

леса / С.Н. Санников, Н.С. Санникова. – М.: Наука, 1985. – 152 с.

2. Фуряев В.В. Изучение послепожарной динамики лесов на ландшафтной основе / В.В. Фуряев, Д.М. Киреев. – Новосибирск: Наука, 1979. – 160 с.

3. Валендик Э.Н. Экологические аспекты лесных пожаров в Сибири / Э.Н. Валендик // Сибирский экологический журнал. – 1996. – Т. 3. – № 1. – С. 64-69.

4. Парамонов Е.Г. Крупные лесные пожары в Алтайском крае / Е.Г. Парамонов, Я.Н. Ишутин. – Барнаул: Дельта, 1999. – 193 с.

5. Понятовская А.А. Учет обилия и характера размещения растений в сообще-

ствах / А.А. Понятовская // Полевая геоботаника. – М.; Л.: Наука, 1964. – Т. 3. – С. 209-285.

6. Сукачев В.Н. Методические указания к изучению типов леса / В.Н. Сукачев, С.В. Зонн. – М., 1961. – 144 с.

7. Юнатов А.А. Заложение экологических профилей и пробных площадей / А.А. Юнатов // Полевая геоботаника. – М.; Л.: Наука, 1964. – Т. 3. – С. 9-35.

8. Шенников А.П. Введение в геоботанику / А.П. Шенников. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1964. – 447 с.

9. Грейг Смит П. Количественная экология растений / Смит П. Грейг. – М.: Наука, 1984. – 318 с.



УДК 579.61:582.288

А.М. Шариков



ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБА РОДА *TRICHODERMA*

Ключевые слова: несовершенные грибы, метаболиты, бактерицидное действие, грамотрицательные и грампозитивные микроорганизмы, метод лунок.

Введение

Интерес к получению из несовершенных грибов биологически активных препаратов, в частности, антибиотиков, в наше время только возрастает [1].

Метаболиты и экстракты несовершенных грибов обладают биологической активностью; одной из важнейших таковых характеристик является бактерицидность [2-4].

Источником новых антибиотиков могут служить грибы родов *Trichoderma*, способные синтезировать широкий комплекс веществ [5, 6].

В условиях роста на богатой питательной среде антагонистическое действие грибов рода *Trichoderma* проявляется с большей силой, чем на бедной питательными веществами среде. Следовательно, такое проявление не является результатом обеднения субстрата, а естественным

свойством антагониста, выработанным в процессе эволюции [5].

Считается, что хитиноподобные ферменты *T. harzianum* и *T. virens* отвечают за разрушение клеточных стенок грибов и таким образом эффективно действуют в биологической защите [7, 8].

Микопаразитизм не является основным механизмом взаимодействия грибов в почве. Сейчас широко известно, что разные виды грибов рода *Trichoderma* в процессе жизнедеятельности выделяют токсические вещества, обладающие антибиотическими свойствами. В основе их действия лежит механизм вмешательства в процессы биосинтеза белка или хитина, происходящие в клетках фитопатогенов. Многие из антибиотиков охарактеризованы по спектру действия и химическому составу, причём для некоторых из них отмечено отсутствие видовой специфики [5, 9-11].

Систематические исследования биологической активности штаммов грибов рода *Trichoderma*, изолированных в Центральной Сибири, и изучение их метаболитов в отношении условно-патогенных и патоген-

ных микроорганизмов к настоящему времени проводятся не в должном объёме [12, 13].

Целью настоящей работы являлось изучение антибиотической активности метаболитов штамма 30 гриба вида *Trichoderma asperellum* в отношении грамотригативных штаммов *Salmonella odorifera* и *Salmonella enteritidis* и грампозитивного штамма *Bacillus subtilis*.

Объекты и методы

Объектом исследования служил штамм 30 вида *T. asperellum*, выделенный из почвенного микробоценоза на территории Центральной Сибири. Действие метаболитов, полученных от изолированного штамма, изучали в отношении культур, выделенных во время оперативного вмешательства от больных панкреанекрозом пациентов городской клинической больницы № 7 города Красноярск.

Метаболиты штамма 30 *T. asperellum* получали путем жидкофазного глубинного культивирования на питательной среде Чапека в течение пяти суток при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ с последующей фильтрацией через мембранный фильтр.

Для предварительного культивирования изучаемый штамм бактерий засеивали на питательный агар (ГРМ-агар) производства ФГУП «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», затем инкубировали в термостате в течение трёх суток при 37°C . Полученные изолированные типичные колонии отбирали петлёй и суспендировали в пробирках со стерильным физиологическим раствором по стандарту мутности. Посевная доза взвесей микроорганизмов составляла $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл (0,5 по стандарту мутности McFarland).

Посев приготовленной суспензии осуществляли по Кирби-Бауэру отжатым ватным тампоном в трёх направлениях на пластины подсушенного агара Мюллера-Хинтона, разлитого в чашки Петри.

Определение бактерицидной активности исследуемых метаболитов осуществляли методом лунок. В лунки, сделанные стерильным пробочным сверлом в только что засеянных чашках, стерильными сменными наконечниками вносили полученный культуральный фильтрат штамма 30 *T. asperellum* в количестве 0,1 мл.

Контролем служил физиологический раствор. Опыт проводили в трёх повторностях. После внесения в лунки культуральной жидкости с метаболитами засеянные чашки переносили, не переворачивая, в термостат и инкубировали при температуре 37°C в течение пяти суток.

Наблюдения за ростом тест-культур начинали после суток инкубирования.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v.6.0.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что метаболиты, содержащиеся в культуральном фильтрате штамма 30 *T. Asperellum*, оказывают ингибирующее действие на развитие всех изучаемых тест-культур, однако степень ингибирования была неодинаковой (табл.).

Установлено, что в наименьшей степени исследуемый метаболит гриба воздействовал на штамм *S. enteritidis*: зона отсутствия роста составляла 13,0 мм как на вторые, так и на пятые сутки наблюдения. Наибольшая величина зоны отсутствия роста вокруг лунок с метаболитом была отмечена при действии на штамм *Bacillus subtilis* на вторые сутки: зона отсутствия роста составляла 16,0 мм. При дальнейшем инкубировании, однако наблюдалось незначительное уменьшение зоны подавления роста тест-культуры.

По нашим предположениям, это связано скорее с бактериостатическим, чем с бактериолитическим действием биологических активных веществ, на тот момент в максимальном объёме присутствовавших в изучаемом метаболите.

Таблица

Величина зон отсутствия роста ($M \pm \sigma$, мм) тест-культур вокруг лунок, содержащих культуральный фильтрат штамма 30 вида *Trichoderma asperellum*

Тест-культура	Длительность инкубирования штаммов, сутки	
	2	5
<i>S. enteritidis</i>	$13,0 \pm 2,0$	$13,0 \pm 2,0$
<i>S. odorifera</i>	$15,0 \pm 3,0$	$13,0 \pm 2,0$
<i>B. subtilis</i>	$16,0 \pm 3,0$	$13,0 \pm 2,0$

Заключение

Известно, что разные виды рода *Trichoderma* в процессе жизнедеятельности выделяют активные вещества, обладающие антибиотическими свойствами: триходермин, соцукаллин, дермадин, виридин, глиотоксин, алламицин и др. [5, 9, 10].

В основе их действия лежит механизм вмешательства в процессы биосинтеза белка, происходящий в клетках микроорганизмов.

Антибиотические вещества грибов *Trichoderma* активно выделяются во внешнюю среду и эффективны в подавлении многих почвенных патогенов. Эти свойства широко используются микробиологами для отбора наиболее перспективных штаммов биологического контроля *in vitro*.

Многие из антибиотиков охарактеризованы по спектру действия и химическому составу, причём для некоторых из них отмечено отсутствие видовой специфики.

Метаболиты изученного штамма 30 вида *Trichoderma asperellum* содержат биологически активные вещества, оказывающие бактериостатическое действие на микроорганизмы. Механизм действия антибиотических веществ, находившихся в изучаемых метаболитах, связан, по видимому, с действием на клеточную стенку бактерий.

Библиографический список

1. Филиппова И.А. Естественное лекарство нового тысячелетия: грибы против рака / И.А. Филиппова. – СПб.: Диля, 2005. – 128 с.
2. Ершова Е.Ю. Поиск продуцентов антибиотиков грибного происхождения, эффективных в отношении метициллинрезистентных стафилококков: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е.Ю. Ершова. – М., 2003. – 26 с.
3. Molitoris H.P. Mushrooms in medicine / H.P. Molitoris // Folia Mikrobiol. – 1994. – V. 39. – N. 2. – P. 91-98.
4. Чхенкели В.А. Некоторые аспекты медико-биологических исследований высших дереворазрушающих базидиомицетов как источника биологически активных веществ / В.А. Чхенкели, Г.Д. Чхенкели, Е.Д. Агапова и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2001. – № 1. – С. 59-65.

5. Сейкетов Г.Ш. Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике / Г.Ш. Сейкетов. – Алма-Ата: Наука, 1982. – 248 с.

6. Sharikov A.M. To the issue of using of the fungi of *Trichoderma* kind as the producent of the biologically active substances / A.M. Sharikov, D.A. Neshumaev, N.A. Zaika et al. // Program & abstracts: The XII Symposium of the Russia – Japan medical exchange. – Krasnojarsk, 2005. – P. 661-662.

7. Di Pietro A. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin / A. Di Pietro, M. Lorito, C.K. Hayes, R.M. Broadway, G.E. Harman // Phytopathology, 1993. – 83. – P. 308-313.

8. Lorito M. Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan 1,3- β -glucosidase and an N-acetyl- β -glucosaminidase from *Trichoderma harzianum* / M. Lorito, C.K. Hayes, A. Di Pietro, S.L. Woo, C.E. Harman // Phytopathology. – 1994. – 84. – P. 398-405.

9. Howell C.R. Relevance of mycoparasitism in the biological control of *Rhizoctonia solani* by *Glioclaadium virens* / C.R. Howell // Phytopathology, 1987. – 77. – P. 992-994.

10. Lumsden R.D., Lewis I.A., Locke J.C. Managing soilborne plant pathogens with fungal antagonists. In: Pest Management: Biologically Based Technologies (ed. R.D. Lumsden & J.L.Vaughn), 1993. – P. 196-203.

11. Билай В.И. Определитель токсинобразующих микромицетов / В.И. Билай, З.А. Курбацкая. – Киев: Наукова думка, 1990. – 223 с.

12. Шариков А.М. Выявленная антибиотическая активность грибов рода *TRICHODERMA* в отношении штамма *BACILLUS ANTHRACIS* СТИ-1 / А.М. Шариков // Научная перспектива. – 2010. – № 10. – С. 92-93.

13. Шариков А.М. Изучение антибиотической активности метаболитов грибов рода *TRICHODERMA* в отношении бактерий рода *VIBRIO* / А.М. Шариков // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2010. – № 10. – С. 24-25.

