



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>


## РАЗВИТИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В ИНФИЛЬТРАЦИОННОЙ ВОДЕ ПЕЩЕРЫ ШУЛЬГАН-ТАШ

**Галимзянова Н.Ф., Кузьмина Л.Ю., Рябова А.С.,  
Актуганов Г.Э., Гильванова Е.А., Бойко Т.Ф.,  
Мелентьев А.И.**

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального  
исследовательского центра РАН, Уфа  
E-mail: [galnailya@yandex.ru](mailto:galnailya@yandex.ru)

Показана возможность развития микроскопических грибов в инфильтрационной воде пещеры Шульган-Таш, содержащей 0,2 мг/л органических веществ при температуре 7°C. Обнаружено формирование биопленки аборигенных бактерий на гифах гриба. Результат показывает возможные пути формирования многовидовых сообществ микроорганизмов в гипогейных условиях.

*Ключевые слова:* пещера, микроскопические грибы, инфильтрационная вода, биопленка

## THE DEVELOPMENT OF MICROSCOPIC FUNGI WHEN CULTURED IN THE INFILTRATION WATER OF THE CAVE SHULGAN-TASH

**Galimzyanova N.F., Kuz'mina L.Y., Ryabova A.S.,  
Aktuganov G.E., Gilvanova E.A., Boiko T.F.,  
Melentiev A.I.**

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of  
the Russian Academy of Sciences, Ufa  
E-mail: [galnailya@yandex.ru](mailto:galnailya@yandex.ru)

The possibility of the development of microscopic fungi in the infiltration water of the Shulgan-Tash cave containing 0.2 mg/l of organic substances at a temperature of 7°C. The formation of a biofilm of aboriginal bacteria on the fungus hyphae was found. The result shows the possible ways of formation of multi-species communities of microorganisms in hypogeaic conditions.

*Keywords:* cave, microscopic fungi, infiltration water, biofilm

*Поступила в редакцию:* 28.06.2019

[DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-3-219-222](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-219-222)

## ВВЕДЕНИЕ.

Пещеры представляют собой уникальные экосистемы, характеризующиеся зачастую экстремальными условиями обитания для живых организмов. Для большинства спелеосистем характерны отсутствие света, низкие температуры, высокая влажность и минимальные концентрации доступных органических веществ. Одним из важных путей поступления органических веществ в пещеры является вода. Вместе с ней с дневной поверхности проникают и микроорганизмы. Учитывая значительную роль воды в поддержании жизнедеятельности гипогейных экосистем, изучение возможности развития микроорганизмов конкретных спелеосистем за счет органических веществ, поступающих с инфильтрационной водой, является актуальной проблемой.

Пещера Шульган-Таш расположена в Бурзянском районе Республики Башкортостан Российской Федерации, на территории Государственного природного заповедника "Шульган-Таш", в бассейне р. Белой (53°02'40" с.ш. 57°03'50" в.д.). Она заложена в массиве, сложенном известняками каменноугольного периода и представляет собой систему карстовых полостей протяженностью 3323 м, амплитудой 165 м и объемом 180510 м<sup>3</sup> расположенных на трех гипсометрических уровнях [Ляхницкий и др., 2013]. Главной достопримечательностью пещеры является настенная живопись верхнепалеолитического возраста, присутствующая в залах Купольный, Знаков, Хаоса и Рисунков. В ряде пещер на стенах развиваются видимые колонии микроорганизмов, не является исключением и пещера Шульган-Таш. Развитие сообществ микроорганизмов на поверхности стен представляет опасность для декорированных полостей, поскольку их агрессивные экзосометаболиты

способны разрушать красочный слой, что может привести к потере уникальных древних рисунков [Bastian et al., 2010, Stomeo et al., 2010].

Целью настоящей работы являлась оценка возможности развития микроскопических грибов в воде капельника пещеры в присутствии аборигенных микроорганизмов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Воду капельника Ступенчатой галереи пещеры Шульган-Таш отбирали в апреле и июле 2018 года. Вода в этом капельнике, находящемся в зоне интенсивного воздухообмена с поверхностью, образуется как за счет конденсации, так и инфильтрации с поверхности. В воде определяли численность бактерий стандартным методом посева на среды МПА и Эндо, микроскопические грибы выделяли на среде Чапека. Идентификацию микромицетов проводили по культурально-морфологическим признакам с использованием общепринятых определителей [Билай, Курбацкая, 1990, Егорова, 1986, Watanabe, 2002]. Для оценки содержания органического вещества в воде использовали метод перманганатной окисляемости [Руководство, 2012]. В качестве тест-культуры для определения возможности развития микроскопических грибов в воде капельника использовали вид *Alternaria alternata*, типичный для воздуха пещеры [Галимзянова и др., 2015]. В лабораторных условиях воду, отобранную в апреле, разлили по 10 мл во флаконы, закрыли ватно-марлевыми пробками. Суспензию спор гриба, содержащую  $10^4$  КОЕ/мл, вносили по 200 мкл во флаконы с водой капельника, помещали в холодильник и инкубировали при  $7^{\circ}\text{C}$  в течение 120 суток, наблюдения проводили через 14 и 120 суток. В качестве контроля использовали воду капельника без внесения тест-культуры. Повторность пятикратная. Наблюдение за развитием микроорганизмов проводили с использованием светового микроскопа Leica DM 1000 с фотоприставкой DFC-290 (Германия).

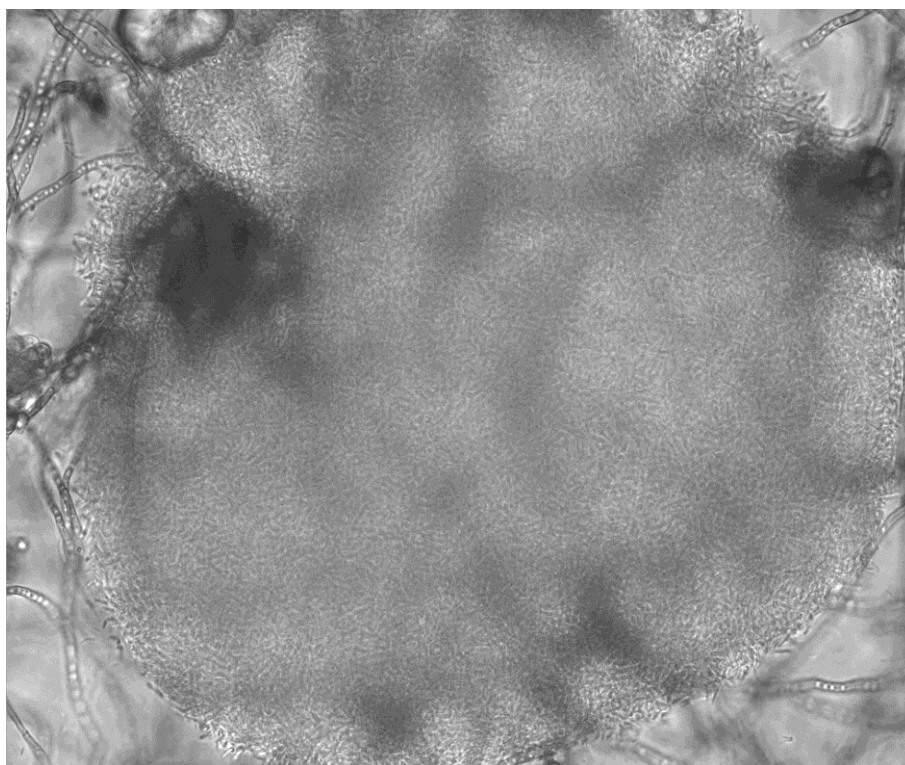
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение перманганатной окисляемости показало, что в воде капельника Ступенчатой галереи в апреле она составляла – 0,2 мг/л. Численность бактерий в воде составляла  $2 \times 10^3$  КОЕ/мл. Бактерий группы кишечной палочки не обнаружено. Определение видового состава микроскопических грибов в воде капельника весной выявило наличие лишь одного вида гриба, при анализе, проведенном летом, было обнаружено три вида микромицетов, стерильные светлоокрашенные формы, а также дрожжевые грибы, последние группы оказались преобладающими в этот срок исследования (Табл.). Расширение видового состава воды произошло за счет представителя аэромикоты пещеры (*C. cladosporioides*) [Кузьмина и др., 2013] и типичных для этой пещеры вида *Geotrichum candidum* и стерильной светлоокрашенной формы (*Mycelia sterilia white*) [Галимзянова и др., 2015].

**Таблица. Видовой состав микроскопических грибов в воде капельника Ступенчатой галереи пещеры Шульган-Таш (относительное обилие, %)**

Виды	Даты отбора образцов	
	07.04.18	12.07.18
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.)G.A. de Vries		17,1
<i>Geotrichum candidum</i> Link		21,4
<i>Phialophora fastigiata</i> (Lagerb.&Melin)Conant	100	14,3
<i>Mycelia sterilia white</i>		28,6
Дрожжевые грибы		28,6

В лабораторном опыте через 14 суток инкубирования не выявлено развития тест – культуры. В контрольной пробе воды обнаруживались лишь активно передвигающиеся бактерии. Варианты опыта, инкубирующиеся при низкой положительной температуре, были проанализированы через 4 месяца. Длительность эксперимента обусловлена замедленным развитием микромицетов при экстремально низкой концентрации доступных субстратов и температуре. В воде капельника обнаружено развитие грибов в виде сети гиф (рис.). Известно, что концентрация органических веществ в инфильтрационной воде, составляющая 5,5 мг/мл, поддерживает рост микроскопических грибов в условиях пещеры [Jurado et al., 2009]. Наши данные свидетельствуют о том, что даже на порядок меньшая концентрация органических веществ в воде способна поддерживать прорастание и развитие спор грибов. Однако следует учитывать, что конидии *A. alternata* имеют значительные размеры (20-60x10-18 мкм), что предполагает наличие существенных запасов метаболитов для ростовых процессов [Егорова, 1986]. Как видно из рисунка на гифах гриба образовалась развитая биопленка аборигенных бактерий. Биопленки микроорганизмов, в том числе и многовидовые, в настоящее время признаются основной формой существования бактерий и грибов в окружающей среде [Ножевникова и др., 2015]. Гифы могут способствовать не только прикреплению бактерий, но и их распространению в гетерогенных средах за счет движения вдоль растущего со сравнительно высокой скоростью мицелия [Simon et al., 2015]. Анализ биопленок, развивающихся в различных пещерах, показал, что они представляют собой сложные сообщества, в которых присутствуют бактерии (в том числе циано- и актинобактерии), а также микроскопические грибы [Zucconi et al., 2011, Herzog Velikonja et al., 2014]. Сложность состава и значительное видовое разнообразие таких сообществ, свидетельствует об их адаптации к экстремальным гипогейным условиям [Hathaway et al., 2014, Oliveira et al., 2017].



**Рис. Биопленка аборигенных бактерий на гифах *Alternaria alternata* в воде капельника зала Сталагмитовый (длительность инкубирования - 4 месяца при температуре +7°C, световая микроскопия x400).**

Полученные результаты свидетельствуют о возможности поддержания жизнедеятельности грибов и бактерий за счет органических веществ, содержащихся в инфильтрационных и конденсационных водах пещеры, а также о возможных путях формирования сообществ микроорганизмов, способствующих их выживанию в экстремальных условиях спелеосистемы.

При проведении исследований использовали оборудование ЦКП "Агидель" УФИЦ РАН. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190098-9 и при частичной финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Башкортостан в рамках гранта № 17-44-020091 р\_а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Билай В.И., Курбацкая З. А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев: Наукова думка, 1990. 236 с.
2. Галимзянова Н.Ф., Мелентьев А.И., Кузьмина Л.Ю., Рябова А.С. Микромицеты пещеры Шульган-Таш // Современная микология в России. Тезисы докладов Третьего Международного микологического форума. 2015. Т.4. С. 163
3. Егорова Л.Н. Почвенные грибы Дальнего Востока: Гифомицеты. Л.: Наука, 1986. 192 с.
4. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Червяцова О.Я., Рябова А.С. Предварительные данные по микробиологическим исследованиям воздуха в пещерах Шульган-Таш и Киндерлинская (Южный Урал) // Минералогия техногенеза - 2013. Миасс: ИМин УрО РАН, 2013. С. 120-139.
5. Ляхницкий Ю.С, Юшко А.А, Минников О.А. Рисунки и знаки пещеры Шульган-Таш (Каповой). Каталог. Уфа: «Китап», 2013. 288 с.
6. Ножевникова А. Н., Бочкова Е. А., Плакунов В. К. Мультивидовые биопленки в экологии, медицине и биотехнологии // Микробиология, 2015, Т. 84, № 6, с. 623-644. DOI: [10.7868/S0026365615060117](https://doi.org/10.7868/S0026365615060117)
7. Hathaway J.J.M, Garcia M.G., Balasch M.M., Spilde M.N., Stone F.D., De Lurdes M.N., Dapkevicius E., Amorim I.R., Gabriel R., Borges P.A.V., Northup D.E. Comparison of Bacterial Diversity in Azorean and Hawai'ian Lava Cave Microbial Mats // Geomicrobiol. J. 2014. V.31(3) P. 205–220. DOI: [10.1080/01490451.2013.777491](https://doi.org/10.1080/01490451.2013.777491)
8. Herzog Velikonja B., Tkavc R. and Pašić L., Diversity of cultivable bacteria involved in the formation of microbial colonies (cave silver) on the walls of a cave in Slovenia. International Journal of Speleology, 2014. V.43 (1), P. 45-56. Tampa, FL (USA) DOI: [10.5038/1827-806X.43.1.5](https://doi.org/10.5038/1827-806X.43.1.5)
9. Jurado V., Fernandez-Cortes A., Cuezva S., Laiz L., Cañavera J.C., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. The fungal colonization of rock-art caves: experimental evidence // Naturwissenschaften 2009 V.96 P.1027–1034. DOI: [10.1007/s00114-009-0561-6](https://doi.org/10.1007/s00114-009-0561-6)
10. Oliveira C., Gunderman L., Coles C.A., Lochmann J., Parks M., Ballard E., Glazko G., Rahmatallah Y., Tackett A.J., Thomas D.J. 16S rRNA Gene-Based Metagenomic Analysis of Ozark Cave Bacteria. // Diversity (Basel). 2017. V.9 (3). P. 31. DOI: [10.3390/d9030031](https://doi.org/10.3390/d9030031)
11. Simon A., Bindschedler S., Job D., Wick L.Y., Filippidou S., Kooli W.F., Verrecchia E.H., Junie P. Exploiting the fungal highway: development of a novel tool for *in situ* isolation of bacteria migrating along fungal mycelium. // FEMS Microbiology Ecology. 2015. V. 91, P. 1-13. DOI: [10.1093/femsec/fiv116](https://doi.org/10.1093/femsec/fiv116)
12. Zucconi L., Gagliardi M., Isola D., Onofri S., Crocifissa M., Pelosi A.C., Pogliani P., Selbmann L. Biodeterioration agents dwelling in or on the wall paintings of the Holy Saviour's cave (Vallerano, Italy). // International Biodeterioration & Biodegradation. 2012 V.70, P. 40-46