

Т.І. ТУГАЙ, А.І. ВАСИЛЕВСЬКА,  
Л.В. АРТИШКОВА, Л.Т. НАКОНЕЧНА,  
М.В. ВДОВИЧЕНКО

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного  
НАН України  
вул. Заболотного, 154, м. Київ, Д 03680, МСП, Україна  
tatyanatugay@rambler.ru

## СПОЖИВАННЯ ГЛЮКОЗИ ШТАМАМИ *ASPERGILLUS VERSICOLOR* (VUILL.) TIRABOSCHI З ОЗНАКАМИ РАДІОАДАПТИВНОСТІ

*Ключові слова:* *Aspergillus versicolor*, біомаса, споживання  
глюкози, радіоадаптивні властивості, економічний коефіцієнт

### Вступ

Проблема вивчення наслідків впливу Чорнобильської катастрофи на життєдіяльність біологічних організмів залишається актуальною. Одним із її важливих аспектів є дослідження формування у багатьох представників біоти радіоадаптації до дії хронічного опромінення (Котеров, Никольський, 1999; Гродзинський, 2000). Ця властивість найменш вивчена у мікробіологічних об'єктів, зокрема мікроскопічних грибів. У наших попередніх модельних експериментах встановлено, що ряд штамів *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, які з високою частотою траплялися в приміщеннях об'єкта «Укриття», виявляли радіоадаптивні властивості, а саме: радіотропізм, радіостимуляцію та радіоадаптивну відповідь (Zhdanova et al., 2004; Тугай, 2007; Dighton et al., 2008). У штамів *A. versicolor*, виділених з місць із фоновим рівнем радіоактивності, такі властивості не виявлені. У літературі фактично відсутні дані щодо вивчення фізіології грибів з такими унікальними властивостями, зокрема їх здатності рости в умовах лімітації джерела вуглецю.

Нашою метою було вивчити ефективність споживання широкого діапазону концентрацій вуглецьвмісного субстрату (глюкози) штамми *Aspergillus versicolor*, що виявляли та не виявляли радіоадаптивних властивостей.

### Матеріали і методи досліджень

Вихідними зразками для виділення мікроскопічних грибів з поверхні стін із характерними плямами грибних уражень приміщень об'єкта «Укриття» та приміщення з фоновим рівнем радіоактивності були відбитки, одержані при застосуванні бактеріальних печаток (Жданова и соавт., 2005). В результаті їх висіву на тверді живильні середовища виділено чисті культури грибів, зокрема *A. versicolor*. Об'єктами даного дослідження були три штами — *A. versicolor* 43, *A. versicolor* 57, *A. versicolor* 101, що виявляли радіоадаптивні властивості, та

© Т.І. ТУГАЙ, А.І. ВАСИЛЕВСЬКА, Л.В. АРТИШКОВА, Л.Т. НАКОНЕЧНА,  
М.В. ВДОВИЧЕНКО, 2009

два штами — *A. versicolor* 429 і *A. versicolor* 432, які їх не виявляли (контроль), як це з'ясовано раніше (Tugai et al., 2006; Тугай и соавт., 2007). Ці штами, виділені в 2003 р., зберігались на твердих живильних середовищах за 4–5 °С у колекції грибних культур відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Експерименти проводили в умовах періодичного (поверхневого) культивування штамів за  $25 \pm 2$  °С з використанням рідкого середовища Чапека, у складі якого цукрозу замінили на моносахарид глюкозу, яку додавали в концентрації 20 (контроль); 5; 1; 0,25; 0,1 та 0,01 г/л. Посів виконували водною стандартизованою суспензією  $1 \times 10^6$  конідій/мл, проростання яких становило 97–99%.

Метаболізм досліджуваних штамів *A. versicolor* на середовищах з різними концентраціями глюкози оцінювали за такими інтегральними показниками, як рівень накопичення біомаси та ефективність засвоєння субстрату. Кількість біомаси кожного штаму визначали ваговим методом на 3–21 добу росту (Методи..., 1982). Критерієм ефективності споживання глюкози штамами *A. versicolor* була величина економічного коефіцієнта (Y), котрий визначали як відношення біомаси, накопиченої в кожний період росту, до кількості спожитого за цей час субстрату (Перт, 1978). Останній для кожного штаму розраховували за різницею між вихідною кількістю глюкози в середовищі та залишковою — в культуральному фільтраті, яку визначали фенол-сірчанним методом (Dubois et al., 1956).

Повторність експериментів трикратна. Отримані результати оброблені статистично та представлені графічно за допомогою пакета комп'ютерних програм STATISTICA 6.0 та Microsoft Excel відповідно.

### Результати досліджень та їх обговорення

Споживання глюкози штамами *A. versicolor*, що виявляли радіоадаптаційні властивості, досліджували порівнюючи зі штамами, в яких такі властивості не виявлено, в умовах росту на середовищах з різними концентраціями субстрату.

Динаміка накопичення біомаси штамами *A. versicolor* на середовищах з різною концентрацією глюкози графічно показана відповідними кривими росту (рис. 1, А–Г). За вихідної концентрації глюкози в середовищі 20 г/л штами з радіоадаптивними властивостями, порівняно з контрольними, відрізнялися тривалістю експоненціальної і стаціонарної фаз росту та періодом максимального накопичення біомаси (рис. 1, А). Найбільшою (7,8 г/л) була кількість біомаси у *A. versicolor* 101, найменшою (4,8 г/л) — у *A. versicolor* 57. Контрольні штами *A. versicolor* займали проміжне становище щодо максимальної кількості (5,6–6,0 г/л) накопиченої біомаси.

За концентрації глюкози в середовищі до 5 г/л, 1 г/л та особливо 0,25 г/л накопичення біомаси в усіх досліджуваних штамів *A. versicolor* значно зменшувалося, але вказана вище їхня відмінність за тривалістю фаз росту залишилася (рис. 1, Б–Г). Так, на середовищі з концентрацією глюкози 5 г/л серед

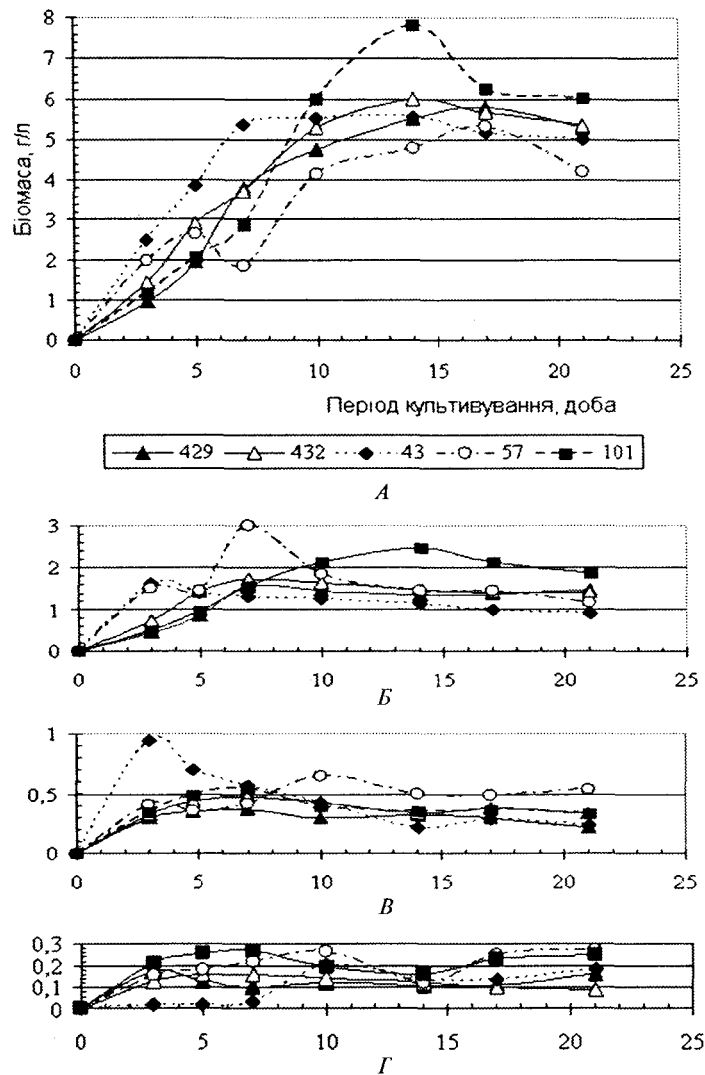


Рис. 1. Динаміка накопичення біомаси штамами *A. versicolor* на середовищах з різними концентраціями глюкози: А — 20 г/л; Б — 5 г/л; В — 1 г/л; Г — 0,25 г/л

Fig. 1. The dynamics of biomass accumulation by strains of *A. versicolor* on media with different glucose concentrations: А — 20 g/l; Б — 5 g/l; В — 1 g/l; Г — 0.25 g/l

штамів, що виявляли радіоадаптивні властивості, у *A. versicolor* 57 та *A. versicolor* 101 максимальним накопичення біомаси було на 7-му та 14-ту добу росту, а з концентрацією глюкози 1 г/л — у *A. versicolor* 43 та *A. versicolor* 57 на 3-тю та 10-ту добу, відповідно (рис. 1, Б, В). На середовищах з 5, 1 та 0,25 г/л у контрольних штамів *A. versicolor* характер кривих був практично подібним, максимальне накопичення біомаси відзначали на 7-му добу росту.

Вищенаведені дані засвідчують, що досліджені штами *A. versicolor* здатні рости та накопичувати біомасу на середовищі з найнижчою концентрацією

глюкози — 0,25 г/л (рис. 1, Г). В умовах росту на такому середовищі штами, які виявляли радіоадаптивні властивості, накопичували практично однакову максимальну кількість біомаси: *A. versicolor* 101 на 7-му та *A. versicolor* 57 і *A. versicolor* 43 — на 10-ту добу культивування. Слід зазначити, що у *A. versicolor* 43 тривалу лагфазу спостерігали до 7-ї доби росту. У контрольних *A. versicolor* 429 та *A. versicolor* 432 на середовищі з концентрацією глюкози 0,25 г/л кількість накопиченої біомаси була дещо меншою, ніж у штамів з радіоадаптивними властивостями. На цьому середовищі контрольні штами *A. versicolor* максимальну кількість біомаси накопичували на 3-тю та 5-ту добу культивування, відповідно, тобто тривалість експоненціальної фази у них, на відміну від штамів, що виявляли радіоадаптивні властивості, була дещо коротшою.

У більшості випадків в усіх досліджуваних штамів *A. versicolor* на середовищах з різною концентрацією глюкози після періоду максимального накопичення біомаси відмінності в подальшому її накопиченні були незначними (рис. 1, Б—Г).

На середовищах з концентраціями глюкози 0,1 та 0,01 г/л в усіх штамів *A. versicolor* біомаса не накопичувалася. Проте при мікроскопіюванні препаратів культурального середовища відзначали набухання конідій, збільшення (удвічі—тричі) їхніх розмірів, переважно біполярне проростання та утворення коротких ланцюжків із 3—5 конідій. На середовищі без глюкози (контроль) у досліджених штамів упродовж 21 доби росту, як правило, набухали та проростали лише поодинокі конідії.

Ефективність використання субстрату за величиною економічного коефіцієнта визначали в динаміці росту всіх досліджених штамів *A. versicolor*. Через неможливість навести повний обсяг отриманих нами даних на рис. 2 ми представили найхарактерніші величини економічних коефіцієнтів за умов росту штамів на середовищах з трьома концентраціями глюкози на 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу добу культивування. Так, у *A. versicolor* 57, *A. versicolor* 101 та *A. versicolor* 43, які виявляли радіоадаптаційні властивості, на середовищі з концентрацією глюкози 20 г/л значення економічних коефіцієнтів становили 0,1—0,3 (рис. 2, А—В). Зі зниженням концентрації глюкози в середовищі до 1 г/л ефективність використання цими штамми субстрату збільшувалася. З подальшим зменшенням концентрації глюкози в середовищі до 0,25 г/л у різні періоди росту значення економічних коефіцієнтів у них виявилися найбільшими — 0,7—1,2. Останні в середньому були в 5 разів вищими порівняно з отриманими за умови росту вказаних штамів *A. versicolor* на середовищі з концентрацією глюкози 20 г/л.

У контрольних штамів *A. versicolor* 429 та *A. versicolor* 432 характер зміни ефективності використання глюкози на кожній із досліджених концентрацій субстрату в різні періоди росту переважно був подібним (рис. 2, Г, Д). При цьому значення економічних коефіцієнтів на середовищі з концентрацією глюкози 0,25 г/л у середньому були в 1,7 раза вищими, ніж у цих же штамів на середовищі з концентрацією глюкози 20 г/л.

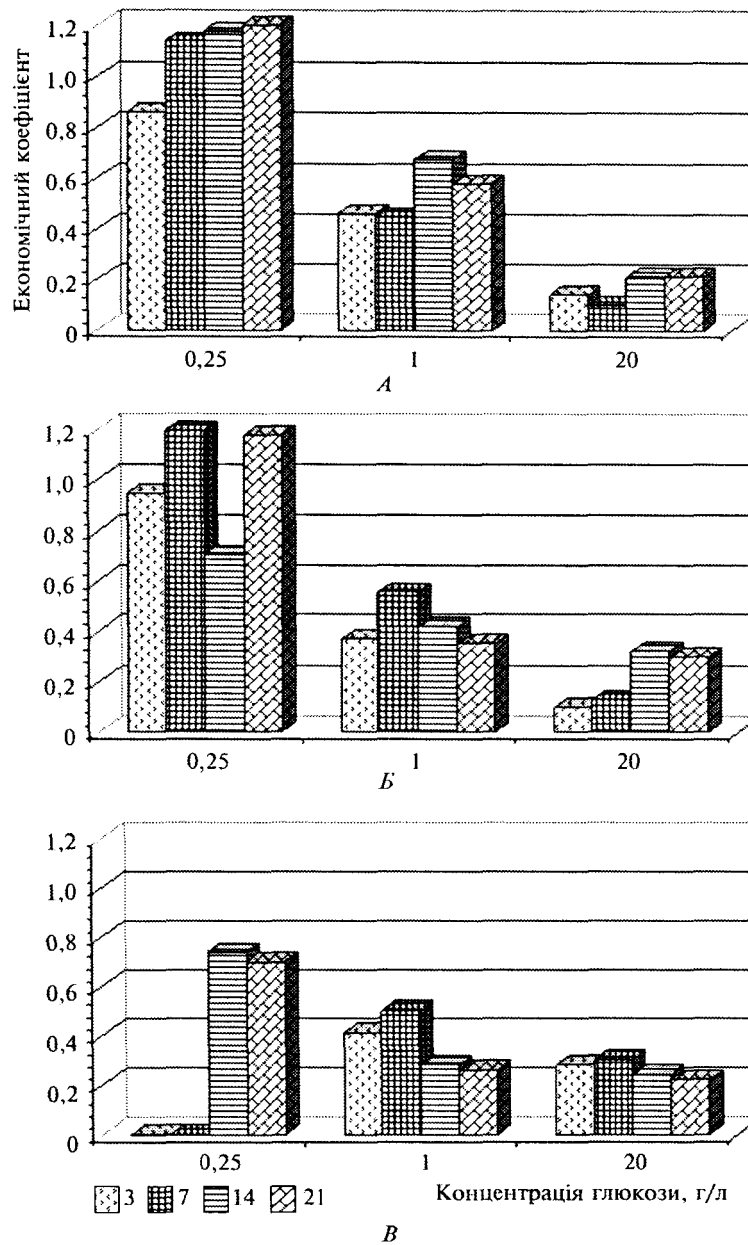
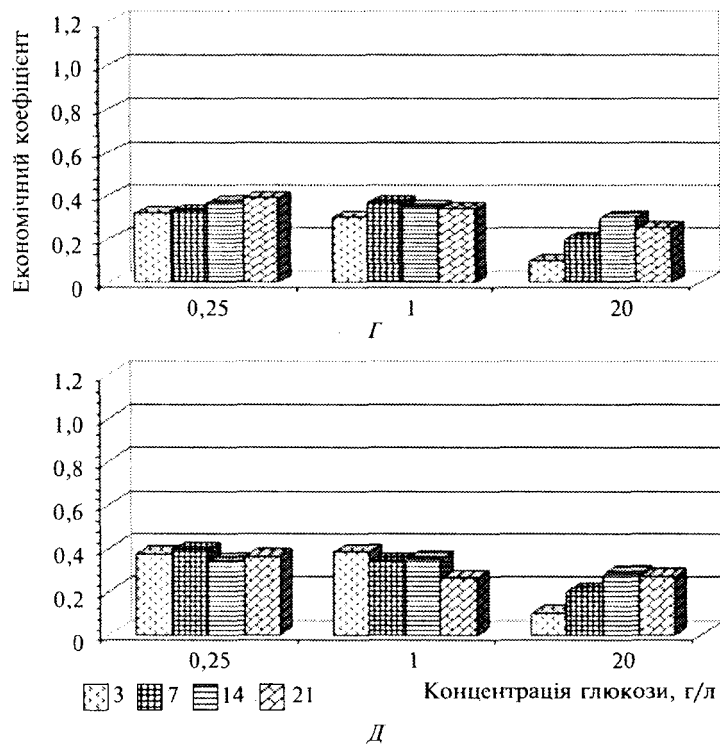


Рис. 2. Ефективність споживання глюкози штамами *A. versicolor* на середовищах з різними концентраціями глюкози: на 3, 7, 14 та 21 добу росту; штами: А — *A. versicolor* 57, Б — *A. versicolor* 101, В — *A. versicolor* 43, Г — *A. versicolor* 429, Д — *A. versicolor* 432

Fig. 2. Efficiency of the glucose utilization of *A. versicolor* strains on media with different glucose concentration: time 3, 7, 14 and 21 days of growth; strains of А — *A. versicolor* 57, Б — *A. versicolor* 101, В — *A. versicolor* 43, Г — *A. versicolor* 429, Д — *A. versicolor* 432



Продовження рис. 2

Слід зазначити, що в літературі обмаль даних щодо фізіологічної характеристики бактерій і грибів за величиною економічного коефіцієнта в умовах глибинного та поверхневого росту на середовищах з різною концентрацією глюкози. При цьому практично відсутні дані щодо грибів роду *Aspergillus*. За доступною нам літературою, серед грибів тільки для *Candida utilis*, *Penicillium chrysogenum* і термофільного аскоміцета *Thielavia* sp. при глибинному їх культивуванні були розраховані величини економічних коефіцієнтів. Останні для вказаних видів грибів становили, відповідно, 0,51; 0,43 та 0,31–0,40 (для пелет гриба *Thielavia* sp.) при рості на середовищі з певною концентрацією глюкози (Перт, 1978; Громозова и соавт., 1989). На середовищі Чапека з 20 г/л глюкози для більшості штамів *Fusarium sporotrichiella* за поверхневого культивування величина економічного коефіцієнта становила 0,38, для фітопатогенного *Phoma solanicola* — 0,25 (Брюхина, 1968; Дорожкін и соавт., 1978).

Отримані нами для контрольних штамів *A. versicolor* та штамів, які виявляли радіоадаптивні властивості, значення економічних коефіцієнтів споживання глюкози на середовищі з концентрацією 20 г/л були близькими та фактично відповідали наведеним вище даним літератури. На відміну від цього, за найменшої (0,25 г/л) з досліджених концентрацій глюкози ефективність споживання субстрату штамми *A. versicolor*, які виявляли радіоадаптивні

властивості, була суттєво вищою, а, відповідно, величини економічних коефіцієнтів — значно (у 3,0—3,5 раза) більшими, ніж у контрольних. Відомо, що суттєво змінюється величина економічного коефіцієнта у багатьох культур мікроорганізмів за якісної зміни енергетичних процесів (Петрова и соавт., 1982). Отримані нами дані можливо пояснити тим, що у штамів *A. versicolor*, які виявляли радіоадаптивні властивості, порівняно з контрольними значно змінюється енергетичний метаболізм саме в разі обмеження джерела вуглецю. За концентрації глюкози 20 г/л такі зміни, певно, не відбуваються.

На нашу думку, ці відмінності в їх енергетичному метаболізмі можна пояснити, зокрема, підвищенням рівня альтернативної оксидази, що є економічнішим для життєдіяльності клітини порівняно з функціонуванням цитохромоксидази як кінцевого акцептора електронів. Підставою для такого припущення є дані, що вказаний фермент здатен активізуватися в клітинах багатьох грибів за умов вичерпання глюкози в середовищі (Меденцев и соавт., 1999).

За даними літератури *A. versicolor* широко розповсюджений у природі та часто трапляється в повітрі, на поверхні промислових субстратів у виробничих, житлових приміщеннях і в приміщеннях з високим рівнем радіоактивності об'єкта «Укриття» (Лугаускас и соавт., 1987; Билай, Коваль, 1988; Коваль, Сидоренко, 1989; Жданова и соавт., 2005; Фомичева, 2007; Марфенина и соавт., 2002). Вказані відомості свідчать про здатність цього виду гриба адаптуватися до існування в умовах обмеженої кількості джерела живлення.

Таким чином, ми вперше у штамів *A. versicolor* з радіоадаптивними властивостями, на відміну від тих, у яких вони були відсутні, встановили високу ефективність споживання джерела вуглецю (глюкози) за умов його дефіциту. Одержані дані засвідчують, що у штамів *A. versicolor*, які виявляли радіоадаптивні властивості, сформувалася адаптація принаймні до двох стресових факторів: підвищеного радіаційного фону та дефіциту джерела вуглецю.

## Висновки

Вперше у штамів *A. versicolor*, що виявляли та не виявляли радіоадаптивних властивостей, досліджено динаміку накопичення біомаси в широкому діапазоні концентрацій глюкози від 20 до 0,25 г/л. Встановлено, що при концентрації глюкози в середовищі 20 г/л штами з радіоадаптивними властивостями та контрольні мали близький рівень максимально накопиченої біомаси. За концентрації глюкози 0,25 г/л кількість накопиченої біомаси у контрольних штамів була дещо нижчою, ніж у штамів з радіоадаптивними властивостями.

Встановлено, що у штамів *A. versicolor*, які виявляли радіоадаптивні властивості, зі зменшенням концентрації глюкози в середовищі суттєво зростала ефективність використання субстрату. На середовищі з найнижчою концентрацією глюкози (0,25 г/л) значення економічних коефіцієнтів у них були в 3,0—3,5 раза більшими порівняно з контрольними штамами.

1. *Билай В.И., Коваль Э.З.* Аспергиллы. — Киев: Наук. думка, 1988. — 203 с.
2. *Брюхина И.П.* Влияние различных источников углеродного питания на рост и спорообразование гриба *Fusarium sporotrichiella* / Эксперим. микол. — Киев: Наук. думка, 1968. — С. 124—131.
3. *Гродзинський Д.М.* Радиобіологія. — Київ: Либідь, 2000. — 448 с.
4. *Громозова Е.Н., Фомина М.И., Блажчук И.С., Подгорский В.С.* Физиологические особенности роста различных мицелиальных структур *Thielavia* sp. на среде с глюкозой // Микробиол. журн. — 1989. — 51, № 1. — С. 43—46.
5. *Дорожкин Н.А., Бельская С.И., Попов Ф.А.* Влияние источников углеродного и азотного питания на рост и развитие *Phoma solanicola* Prill. et Del. // Микол. и фитопатол. — 1978. — 12, № 4. — С. 310—314.
6. *Жданова Н.Н., Захарченко В.А., Тугай Т.И., Карпенко Ю.В. и др.* Грибное поражение помещений объекта «Укрытие» // Проблемы безпеки атомних електростанцій і Чорнобиля. — 2005. — Вип 3, ч. 1. — С. 78—86.
7. *Коваль Э.З., Сидоренко Л.П.* Микодеструкторы промышленных материалов. — Киев: Наук. думка, 1989. — 192 с.
8. *Котеров А.Н., Никольский А.В.* Адаптация к облучению *in vivo* // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1999. — 39, № 6. — С. 648—662.
9. *Лугаускас А.Ю., Микутьскене А.И., Шляужене Д.Ю.* Каталог микромицетов — биодеструкторов полимерных материалов. — М.: Наука, 1987. — 340 с.
10. *Марфенина О.Е., Кулько А.Б., Иванова А.Е., Согонов М.В.* Микроскопические грибы во внешней среде города // Микол. и фитопатол. — 2002. — 36, № 4. — С. 22—32.
11. *Меденцев А.Г., Аринбасарова А.Ю., Акименко В.К.* Регуляция и физиологическая роль цианидрезистентной оксидазы у грибов и растений // Биохимия. — 1999. — 64, № 11. — С. 1457—1472.
12. *Методы экспериментальной микологии (Справочник)* / Под ред. В.И. Билай. — Киев: Наук. думка, 1982. — 432 с.
13. *Перт С.Дж.* Основы культивирования микроорганизмов и клеток. — М.: Мир, 1978. — 331 с.
14. *Петрова Т.А., Позмогова И.Н., Работнова И.Л., Каравайко Г.И.* Метод вычисления удельной скорости роста микроорганизмов по измерениям концентрации субстрата или продукта // Микробиология. — 1981. — 50, № 5. — С. 934—937.
15. *Тугай Т.И., Жданова Н.Н., Желтоножский В.А., Садовников Л.В.* Проявление радиоадаптивных свойств у микроскопических грибов, длительное время находившихся на территориях с повышенным радиационным фоном после аварии на ЧАЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2007. — 47, № 5. — С. 457—463.
16. *Тугай Т.И.* Ріст *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi під впливом різних доз іонізуючого опромінення в умовах модельних систем // Укр. ботан. журн. — 2008. — 65, № 5. — С. 723—731.
17. *Фомичева Г.М.* Экофизиологические и молекулярно-генетические свойства микроскопических грибов представителей группы *Aspergillus versicolor*, выделенных из разных местообитаний: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2007. — 50 с.
18. *Dighton J., Tugay T., Zhdanova N.* Fungi and ionizing radiation from radionuclides // FEMS Microbiol. Lett. — 2008. — 281. — P. 109—120.
19. *Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K. et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Analit. Chem. — 1956. — 28, № 3. — P. 350—356.
20. *Tugay T., Zhdanova N.N., Zheltonozhsky V.A. et al.* The influence of ionizing radiation on spore germination and emergent hyphal growth response reactions of microfungi // Mycologia. — 2006. — 98, № 4. — P. 521—527.
21. *Zhdanova N.N., Tugay T., Dighton J., Zh. et al.* Ionizing radiation attracts soil fungi // Mycol. Res. — 2004. — 108, № 9. — P. 1089—1096.

Рекомендує до друку  
І.О. Дудка

Надійшла 30.03.2009



Т.И. Тугай, А.И. Василевская, Л.В. Артышкова,  
Л.Т. Наконечная, М.В. Вдовиченко

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного  
НАН Украины, г. Киев

#### ПОТРЕБЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ ШТАММАМИ *ASPERGILLUS VERSICOLOR* (VUILL.) TIRABOSCHI С ПРИЗНАКАМИ РАДИОАДАПТИВНОСТИ

Исследованы динамика накопления биомассы и эффективность потребления глюкозы в условиях разной степени дефицита источника углерода штаммами *Aspergillus versicolor*, которые проявляли и не проявляли (контроль) радиоадаптивные свойства. Штаммы изучали в условиях стационарного культивирования на средах с концентрациями глюкозы 20, 5, 1, 0,25 г/л. Установлено, что эффективность потребления субстрата штаммами *A. versicolor* увеличивалась с уменьшением концентрации глюкозы в среде. На среде с наименьшей концентрацией глюкозы (0,25 г/л) у штаммов, проявляющих радиоадаптивные свойства, значения экономических коэффициентов были в 3,0–3,5 раза выше по сравнению с контрольными.

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* *Aspergillus versicolor*, биомасса, потребление глюкозы, радиоадаптивные свойства, экономический коэффициент.

T.I. Tugay, A.I. Vasilevska, L.V. Artyshkova,  
L.T. Nakonechna, M.V. Vdovichenko

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine

#### GLUCOSE CONSUMPTION BY *ASPERGILLUS VERSICOLOR* (VUILL.) TIRABOSCHI STRAINS WITH RADIOADAPTIVE PROPERTIES

The biomass quantity and efficiency of glucose utilization by strains of *Aspergillus versicolor* have or not having (control) radioadaptive properties were studied under conditions of different levels of the carbon source deficiency. Strains were grown on media with glucose concentrations 20, 5, 1, and 0.25 g/l under static conditions. It was established that the efficiency of substrate consumption by strains of *A. versicolor* was increased under decrease of glucose concentration in medium. It was established that efficiency of substrate utilization during the growth on media with the lowest glucose concentration 0.25 g/l by strains of *A. versicolor* possessing radiadaptive properties demonstrated high economic coefficient (3.0–3.5 times higher comparing to the control).

*К e y w o r d s:* *Aspergillus versicolor*, biomass, glucose consumption, radioadaptive properties, economic coefficient.