

## ГРИБЫ СИНЕВЫ ДРЕВЕСИНЫ, ПЕРЕНОСИМЫЕ КОРОЕДАМИ В ХВОЙНЫХ ЛЕСАХ СРЕДНЕЙ СИБИРИ

Афанасова Е.Н.

Красноярский государственный педагогический университет имени В.П. Астафьева  
Красноярск

Одним из важных следствий ухудшения состояния лесов является снижение устойчивости лесообразующих пород к болезням и вредителям в результате локальных экологических стрессов как биогенного, так и антропогенного характера. Прямую угрозу в этом отношении представляют деревоокрашивающие микроскопические грибы из семейства *Ophiostomataceae*, переносимые короедами. Вызываемые этими грибами поверхностные повреждения заготовленной древесины (пороки синевы древесины) наносят большой экономический ущерб лесной промышленности. Кроме того, отмечено фитопатогенное значение данных грибов. Таким образом, имеются веские причины для серьезного изучения этого явления и создания методов мониторинга инфекционных заболеваний, вызванных ассоциациями грибов и стволовых вредителей. В России отсутствует информация достаточная для оценки распространения и экологического значения офиостомовых грибов. В связи с этим, целью наших исследований являлось изучение грибов, ассоциированных с большим листовенничным короедом *Ips cembrae* и короедом-типографом *Ips typographus*, в хвойных лесах Средней Сибири и выявление видов, имеющих наибольшее фитопатогенное значение в условиях Сибири.

Сбор образцов проводили в сосново-лиственничных культурах, поврежденных низовыми пожарами и листовенничниками, поврежденных сибирским шелкопрядом, а также в хронической резервации короеда на ельнике, испытывающем сезонное подтопление и в елово-пихтовых древостоях, поврежденных сибирским шелкопрядом.

Выполненные наблюдения показали, что большой листовенничный короед и короед-типограф переносят грибы синевы древесины с высокой частотой встречаемости. Общая частота встречаемости грибов, переносимых большим листовенничным короедом колебалась от 88 до 96%, а общая частота встречаемости грибов в ходах короеда-типографа достигала 100%. Видовой состав комплексов грибов, переносимых большим листовенничным короедом и короедом-типографом, проявил определенное сходство, а именно – в ходах обоих ксилофагов обнаружено 3 общих вида: *Ceratocystiopsis minuta*, *Ophiostoma ainoae*, *O. bicolor*. Помимо этого были свои специфические виды. Так для большого листовенничного короеда ими являлись *Ceratocystis laricicola*, *O. ips*, *O. minus*, *O. piliferum*, а для короеда-типографа – *Ceratocystis polonica*, *Ophiostoma europhioides* и *O. penicillatum*.

Изучение сукцессий микромицетов в ходах вредителей показало, что представители семейства *Ophiostomataceae* являлись первым этапом грибных сукцессий в ходах насекомых-ксилофагов. В дальнейшем комплексы грибов синевы древесины сменялись представителями других семейств, не имеющих фитопатогенного значения. Изучение структурно-временной организации внутри комплексов грибов синевы древесины показало, что *C. polonica* и *C. laricicola* появлялись первыми после инфицирования флоэмы хвойных, что подтверждает их адаптацию к обитанию в живых растительных тканях и, следовательно, высокий уровень патогенности, за ними следовали *O. ainoae*, *O. bicolor* и *C. minuta*.

Также нами было проведено тестирование фитопатогенных свойств грибов синевы древесины методом искусственной инокуляции мицелия гриба в ткани растения-хозяина. Тестирование показало, что сибирские изоляты *C. polonica* и *C. laricicola* вызывали большие некрозы длиной до 40 мм на ели и лиственнице соответственно. Некрозы были и достаточно широкие. Помимо представителей рода *Ceratocystis* большие некрозы отмечены при инокулировании в луб ели мицелия *O. penicillatum*. Для данного вида гриба длина некротических зон значительно варьировала и в зависимости от использованного

изолята составляла от 40 до 200 мм. Это значительно превышает аналогичные результаты тестирования, известные по зарубежным публикациям

## ЛИПИДЫ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *CORDICEPS MILITARIS*

Бабицкая В.Г., Пучкова Т.А., Щерба В.В., Черноок Т.В., Иконникова Н.В.,  
Филимонова Т.В., Осадчая О.В.

Институт микробиологии НАН Беларуси  
Минск

Гриб *C. militaris* синтезирует уникальный комплекс биологически активных веществ, в котором липиды составляют до 15%. Цель наших исследований – дать характеристику липидных соединений гриба. Для фракционирования липидов использовали три общепринятых метода: осаждение холодным ацетоном, хроматографию на колонке с силикагелем, противоточное разделение в системе гексан : этанол. Наиболее приемлемым для разделения нейтральных и полярных липидов оказался метод осаждения холодным ацетоном: во фракции нейтральных липидов осталось не более 7,8% фосфора. Нейтральная фракция составила 71,8%, полярная – 28,2%, содержание фосфолипидов во фракциях – 3,26% (нейтральная) и 98,1% - полярная. Как в нейтральных, так и в полярных липидах ненасыщенные жирные кислоты преобладали над насыщенными (75,3 и 84,2%). Для изучения фракционного состава нейтральных липидов применялся метод тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol UV 254 в системе гексан : диэтиловый эфир : этанол = 70:30:1. Как показали исследования, в нейтральных липидах гриба в большом количестве присутствуют резервные липиды – триацилглицерины (56,85%), свободные жирные кислоты составили 12,6%, воска и эфиры стериннов – 8,7%. Диацилглицерины, эргостерин и неидентифицированная фракция липидов ( $R_f=0,167$ ) относились к минорным соединениям и количественно составили 9,0; 4,7 и 8,2%. В составе нейтральных липидов обнаружена неидентифицированная пигментированная фракция. Изучение жирнокислотного состава фракций свободных жирных кислот и триацилглицеринов (присутствуют в наибольшем количестве) показала, что в них имеются практически все кислоты, обнаруженные в составе нейтральных липидов: в наибольшем количестве представлены линолевая, олеиновая и пальмитиновая кислоты. В составе полярных липидов гриба обнаружены лизофосфатидилхолин, сфингомиелин, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин, фосфатидилглицерин, кардиолипин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидная кислота и 2 неидентифицированные фракции. В наибольшем количестве содержатся фосфатидилхолин (22,4%), кардиолипин (13,7%) и фосфатидилэтанолламин (13,6%). Исследования жирнокислотного состава 3-х массивных фракций фосфолипидов *C. militaris* показало, что основной кислотой в них является пальмитиновая ( $C_{16:0}$ ). Присутствуют также олеиновая ( $C_{18:1}$ ), линолевая ( $C_{18:2}$ ) и стеариновая ( $C_{18:0}$ ) кислоты, а в кардиолипине еще и  $C_{16:1}$  и  $C_{17:0}$  кислоты. Для фосфатидилэтанолламина изучаемого гриба характерно выраженное преобладание насыщенных жирных кислот. В фосфатидилхолине соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот приблизительно равно. В кардиолипине незначительно преобладают насыщенные жирные кислоты. Рассматривая состав полярных липидов гриба *C. militaris*, можно отметить их высокую фармакологическую ценность: фосфатидилхолин (лецитин) является важной составной частью клеточных мембран и участвует в процессах метаболизма жиров в печени. Ацетилхолин активизирует и ускоряет интеллектуальную деятельность человека, его работоспособность, способствует формированию и сохранению памяти. Фосфатидилэтанолламин – один из фосфолипидов мозга, который играет жизненно важную роль в функционировании мембран нервных клеток. Кардиолипин является компонентом внутренней мембраны митохондрий и обладает выраженными иммунными свойствами. Широкий набор биологически ценных липидных соединений, среди которых в большом количестве содержатся фосфолипиды, наличие жирных кислот с высокой степенью ненасыщенности, указывает на перспективность использования *C. militaris* для создания функциональных препаратов. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-РФФИ (грант № Б08Р-023).

## ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ АНАМОРФНОГО РОДА *EVLACHOVAEA*: МИРОВЫЕ ДАННЫЕ И НОВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОРИГИНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Борисов Б. А.<sup>1</sup>, Володина Л. И.<sup>2</sup>, Лиховидов В. Е.<sup>2</sup>, Асташкин Е. И.<sup>2</sup>, Ковалев Ю. Н.<sup>2</sup>, Пачкунов Д. М.<sup>2</sup>, Юскевич В. В.<sup>2</sup>, Баранов А. М.<sup>2</sup>, Тарасов К. Л.<sup>3</sup>, Александрова А. В.<sup>3</sup>

1 – Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции РАН

2 – ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

3 – МГУ имени М. В. Ломоносова

Москва – Оболенск

Отличительный признак р. *Evlachovaea* (далее – *E*) (Borisov, Tarasov, 1999 // Микол. и фитопатол., 33, 4: 248-256) – строение конидиальных цепочек (КЦ), похожих на бусы из мелких ракушек, беспорядочно направленных в разные стороны. У представителей внешне наиболее близкого р. *Paecilomyces* (в широком прежнем понимании) КЦ имеют упорядоченный «правильный» вид, а у *Mariannaea* конидии накладываются друг на друга внахлест (англ. «imbricate chains»). После описания типового вида *E. kintrischica* на жуке сем. Chrysomelidae из Аджарии вышло ещё несколько сообщений о находках подобных грибов на насекомых разных отрядов: *E. spp.* в Бразилии (Humber e.a., 2002; Luz e.a., 2003), *E. sp.* как анаморфы *Cordyceps spagazzinii* в Панаме (Torres e.a., 2005), *E. sp.* в США (Held, Gelhaus, 2006). В списке Американской коллекции культур энтомопатогенных грибов (акроним ARSEF; куратор д-р R. Humber, США, Итака, USDA-ARS) фигурируют 17 штаммов *E. spp.*, найденных в Европе, Азии, Ю. и С. Америке ([http://arsef.fpsnl.cornell.edu/mycology/ARSEF\\_Culture\\_Collection.html#Catalog](http://arsef.fpsnl.cornell.edu/mycology/ARSEF_Culture_Collection.html#Catalog)).

Аналогичное строение КЦ имеют также виды, ранее описанные как представители других родов: в Китае – *Paecilomyces cateniannulatus* (Liang, 1981), *P. cateniobliquus* (Liang, 1981), *P. atrovirens* (Liang, Liu, 1993), *P. loushanensis* (из телеоморфы *C. loushanensis*) (Liang e.a., 1997), *P. militaris* (Liang, 2001), *Mariannaea pruinosa* (телеоморфа *C. pruinosa*) (Liang, 1991), *Septofusidium bifusisporum* (телеоморфа *C. bifusispora*) (Liu e.a., 1996); в США и Японии – анаморфа из *Cordyceps cardinalis*, которую авторы отнесли к р. *Clonostachys* или *Mariannaea* (Sung, Spatafora, 2004). Эти трактовки представляются нам ошибочными (см. краткий анализ: Борисов и др., 2008 // Современная микология в России, 2008, т. 2, с. 314-315).

По строению КЦ к этому же роду тяготеют также образцы грибов, найденные на трупах насекомых в ряде регионов бывшего СССР; выделенные штаммы хранятся в коллекции культур ГНЦПМБ (акроним SRCAMB): F-226\*, F-227\* (Сахалинская обл., о. Кунашир, 2002), F-229\* (Астраханская обл., 2002), F-228 (Украина, Херсонская обл., 1990), F-2233 (Московская обл., 2007), F-2265 (Украина, Одесская обл., 1985). Штаммы, отмеченные \*, были найдены во время экспедиций в рамках проекта МНТЦ 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты» (Исполнитель ГНЦПМБ). В рамках этого же проекта в ГНЦПМБ часть этих штаммов и типовой *E. kintrischica* СМРРВ-150 (=SRCAMB F-183 = VKM F-3428 = ARSEF-7218) были изучены в сравнении с *Isaria (Paecilomyces) farinosa* F-597\* (окрестности Сочи); *I. (Paecilomyces) fumosorosea* F-749 (Херсонская обл.); *Paecilium (Paecilomyces) lilacinus* F-743 (Краснодар); *Mariannaea sp.* F-905 (←ARSEF-3252, США, штамм любезно предоставил д-р R. Humber) и *Mariannaea elegans* (представитель семейства Nectriaceae) F-939\* (Московская обл.) несколькими молекулярно-генетическими методами: 1 - RFLP (для гидролиза ITS-ампликонов использованы сайт-специфические эндонуклеазы Taq I, Mbo I, AvaII), 2 - RAPD-PCR (использованы случайные праймеры I247, Wil 2, HLWL 84 и OPA11).

В результате этих исследований было показано, главное: 1) наличие общих филогенетических корней всех образцов *E. spp.* и '*Mariannaea*' sp. F-905 с *Cordyceps*-

подобными грибами, 2) имеется очень тесная генетическая связь двух штаммов с Кунашира между собой и со штаммом из Херсона (скорее всего, это один вид; возможно, анаморфа *Cordyceps cardinalis*); 3) культуры *E. spp.* можно разделить на три группы, которые имеют индивидуальные черты, но в то же время они могут быть «дистанцированы» от изученных культур *Isaria*, *Paecilium lilacinus* и *M. elegans*.

## КУЛЬТУРЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В КОЛЛЕКЦИИ ГНЦ ПМБ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Володина Л.И.<sup>1</sup>, Лиховидов В.Е.<sup>1</sup>, Борисов Б.А.<sup>2</sup>, Юскевич В.В.<sup>1</sup>, Жирков В.М.<sup>1</sup>, Наумов А.Н.<sup>1</sup>, Амельченко В.В.<sup>1</sup>, Асланян Е.М.<sup>1</sup>, Быстрова Е.В.<sup>1</sup>, Исангалин Ф. Ш.<sup>1</sup>, Баранов А.М.<sup>1</sup>, Александрова А.В.<sup>3</sup>, Леднёв Г.Р.<sup>4</sup>, Глупов В.В.<sup>5</sup>.

1 – ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии»

2 – Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции РАН

3 – МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

4 – ВНИИ защиты растений РАСХН

5 – Институт систематики и экологии животных СО РАН

Оболенск – Москва – Санкт-Петербург – Пушкин – Новосибирск

На базе ФГУН ГНЦ ПМБ при участии специалистов из различных научно-исследовательских центров России в рамках проекта МНТЦ № 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты» проводились исследования, целью которых являлось создание коллекции культур возбудителей микозов беспозвоночных с последующим изучением их как возможных продуцентов пестицидных и фармакологических препаратов. Были организованы 9 экспедиций в заповедники разных природно-климатических зон, в ходе которых собрано более 2500 погибших от микозов различных представителей членистоногих. Некоторые виды возбудителей микозов насекомых найдены в России впервые. Выделено свыше 1200 изолятов грибов (около 160 видов 70 родов), большинство из которых идентифицированы до вида. Для хранения коллекционных штаммов используются различные методы. Осуществляется дублированное хранение большинства культур. Ведется поиск штаммов, обладающих инсектицидной активностью или антагонистической активностью против некоторых микроорганизмов, патогенных для человека, животных и растений. Протестированы 205 штаммов 83 видов микромицетов.

Выявлено наличие москитоцидной активности у 57 штаммов, принадлежащих к 17 родам грибов, при этом у штаммов 11 родов такая активность обнаружена впервые. Выделены два штамма с широким спектром инсектицидной активности (против насекомых из отрядов *Coleoptera*, *Lepidoptera*, *Homoptera*). Установлена бактерицидная активность 48 штаммов в отношении *Staphylococcus aureus* и фунгицидная активность 10 штаммов в отношении *Candida albicans*. Протестировано около 350 сырых и 250 очищенных экстрактов 55 штаммов грибов. Выделены и изучены метаболиты грибов *Calcarisporium arbuscula* (ауровертин «В») и *Sesquicillium candelabrum* (2,3 - диметокси 5,6-диметил бензохинон), обладающие высокой активностью в отношении личинок различных видов комаров. Установлено, что некоторые энтомопатогенные гифомицеты продуцируют ненасыщенные свободные высшие жирные кислоты, проявляющие умеренную москитоцидную и фармакологическую активности. Выявлены экстракты грибов, активные в отношении представителей различных отрядов насекомых, а также экстракты с антагонистической активностью в отношении возбудителей болезней человека (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*) и растений (*Erwinia carotovora*, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*). Получены результаты, указывающие на достаточно высокую активность всех ауровертинов (А,В,С,Д,Е) в отношении *Candida albicans* и полное отсутствие активности в отношении *Staphylococcus aureus*. Из культуральной жидкости гриба *Simplicillium lamellicola* выделена фузидиевая кислота, обладающая высокой селективной активностью против *Staphylococcus aureus* (минимальная действующая концентрация 0,05 мкг/мл).

Несмотря на то, что коллекция была сформирована лишь недавно, к ней проявляют интерес зарубежные специалисты. Так, в американскую коллекцию энтомопатогенных

грибов (ARSEF) по заявке куратора коллекции (R. Number) переданы 227 штаммов микромицетов.

## ВКЛАД А.А. ЕВЛАХОВОЙ В РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ИНДУЦИРОВАННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ Левитин М.М.

Всероссийский институт защиты растений  
Санкт-Петербург

В 50-60-е годы прошлого столетия была открыта целая серия мутагенов, с помощью которых началось экспериментальное получение организмов с новыми наследственными свойствами. Использование индуцированных мутаций сыграло решающую роль в развитии микробиологической промышленности. А.А.Евлахова была первым исследователем, применившим в своей экспериментальной работе различные мутагенные факторы для усиления паразитической активности энтомопатогенных грибов. В 1956 – 1957 гг. ею были начаты опыты по воздействию ядохимикатами, ультразвуком, ультрафиолетовыми и гамма-лучами на вирулентность грибов *Beauveria bassiana* и *Aspergillus flavus*. Уже в первых опытах после облучения УФ-лучами *B. bassiana* были получены штаммы на 20-25% превышающие по вирулентности к вредной черепашке исходные культуры. А.А.Евлахова первой в энтомологической практике предложила использовать УФ-лучи для получения штаммов грибов с повышенной вирулентностью. Эффективным мутагенным фактором оказались гамма-лучи. Штаммы *B. bassiana*, полученные после воздействия радиоактивным кобальтом, отличались очень высокой вирулентностью. Все это свидетельствовало о перспективности использования физических и химических факторов для повышения вирулентности энтомопатогенных грибов. С этого времени А.А.Евлахова с учениками проводит широкий спектр исследований по индуцированной изменчивости энтомопатогенных грибов. В 1966 г. в Трудах Московского общества испытателей природы А.А.Евлахова публикует статью, обобщающую материалы многолетних экспериментальных исследований. Видно, что авторами накоплен большой фактический материал, позволивший установить закономерности в получении полезных вариантов, провести сравнительный анализ эффективности разных мутагенных факторов. Для этого ставились эксперименты по выяснению закономерностей выживаемости и частоты образования мутантов от дозы облучения. Проведенные исследования позволили установить зависимость между выживаемостью, величиной дозы облучения и ее мощности при использовании различных источников радиации, а также закономерность появления новых морфологических вариантов при различной степени выживаемости облученных грибов. В результаты работы с разными видами энтомопатогенных грибов А.А.Евлахова приходит к выводу, что наиболее перспективным для селекции является гриб *B. bassiana*. Гриб поражает более 60 видов насекомых, обладает повышенной энергией роста, чувствителен к воздействию разных мутагенных факторов. В дальнейшем мы воспользовались рекомендациями А.А.Евлаховой и провели большой объем экспериментальных исследований по генетике и селекции полезных штаммов этого гриба. На один из штаммов был получено авторское свидетельство N 515320 на изобретение "Селекционированный штамм N 18 гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., используемый для приготовления препарата против насекомых - боверина" (зарегистрировано 28 января 1976 г.). Совместно с А.А.Евлаховой и ее учениками мы представили на VIII международный конгресс по защите растений (Москва, 1975) обобщающие материалы по использованию мутаций в селекции энтомопатогенного гриба *B. bassiana* и в изучении патогенеза мускардиноза. А.А.Евлахова оставила значительный след в отечественной энтомологии, генетике и селекции энтомопатогенных микроорганизмов. Ее работы по индуцированной изменчивости энтомопатогенных грибов имели в те годы революционное значение для создания микробиологических средств защиты растений. Они остаются актуальными и сегодня.





## ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ МИКОБИОТЫ ПЫЛЬЦЕВОЙ ОБНОЖКИ МЕДОНОСНЫХ ПЧЁЛ

Осинцева Л.А.

Биолого-технологический институт НГАУ  
Новосибирск

Всё более широкое применение биологически активных продуктов пчеловодства в медицине и пищевой промышленности обуславливает необходимость контроля ее качества и безопасности. Микробиологическая безопасность таких продуктов как мед, перга и пчелиная обножка обусловлена прежде всего уровнем загрязнения микромицетами пыльцевых зёрен, которые входят в их состав. Было показано, что в 51% случаев численность грибов и дрожжей в пчелиной обножке, собранной из районов Урала, Западной Сибири, Украины, Казахстана, Прибалтики и Испании превышает установленные санитарно-гигиенические нормативы (Хизматуллин Р.Г. и др., 2004). Результаты оценки микробного загрязнения этого продукта, получаемого на юге Западной Сибири, подтверждают актуальность исследований, направленных на выявление факторов, определяющих количественные и качественные характеристики микобиоты пыльцевой обножки медоносных пчёл (Осинцева Л.А. и др., 2005).

Целью работы являлось установление роли экологических факторов в формировании микобиоты пыльцевой обножки медоносных пчел.

Образцы пыльцевой обножки медоносных пчёл отбирались из пыльцеуловителей на пасеках 12 районов юга Западной Сибири, в различных природно-климатических зонах Новосибирской, Кемеровской областей и Алтайского края в течение семи лет (2002-2008гг.). Для получения монофлёрных образцов проводили механическое деление полифлёрной обножки по цветовой гамме и палинологическое исследование. Выделение и идентификация микромицетов пыльцевой обножки проводилось в лицензированной микробиологической лаборатории Сибирского научно-исследовательского и проектно-технологического института переработки сельскохозяйственной продукции (СибНИПТИП) СО Россельхозакадемии. Использовали стандартный метод глубинного посева в плотные питательные среды Сабуро с левомецитином, Чапека и МПА. Таксономическую принадлежность определяли по совокупности общепринятых морфологических показателей с использованием соответствующих руководств. Сравнение видовой структуры и численности микромицетов в составе микобиоты обножки разного ботанического происхождения, сроков и лет сбора проводили по показателям обилия, частоты встречаемости и уровню доминирования идентифицированных видов. Использовали методы дисперсионного и факторного анализов.

При оценке пыльцевой обножки разных районов, сроков и лет сбора с пасек юга Западной Сибири по показателям микробиологической безопасности установлено, что 67,5% образцов не соответствовало санитарно-гигиеническим требованиям (не более  $10^2$  КОЕ/г) по контаминации плесневыми грибами и дрожжами. В составе микобиоты пчелиной обножки были идентифицированы виды из классов *Hyphomycetes* (49% видов), *Zygomycetes* и *Blastomycetes* (5,6%). Подавляющее большинство гифомицетов составляли виды родов *Penicillium* (85%) и *Aspergillus* (17%). По частоте встречаемости доминировал вид *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler (98%), типично частым был вид *Mucor ramosissimus* Samutsevitch (частота встречаемости 65,2%), 4 вида (*Penicillium camamberti* Thom, *P. verrucosum* Dierkx, *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, *Mucor racemosus* Fres.) отнесены к типично редким, остальные 88,6% видов - к случайным. Более половины идентифицированных микромицетов относятся к потенциально токсиногенным и оппортунистическим видам. Сравнение видовой структуры сообществ микромицетов пыльцевой обножки показало, что основным биотическим фактором их формирования является ботаническое происхождение обножки (доля влияния 86%). Абиотические факторы (погодно-климатические условия сбора обножки) оказывают существенное

влияние не столько на видовой состав (доля влияния 32%), но в большей степени на численность микромицетов (доля влияния 82%). Последнее является определяющим с точки зрения микологической безопасности этого продукта пчеловодства.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИСАХАРИДОВ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *CORDYCEPS MILITARIS*

Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Черноок Т.В.<sup>1</sup>, Бисько Н.А.<sup>2</sup>,  
Поединок Н.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – Институт микробиологии НАН Беларуси

<sup>2</sup> – Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины

Минск – Киев

Изучены физико-химические свойства полисахаридов. Исследование растворимости показало, что полисахариды *C. militaris* частично растворялись в дистиллированной воде при нагревании, хорошо - в 10% NaOH, не растворялись в органических растворителях (спирте, ацетоне, хлороформе и т.д.). Кинематическая вязкость 0,1% водных растворов полисахаридов была немного выше вязкости воды (1,17 мм<sup>2</sup>/с) и составила 1,30 мм<sup>2</sup>/с у эндополисахаридов и 1,21 мм<sup>2</sup>/с у экзополисахаридов. При проведении гельхроматографии полисахариды элюировались несколькими пиками, что свидетельствует об их гетерогенности. У эндополисахарида преобладала фракция с молекулярной массой свыше 1000 кДа, также присутствовали фракции 250 и 20 кДа. У экзополисахаридов преобладала высокомолекулярная фракция с молекулярной массой свыше 1000 кДа, также присутствовали фракции 350, 150 и 20 кДа и менее. В отличие от полисахаридов, синтезируемых высшими базидиомицетами и являющихся преимущественно глюканами, на углеводный состав полисахаридов *C. militaris* значительно влияют как условия культивирования, так и воздействие лазерного излучения. При погруженном культивировании в условиях постоянного перемешивания питательной среды в эндополисахаридах присутствует примерно равное количество глюкозы и маннозы и в 2 раза меньшее – галактозы. В полисахаридах, полученных из биомассы выращенной при стационарном культивировании, содержание глюкозы в 2 раза ниже, чем маннозы и галактозы. По сравнению с контролем, облучение красным светом приводило к значительному снижению в полисахаридах содержания маннозы и галактозы (12,64 и 9,06%, соответственно), а полисахариды из образца, облученного синим светом, на 99,5% состояли из глюкозы. По углеводному составу внеклеточные полисахариды *C. militaris* оказались гетерогликанами. Хроматографический анализ выявил в них наличие тех же углеводов, что и во внутриклеточных полисахаридах, но в несколько другом соотношении. Преобладающим мономером являлась глюкоза, содержание которой (64,07%) оказалось в 1,5 раза выше, чем у полисахарида глубинного мицелия (40,32%). Также присутствуют манноза (21,23%) и галактоза (14,7%). Содержание белка в составе экзополисахаридного комплекса *C. militaris* в 2 раза выше, чем в эндополисахаридах и составляет 15,18%. Для характеристики структурных особенностей экзо- и эндополисахаридов *C. militaris* анализировали их ИК-спектры. В области 1100-1000 см<sup>-1</sup> отмечается интенсивная полоса поглощения, характерная для класса углеводов. Сильные полосы находятся в области 3400 см<sup>-1</sup>. Их рассматривают как проявление валентных колебаний –ОН- групп. Полоса 2940 см<sup>-1</sup> с плечом в коротковолновой области говорит о проявлении колебаний СН<sub>2</sub>- групп. Наличие полосы при 1415 см<sup>-1</sup> (симметричные колебания групп –СООН) указывает на кислый характер обоих полисахаридов. Полоса 1550 см<sup>-1</sup> относится к колебаниям =NH- групп, что является подтверждением того, что в составе полисахаридного комплекса присутствует азот (белок). По сравнению с ИК-спектром эндополисахарида, присутствие в спектре экзополисахарида более сильной полосы 890-900 см<sup>-1</sup> говорит и о преобладании в этом образце □-гликозидных связей. Имеются незначительные полосы поглощения при 920, 840 и 760 см<sup>-1</sup>, характерные для □-гликозидных связей. Таким образом, полисахариды *C. militaris* являются пептидогликанами с молекулярной массой 20-1000 кДа. По углеводному составу они

гетерогликаны, состоящие из глюкозы, маннозы и галактозы. Исследование ИК-спектров позволило установить в их структуре наличие  $\alpha$ - и  $\beta$ -гликозидных типов связей. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-ГФФИУ (грант № Б07К-001).

## **ЗАРАЖЕНИЕ МИКОПАТОГЕНАМИ И УРОВЕНЬ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В ЛОКАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА**

**Сурина Е.В., Беньковская Г.В.**

*Башкирский Государственный Педагогический Университет имени М. Акмуллы  
Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН  
Уфа.*

Энтомопатогенные грибы, относящиеся к гифомицетам (*Deutero mycota*, *Hyphomycetes*), широко распространены в природе, и для многих видов насекомых являются активными регуляторами численности. Мы предприняли попытку сравнения уровня заражения микопатогенами в локальных популяциях колорадского жука на территории Республики Башкортостан, различающихся по токсикологическим характеристикам.

Оценку уровня заражения природными микопатогенами проводили в 13 выборках (объем выборки от 100 до 450 особей) перезимовавших имаго колорадского жука, собранных в период массовой откладки яиц (июнь 2008 года) на частных посадках и товарной плантации картофеля в 13 районах. Имаго содержали в лабораторных условиях на свежем корме в чашках Петри либо в пластиковых сосудах с вентиляцией.

Оценку чувствительности к инсектицидам проводили контактным методом путем нанесения спиртовых растворов (1 мкл/особь, 2 повторности по 20 особей) с диагностической концентрацией соответствующего инсектицида на переднегрудь имаго. Были использованы препараты из классов фосфорорганических соединений (ФОС: Актеллик, КЭ 500 г/л), пиретроидов (Децис, КЭ 25 г/л), неоникотиноидов (Актара, ВДГ 250 г/кг), фенилпиразолов (Регент, КЭ 25 г/л). Учеты смертности проводили спустя 10 суток после обработки. При учетах отмечали имаго, на теле которых были видны проросшие гифы, либо особи с симптомами микоза

Сравнение полученных данных позволяет выделить в ряду локальных популяций несколько групп, среди которых на высоком уровне значимости ( $p \leq 0,999$ ) различаются две: 1) выборки, в которых доля зараженных особей составляет не менее 0,2 и 2) выборки, в которых эта доля составляет не более 0,05.

Данные токсикологического анализа позволяют отметить, что в локальных популяциях второй группы сохраняется высокий уровень устойчивости к актеллику (доля устойчивых особей составила  $0,79 \pm 0,02$ ) при относительно высокой чувствительности к остальным препаратам (доля устойчивых особей составила в среднем  $0,13 \pm 0,008$ ). В первую группу входят локальные популяции, для которых характерна множественная резистентность: доля особей, устойчивых не менее чем к двум препаратам составляла в них  $0,84 \pm 0,05$ . Наряду с ними в эту группу входят популяции, в которых сохраняется чувствительность ко всем использованным инсектицидам: доля устойчивых к различным препаратам особей в них не превышала  $0,085 \pm 0,05$ . В этих выборках отсутствовали особи, устойчивые к децису и регенту. Подразделение в первой группе локальных популяций становится особенно заметным при сравнении доли зараженных особей в вариантах с обработкой инсектицидами. В локальных популяциях с высоким уровнем устойчивости доля зараженных особей выше среди обработанных имаго (0,23-0,49) и ниже среди контрольных групп (0-0,08), тогда как в выборках из популяций с высоким уровнем чувствительности к инсектицидам наблюдается обратное соотношение (соответственно 0,09-0,17 и 0,3-0,45).

Выявленный полиморфизм требует детальных исследований как видового состава микопатогенов, поражающих колорадского жука, так и генетических основ восприимчивости устойчивости насекомого-хозяина к энтомопатогенным грибам.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 08-04-97015-р\_поволжье\_a.

## МИКРОМИЦЕТЫ ПРОДУКТОВ ПЧЕЛ

Чекрыга Г.П.

Сибирский НИПТИ переработки сельскохозяйственной продукции СО РСХА  
п. Краснообск, Новосибирская область

Пыльца и мед находят всё большее применение в медицине для лечения некоторых заболеваний человека, причем подавляющее число населения подвержены аллергическим заболеваниям особенно во время цветения пыльценосов, а также и при употреблении мёдов. На сегодняшний день принято считать, что причиной является то, что пчелы могут собирать пыльцу и нектар с некоторых видов растений, которые обладают ядовитыми свойствами (Кулаков и др., 2006) Но есть другая сторона это плесени, несомненно, относящиеся к числу одной из основных причин вызывающих аллергии. Микогенная аллергия представляет собой серьезную проблему и широко распространена, но следует отметить, что действие грибов обусловлено иммунологической гиперчувствительностью каждого человека.

Нами исследована микобиота образцов меда и пыльцевой обножки, собранных на пасеках юга Западной Сибири в течение 2006-2008 годов.

Специфика микобиоты каждого образца меда проявляется в качественном и количественном сочетании видов микромицетов. В микобиоте 9 изученных образцов идентифицировано 17 видов, отнесенных к 9 родам. В основном в медах сохраняли способность к развитию споры грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus* (56.3 %), в 66.7% исследованных образцах выявлены споры микромицетов только этих родов. Причем необходимо отметить, что 33.0% видов этих родов встречались не более чем в 2-х исследованных микоценозах, а 67.0% в каком-либо одном, что свидетельствует об уникальности каждого состава, на который, скорее всего, оказывают влияние природно-климатические условия: почва, воздух, температура, влажность, растения и т.д. По частоте встречаемости выявлены доминирующие виды, характерные для каждого района сбора. В микобиоте меда из Коченевского района НСО доминировал вид *Penicillium janthinellum* Biourge, оказывающий нейротоксическое действие на человека (Тутельян и др, 1985), Новосибирского района (НСО) – *Aspergillus restrictus* G. Sm., возбудитель эндокардита, онихомикоза (Саттон и др. 2001) и *Penicillium spinulosum* Thom, а в Залесовском районе Алтайского края – *Mucor racemosus* Bull., вызывающий отравления (Билай и др.1990).

Наиболее благоприятным субстратом для микромицетов является пыльцевая обножка. В микобиоте 9 исследованных образцов идентифицировано 43 вида грибов из 21 рода, в 3 раза больше, чем в микобиоте мёдов. Преобладают также грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus* – 19 видов (44,2%), 68% видов этих родов встречались лишь в каком-либо одном, а 26.0% не более чем в 2-х исследованных микоценозах. Из сем. Dematiaceae по частоте встречаемости доминировал вид *Alternaria alternata* (Fr.), Keissl - (100.0%), как известно споры грибов этого рода способны вызывать аллергию. Из видов, которые встречались с меньшей частотой, идентифицированы *Alternaria tenuissima* (Fr.) Wiltshire - (50.0%), *Cladosporium herbarum* (Persoon) Link - (50.0%), вызывающий поражение кожи, *Cl. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, (33.3%) возбудитель легочных и кожных инфекций (Саттон и др. 2001), Из порядка Mucorales идентифицированы виды *Mucor racemosus* Bull., (50.0%), *Rhizopus microsporus* v. Tiegh., *Apophysomyces elegans* Misra, Srivastava et Lata., *Absidia corumbifera* (Cohn) Sacc. & Trotter.ю (по 33.3%), возбудители зигомикоза у человека (Саттон и др. 2001).

Таким образом, в медах и пыльцевой обножки медоносных пчел пасек юга Западной Сибири выявлены виды микромицетов - возбудителей многих инфекционных и аллергических заболеваний человека.

# ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИЧИНОК КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ *Aedes aegypti* НА НАРАЩИВАНИЕ БИОМАССЫ, ООСПОРООБРАЗОВАНИЕ И ПАТОГЕННОСТЬ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *LAGENIDIUM GIGANTEUM*

Черепенникова М.И.<sup>1</sup>, VanderGheynst J.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – ВНИИ Сельскохозяйственной Биотехнологии РАСХН

<sup>2</sup> – Department of Biological and Agricultural Engineering, University of California,

Москва – Девис (Калифорния, США)

В жизненном цикле *L. giganteum*, факультативного паразита личинок кровососущих комаров, присутствуют два типа спор: короткоживущие (зооспоры) и долгоживущие (ооспоры). Зооспоры формируются при бесполой репродукции и инфицируют личинок кровососущих комаров. Ооспоры формируются в результате половой репродукции и служат как для распространения патогена, так и для сохранения жизнеспособности вне организма – хозяина. При наступлении благоприятных условий ооспоры, прорастая, высвобождают зооспоры, которые и возобновляют жизненный цикл энтомопатогенного гриба *L. giganteum*. Так, *L. giganteum* культивируют и используют для биологического контроля кровососущих комаров. При этом основной проблемой является сохранение жизнеспособности мицелия при длительном хранении. Процент патогенности *L. giganteum* и количество жизнеспособного мицелия уменьшается с увеличением срока хранения. Для стимуляции ооспорообразования *L. giganteum*, как и другим представителям оомицетов, необходимо добавление в питательные среды: стеролов или их производных, лецитина, растительных масел (конопляное, кукурузное, льняное, хлопковое). В данном сообщении представлены результаты по воздействию экстракта из личинок кровососущих комаров *Aedes aegypti* (МЭ) на ооспорообразование, изменение биомассы, инфекционности энтомопатогенного гриба при выращивании *in vitro*. Для культивирования *L. giganteum* использовали различные жидкие и твердые питательные среды, с добавлением и без МЭ. Изолят *L. giganteum* выращивали в течение 10 дней при температуре 26 °С. Для каждой пробы производили подсчет сухой биомассы, количество и жизнеспособность ооспор, оценку патогенности. Расчет биомассы и количества ооспор произведен на 50 мл среды.

Установлено, что наилучшие результаты при формировании ооспор были получены при добавлении в различные среды 10% МЭ на 3 день после инокуляции гриба. При этом происходило как увеличение количества ооспор, так и возрастала доля их жизнеспособности. Максимальное количество ооспор было  $28,31 \times 10^6$ , максимальная доля жизнеспособных ооспор - 95,84%. При проведении биотеста по определению патогенности *L. giganteum* была отмечена 100% гибель личинок кровососущих комаров в течение суток после заражения, если гриб был выращен на среде с добавлением 10% МЭ. Показано, что МЭ оказывает воздействие на биомассу гриба. Увеличение биомассы на различных средах при добавлении 1% МЭ по сравнению с аналогичными средами без добавления МЭ составляло 2,78 до 4,14 раз в зависимости от типа среды. Так, максимальная биомасса получена при добавлении 1% МЭ в среду PYGC и достигала 0,6012 г, что превышало биомассу, полученную на среде PYGC без добавления МЭ, в 3,75 раз. При этом добавление в различные среды 10% МЭ не оказывало столь выраженного эффекта на биомассу и превышало контрольную биомассу не более чем в 1,76 раз. Таким образом, наше исследование показало, что добавление к питательной среде 10% МЭ индуцирует формирование жизнеспособных ооспор *L. giganteum*, усиливает агрессивность энтомопатогенного гриба при инфицировании личинок кровососущих комаров, однако не оказывает заметного влияния на биомассу.



## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СООТНОШЕНИЯ ХОЛЕСТЕРОЛ/ ЛЕЦЕТИН В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА ПОЛОВУЮ РЕПРОДУКЦИЮ МОСКИТОЦИДНОГО ГРИБА *LAGENIDIUM GIGANTEUM* COUCH

Черепенникова М.И.<sup>1</sup>, VanderGheynst J.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – ВНИИ Сельскохозяйственной Биотехнологии РАСХН

<sup>2</sup> – Department of Biological and Agricultural Engineering, University of California, Москва – Девис (Калифорния, США)

*Lagenidium giganteum* Couch - факультативный паразит личинок кровососущих комаров. Этот оомицет позиционируется как один из наиболее перспективных москитоцидных грибов. Использование *L. giganteum* как эффективного агента для биологического контроля кровососущих комаров определяется тем, что этот оомицет способен: продуцировать быстро и неоднократно несколько форм инфекционного инокулюма (зооспоры, ооспоры, мицелий), инфицировать личинку комара в течение нескольких часов, вести сапротрофный образ жизни, существовать в водоёмах с большим количеством антагонистов, а также имеет дополнительных хозяев - мелких копепод. Половая репродукция *Oomycetes* представляет большой научный интерес, т. к. ооспоры, которые являются результатом полового процесса и представляют собой толстостенные покоящиеся структуры, обеспечивают распространение и существование патогена вне организма хозяина. Показано, что для формирования ооспор необходимо добавление в питательные среды растительных масел, стеролов или их производных. Однако количество ооспор не превышало  $4,5 \times 10^6$  на 110 мл среды. Штамм *L. giganteum* выращивали на жидкой питательной среде, содержащей: глюкозу - 0,5 г/л; дрожжевой экстракт - 2 г/л, пептон - 0,5 г/л,  $MgCl_2$  - 0.5 mM,  $CaCl_2$  - 0.5 mM в течение 10 дней при температуре 26 °C. В среду добавляли холестерол или лецитин в следующих концентрациях 0,01 г/л; 0,025 г/л; 0,05 г/л; 0,1 г/л; 0,25 г/л; 0,5 г/л. В данной работе оценивали следующие параметры: наращивание биомассы, количество ооспор и долю жизнеспособных ооспор. Расчет сухой биомассы и количества ооспор произведен на 50 мл среды.

Показано, что добавление холестерола в среду оказывало стимулирующее действие на формирование ооспор у *L. giganteum*. Наибольшее количество ооспор было получено при добавлении в среду 0,025 г/л холестерола, что составило  $23,43 \times 10^6$ , доля жизнеспособных ооспор - 24,66%. Однако добавление холестерола не оказывало влияния на жизнеспособность ооспор. Доля жизнеспособных ооспор составлял 0 – 26,89%. Добавление в питательную среду более 0,025 г/л лецитина оказывало ингибирующее действие на ооспорообразование. Максимальное количество ооспор было получено при добавлении в питательную среду 0,01 г/л лецитина и составляло  $1,12 \times 10^6$  (12,76%). Доля жизнеспособных ооспор была от 0 до 13,5%. Добавление в среду 0,01 г/л холестерола увеличило биомассу гриба до 0,2267 г, в то время как добавление лецитина не отразилось на биомассе патогена. Установлено, что добавление в среду холестерина и лецитина в соотношении 2,5:1 не оказывает влияния на биомассу гриба и количество ооспор, однако повышает долю жизнеспособных ооспор до 30,29%.

Таким образом, наше исследование показало, что одновременное добавление в питательную среду холестерола и лецитина в соотношении 2,5:1 повышает жизнеспособность ооспор.

## ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА НА ФОРМИРОВАНИЕ ООСПОР И БИОМАССЫ *LAGENIDIUM GIGANTEUM IN VITRO*

Черепенникова М.И.<sup>1</sup>, VanderGheynst J.S.<sup>2</sup>

1 – ВНИИ Сельскохозяйственной Биотехнологии РАСХН

2 – Department of Biological and Agricultural Engineering, University of California,

Москва – Девис (Калифорния, США)

*Lagenidium giganteum* Couch - факультативный эндопаразит личинок комаров, *Daphnia* sp. и копепод. Жизненный цикл *L. giganteum* состоит из трех последовательных фаз: паразитической, репродуктивной и покоящейся. В результате половой репродукции *L. giganteum* формирует ооспоры, которые являются покоящимися структурами. Ооспоры - это наиболее устойчивая стадия жизненного цикла гриба. Они помогают патогену пережить неблагоприятные условия окружающей среды и служат для распространения в пространстве. Ооспоры сохраняют жизнеспособность в течение 7 лет в обезвоженном состоянии. После наступления благоприятных условий они способны прорасти мицелием или зооспорангием, который формирует жизнеспособные зооспоры, поражающие личинок комаров. Разработаны и продолжают развиваться методы культивирования *L. giganteum in vitro*. При культивировании *L. giganteum* способен быстро увеличивать плотность инокулюма посредством бесполой репродукции. Однако формирование ооспор *in vitro* до сих пор остается актуальной проблемой. Физиологические исследования различных отделов грибов показывают, что источники азота являются важными составляющими в формировании жизнеспособных покоящихся профаг и их прорастании. Калифорнийский изолят *L. giganteum* выращивали на жидкой питательной среде, содержащей: глюкозу - 1 г/л; дрожжевой экстракт - 2 г/л, холестерол - 0,025 г/л, MgCl<sub>2</sub> - 0.5 mM, CaCl<sub>2</sub> - 0.5 mM в течение 10 дней при температуре 26 °C. В исследовании в качестве источника азота использовали аспарагин, серин, пептон в концентрациях 0,05 г/л; 0,06 г/л; 0,1 г/л; 0,25 г/л; 0,5 г/л; 1,0 г/л. В каждой пробе производили подсчет сухой биомассы и количества ооспор. Оценивали следующие параметры: наращивание биомассы, количество ооспор и долю жизнеспособных ооспор. Расчет биомассы и количества ооспор произведен на 50 мл среды.

Установлено, что максимальное количество ооспор было получено при концентрации аспарагина 0,05 г/л - 14,8x10<sup>6</sup> (48,2%), серина 0,05 г/л - 15x10<sup>6</sup> (12,33%), пептона 0,25 г/л - 22,54x10<sup>6</sup> (19,7%). Самая высокая доля жизнеспособных ооспор выявлена при добавлении в среду аспарагина 0,06 г/л - 9,63x10<sup>6</sup> (52,89%), серина 0,25 г/л - 12,78x10<sup>6</sup> (30,44%), пептона 1 г/л - 14,09x10<sup>6</sup> (27,64%). Доля жизнеспособных ооспор уменьшалась с 29,73% до 10,66% когда увеличивали концентрацию аспарагина с 0,1 г/л до 1 г/л. При использовании серина в концентрациях 0,05 г/л, 0,06 г/л, 0,1 г/л, 0,25 г/л, 0,5 г/л и 1,0 г/л доля жизнеспособных ооспор была 12,33%, 12,89%, 16,71%, 30,44%, 27,25% и 22,11%, соответственно. Доля жизнеспособных ооспор была 12,25% при концентрации пептона 0,05 г/л в среде. При других концентрациях пептона доля жизнеспособных ооспор варьировала от 19,7% до 27,63%. Максимальная биомасса (0,7653 г) была получена при культивировании *L. giganteum* на среде, содержащей 0,05 г/л аспарагина. С увеличением количества аспарагина в среде отмечено резкое снижение биомассы с 0,2087 г до 0,1567 г. Использование серина и пептона не оказало значительного влияния на биомассу гриба. Таким образом, наше исследование показало, что замена в питательной среде пептона на аспарагин в концентрации 0,05 г/л индуцирует формирование жизнеспособных ооспор *L. giganteum*, а также усиливает рост биомассы энтомопатогенного гриба.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОБАВОК НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ БЛАСТОСПОР ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *VERTICILLIUM LECANII* (ZIMM.) VIEGAS.

Чоглокова А.А., Сокорнова С.В., Митина Г.В.

Всероссийский НИИ защиты растений

Санкт-Петербург

При разработке биопестицидов важное значение имеет стабилизация инфекционных единиц. Выживаемость бластоспор энтомопатогенных грибов после ферментации зависит от влажности биомассы гриба, наличия питательных веществ и посторонней микрофлоры, условий хранения.

Изучено влияние различных добавок на жизнеспособность спор энтомопатогенного гриба *V.lesanii* штамм VI-21 в процессе хранения. Были испытаны влагоудерживающие добавки, консерванты, антибиотики, а также полимерные материалы. В образцы биомассы гриба (влажность 80-90%), полученной после выращивания на колбах в глубинных условиях, вносили различные добавки и хранили в течение 2 месяцев при температуре 4°C. В процессе хранения определяли жизнеспособность спор в образцах (КОЕ/г), контаминацию, оценивали органолептические характеристики.

Наиболее высокий уровень КОЕ через 2 месяца хранения показали образцы пасты с добавкой картофельного крахмала ( $1,0 \cdot 10^5$  КОЕ/г), агара ( $8,0 \cdot 10^5$  КОЕ/г), полиакриламидного геля ( $1,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г), лецитина ( $2,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г), гидрогеля – сополимера акриламида с акрилатом калия №1 (фракция < 0,2 мм) –  $5,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г и №5 (фракция 1-2 мм) –  $1,8 \cdot 10^6$  КОЕ/г. В исходной биомассе уровень КОЕ составлял  $2,1 \cdot 10^8$  в грамме. Через месяц хранения отмечена контаминация в большинстве образцов, исключение составил образец с лецитином. Изученный штамм проявил высокую чувствительность ко многим традиционно применяемым консервантам, таким как бензоат натрия, нитрат натрия, сорбиновая кислота,  $\text{CuSO}_4$ , фосфат натрия, нитрат натрия в концентрации 0,5%. Однако, 0,2%-ный бензоат натрия и 0,1%-ная борная кислота, пенициллин и стрептомицин в концентрации 0,02% предохраняли образцы влажной биомассы гриба от контаминации в течение 2-х месяцев, при этом жизнеспособность бластоспор снижалась незначительно. Через два месяца в образце с бензоатом натрия она составила  $1,6 \cdot 10^6$  КОЕ/г, с борной кислотой –  $3,9 \cdot 10^6$  КОЕ/г, со стрептомицином –  $1,1 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

Лучшие добавки в комбинации со стрептомицином и борной кислотой обеспечили стабильное сохранение жизнеспособности бластоспор и отсутствие контаминации в образцах. Вирулентность этих образцов в отношении виковой тли *Megoura viciae* Buckt. достигала 100% на 7-е сутки учета (инфекционная нагрузка  $5,0 \cdot 10^6$  спор/мл), что на 40% выше вирулентности споровой суспензии исходного штамма гриба.