

Формирование и оценка фиторегуляторного потенциала мультивидовых биоплёнок на основе *Fischerella muscicola*

© 2018. Л. И. Домрачева^{1,2}, д. б. н., профессор, в. н. с.,
И. Г. Широких^{2,3,4}, д. б. н., профессор, в. н. с.,
Е. В. Товстик^{1,3,4}, к. б. н., магистрант, доцент, н. с.,
С. Г. Скугорева^{1,2,4}, к. б. н., магистрант, доцент, н. с., Е. Н. Резник, к.б.н., доцент⁴,

¹Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,

³Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166а,

⁴Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36,

e-mail: tovstik2006@inbox.ru, irgenal@mail.ru, dli-alga@mail.ru, skugoreva@mail.ru

В статье представлены результаты опытов по изучению особенностей формирования биоплёнок на основе двух- и трёхкомпонентных ассоциаций микроорганизмов с участием цианобактерии (ЦБ) *Fischerella muscicola* 300, стрептомицета *Streptomyces wedmorensis* 38.11 и микромицета *Fusarium avenaceum* 7/2. Показано, что при интродукции микроорганизмов в стерильную почву на её поверхности за три месяца экспозиции на свету, в вариантах с монокультурой ЦБ и с трёхкомпонентной ассоциацией формируются разрастания (биоплёнки) с плотностью популяций фототрофного компонента, превышающей 50 млн кл./см². Агрегирование клеток в подобных биоплёнках связано не только с выделением полисахаридной слизи ЦБ, но и с созданием сетчато-нитчатой структуры разрастания за счёт нитей ЦБ и мицелия гетеротрофных партнёров, суммарная длина которых может достигать показателей, превышающих 400 м/см². В опытах с инокуляцией семян *Triticum aestivum* L. установлено, что двухкомпонентную ассоциацию *Fischerella muscicola* + *Streptomyces wedmorensis* в перспективе можно использовать в качестве биологического агента для ограничения развития фузариозной инфекции в ризосфере высшего растения.

Ключевые слова: цианобактерии, стрептомицеты, микромицеты, биоплёнки, плотность популяций, ризосфера, микробная инокуляция.

Formation and assessment of the phyto regulatory potential of multispecies biofilms based on *Fischerella muscicola*

© 2018. L. I. Domracheva^{1,2}, I. G. Shirokikh^{2,3,4},
E. V. Tovstik^{1,3,4}, S. G. Skugoreva^{1,2,4}, E. N. Reznik⁴,

¹Vyatka State Agricultural Academy,
133 Oktyabrskiy Prospect, Kirov, Russia, 610017,

²Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,
28 Kommunisticheskaya St., Syktvkar, Komi Republic, Russia, 167982,

³Federal Agricultural Research Centre of North-East named after N.V. Rudnitskiy,
166a Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

⁴Vyatka State University,

36 Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

e-mail: tovstik2006@inbox.ru, irgenal@mail.ru, dli-alga@mail.ru, skugoreva@mail.ru

The results of experiments on the study of the features of the formation of biofilms on the basis of two- and three-component associations of microorganisms with the participation of *Fischerella muscicola* 300 cyanobacteria, *Streptomyces wedmorensis* streptomycete 38.11 and *Fusarium avenaceum* 7/2 micromycete are presented in the article. When microorganisms are introduced into sterile soil, over the three months of exposure to light, in variants with a monoculture of cyanobacteria and with a three-component association, growths (biofilms) with a population density of a phototrophic

component exceeding 50 million cells/cm² are formed. In biofilms formed by two-component associations, cyanobacteria experienced inhibition by partners, reducing the number of cells 2.4–7.0 times, and the length of filaments 3.6–7.0 times, depending on the nature of the associate. The growth of the *Fischerella* was limited by the streptomycete culture to a greater degree than by the fungus. In ground biofilms formed on the basis of cyanobacteria *Fis. muscicola*, the phytopathogenic fungus *F. avenaceum*, in the saprotrophic phase of development, is able to unite into single structured complexes with other participants in the multi-species consortium of microorganisms, including their antagonists. Aggregation of cells in biofilms is associated not only with the isolation of polysaccharide mucus cyanobacteria, but also with the creation of a net-thread structure of growth due to threads of cyanobacteria and mycelium of heterotrophic partners, the total length of which can reach values exceeding 400 m/cm². The development of such biofilms on the soil surface significantly increases its ability to retain moisture and prevent erosion. The two-component association of cyanobacteria and streptomycete can be considered as promising for biocontrol of fusarium infection. At the same time, under specific conditions of the rhizosphere, the nature of the interaction of the cultures of microorganisms under investigation may differ from that described for sterile soil lacking root exudates. Nevertheless, in experiments with the inoculation of *Triticum aestivum* L. seeds, it has been established that the two-component association of *Fischerella muscicola* + *Streptomyces wedmorensis* in perspective can be used as a biological agent to limit the development of fusarium infection in the higher plant rhizosphere.

Keywords: cyanobacteria, streptomycetes, micromycetes, biofilm, density of populations, rhizosphere, microbial inoculation.

Сосуществование в одной среде обитания различных видов микроорганизмов (МО) является предпосылкой к формированию многокомпонентных сообществ, участвующих в экосистемных процессах. Для облегчения совместного освоения экологических ниш у МО эволюционно сложились механизмы, регулирующие стратегию их роста [1].

В конце 70-х годов XX века в микробиологии сформировалось новое направление, связанное с изучением особой формы существования бактерий в виде биоплёнок (БП). Под БП понимают пространственно и метаболически структурированные сообщества МО, заключённые во внеклеточный полимерный матрикс и расположенные на границе раздела фаз. Исследования БП показали, что для природных популяций бактерий характерно так называемое «чувство кворума» (quorum sensing), которое обеспечивает межклеточную коммуникацию у бактерий посредством химических сигналов [2].

Среди длительно существующих природных БП, дающих макроскопические разрастания, выделяются многовидовые БП с доминированием ЦБ. Одна из особенностей мультивидовых биоплёнок на основе ЦБ состоит в том, что в них резко возрастает защитный эффект для всех партнёров [3–5]. Плотность популяций, видовой и групповой состав организмов в подобных образованиях регулируется триадой внешних факторов: потоком биогенных элементов, трофической активностью микробов-хищников и характером взаимоотношений между партнёрами БП [6]. Среди преимуществ БП отмечают способность использовать различные по составу субстраты; возможность саморегуляции за счёт изменения соотношения численности видов, входя-

щих в состав консорциума; обогащение среды экзометаболитами, ценными для партнёров; способность синтезировать антибактериальные и антигрибные вещества [7–10].

Актуальность изучения состава и структуры мультивидовых БП и формирования связей между входящими в них МО обусловлена возможностью практического использования БП в различных сферах человеческой деятельности, включая их применение в растениеводстве для ограничения численности фитопатогенов.

Технологические разработки по использованию БП могут основываться на природных БП, а также на искусственно сконструированных микробных консорциумах. Особый интерес при конструировании консорциумов вызывают типичные представители почвенных грамположительных бактерий – стрептомицеты, метаболиты которых обладают широчайшим потенциалом биологической активности, включая синтез антифунгальных антибиотиков [11] и фиторегуляторов [12]. Положительный тропизм стрептомицетов к ЦБ показан в экспериментах по созданию искусственных цианобактериально-актиномицетных талломов – актинолишайников [13, 14]. По сравнению с монокультурами ЦБ и стрептомицетов в экспериментальных ассоциациях наблюдали специфические адаптивные физиолого-биохимические изменения партнёров, включая антагонизм в отношении фитопатогенных грибов [15–19]. Отмечено существенное увеличение биомассы ЦБ в талломе ассоциации по сравнению с монокультурой ЦБ.

Поскольку изучение взаимодействия МО в природных БП затруднено в методическом отношении, выявление особенностей взаимодействия отдельных компонентов БП возмож-

но путём создания модельных ассоциаций. Изучение в экспериментальных системах характера взаимодействия партнёров может помочь выявлению разнонаправленных действий ассоциированных МО, определить стабильность существования и продуктивность симбиотической системы в целом.

В задачи работы входило изучение возможности создания структурированного сообщества (БП) на основе цианобактерии, стрептомицета и микромицета; выявление характера воздействия отдельных компонентов БП друг на друга и оценка фиторегуляторной активности экспериментально полученной ассоциации в условиях ризосферы высшего растения.

Объекты и методы

Объектами исследования служили культуры ЦБ *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom. 300, актиномицета *Streptomyces wedmorensis* 38.11 и микромицета *Fusarium avenacium* 7/2, последовательно объединяемые в двух- и трёхкомпонентные ассоциации.

Антагонистическую активность монокультур стрептомицета, ЦБ и их бинарной ассоциации в отношении фитопатогенного гриба *F. avenacium* определяли методом диффузии в агар с использованием блочков. Диаметр зон подавления роста тест-культуры измеряли на четвёртые сутки инкубации при 27 °С. Каждый тест проводили в трёхкратной повторности.

Опыт по выявлению характера воздействия отдельных компонентов смешанных культур друг на друга проводили в микрокосмах со стерильной почвой в чашках Петри. В качестве субстрата использовали просеянную через сито с диаметром отверстий 2 мм дерново-подзолистую почву, которую трёхкратно стерилизовали автоклавированием при 1 атм. в течение 20 мин и увлажняли до 70% от полевой влагоёмкости. Агрохимические показатели почвы: содержание органического вещества 6,5%, $pH_{KCl} = 6,2$, содержание элементов минерального питания соответствовало среднему уровню обеспеченности почв.

Для интродукции в почву культуру *F. muscicola* выращивали в жидкой среде Громова № 6 без азота, культуру *S. wedmorensis* – на плотной среде Гаузе 1, *F. avenaceum* – на плотной среде Чапека [20].

Схема эксперимента включала следующие варианты: 1) *S. wedmorensis*; 2) *F. avenacium*; 3) *F. muscicola*; 4) *S. wedmorensis* + *F. avenacium*; 5) *S. wedmorensis* + *F. muscicola*; 6) *F. ave-*

nacium + *Fis. muscicola*; 7) *S. wedmorensis* + *F. avenacium* + *Fis. muscicola*. В соответствии со схемой эксперимента, в почву вносили, в зависимости от варианта, жидкую культуру цианобактерии *Fis. muscicola* ($8,4 \cdot 10^6$ кл./г) и/или споровые суспензии *S. wedmorensis* ($6,4 \cdot 10^6$ КОЕ/г) и *F. avenacium* ($8,3 \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы).

После внесения культур чашки с почвой обёртывали пищевой прозрачной плёнкой и инкубировали на свету (естественная освещённость) при температуре 20 °С. По мере высыхания почвы, проводили её увлажнение стерильной водопроводной водой.

Через 3 месяца инкубации, когда разрастания МО покрывали всю поверхность почвы, проводили учёт численности клеток *F. muscicola* и фрагментов мицелия *F. avenacium* (с измерением их длины) в образцах БП и из периферической части почвы методом прямого счёта на мазках под микроскопом [6].

Для оценки антифузариозной активности монокультур *S. wedmorensis* и *F. muscicola* и двухкомпонентной ассоциации *S. wedmorensis* + *F. muscicola* проводили предпосевную обработку семян пшеницы сорта Приокская жидкими культурами МО. Культуру стрептомицета выращивали в жидкой питательной среде Гаузе 1 на качалке (120 об./мин), культуру ЦБ – на среде Громова № 6 без азота на свету, в течение 14 сут. Смешанную двухкомпонентную культуру получали путём объединения равных объёмов (1 мл) чистых культур стрептомицета и ЦБ в 50 мл минеральной среды ВГ-11. **Культивировали искусственную ассоциацию на свету (естественная освещённость) до появления видимых нитей ЦБ и глобул стрептомицетов.**

Семена пшеницы стерилизовали в течение 3-х минут смесью 3%-ного раствора пероксида водорода и 96%-ного этилового спирта в соотношении 1:1, с последующим 3-х кратным отмыванием дистиллированной водой. Стерильные семена раскладывали на голодный агар и выдерживали в термостате при 27 °С в течение суток для проращивания. Набухшие и проклюнувшиеся семена пшеницы обмывали в жидкие культуры МО, используя для инокуляции разведение дистиллированной водой 1:100. Контролем служил вариант замачивания семян в среде ВГ-11 в том же разведении. Инокулированные семена помещали в сосуды с песком и выращивали на двух фонах: 1 – контроль (неинфекционный фон); 2 – инфекционный фон по *F. avenaceum*. Каждый вариант опыта закладывали в трёх

повторностях. Сосуды помещали в климатическую камеру с фотопериодом 16/8 час (день/ночь). Полив растений осуществляли раствором Кнопа. Спустя 27 сут от начала опыта растения извлекали из песка, корни отмывали водопроводной водой, и определяли морфометрические показатели проростков.

Полученные данные обрабатывали с использованием пакета программ EXCEL и STATGRAFICS. В таблицах 1 и 2 и на рисунке представлены средние значения и ошибки средних.

Результаты и обсуждение

Особенности формирования двух- и трёхкомпонентных ассоциаций МО в почве. В четырёх вариантах эксперимента по интродукции в стерильную почву МО, там, где при закладке опыта вносили культуру *F. muscicola*, на поверхности почвы происходило постепенное развитие цианобактериальных налётов (БП – «цветение» почвы). Как и в природных условиях, первичным колонизатором поверхности стерильной почвы в модельном опыте явился представитель фототрофов – *F. muscicola*. Известно, что гетероцистные азотфиксирующие ЦБ, к которым относится и *F. muscicola*, могут выделять в окружающую среду до 50% продуктов анаболизма [21]. Фототрофные МО создают первичную (матричную) биоплёнку, в которую в дальнейшем и подселяются гетеротрофные микроорганизмы, для которых экзометаболиты фототрофов являются, по видимому, главным источником питания. Учёт количества спор гриба и стрептомицета в почве вариантов с интродукцией двухкомпонентных ассоциаций на основе *F. muscicola* показал, что в присутствии ЦБ популяционная

плотность *F. avenacium* увеличилась в 3,3 раза, а *S. wedmorensis* – в 300 раз (табл. 1).

Внесение в почву двухкомпонентной смешанной культуры *S. wedmorensis* + *F. avenacium*, по сравнению с монокультурой стрептомицета, привело к существенному увеличению количества стрептомицетных спор (в 100 раз), тогда как количество грибных спор в присутствии *S. wedmorensis* достоверно не изменялось по сравнению с монокультурой *F. avenacium*.

При развитии монокультуральной БП плотность популяции *F. muscicola* достигала свыше 50 млн кл./см², а суммарная длина трихомов – более 400 м/см². В БП, образованных двухкомпонентными ассоциациями, ЦБ испытывала угнетение со стороны партнёров, снижая численность клеток в 2,4–7,0 раз, а длину нитей в 3,6–7,0 раз в зависимости от природы ассоцианта (табл. 2).

В большей степени, чем грибом, рост фишереллы ограничивался культурой стрептомицета.

Почвенные МО, представленные в БП нитчатых и мицелиальных формами, являются сильными структурообразователями, придавая определённую текстуру и прочность биоплёнкам. Результаты измерения длины грибного и бактериального мицелия, а также длины нитей фишереллы, выполненного с помощью окуляр-микрометра при микроскопировании мазков, представлены в таблице 2. В БП, сформированной трёхкомпонентным консорциумом, интенсивность размножения фишереллы на поверхности почвы сохранялась практически на том же уровне (52,3±3,5) • 10⁶ кл./см², что и в монокультуре (54,3±7,0) • 10⁶ кл./см². Не изменялись в трёхкомпонентном консорциуме показатели роста

Таблица 1 / Table 1

Популяционная плотность интродуцированных в почву МО по данным посева на агаризованные среды / Population density of MO introduced into the soil according to the data of inoculation on agar media

Вариант опыта Variant of experiment	Численность, тыс. КОЕ/г Number, thous. CFU/g	
	<i>F. avenaceum</i> на солодовом агаре / malt agar	<i>S. wedmorensis</i> на агаре Гаузе 1 / Gauze agar 1
<i>S. wedmorensis</i>	–	2,4±0,9
<i>F. avenacium</i>	1,8±0,7	–
<i>S. wedmorensis</i> + <i>F. avenacium</i>	3,4±0,9	234,3±70,9*
<i>S. wedmorensis</i> + <i>F. muscicola</i>	–	719,7±72,5*
<i>F. avenacium</i> + <i>F. muscicola</i>	6,0±2,1	–
<i>S. wedmorensis</i> + <i>F. avenacium</i> + <i>F. muscicola</i>	2,3±1,1	5,7±1,4

Примечание / Note: «–» – не обнаружено / “–” – not detected; «*» – достоверные отличия вариантов при $p < 0,05$ / reliable differences of variants ($p < 0,05$).

Таблица 2 / Table 2

Популяционная плотность интродуцированных в почву микроорганизмов (по данным прямой микроскопии) / Population density of microorganisms introduced into the soil (according to the data of direct microscopy)

Вариант опыта / Variant of experiment	Численность клеток / фрагментов мицелия на 1 см ² ($\cdot 10^6$) Number of cells / fragments of mycelium per 1 cm ² ($\cdot 10^6$)			Длина нитей / мицелия, м/см ² Length of filaments / mycelium, m/cm ²			
	1	2	3	1	2	3	Общая Common
<i>Fis. muscicola</i>	54,3±7,0	–	–	407,2±52,5	–	–	407,2±52,5
<i>Fis. muscicola</i> + <i>S. wedmorensis</i>	7,6±1,3	–	0,7±0,2	57,7±9,7	–	27,9±2,0	85,6±11,7
<i>Fis. muscicola</i> + <i>F. avenacium</i>	22,3±9,0	0,9±0,2	–	112,2±21,7	66,4±9,0	–	178,6±30,7
<i>Fis. muscicola</i> + <i>F. avenaceum</i> + <i>S. wedmorensis</i>	52,3±3,5	0,4±0,1	0,6±0,1	390,0±26,2	28,2±5,4	25,5±5,4	443,7±37,0

Примечание/Note: 1 – *Fischerella*, 2 – *Fusarium*, 3 – *Streptomyces*, «–» обозначает «не обнаружено» / 1 – *Fischerella*, 2 – *Fusarium*, 3 – *Streptomyces*, “–” means “not detected”.

мицелиального гетеротрофа *S. wedmorensis*: количество пропагул (табл. 1) и длина мицелия (табл. 2) стрептомицета в этом варианте достоверно не отличались от показателей в почве с внесением монокультуры и смешанной культуры *S. wedmorensis* + *F. muscicola* соответственно. Развитие другого мицелиального гетеротрофа – гриба *F. avenacium* в составе трёхкомпонентной ассоциации было угнетённым по сравнению с монокультурой этого МО, а также смешанной культурой *F. avenacium* + *F. muscicola*. Так, количество фрагментов и длина мицелия *F. avenacium* в трёхкомпонентном консорциуме модельной БП снижалось в 2,3–2,4 раза, относительно двухкомпонентной ассоциации, где стрептомицет отсутствовал (табл. 2). Поскольку перед интродукцией культур в почву она была стерильной, то особенности формирования БП в различных вариантах определялись только характером взаимоотношения партнёров.

Тестирование антифузариозной активности исследуемых культур МО показало, что ЦБ *F. muscicola* не оказывает угнетающего действия на фитопатогенный гриб *F. avenaceum*, тогда как стрептомицет, напротив, проявил антифунгальную активность. Величина зон ингибирования роста гриба стрептомицетом составила 20±2 мм в случае монокультуры и 17±2 мм – в случае смешанной ассоциации *S. wedmorensis* + *F. muscicola*. Поэтому, вероятно, в бинарной ассоциации фузариума с фишереллой не наблюдали такого угнетения грибного роста, как в это имело место в тройном консорциуме БП, где стрептомицет,

обладая отчасти сходными с грибом пищевыми потребностями, продуцировал, к тому же, антифунгальные метаболиты.

Результаты выполненного эксперимента показывают, что в напочвенных БП, сформированных на основе ЦБ *F. muscicola*, фитопатогенный гриб *F. avenaceum* в сапротрофной фазе развития способен объединяться в единые структурированные комплексы с другими участниками многовидового консорциума МО, в том числе со своими антагонистами. Развитие подобных биоплёнок на поверхности почвы значительно повышает её способность удерживать влагу и предотвращать эрозию [22].

Выявленное угнетение роста гриба в составе трёхкомпонентного консорциума экспериментальных БП может служить основанием для выяснения возможности их использования в защите растений от болезней. Из полученных данных следует, что двухкомпонентную ассоциацию ЦБ и стрептомицета можно рассматривать как перспективную в отношении биоконтроля фузариозной инфекции. В то же время, в специфических условиях ризосферы, характер взаимодействия исследуемых культур МО может отличаться от того, что был описан для стерильной почвы, лишённой корневых экссудатов.

Влияние предпосевной обработки семян ассоциативными культурами МО на морфометрические показатели проростков пшеницы

Влияние на проростки пшеницы *F. muscicola* и *S. wedmorensis* в монокультурах и в бинарной ассоциации (*S. wedmorensis* + *F. muscicola*) изучали в обычных условиях и на искусственном инфекционном фоне по

F. avenaceum. В обычных условиях инокуляция семян исследуемыми культурами МО привела к изменению у проростков нормального соотношения показателей линейного роста (побег/корень) по сравнению с контролем без инокуляции (рис.).

Если у необработанных растений данное соотношение составляло 1,6, то в вариантах с обработкой семян монокультурами исследуемых МО оно увеличилось до 2,5 (*F. muscicola*) и 3,8 (*S. wedmorensis*), указывая на депрессию роста корня и перераспределение потока ассимилятов в надземную часть. Как следствие несбалансированного роста осевых органов в условиях экзогенного поступления микробных регуляторов, инокуляция сопровождалась у проростков снижением относительно контроля сухой биомассы.

Вместе с тем, при инокуляции семян бинарной ассоциацией *S. wedmorensis* + *F. muscicola* нормальное соотношение длины побега и корня у проростков не нарушалось (побег/корень = 1,6), соответственно и биомасса проростков в этом варианте была существенно выше, чем в вариантах обработки семян монокультурами ЦБ и стрептомицета.

При выращивании на инфекционном фоне у необработанных проростков соотношение побег/корень составило 4,1, а масса снизилась относительно контроля на 42%, как результат метаболического воздействия на растения фитопатогенного гриба *F. avenaceum*. Пред-

посевная обработка семян монокультурами *F. muscicola* и *S. wedmorensis*, в определённой степени, ограничивала угнетающее действие гриба на растения. Об этом говорят более низкие (2,5 и 3,1 соответственно для ЦБ и стрептомицета), чем без инокуляции, значения соотношения между линейными размерами побега и корня, свидетельствуя о большей направленности потоков питательных веществ в корень. При этом сухая биомасса проростков, как интегральный показатель их роста, на инфекционном фоне была сопоставима с биомассой в вариантах на неинфекционном фоне. В результате обработки семян бинарной ассоциативной культурой *S. wedmorensis* + *F. muscicola* наметилась тенденция к увеличению сухой биомассы проростков по сравнению с вариантом обработки семян монокультурой *F. muscicola*.

Таким образом, результаты модельного опыта по изучению влияния исследуемых МО на растения пшеницы, показали, что на ранних этапах онтогенеза для ограничения, обусловленных грибом *Fus. avenaceum* негативных эффектов, применение бинарной ассоциации *F. muscicola* + *S. wedmorensis* является более предпочтительным, чем использование монокультур ЦБ и стрептомицета.

Заключение

При интродукции в стерильную почву *Fis. muscicola*, *S. wedmorensis* и *Fus. avenaceum* в

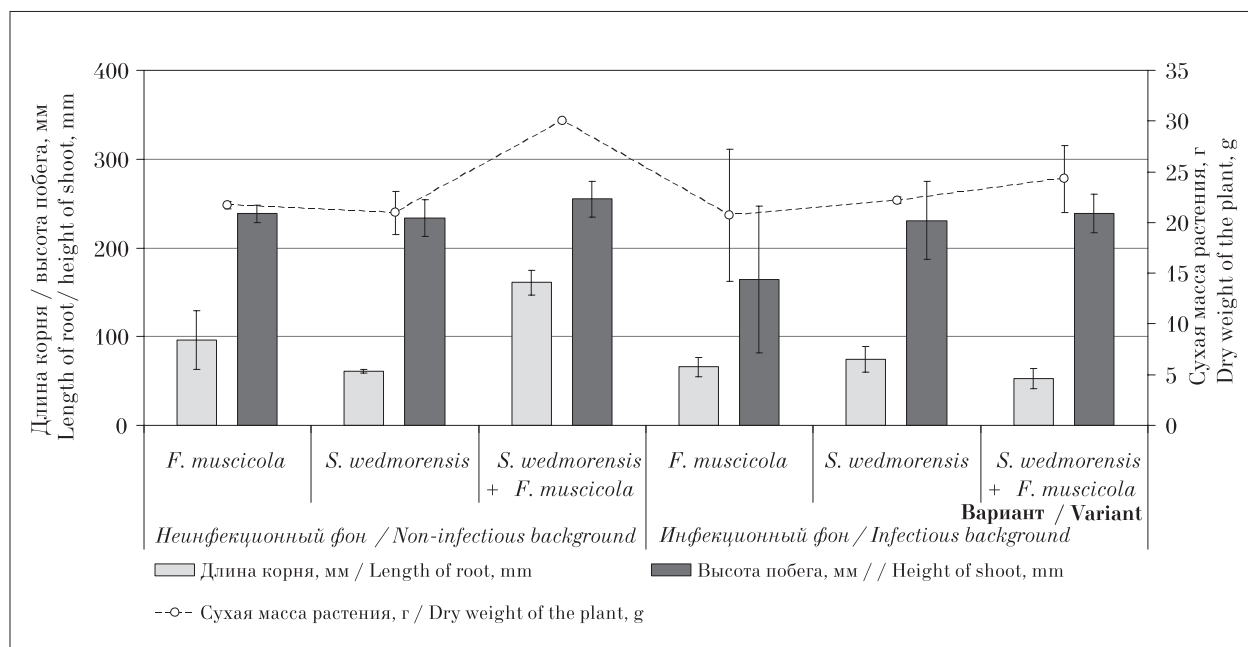


Рис. Влияние предпосевной обработки семян пшеницы на морфометрические показатели проростков в зависимости от фона выращивания.
Fig. Effect of presowing treatment of wheat seeds on the morphometric parameters of seedlings depending on the background of cultivation

виде монокультур, бинарных и тройных ассоциаций в вариантах, включающих в качестве одного из компонентов ЦБ, происходит формирование БП. Среди всех рассмотренных вариантов экспериментально сформированных БП наибольшей плотностью популяций (свыше 50 млн кл./см²) отличались два варианта: 1) *F. muscicola* и 2) *F. muscicola* + *S. wedmorensis* + *F. avenacium*. Это свидетельствует об определённой степени совместимости и коадаптивного развития ЦБ с мицелиальными эукариотным и прокариотным МО. В этих же вариантах отмечен максимальный уровень агрегированности БП, обусловленный созданием сетчатой-нитчатой структуры на основе механического сплетения нитчатых и мицелиальных форм. Суммарная длина нитей ЦБ, грибного и актиномицетного мицелия в БП, сформированной тройной ассоциацией МО, достигала 444 м/см². В то же время, в бинарных композициях уровень развития ЦБ был намного ниже, что косвенным образом может свидетельствовать о существовании определённой степени конкуренции за ресурсы (пространство) между ЦБ и её гетеротрофными партнёрами.

Антагонизм *S. wedmorensis* в отношении фитопатогенного гриба *F. avenacium*, выявленный в чистых культурах, сохранялся в экспериментально сформированных БП, что подтверждается снижением числа фрагментов и длины мицелия гриба в почве, куда были интродуцированы стрептомицет-антагонист и ЦБ. Однако в условиях ризосферы высшего растения (проростки пшеницы), выращиваемого на искусственном фузариозном фоне, ожидаемые положительные эффекты бинарной ассоциации *F. muscicola* + *S. wedmorensis* оказались, на ранних этапах онтогенеза, недостоверными. Это, разумеется, не исключает возможность эффективного подавления этими агентами фузариозной инфекции на других стадиях развития растений или в иных почвенных условиях, что требует проведения дальнейших исследований.

Литература

1. Scherlach K., Hertweck C. Mediators of mutualistic microbe – microbe interactions // Natural Product Records. 2018. 8 September.
2. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria // Annu Rev Microbiol. 2001. V. 55. P. 165–199.
3. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Пегушина О.А., Фокина А.И. Биоплёнки *Nostoc commune* – особая микробная сфера // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 15–19.

4. Nozhevnikova A.N., Botchkova E.A., Plakunov V.K. Multi-species biofilms in ecology, medicine, and biotechnology // Microbiology. 2015. V. 84. No. 6. P. 731–750.
5. Rossi F., De Philippis R. Role of cyanobacterial exopolysaccharides in phototrophic biofilms and in complex microbial mats // Life. 2015. V. 64. P. 153–166.
6. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН, 2005. 336 с.
7. Панкратова Е.М., Зяблых Р.Ю., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Конструирование микробных культур на основе синезелёной водоросли *Nostoc paludosum* Kütz. // Альгология. 2004. Т. 14. № 4. С. 445–458.
8. Pankratova E.M., Trefilova L.V., Zyblykh R.Yu., Ustyuzhanin I.A. Cyanobacterium *Nostoc paludosum* Kütz as a basis for creation of agriculturally useful microbial associations by the example of bacteria of the genus rhizobium // Microbiology. 2008. V. 77. No. 2. P. 228–234.
9. Rudrappa T., Biedrzycki M.L., Bais H.P. Causes and consequence of plant associated biofilms // FEMS Microbiol. Ecol. 2008. V. 64. P. 153–166.
10. Zayadan B.K., Baimakhanova G.B., Bolathan K., Oraz G.D., Matorin D.N., Sadanov A.K. Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields // Microbiology. 2014. V. 83. No. 4. P. 391–397.
11. Strohl W.R. Antimicrobials // Microbial diversity and bioprocessing. American Society for Microbiology / Ed. A.T. Bull. Washington DC, 2004. P. 336–355.
12. Hamed J., Mohammadipناه F. Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2015. V. 42 (2). P. 157–171.
13. Зенова Г.М., Лобакова Е.С., Широких И.Г., Иванова Е.А. Актиномицеты – ассоциативные компоненты цианобактериальных сообществ и симбиозов // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 2. С. 11–20.
14. Зенова Г.М., Орлеанский В.К. Альго-бактериально-актиномицетные ассоциации в микросомах // Автотрофные микроорганизмы: Материалы 5-й Всероссийской конференции с международным участием. М.: МАКС Пресс, 2015. С. 45.
15. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M., Lobakova E.S., Nikolaev G.M., Omarova E.O., Ivanova E.A., Savelyev I.B. Morphological and physiological modifications of cyanobacteria in experimental cyanobacterium-actinomycete associations // Microbiology. 2010. V. 79. No. 3. P. 314–320.
16. Широких И.Г., Зиновьева Д.А., Огородникова С.Ю., Широких А.А. Экспериментальное получение симбиотических ассоциаций почвенных стрептомицетов с цианобактериями // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 1. С. 101–106.
17. Domracheva L.I., Shirokikh I.G., Fokina A.I. Anti-*Fusarium* activity of cyanobacteria and actinomycetes in soil and rhizosphere // Microbiology. 2010. V. 79. No. 6. P. 871–876.

18. Широких И.Г., Домрачева Л.И. Особенности взаимодействия цианобактерий с ризосферными и почвенными стрептомицетами // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. II Междунар. научно-практической конференции, посвященной 105-летию со дня рождения профессора Эмили Адриановны Штиной. Киров: Вятская ГСХА, 2015. С. 305–308.

19. Товстик Е.В., Широких И.Г., Домрачева Л.И. Оценка совместного действия цианобактерии *Fischerella muscicola* и стрептомицетов на растения в модельном опыте // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 1. С. 83–88.

20. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.

21. Kumar B.N.P., Mahaboobi S., Satyam S. Cyanobacteria: a potential natural source for drug discovery and bioremediation // *Jr. of Industrial Pollution Control*. 2016. V. 32. No. 2. P. 508–517.

22. Roeselers G., van Loosdrecht M.C.M., Muyze G. Phototrophic biofilms and their potential applications // *J. Appl. Phycol.* 2008. V. 20. P. 227–235.

References

1. Scherlach K., Hertweck C. Mediators of mutualistic microbe – microbe interactions // *Natural Product Records*. 2018. 8 September.

2. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria // *Annu Rev Microbiol.* 2001. V. 55. P. 165–199.

3. Domracheva L.I., Kondacova L.V., Pegushina O.A., Fokina A.I. A biofilm of *Nostoc commune* as a special sphere of microbiota // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2007. No. 1. P. 15–19 (in Russian).

4. Nozhevnikova A.N., Botchkova E.A., Plakunov V.K. Multi-species biofilms in ecology, medicine, and biotechnology // *Microbiology*. 2015. V. 84. No. 6. P. 731–750.

5. Rossi F., De Philippis R. Role of cyanobacterial exopolysaccharides in phototrophic biofilms and in complex microbial mats // *Life*. 2015. V. 64. P. 153–166.

6. Domracheva L.I. “Flowering” of the soil and the laws of its development. Syktyvkar: Komi Science Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2005. 336 p. (in Russian).

7. Pankratova E.M., Zyabli R.Ju., Kalinin A.A., Kovina A.L., Trefilova L.V. Construction of the microbial culture on the base of blue-green algae *Nostoc paludosum* Kütz. // *Algologiya*. 2004. V. 14. No. 4. P. 445–458 (in Russian).

8. Pankratova E.M., Trefilova L.V., Zyablykh R.Yu., Ustyuzhanin I.A. Cyanobacterium *Nostoc paludosum* Kütz as a basis for creation of agriculturally useful microbial associations by the example of bacteria of the genus rhizobium // *Microbiology*. 2008. V. 77. No. 2. P. 228–234.

9. Rudrappa T., Biedrzycki M.L., Bais H.P. Causes and consequence of plant associated biofilms // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008. V. 64. P. 153–166.

10. Zayadan B.K., Baimakhanova G.B., Bolathan K., Oraz G.D., Matorin D.N., Sadanov A.K. Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields // *Microbiology*. 2014. V. 83. No. 4. P. 391–397.

11. Strohl W.R. Antimicrobials // *Microbial diversity and bioprocessing*. American Society for Microbiology / Ed. A.T. Bull. Washington DC, 2004. P. 336–355.

12. Hamed J., Mohammadipanah F. Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2015. V. 42 (2). P. 157–171.

13. Zenova G.M., Lobacova E.S., Shirokikh I.G., Ivanova E.A. Actinomycetes as associative components of cyanobacterial communities and symbioses // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2013. No. 2. P. 11–20 (in Russian).

14. Zenova G.M., Orleansky V.K. Algo-bacterial-actinomycete associations in microcosms // *Autotrophic microorganisms: Materialy 5-y Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem*. Moskva: MAX Press, 2015. P. 45 (in Russian).

15. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M., Lobakova E.S., Nikolaev G.M., Omarova E.O., Ivanova E.A., Savelyev I.B. Morphological and physiological modifications of cyanobacteria in experimental cyanobacterium-actinomycete associations // *Microbiology*. 2010. V. 79. No. 3. P. 314–320.

16. Shirokikh I.G., Zinovieva D.A., Ogorodnikova S.Yu., Shirokikh A.A. Experimentally obtained symbiotic associations of cyanobacteria with soil streptomycetes // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2013. No. 1. P. 101–106 (in Russian).

17. Domracheva L.I., Shirokikh I.G., Fokina A.I. Anti-*Fusarium* activity of cyanobacteria and actinomycetes in soil and rhizosphere // *Microbiology*. 2010. V. 79. No. 6. P. 871–876.

18. Shirokikh I.G., Domracheva L.I. Features of the interaction of cyanobacteria with rhizosphere and soil streptomycetes // *Algae and cyanobacteria in natural and agricultural ecosystems: Mater. II Mezhdunar. nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 105-letiyu so dnya rozhdeniya professora Emilii Adrianovny Shtinoy*. Киров: Vyatskaya GSKhA, 2015. P. 305–308 (in Russian).

19. Tovstik E.V., Shirokikh I.G., Domracheva L.I. Effect of cyanobacteria *Fischerella muscicola* and streptomycetes on plants in the model experiment // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2017. No. 1. P. 83–88 (in Russian).

20. Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. Workshop on microbiology. Moskva: Akademiya, 2005. 608 p. (in Russian).

21. Kumar B.N.P., Mahaboobi S., Satyam S. Cyanobacteria: a potential natural source for drug discovery and bioremediation // *Jr. of Pollution Control*. 2016. V. 32. No. 2. P. 508–517.

22. Roeselers G., van Loosdrecht M.C.M., Muyze G. Phototrophic biofilms and their potential applications // *Appl. Phycol.* 2008. V. 20. P. 227–235.

О. И. КАДЕБСКАЯ, Ю. В. ДУБЛЯНСКИЙ
“ХАРАКТЕРИСТИКА КРИОГЕННОГО КАЛЬЦИТА ИЗ ПЕЩЕРЫ
ГРАНДИОЗНАЯ (ИМ. В. А. АНУФРИЕВА), ЮЖНЫЙ УРАЛ”, С. 17

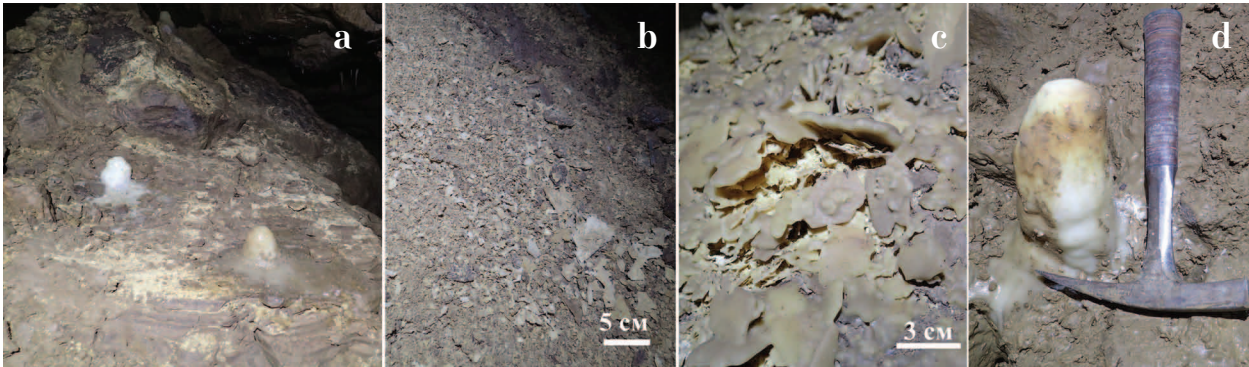


Рис. 2. Криогенный кальцит и сталагмиты в гроте Памелы Андерсон пещеры Грандиозная: а – осыпь у северной стены зала (светлые пятна на осыпи – скопления криогенного кальцита; ширина участка, показанного на фотографии, около 1,5 м); б – скопление криогенных кальцитовых корочек на осыпи; с – кальцитовые корочки, частично перекрытые натечной корой, д – сталагмит, отобранный на $^{230}\text{Th}/^{234}\text{U}$ датирование

Fig. 2. Occurrence of cryogenic calcite and stalagmites in “Hall of Pamela Anderson”, Grandioznaya cave: а – scree slope at the northern wall of the cave (light-colored patches are accumulations of cryogenic calcite; width of photograph is ca. about 1,5 m); б – accumulation of cryogenic calcite crusts of the scree slope; с – calcite crusts partly coated with flowstone crust; d – stalagmite collected for $^{230}\text{Th}/^{234}\text{U}$ dating

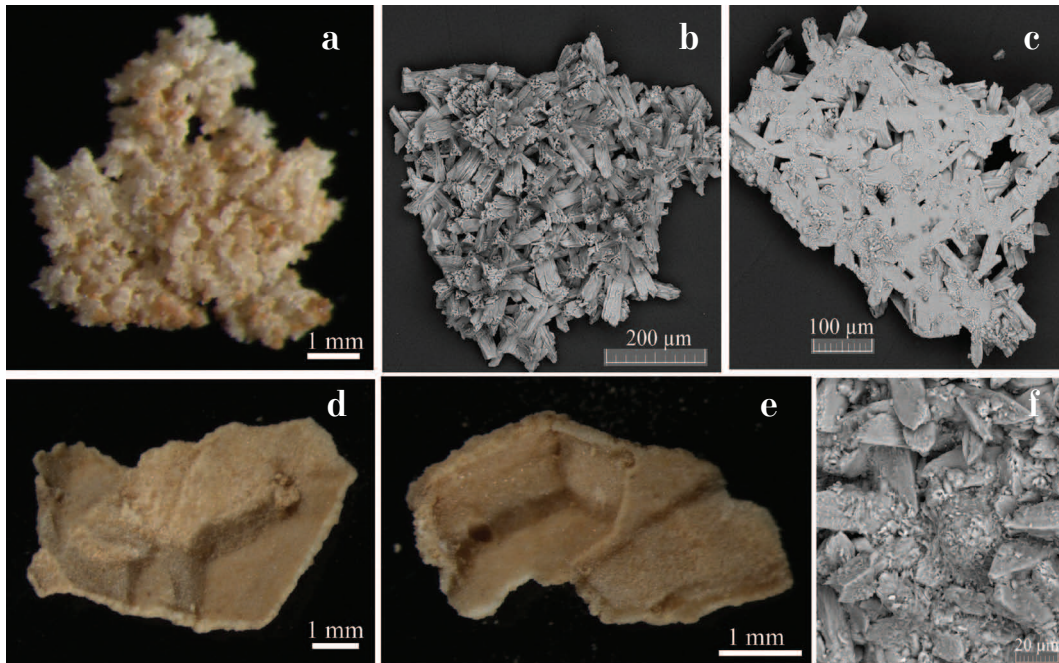


Рис. 3. Морфология кальцита из пещеры Грандиозная (Южный Урал): а – общий вид поверхности корочек; б – морфология агрегатов кристаллов кальцита, из которых состоят корочки; с – плоское основание агрегатов; д, е – отпечатки ныне не существующей минеральной фазы (льда?) на нижней поверхности кальцитовых корочек; ф – глинистые частицы между кристаллами кальцита в корочка.

Fig. 3. Morphological features of calcite from cave Grandioznaya: а – surface of crusts; б – morphology of calcite crystal aggregates; с – flat base aggregates; d, e – “molds” of a presently absent mineral phase (ice?) on the basal surface of calcite crusts; f – clay particles trapped between calcite crystals in the crusts