

УДК 579.266:579.22/574.43

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ ХИТИН- И ХИТОЗАН-ДЕГРАДИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В НЕКОТОРЫХ ТИПАХ ПОЧВ ЮЖНОГО УРАЛА

© Г. А. Терегулова¹, Г. Э. Актуганов^{1*}, Р. Р. Сулейманов¹,
Ю. Г. Богданова², Ю. Я. Янгильдина²

¹Институт биологии Уфимского научного центра РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 69.

²Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

Тел.: +7 (347) 235 57 04.

*Email: gleakt@anrb.ru

Проведена оценка численности хитинолитических и хитозанолитических микроорганизмов в почвах различных эколого-географических зон Южного Урала. Выявлено, что наиболее высокое содержание хитинолитических микроорганизмов (10^6 – 10^7 КОЕ/г) наблюдается в аллювиальных почвах речных пойм, а также в серой лесной почве, достигая 9–17% от общего числа изолятов. Хитозан-деградирующие микроорганизмы составляли от 1 до 20% от числа хитинолитических, в зависимости от типа почвы, при этом их наиболее высокая численность была отмечена для тех же типов почв. До 90% всех хитинолитических изолятов составляли слабоактивные микроорганизмы, медленно гидролизующие хитин. Наибольшее количество высокоактивных хитинолитических бактерий было выявлено в упомянутых выше почвах, а также в выщелоченном черноземе. Наиболее активными деструкторами хитозана являлись микромицеты, выделенные при 20 °С и 37 °С и рН 4.0 из чернозема и аллювиальной луговой почвы и составляющие 50–100% от общего числа активных изолятов. Наибольшее видовое разнообразие и богатство деструкторов хитина/хитозана отмечено среди мезофильных микроорганизмов, растущих при рН 6.5–7.0 и 20 °С.

Ключевые слова: хитин, хитозан, биодеструкция, почвенная микробиота, хитинолитическая активность.

Введение

Хитин, линейный полисахарид, состоящий из остатков N-ацетил-D-глюкозамина соединенных β-1,4-гликозидными связями, является одним из наиболее широко распространенных природных полисахаридов, занимая второе место после целлюлозы по объему ежегодной продукции [1]. Хитин является основным структурным компонентом наружных покровов многочисленных беспозвоночных животных (членистоногих, моллюски и т.д.) водных и наземных экосистем, а также клеточных стенок мицелиальных грибов. Хитозан представляет собой сополимер D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, в котором содержание глюкозаминового звеньев может варьировать от 70 до 100%. В отличие от хитина, хитозан менее широко распространен в природе; самым известным источником естественного хитозана являются мушкетерские грибы [2]. Предполагается, что процессы биодegradации хитина и хитозана в окружающей среде могут быть тесно взаимосвязаны в связи со способностью микроорганизмов продуцировать внеклеточные ферменты, гидролизующие связи смешанного типа в обоих субстратах. Вместе с тем, биоконверсия хитозана является лишь одним из двух возможных путей катаболических превращений хитина в окружающей среде, протекающим с участием таких специфических ферментов как хитиндеацетилазы (КФ 3.5.1.41) и хитозаназы (КФ 3.2.1.132) [3]. Имеется достаточно большое количество эксперимен-

тальных данных, свидетельствующих как об обособленности, так и об общности процессов расщепления хитина и хитозана у отдельных штаммов микроорганизмов. Однако, взаимосвязь этих процессов на уровне микробных сообществ различных экосистем остается малоизученной. Одним из критериев, позволяющих оценить сравнительную интенсивность микробной деградации хитина и хитозана в различных экотопах, помимо прямого определения уровня ферментативной активности, может стать анализ численности культивируемых форм хитино- и хитозанолитических микроорганизмов. Сами показатели численности и активности хитин-деградирующей микробиоты почвенных биоценозов характеризуют интенсивность гумификации в соответствующем почвенном горизонте, степень естественного плодородия почвы, а также уровень видового богатства и разнообразия в конкретном почвенном биоценозе. Известно, например, что внесение экзогенного хитина и известкование кислых грунтов некоторых естественных ландшафтов приводит к повышению общей численности бактерий и актиномицетов и увеличению почвенной хитиназной активности [4]. Как и целлюлоза, хитин представляет собой труднорастворимый субстрат, однако, в отличие от нее, хитин является еще источником азота и его микробная деградация может замедляться при повышенном содержании минерального азота в почве [5]. Отмечено, что почвенная хитиназная активность коррелирует с содержанием грибовой биомассы и физиологической актив-

ностью грибов в почве [5]. В то же время, важнейшую роль в деградации хитина во многих почвенных биоценозах играют актиномицеты, для которых хитин в определенной степени является селективным субстратом [6–7]. Таким образом, показатель хитиназной активности почвенной микробиоты может количественно отражать интенсивность развития и степень разнообразия грибов, а также уровень распространенности актиномицетов в тех или иных типах почв. В почвах бедных органическим веществом грибы могут стимулировать развитие хитинолитических бактерий, способных лизировать грибной мицелий [8]. Большую распространенность антагонистических штаммов среди хитин-деградирующих бактерий связывают с их повышенной способностью к продукции антибиотиков при конкуренции за этот субстрат с грибами [9]. В связи с этим, численность и разнообразие микробных продуцентов хитиназ может обуславливать супрессивные свойства почвы в отношении фитопатогенных грибов [10].

Целью нашей работы являлась сравнительная оценка численности хитин- и хитозан-деградирующих микроорганизмов в типовых видах почв из различных эколого-географических зон Южного Урала (р. Башкортостан) для определения относительной интенсивности процессов биodeградации хитина и хитозана в этих почвах, а также для изучения их взаимосвязи.

Объекты и методы исследований

В качестве источников хитин- и хитозан-деградирующих микроорганизмов использовали образцы выщелоченного чернозема, отобранного на пастбищах склона г. Тратау (граница Прибельской равнины и передних хребтов Южного Урала); аллювиальной дерновой и аллювиальной луговой почв из пойм рек Аскын и Большой Ик, соответственно; серой лесной почвы (широколиственный лес нижних склонов Нугушского водохранилища), а также карболитозема (Аскынская ледяная пещера). Все образцы почв были отобраны в июне 2014 г. Для посева 1 г сырой почвы предварительно суспендировали в 10 мл стерильного физиологического раствора, суспензию растирали в стерильной ступке, затем переносили в стерильные колбы объемом 250 мл и инкубировали в течение 30 мин на шейкере-инкубаторе при 250 об/мин и комнатной температуре. Из полученной суспензии методом серийных разведений осуществляли посев на агаризованные среды с хитином и хитозаном. Хитинолитические микроорганизмы выделяли на среде следующего состава (г/л): K_2HPO_4 – 1.0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 0.5; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 0.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; CaCl_2 – 0.1; пептон ферментативный – 3.0; дрожжевой экстракт – 3.0; кукурузный экстракт – 3.0; коллоидный хитин – 5.0; агар – 16.0, pH перед автоклавированием ~6.6–7.0. Хитозан-деградирующие микроорганизмы выделяли на среде того же состава, за исключением того, что вместо хитина в качестве основного источника углерода использовали 0.5% (в/о) хитозана (“Sigma-Aldrich”) со сте-

пенью деацетилирования ~85%. Хитозан предварительно растворяли в разбавленной соляной кислоте (50 мМ) и стерилизовали отдельно, после чего добавляли в среду вместе с эквивалентным объемом 50 мМ NaOH. В ряде случаев pH среды доводили до значений pH 4.0, 7.0 и 9.5, используя стерильные разбавленные растворы соляной кислоты и гидроксида натрия. Культивирование проводили на чашках Петри в течение 7–14 суток при 20 °С, 37 °С и 45 °С. Во всех случаях активные изоляты выявляли по формированию зон просветления в агаре, формирующиеся вокруг колоний.

Коллоидный хитин готовили из очищенного хитина из панцирей краба (ЗАО «Биопродесс») по модифицированной методике Rodriguez-Kabana с соавт. [11]

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы ORIGIN 7.0 PR0. Значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия между сравниваемыми выборками при уровне достоверной вероятности 95% ($p < 0.05$).

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ общей численности микроорганизмов, выделяемых на среде с коллоидным хитином, в условиях, благоприятных для развития нормофильной микробиоты (20 °С, pH 6.5–7.0), выявил наиболее высокие показатели для аллювиальных почв пойменных лугов, достигавшие нескольких десятков миллионов КОЕ на 1 г сырой почвы (рис. 1). Однако, количество изолятов на среде с хитозаном для этих почв было почти на порядок меньше по сравнению с черноземом и серой лесной почвой. В целом, для всех изученных типов почв было отмечено существенное снижение (от одного до двух порядков) численности выделяемых микроорганизмов на среде с хитозаном по сравнению с хитин-содержащей средой. Из образца карболитозема, отобранного в привходовой части пещеры Аскынской, вообще не выделялись микроорганизмы, способные расти на среде с хитозаном (рис. 1). Данный факт может быть обусловлен, с одной стороны, биоцидными свойствами хитозана [12], а также меньшей распространенностью хитозан-деградирующих микроорганизмов по сравнению с хитинолитическими. Полученные данные, в целом, согласовывались с результатами оценки численности активных изолятов (табл. 1). Наиболее высокое содержание хитинолитических микроорганизмов наблюдалось в аллювиальных почвах речных пойм, а также в серой лесной почве, наименьшее – в относительно бедном органическим веществом пещерном грунте (карболитозем). Эти значения могут быть связаны как с постоянным привнесением органического материала, в т.ч. хитин-содержащего, на заливаемые луга речных пойм, так высоким содержанием грибной биомассы в случае серой лесной почвы. Интересно, что при посеве вытяжки образца этой почвы на среду с хитозаном и дальнейшем культивировании при 20 °С грибы составляли от 50% и более от общего числа микробных

Таблица 1
Численность хитин- и хитозан-деградирующих микроорганизмов в различных типах почв (20 °С, pH 6.5–7.0)

Тип почвы	Кол-во хитин-разрушающих изолятов		Кол-во хитозан-разрушающих изолятов	
	КОЕ/г	% от общего числа	КОЕ/г	% от общего числа
Выщелоченный чернозем	0.77±0.21×10 ⁵	1.4–1.8%	0	0
Аллювиальная луговая	0.95±0.07×10 ⁶	9.4–10.4%	0.40±0.08×10 ⁵	9.5–9.7%
Серая лесная	1.50±0.22×10 ⁶	12–14.9%	0.33±0.06×10 ⁶	15–17%
Карболитозем	1.20±0.19×10 ⁵	2–4%	0	0
Аллювиальная дерновая	1.20±0.28×10 ⁷	16–17%	НД	НД
НД – нет данных.				

изолятов (данные не представлены). В этих же образцах наблюдалось наиболее высокое относительное содержание как хитин-, так и хитозан-деградирующих микроорганизмов, включая бактерии, грибы и актиномицеты (от 9 до 17% от общего числа выросших изолятов). Косвенно это свидетельствует о корреляции обоих параметров, хотя, как и в случае с общим количеством изолятов, хитозан-деградирующие микроорганизмы составляли не более 10–20% от числа хитинолитических.

Для более детальной оценки активности различных экологических групп микроорганизмов мы изучали численность активных изолятов при различных температурах культивирования (табл. 2). Как видно из таблицы 2, все типы исследованных почв характеризовались преобладанием среди активных изолятов мезофильных микроорганизмов, выделяемых и активно растущих при 20 °С и 37 °С, при этом зависимость численности выделяемых микроорганизмов от температуры имела различный характер для различных типов почв. Если в образцах грунта привходовой части пещеры Аскынская и поймы р. Аскын наибольшая численность активных изолятов наблюдалась при 20 °С, то для других типов почв – при 37 °С. Вместе с тем, численность активных изолятов среди умеренно термофильных/термотолерантных микроорганизмов была существенно ниже во всех типах почв, за исключением чернозема. Таксономическое разнообразие активных микроорганизмов, выделяемых при 45 °С, также было на порядок ниже, чем в группах, выделяемых в интервале 20–37 °С, причем это были исключительно бактериальные изоляты, в т.ч. относящиеся к эндоспорообразующим бактериям. Наибольшее разнообразие и видовое богатство хитин- и хитозан-деградирующих изолятов наблюдалось среди мезофильных микроорганизмов, выде-

ляемых при 20 °С (рис. 2). Таким образом, доля умеренно термофильных изолятов составляла от 1 до 10% и менее, в зависимости от типа почвы.

Интересными представляются результаты оценки численности различных экологических групп хитозан-деградирующих микроорганизмов, выделяемых как при различных значениях pH среды, так и температуры. С этой целью выделение проводили выборочно из некоторых типов почв (табл. 3). Было выявлено существенное различие между различными типами почв в численности и составе микроорганизмов, способных развиваться и разрушать хитозан при тех или иных значениях pH и температуры. Так, в образце карболитозема обнаруживались только мезофильные бактерии, способные развиваться на хитозане в умеренно щелочных условиях (pH 9.5), в остальных случаях роста либо не обнаруживалось вовсе, либо изоляты не показывали активность. В кислой среде (pH 4.0) активные микроорганизмы развивались только при комнатной температуре (чернозем), либо при 37 °С (аллювиальная луговая почва). В первом случае активные изоляты были полностью представлены микромицетами, в основном, пенициллами (рис. 3), а во втором соотношении бактерий и микромицетов составляло примерно 1:1. В нейтральной среде численность хитозан-деградирующих микроорганизмов существенно не повышалась, за исключением аллювиальной почвы, при этом существенную часть активных изолятов (от 50% и более) составляли грибы. Наконец, среди алкалофильной микробиоты во всех типах почв выявлялись исключительно мезофильные бактерии, не растущие или неактивные при более высоких температурах (табл. 3). Полученные данные свидетельствуют как о некоторых общих закономер-

Таблица 2
Численность хитин- и хитозан-деградирующих микроорганизмов выделяемых из различных типов почв при различных температурных режимах (20 °С, pH 6.5–7.0)

Тип почвы	Количество активных изолятов, КОЕ/г					
	Среда с хитином			Среда с хитозаном		
	20 °С	37 °С	45 °С	20 °С	37 °С	45 °С
Выщелоченный чернозем	0.80±0.28×10 ⁵	2.76±0.35×10 ⁶	0.60±0.12×10 ⁵	НР	0.94±0.17×10 ⁵	3.12±0.50×10 ³
Аллювиальная луговая	0.93±0.07×10 ⁶	1.95±0.11×10 ⁶	НД	4.00±0.91×10 ⁴	1.80±0.28×10 ⁵	НД
Серая лесная	1.50±0.35×10 ⁶	3.00±0.57×10 ⁶	НД	3.27±0.67×10 ⁵	1.18±0.46×10 ⁵	НД
Карболитозем	1.20±0.41×10 ⁵	3.00±0.55×10 ⁴	2.50±0.71×10 ³	НР	НР	НР
Аллювиальная дерновая	1.70±0.43×10 ⁷	1.60±0.57×10 ⁶	НА	НД	НД	НД

НР – рост отсутствует; НА – активные изоляты не выявляются; НД – нет данных.

Таблица 3

Количество хитозан-разрушающих микроорганизмов, выделяемых из различных типов почв при различных значениях pH среды и температуры

Тип почвы	pH среды	Количество активных изолятов, КОЕ/г		
		20 °C	37 °C	45 °C
Выщелоченный чернозем	4.0	2.55±0.07×10 ³	НА	НР
	6.5–7.0	НА	2.58±0.70×10 ³	3.12±0.50×10 ³
	9.5	2.50±0.71×10 ⁴	НД	НА
Аллювиальная луговая почва	4.0	НР	0.50±0.12×10 ⁴	НР
	6.5–7.0	НР	1.50±0.71×10 ⁵	НД
	9.5	0.50±0.17×10 ⁴	НД	НД
Карболитозем	4.0	НР	НР	НР
	6.5–7.0	НР	НР	НР
	9.5	0.50±0.17×10 ⁴	НА	НР

НР – рост отсутствует; НА – активные изоляты не выявляются; НД – нет данных.

стях в процессах микробной деградации хитозана в различных типах почв, так и об их специфике, связанной с уровнем активности, численностью и составом активной микробиоты. В дальнейшем эти данные требуют уточнения и детализации с точки зрения оценки влияния различных физико-химических факторов на аналогичные процессы деградации хитина в тех или иных типах почв. При этом следует отметить, что большинство микроорганизмов во всех типах почв характеризовалось относительно слабой хитинолитической активностью, т.е. медленно разрушали хитин, тогда как доля высокоактивных изолятов от общего числа активных составляла не более 1–10%, в зависимости от типа почвы (рис. 4). Наибольшее число высокоактивных изолятов составляли бактерии, выделенные из образцов выщелоченного чернозема, серой лесной и аллювиальной луговой почв.

Заключение

Полученные результаты косвенно подтверждают взаимосвязь показателей численности хитинолитической микробиоты с эколого-географическими характеристиками почв, а также их относительной биологической активностью. На основании сравнительной оценки численности активных микроорганизмов в различных типах почв можно судить о наличии взаимосвязи между процессами естественной деградации хитина и хитозана, несмотря на то, что количество активных биодеструкторов хитозана составляет 1–10% от числа хитинолитических микроорганизмов, что может объясняться большей распространенностью хитина в почвах. Следует отметить, что результаты данной работы не являются окончательными, а требуют в дальнейшем проведения дополнительных исследований, направленных на выявление взаимосвязей между показателями численности хитин- и хитозан-деградирующих микроорганизмов и ферментативной активностью почв, а также подробного изу-

чения филогенетического разнообразия этих микроорганизмов и продуцируемых ими ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khoushab F., Yamabhai M. Chitin Research Revised. Review // *Marine Drugs*. 2010. V. 8. P. 1988–2012.
2. Muzzarelli R. A.A., Boudrant J., Meyer D., Manno N., De-Marchis M., Paoletti M. G. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial // *Carbohydrate Polymers*. 2012. V. 87. P. 995–1012.
3. Gooday G. W., Prosser J. I., Hillman K., Gross M. G. Mineralization of chitin in an estuarine sediments: the importance of chitosan pathway // *Biochem. Syst. Ecol.* 1991. V. 19. No. 5. P. 395–400.
4. Krsek M., Wellington E. M.H. Assessment of chitin decomposer diversity within an upland grassland // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2001. V. 79. P. 261–267.
5. Andersson M., Kjoller A., Struwe S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests // *Soil Biol. Biochem.* 2004. V. 36. P. 1527–1537.
6. Hsu S. C., Lockwood J. L. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil // *Appl. Microbiol.* 1975. V. 29. No. 3. P. 422–426.
7. Metcalfe A. C., Krsek M., Gooday G. W., Prosser J. I., Wellington E. M.H. Molecular analysis of a bacterial chitinolytic community in an upland pasture // *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. No. 10. P. 5042–5050.
8. De Boer W., Gunnewiek P. J.A. K., Lafeber P., Janse J. D., Spit B. E., Woldendorp J. W. Antifungal properties of chitinolytic dune soil bacteria // *Soil Biol. Biochem.* 1998. V. 30. No. 2. P. 193–203.
9. De Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C., Boddy L. Living in fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development // *FEMS Microbiol. Rev.* 2005. V. 29. P. 795–811.
10. Hjort K., Bergström M., Adesina M. F., Jansson J. K., Smalla K., Sjöling S. Chitinase genes revealed and compared in bacterial isolates, DNA extracts and a metagenomics library from a phytopathogen-suppressive soil // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2010. V. 71. P. 197–207.
11. Rodriguez-Kabana R., Godoy G., Morgan-Jones G., Shelby R. The determination of soil chitinase activity: conditions for assay and ecological studies. // *Plant and Soil*. 1983. V. 75. P. 95–106.
12. Lin S.-B., Lin Y.-C., Chen H.-H. Low molecular weight chitosan prepared with aid of cellulase, lysozyme and chitinase: characterization and antibacterial activity // *Food Chem.* 2009. V. 116. P. 47–53.

Поступила в редакцию 23.08.2014 г.

THE ABUNDANCE OF CULTURABLE FORMS OF CHITIN-AND CHITOSAN-DEGRADING MICROORGANISMS IN SOME SOILS OF THE SOUTHERN URALS

© G. A. Teregulova¹, G. E. Aktuganov^{1*}, R. R. Suleymanov¹,
Yu. G. Bogdanova², Yu. Ya. Yangildina²

¹*Institute of Biology of Ufa Research Center of RAS
69 Oktyabrya Ave., 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

²*Bashkir State University
32 Zaki Validy St., 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 235 57 04.

**Email: gleakt@anrb.ru*

Estimate of abundance of chitinolytic and chitosanolytic microorganisms in soils from various ecological-geographic areas of Southern Urals was performed. It is found, that highest abundance of chitinolytic microorganisms (10^6 – 10^7 CFU/g of soil) is observed in alluvial soils of river bottom-lands and also in gray forest soil achieving 9–17% of total number of isolates. Chitosan-degrading microorganisms comprise from 1 to 20% of chitinolytic isolates depending on soil type at that their highest abundance was recorded for the same soils. Up to 90% of all chitinolytic isolates were subactive microorganisms slowly hydrolyzing chitin. Most number of highly active chitinolytic bacteria were found in mentioned above soils and also in leached chernozem. Most active destructors of chitosan were micromycetes isolated at 20 °C and 37 °C and pH 4.0 from in leached chernozem and alluvial grassland soil and composing 50–100% from total number of active isolates. Most species diversity and abundance of chitin/chitosan destructors is recorded within mesophilic microorganisms growing under pH 6.6–7.0 and 20 °C.

Keywords: *chitin, chitosan, biodestruction, soil microbial population, chitinolytic activity.*

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Khoushab F., Yamabhai M. *Marine Drugs*. 2010. Vol. 8. Pp. 1988–2012.
2. Muzzarelli R. A.A., Boudrant J., Meyer D., Manno N., DeMarchis M., Paoletti M. G. *Carbohydrate Polymers*. 2012. Vol. 87. Pp. 995–1012.
3. Gooday G. W., Prosser J. I., Hillman K., Gross M. G. *Biochem. Syst. Ecol.* 1991. Vol. 19. No. 5. Pp. 395–400.
4. Krsek M., Wellington E. M.H. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2001. Vol. 79. Pp. 261–267.
5. Andersson M., Kjølter A., Struwe S. *Soil Biol. Biochem.* 2004. Vol. 36. Pp. 1527–1537.
6. Hsu S. C., Lockwood J. L. *Appl. Microbiol.* 1975. Vol. 29. No. 3. Pp. 422–426.
7. Metcalfe A. C., Krsek M., Gooday G. W., Prosser J. I., Wellington E. M.H. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. Vol. 68. No. 10. Pp. 5042–5050.
8. De Boer W., Gunnewiek P. J.A. K., Lafeber P., Janse J. D., Spit B. E., Woldendorp J. W. *Soil Biol. Biochem.* 1998. Vol. 30. No. 2. Pp. 193–203.
9. De Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C., Boddy L. *FEMS Microbiol. Rev.* 2005. Vol. 29. Pp. 795–811.
10. Hjort K., Bergström M., Adesina M. F., Jansson J. K., Smalla K., Sjöling S. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2010. Vol. 71. Pp. 197–207.
11. Rodriguez-Kabana R., Godoy G., Morgan-Jones G., Shelby R. *Plant and Soil*. 1983. Vol. 75. Pp. 95–106.
12. Lin S.-B., Lin Y.-C., Chen H.-H. *Food Chem.* 2009. Vol. 116. Pp. 47–53.

Received 23.08.2014.