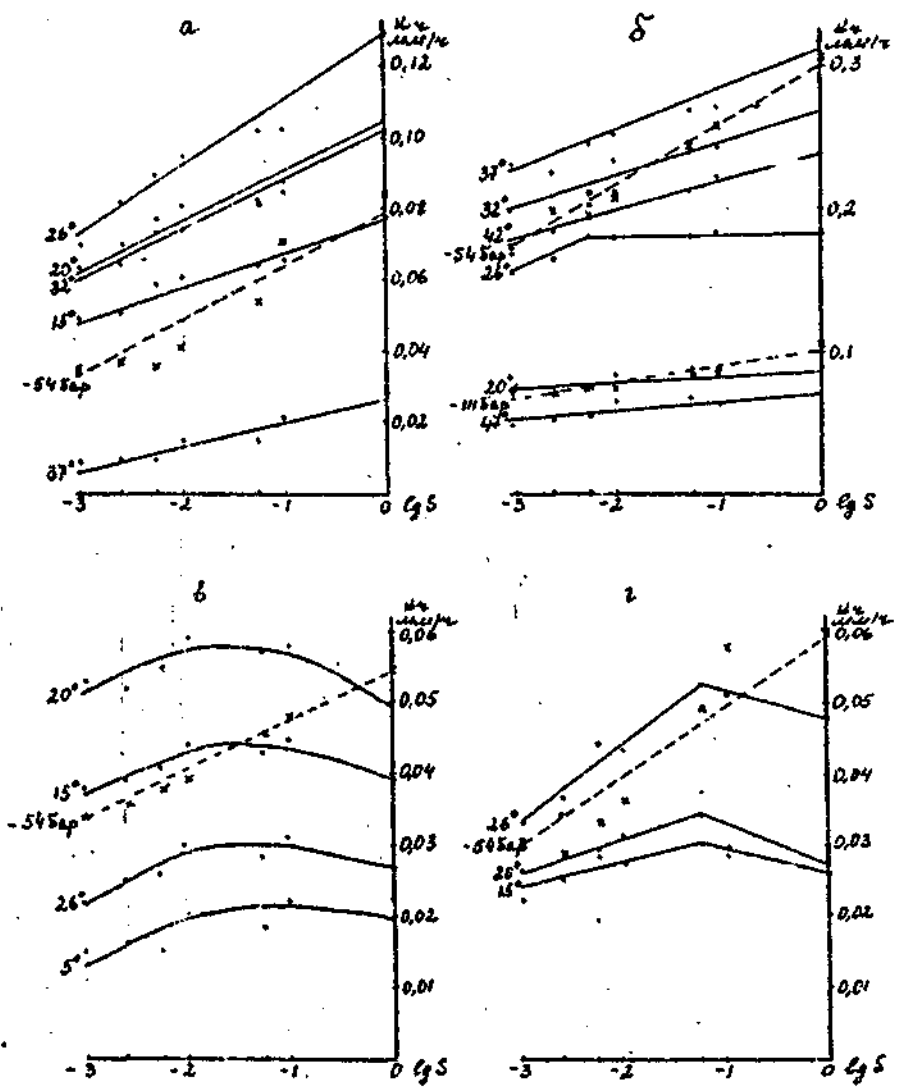


Рис.3. Радиальная скорость роста грибов в зависимости от концентрации глюкозы при разных температурах и осмотических потенциалах среды: а. *P. frequentans*, б. *A. terreus*, в. *Cl. cladosporioides* из дерн.-подз. почвы, г. *Cl. cladosporioides* из сарозема.

(рис.3б). Уменьшение скорости по сравнению с контролем при -54 бар было очень незначительным, это можно объяснить тем, что оптимальным для роста является потенциал -40 бар (Domeh et al, 1980). При потенциале -III бар величина скорости заметно уменьшалась.

P. frequentans, так же как *A. terreus*, рос при тех же температурах, что и прорастал, но пределы роста и прорастания различались при изменении осмотического потенциала. Максимальная скорость роста достигалась при 26° (рис.3а). При снижении осмотического потенциала среды рост наблюдался при -54 бар (рис.3а), тогда как при -III бар отмечалось лишь прорастание конидий, что согласуется с данными, приведенными Домеи (Domeh et al, 1980), из которых следует, что минимальный потенциал, при котором возможен рост *P. frequentans*, равен -100 бар.

Cl. cladosporioides, в отличие от выше описанных грибов, независимо от места выделения популяции, рос в более узком температурном интервале, чем прорастал. Интервал роста штаммов из дерново-подзолистой почвы был шире, чем из серозема, сдвинут в сторону более низких температур, кроме того оптимум роста штаммов из дерново-подзолистой почвы отмечался при более низкой температуре (26°), чем у штаммов из серозема (26°) (рис.3в,3г). Снижение потенциала среды приводило к уменьшению скорости роста, причем у штаммов из дерново-подзолистой почвы более значительному, чем у штаммов из серозема (рис.5в, 5г).

Практически нет работ, в которых оценивалось бы влияние температуры и водного потенциала на рост грибов при значительном изменении концентрации питательного субстрата.

Нами установлено, что различные температуры не влияют на характер изменения скорости роста в зависимости от концентрации глюкозы в среде.

Радиальная скорость роста *P. frequentans* и *A. terreus* увеличивалась с возрастанием концентрации глюкозы практически линейно (рис.3а,3б), так же как у таких грибов, как *Circinella circinalis* (Кочкина и др., 1978), *Mucor plumbeus* (Гавилов и др., 1981). Однако, по мере удаления температуры от оптимальной величины разница между максимальным и минимальным значением скорости уменьшается, т.е. можно считать, что при экстремальных температурах концентрация глюкозы практически не влияет на величину радиальной скорости роста.

Cl. cladosporioides обнаружил иные закономерности (рис. 3в, 3г): радиальная скорость роста увеличивалась, достигая максимума при относительно низкой концентрации глюкозы, затем уменьшалась при концентрации 1%. Аналогичные зависимости роста от концентрации сахара в среде отмечались у таких грибов, как *Aspergillus nidulans* (Trinci, 1965), *Mortierella ramanniana* (Кочкина и др., 1978), ранее изученных нами *Penicillium daleae* и *Arosphaeria pulviscula* (Иванушкина, Ширчик, 1982).

При снижении осмотического потенциала среды *P. frequentans* и *A. terreus* имели в целом такие же закономерности роста при изменении концентрации глюкозы, что и на контроле (рис. 3а, 3б), т.е. радиальная скорость роста увеличивалась в интервале концентраций глюкозы от 0,001% до 1%. Однако, нужно отметить, что различия в величинах скорости роста в зависимости от потенциала у *A. terreus* более заметно возрастали при низких концентрациях глюкозы, чем при высоких, в отличие от температуры, где такая разница не наблюдалась.

Cl. cladosporioides, независимо от места выделения, при низком потенциале среды имел иные закономерности роста: радиальная скорость роста с увеличением концентрации глюкозы в среде возрастала, достигая максимума на среде, содержащей 1% глюкозы (рис. 3в, 3г), в отличие от нормальных условий, где максимум отмечался при концентрации глюкозы 0,01-0,1%. Можно предположить, что это связано с изменением расходов организма на поддержание, вызванное снижением потенциала.

При определении радиальной скорости роста у штаммов одной популяции с целью выяснения стабильности этого показателя для популяции в целом, оказалось, что в подавляющем большинстве случаев различия в величинах у разных штаммов отсутствуют. Исключение составляют штаммы *Cl. cladosporioides* из серозема, разделенные на две равные группы во всех вариантах опыта, и популяция *P. frequentans* в случае роста на среде с пониженным осмотическим потенциалом. Таким образом, можно предположить, что в сероземе популяция *Cl. cladosporioides* неоднородна, однако, развивается в одном и том же интервале температуры и влажности. Снижение потенциала влаги по-разному влияет на рост *P. frequentans*, что приводит к разделению исходной популяции.

Однако, тем не менее важно отметить, что различия в величинах радиальной скорости роста между представителями разных видов

различных родов гораздо значительнее, чем между популяциями одного вида, даже из контрастных местообитаний.

В целом, на основании изучения, как прорастания, так и радиальной скорости роста, можно сказать, что все изученные популяции различаются между собой. Такие виды как *R. frequentans* и *A. terreus* можно рассматривать в качестве примеров stenотопных видов, при этом *R. frequentans*, обитающий в почвах умеренной зоны, развивается при более низких температурах, большей влажности, чем *A. terreus*, типичный для почв жаркого и сухого климата. Первый можно отнести к группе мезофилов, как по отношению к температуре, так и водному потенциалу, тогда как второй, по отношению к температуре - к группе термотолерантных видов, а по отношению к потенциалу - ближе к группе ксерофилов, учитывая литературные данные о возможности роста *A. terreus* при СВВ 80-75% (Snea, Griffin, 1966, Ayerst, 1969). *Cl. cladosporioides* который можно рассматривать в качестве эвриотопного организма, независимо от местообитания, развивается при более низких температурах, чем *R. frequentans* и *A. terreus*, не способен выдерживать столь низкие потенциалы влаги, как вышеупомянутые виды. Тем не менее он, так же, как *R. frequentans*, может быть отнесен к группе мезофилов, как в отношении температуры, так и влажности. Однако можно сказать, что штаммы из дерново-подзолистой почвы лучше растут при более низких температурах, чем штаммы из серозема, имея максимальную скорость роста при 20°, тогда как штаммы из серозема при 26°, снижение потенциала среды до -54 бар приводит к более заметному уменьшению скорости роста у штаммов из дерново-подзолистой почвы, чем из серозема. Учитывая выше перечисленное, можно говорить о наличии двух экотипов *Cl. cladosporioides* по отношению к температуре и влажности, один из которых распространен в почвах умеренной зоны, другой - в почвах пустынной зоны.

Влияние температуры, осмотического потенциала, концентрации субстрата на прохождение стадий в цикле развития грибов

Поскольку грибы характеризуются высокой степенью дифференциации таллома в процессе прохождения стадий в цикле развития, недостаточно использовать лишь киветические (радиальные скорости роста) параметры для описания их роста. Необходимо также изучение характера дифференциации таллома на субстратный, воздушный мицелий и репродуктивные органы.

Cl. cladoxporioides обнаружил иные закономерности (рис. 3в, 3г): радиальная скорость роста увеличивалась, достигая максимума при относительно низкой концентрации глюкозы, затем уменьшалась при концентрации I^г. Аналогичные зависимости роста от концентрации сахара в среде отмечались у таких грибов, как *Asergillus nidulans* (Trinci, 1965), *Mortierella ramanniana* (Кочкина и др., 1978), ранее изученных нами *Penicillium daleae* и *Arospira pulviscula* (Иванушкина, Ширяк, 1982).

При снижении осмотического потенциала среды *P. frequentans* и *A. terreus* имели в целом такие же закономерности роста при изменении концентрации глюкозы, что и на контроле (рис. 3а, 3б), т.е. радиальная скорость роста увеличивалась в интервале концентраций глюкозы от 0,001% до I^г. Однако, нужно отметить, что различия в величинах скорости роста в зависимости от потенциала у *A. terreus* более заметно возрастали при низких концентрациях глюкозы, чем при высоких, в отличие от температуры, где такая разница не наблюдалась.

Cl. cladoxporioides, независимо от места выделения, при низком потенциале среды имел иные закономерности роста: радиальная скорость роста с увеличением концентрации глюкозы в среде возрастала, достигая максимума на среде, содержащей I^г глюкозы (рис. 3в, 3г), в отличие от нормальных условий, где максимум отмечался при концентрации глюкозы 0,01-0,1%. Можно предположить, что это связано с изменением расходов организма на поддержание, вызванное снижением потенциала.

При определении радиальной скорости роста у штаммов одной популяции с целью выяснения стабильности этого показателя для популяции в целом, оказалось, что в подавляющем большинстве случаев различия в величинах у разных штаммов отсутствуют. Исключение составляет штамм *Cl. cladoxporioides* из серозема, разделившись на две равные группы во всех вариантах опыта, и популяция *P. frequentans* в случае роста на среде с пониженным осмотическим потенциалом. Таким образом, можно предположить, что в сероземе популяция *Cl. cladoxporioides* неоднородна, однако, развивается в одном и том же интервале температуры и влажности. Снижение потенциала влаги по-разному влияет на рост *P. frequentans*, что приводит к разделению исходной популяции.

Однако, тем не менее важно отметить, что различия в величинах радиальной скорости роста между представителями разных видов

различных родов гораздо значительнее, чем между популяциями одного вида, даже из контрастных местообитаний.

В целом, на основании изучения, как прорастания, так и разкладной скорости роста, можно сказать, что все изученные популяции различаются между собой. Такие виды как *R. frequentans* и *A. terreus* можно рассматривать в качестве примеров stenотопных видов, при этом *R. frequentans*, обитающий в почвах умеренной зоны, развивается при более низких температурах, большей влажности, чем *A. terreus*, типичный для почв жаркого и сухого климата. Первый можно отнести к группе мезофилов, как по отношению к температуре, так и водному потенциалу, тогда как второй, по отношению к температуре - к группе термотолерантных видов, а по отношению к потенциалу - ближе к группе ксерофилов, учитывая литературные данные о возможности роста *A. terreus* при СВВ 80-75% (Chen, Griffin, 1966, Ayerst, 1969). *Cl. cladosporioides* который можно рассматривать в качестве эвриотопного организма, независимо от местообитания, развивается при более низких температурах, чем *R. frequentans* и *A. terreus*, не способен выдерживать столь низкие потенциалы влаги, как вышеупомянутые виды. Тем не менее он, так же, как *R. frequentans*, может быть отнесен к группе мезофилов, как в отношении температуры, так и влажности. Однако можно сказать, что штаммы из дерново-подзолистой почвы лучше растут при более низких температурах, чем штаммы из серозема, имея максимальную скорость роста при 20°, тогда как штаммы из серозема при 26°, снижение потенциала среды до -54 бар приводит к более заметному уменьшению скорости роста у штаммов из дерново-подзолистой почвы, чем из серозема. Учитывая выше перечисленное, можно говорить о наличии двух экотипов *Cl. cladosporioides* по отношению к температуре и влажности, один из которых распространен в почвах умеренной зоны, другой - в почвах пустынной зоны.

Влияние температуры, осмотического потенциала, концентрации субстрата на прорастание спор и начало развития грибов

Поскольку грибы характеризуются высокой степенью дифференциации таллома в процессе прохождения стадии в цикле развития, недостаточно использовать лишь кинетические (разкладные скорости роста) параметры для описания их роста. Необходимо также изучение характера дифференциации таллома на субстратный, воздушный мицелий и репродуктивные органы.

Ранее отмечалось, что прохождение тех или иных стадий зависит от физико-химических условий обитания. Например, работы Мдановой (Мданова, 1964а, б; Мданова, Васильевская, 1992), Кузнецовой (1973а), в которых изучались изменения морфологических признаков темноокрашенных грибов из различных родов при изменении температуры и влажности. На большое значение концентрации питательных веществ для дифференциации грибного мицелия указывал Клебс (Клеба, 1899). Им было сформулировано положение о том, что образование репродуктивных органов у грибов находится в обратной зависимости от концентрации субстрата. Это явление получило название закона Клебса.

У всех изученных в настоящей работе грибов отмечены заметные изменения в скорости прохождения стадий цикла развития в зависимости от условий культивирования, в экстремальных условиях некоторые стадии вообще отсутствовали.

Мы не проверяли способность конидий изучаемых грибов прорастать в отсутствии питательных веществ, тем более, что, например, для *F. frequentans* такая возможность была доказана (Sheridan, Sheehan, 1980, а, б). Однако исследовал влияние глюкозы при изменении ее концентрации в достаточно широком интервале. В результате оказалось, что ее концентрация не вызвала существенных изменений как в продолжительности лаг-периода, так и в интенсивности прорастания конидий при оптимальных температурах. При приближении к экстремальным для прорастания условиям температуры и влажности у всех изучаемых грибов лаг-период увеличивался, кроме того, в этом случае при уменьшении общей интенсивности прорастания увеличивались различия между вариантами с разной концентрацией глюкозы в среде, особенно в начальные этапы развития.

Длина проростков, в отличие от интенсивности прорастания, зависела от концентрации глюкозы в среде даже в случае оптимальных температур. В большинстве вариантов опыта независимо от вида гриба максимальная длина достигалась при концентрациях 0,01-0,1%. Особо следует остановиться на прорастании в условиях снижения потенциала среды, поскольку у всех грибов отмечались значительные изменения по сравнению с контролем: помимо уменьшения длины проростков, в 2-2,5 раза уменьшался их диаметр. Проростки *F. frequentans* и *A. terreus* имели сильно извитую форму, подобные изменения не наблюдались у *Cl. cladosporioides*, не отмечались и при изучении других грибов, например, *Acrothecium apicale*, *Alternaria tenuis* (Гендлев, 1978).

По мере дальнейшего изменения состояния мицелия, его дифференциации для всех грибов можно отметить общие закономерности развития, связанные как с изменением концентрации глюкозы, так и температуры, водного потенциала. При увеличении концентрации глюкозы возрастала интенсивность развития мицелия, проявлявшаяся в более сильном ветвлении гиф субстратного мицелия, появлении воздушного мицелия, образовании более крупных репродуктивных органов в больших количествах до концентрации I%. Кроме того, представляется интересным тот факт, что спорообразование связывалось в ранних опытах с малым содержанием глюкозы, а затем уже - с большим. Можно отметить следующие изменения в развитии мицелия, вызванные различиями в температуре: при увеличении температуры вплоть до оптимальной возрастала скорость прохождения стадий цикла развития, в то же время уменьшалась интенсивность развития воздушного мицелия, при экстремальных для роста температурах наблюдались либо различные морфологические изменения, либо спорообразование совсем не происходило.

Кроме того, для каждого из изучаемых грибов нередко с общими закономерностями развития можно выделить характерные отличия.

У *P. frequentans* при повышенной температуре до 37° спорообразование полностью подавлялось. На более узкий температурный интервал спорообразования по сравнению с ростом указывали также Лавкевич (1960), Сривестава и Тандон (Srivastava, Tandon, 1970) и др. Снижение потенциала среды до -54 бар приводило к снижению скорости прохождения различных стадий цикла развития, уменьшению размера кисточек. При потенциале -111 бар отмечалось лишь прорастание конидий при всех концентрациях глюкозы.

A. terreus имел несколько иные особенности развития мицелия по сравнению с *P. frequentans*. У этого организма максимальная скорость роста и наиболее быстрая смена стадий цикла развития достигалась при 37°, однако репродуктивные органы, представленные конидиями, собранными в головки, были более типичны, достигали больших размеров при 32°, т.е. оптимум скорости роста и интенсивности спороношения на совпадал. При дальнейшем повышении температуры в случае высоких концентраций глюкозы происходили значительные морфологические изменения, формировались некомпактные, деформированные головки с укороченными цепочками конидий; при низких концентрациях головок было очень мало, спороношение в основном представлено единичными цепочками конидий или цепочками,

собранными в кисточки, напоминающие пенициллы, характерные для аспергиллов вздутия редуцировались. При температуре 47° спорообразование имело место лишь при высоких концентрациях глюкозы, причем образующиеся головки имели очень мало конидий. Понижение осмотического потенциала среды также как повышение температуры приводило к изменению формы репродуктивных органов: при потенциале -54 бар такому же как при 42° , при потенциале $-III$ бар наблюдалась полная редукция спорообразования при низких концентрациях глюкозы, так же как при 47° , при высоких концентрациях образовывались головки с малым количеством конидий, кроме того изменялась форма вздутий конидиеносцев, которые становились конусовидными, а не шарообразными, как в случае контроля. Таким образом, можно отметить, что развитие *A. terreus* в случае экстремальных значений температуры и потенциала среды, полное осуществлялось при высоких концентрациях глюкозы.

Развитие *Cl. cladosporioides* из дерново-подзолистой почвы и серозема несколько различались между собой. При развитии *Cl. cladosporioides* из дерново-подзолистой почвы при 5° спорообразование отмечалось лишь при высоких концентрациях глюкозы. Наибольшие особенности отмечались при снижении потенциала среды. В этих условиях мицелий гораздо сильнее ветвился, причем веточки отходили от основной гифы практически под углом 90° , спороносен. Появлялась лишь при максимальной концентрации глюкозы, причем кисточки были значительно редуцированы, кроме того образовывались хламидоспоры.

В случае *Cl. cladosporioides* из серозема снижение потенциала среды не приводило к образованию хламидоспор, однако, по сравнению с контролем, также наблюдались изменения органов спороношения: удлиненные, мало ветвящиеся кисточки представлены в основном метаконидиями.

При совместном рассмотрении особенностей роста и дифференциации грибов можно отметить, что при постоянстве или даже уменьшении скорости роста (в случае *Cl. cladosporioides*) с увеличением концентрации глюкозы до IX, происходит значительные изменения в степени дифференциации. Образуется обильный воздушный мицелий и в большом количестве репродуктивные органы, что приводит в целом к увеличению общей биомассы при снижении радиальной скорости роста. В некоторых случаях температуры, обеспечивающие оптимальные линейный рост и лучшую дифференциацию могут не сов-

падать, например, у *A. terreus*. Кроме того температура и осмотический потенциал сильно влияют на морфологию организма, в чем проявляется реакция на конкретные условия среды. Можно предположить, что эти изменения имеют адаптивный характер.

ВЫВОДЫ

1. Определены границы и оптимальные жизнеспособности (прорастание спор) и жизнедеятельности (скорость роста) представителей типичных комплексов грибов-микромизетов из почв контрастных природных зон, обусловленные температурой и водным потенциалом, показано, что эти границы зависят от природных условий обитания изученных грибов.

2. Показано, что границы жизнеспособности и жизнедеятельности различны как для популяций разных видов (*Penicillium frequentans* и *Aspergillus terreus*), так и популяций одного вида, выделенных из разных местобитаний (*Cladosporium cladosporioides*). Однако различия между популяциями разных видов гораздо значительнее, чем между популяциями одного вида.

3. Установлено, что для популяций одних видов (*A. terreus*) границы жизнеспособности и жизнедеятельности, обусловленные как температурой, так и водным потенциалом совпадают, для других (*P. frequentans*, *Cl. cladosporioides*) они различны.

4. Радиальная скорость роста является стабильным показателем для популяций в целом в большинстве случаев, за исключением популяции *Cl. cladosporioides* из сенокоса, обнаружившей неоднородность скорости роста по реакции на температуру и осмотический потенциал, и *P. frequentans* неоднородность которого проявилась по реакции на осмотический потенциал.

5. Изменяясь величины радиальной скорости роста в зависимости от концентрации глюкозы в среде остается постоянным при всех температурах у всех изученных грибов. Снижение осмотического потенциала приводит к изменению характера роста только *Cl. cladosporioides*, независимо от местобитания.

6. При экстремальных для роста температурах у штаммов всех изученных популяций не наблюдаются различия в величинах скорости роста в зависимости от концентрации глюкозы в среде. Таким образом температура является в данных условиях решающим фактором, определяющим рост организма.

7. На основании границ жизнеспособности и жизнедеятельности *P. frequentans* и *Cl. cladosporioides* можно отнести к группе ме-

зофиллов по отношению к температуре и влажности с выделением двух экотипов у последнего, а *A. terrae* к группе термотолерантных ксерофилов.

3. Температура и осмотический потенциал влияют на дифференциацию организмов. Влияние температуры проявляется в ускорении прохождения цикла развития при ее повышении, ослаблении развития воздушного мицелия; при экстремальных величинах температур и осмотического потенциала происходят значительные морфологические изменения репродуктивных органов.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Использование ректальной скорости роста в качестве экологического показателя (соавт. Мирчик Т.Г.). - Микробиология, 1982, т.51, в.6, с.941-944.
2. Влияние концентрации источника углерода на степень дифференциации грибного мицелия (соавт. Мирчик Т.Г.) - Микология и фитопатология, 1983, т.17, в.5, с.363-367.
3. Видовая и биоморфологическая структура грибов-микромитозов подстилок и почв (соавт. Мирчик Т.Г., Озерская С.М., Степанов Д.И.) - в кн.: Роль подстилки в лесных биогеоценозах. - М.: Наука, 1983, с.128.
4. Влияние температуры на рост грибов *Cladobotryum cladobotryoides*, выделенных из разных типов почв. - Труды VI конференции молодых ученых ф-та почвоведения ИГУ. - М.: ИГУ, 1983. 6124-84/900. 09 10.06.84. с. 52-58
5. Влияние температуры на жизнеспособность грибов-микромитозов, выделенных из разных природных зон (соавт. Мирчик Т.Г.) - Биологические науки, 1984, т. , в. 8, с. 100-103

Л-101079 от 1.03.84г, за № 1211, мур 100
Тунорпааруэ Минусома СССР