

УДК 581.143:582.28

О. В. Кузнецова

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ РОСТРЕГУЛЯТОРОВ РАСТЕНИЙ В ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКОЛОГИИ И СОЛОДОРАЩЕНИИ

Приведены данные о расширении областей использования рострегуляторов растений. Показано позитивное влияние стимуляторов роста на развитие мицелия *Pleurotus ostreatus* на агаризованных питательных средах при поверхностном культивировании. Получены результаты стимулирующего воздействия рострегуляторов на биосинтетическую активность гриба при глубинном культивировании. Рассмотрена возможность использования фумара и гетероауксина при солодоращении. При этом отмечено сокращение сроков солодоращения и повышение амилолитической активности солода.

О. В. Кузнецова

Институт ботаники им. М. Г. Холодного НАН України

ЗАСТОСУВАННЯ ПРИРОДНИХ І СИНТЕТИЧНИХ РІСТРЕГУЛЯТОРІВ РОСЛИН У ПРОМИСЛОВІЙ МІКОЛОГІЇ ТА СОЛОДОЗРОЩУВАННІ

Наведено дані про розширення галузей застосування рістрегуляторів рослин. Показано позитивний вплив стимуляторів росту на розвиток міцелію *Pleurotus ostreatus* на агаризованих живильних середовищах при поверхневому культивуванні. Отримано результати стимулювальної дії рістрегуляторів на біосинтетичну активність гриба при глибинному культивуванні. Розглянуто можливість застосування фумару та гетероауксину при солодозрощуванні. При цьому відмічено скорочення термінів солодозрощування та підвищення амілолітичної активності солоду.

O. V. Kuznetcova

N. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine

USING NATURAL AND SYNTHETIC GROWTH REGULATORS OF PLANTS IN INDUSTRIAL MYCOLOGY AND MALTING

Data on the expansion of the use the plants growth regulators in different areas are presented. The positive impact of the growth stimulators on the development of the *Pleurotus ostreatus* mycelium's on agar nutrient media during surface cultivation is shown. The results for growth regulators stimulating effect on the fungus biosynthetic activity in submerged cultures are obtained. The possibility of using fumar and heteroauxin for malting is considered. The decline of malting time and increase of amyolytic activity of the malt are recorded.

Введение

Проблема производства высококачественных продовольственных товаров в последнее время приобретает все большие масштабы. Использование различных пище-

вых добавок, генетически модифицированных растений и животных, изготовление продуктов из синтетических или суррогатных заменителей, ускоренные технологии производства продуктов питания уже никого не удивляют. Эта проблема неразрывно связана с так называемой «белковой» проблемой, то есть недостатком белкового компонента в питании человека. Белковое голодание присуще около 3 млрд. населения Земного шара, а около 1 млрд. людей вообще недоедают. Поэтому первоочередной задачей является обеспечение населения продуктами питания, при этом качеству питания отводится уже второстепенная роль.

Проблема полноценного белкового питания человека имеет несколько путей решения, среди которых приоритетная – использование новых источников белка: сои, зеленых листьев деревьев, микроорганизмов, одноклеточных и многоклеточных водорослей, шротов технических культур, высших грибов, которые культивируются в искусственных условиях.

Один из путей решения данной проблемы – повышение продуктивности существующих культурных растений, грибов, сельскохозяйственных животных. При этом повышается роль получения новых и использования известных природных и синтетических стимуляторов роста.

В современном растениеводстве фиторегуляторы используются с целью повышения урожайности и стойкости агроценозов к неблагоприятным факторам окружающей среды, позволяют существенно облегчить ряд технологических операций производства продуктов питания.

Природные фитогормоны и синтетические регуляторы роста и развития растений (фиторегуляторы) являются мощным химическим средством управления онтогенезом и продуктивным процессом растений и посевов [10]. Фитогормоны образуются как в самих растениях, так и у грибов и бактерий в небольших количествах. К ним относятся ауксины, гиббереллины, цитокинины, брассиностероиды, стимулирующие рост и развитие растений (например, биосинтез нуклеиновых кислот, белков и т. п., рост и деление клеток); абсцизовая кислота, эндогенный этилен, жасмоновая кислота – ингибиторы этих процессов, способствующие созреванию, увяданию и переходу растений в состояние покоя. Фитогормоны рассматриваются как специфические посредники между различными организмами, биологическая роль которых не ограничивает процессов, идущих в растениях [4; 15; 16].

В настоящее время вопросы взаимодействия и роли фитогормонов в системе «растение – гриб» особенно привлекают внимание ученых. Изучается действие на растения эндогенных грибных фитогормонов [18], влияние экзогенных стимуляторов роста на грибной мицелий [13], а также продукция фитогормонов грибами [17].

В последние годы появилась целая группа современных синтетических стимуляторов роста растений, полученных на основе природных веществ. Одним из них является фумар – синтетический аналог производной природной аминифумаровой кислоты, – экологически безопасный, универсальный, высокоэффективный стимулятор роста растений. Сейчас он широко используется для стимуляции роста овощных, плодовых и декоративных культур. В окружающей среде и растениях фумар быстро разлагается с образованием нетоксичных продуктов, идентичных продуктам превращения природных аминокислот в организме [9].

Проведенные нами исследования показали, что данный регулятор роста может использоваться не только для стимуляции роста растений, но также и для ускорения развития грибов, в частности, высших базидиомицетов. Вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) – один из самых популярных и широко распространенных культури-

вируемых грибов, имеет несомненные преимущества перед другими выращиваемыми грибами: низкая себестоимость производства, нетребовательность к питательным субстратам, высокая стойкость к заражению посторонней микрофлорой. При этом гриб обладает не только приятными вкусовыми и ароматическими характеристиками, но и рядом профилактических свойств, проявляя способность снижать уровень холестерина, обладает антиоксидантной и иммуностимулирующей активностью [12; 14].

Цель настоящего исследования – оценить возможности использования природных и синтетических рострегуляторов для ускорения роста мицелия высшего базидиального гриба *P. ostreatus* в поверхностной и глубинной культуре, интенсификации процессов солодоращения.

Материал и методы исследований

Изучение влияния стимуляторов роста на развитие вегетативного мицелия *P. ostreatus* проводили на агаризованных питательных средах на чашках Петри. В качестве исходного посевного материала взята маточная культура *P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. (IBK-551), полученная из коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины [11].

Рострегуляторы добавляли в питательные среды в виде растворов различной концентрации. Фумар использовали в форме 1 % раствора в диметилсульфоксиде, производитель – НПП «Агродар», г. Днепропетровск; гетероауксин – в форме препарата «Гетероауксин» (в виде прессованных таблеток), с содержанием калиевой соли индолил-3-уксусной кислоты 920 г/кг, производитель – ЗАТ ТПК «Техноэкспорт», Россия; гибберелловую кислоту – в форме препарата «Гиббереллин» (в виде светлого порошка) с массовой долей основного вещества 78 %, производитель – ПО «Синтез», Россия. Гибберелловая кислота – природный фитогормон, стимулирует деление клеток, задерживает старение. Гетероауксин – синтетический аналог природных фитогормонов ауксинового ряда, активизирует деление и способствует растяжению клеток [8].

В процессе культивирования использовали следующие питательные среды: кукурузный отвар, кукурузный экстракт (массовая доля сухих веществ 48 %), кукурузную зеленую патоку (массовая доля сухих веществ 56 %), неохмеленное пивное сусло 6 °Бал. Питательные среды готовили в соответствии с методикой [1], уплотняли путем добавления агар-агара в количестве 2 %. Инкубацию проводили в термостате ТС-80 при температуре +26...+28 °С. Продолжительность культивирования – до полного зарастания чашек Петри мицелием, в среднем – 7–9 суток.

Исследование изменения биосинтетической активности *P. ostreatus* под действием стимуляторов роста проводили на жидких питательных средах методом глубинного культивирования. Ферментацию осуществляли периодическим способом в колбах емкостью 250 мл (объем среды составлял 75 мл) на микробиологической термостатированной качалке в режиме 200 об./мин. при +26...+28 °С. Продолжительность культивирования – 7 суток. Белки в мицелии и плодовых телах определяли методом Лоури, повышение активности пектолитических ферментов – методом мацерации растительных тканей [1].

При проведении эксперимента по влиянию рострегуляторов на процесс солодоращения использовали сорт ячменя *Hordium distichum (nutania R. Reg.)*. Время обработки 1 % раствором перманганата калия – 40 мин., температура замачивания +12 °С. Время и режим замачивания зерна: в воде – 3 часа, воздушная пауза – 6 часов, в воде – 3 часа. Концентрация фумара в замочной воде составила 0,001 %. Зерно проращивали при температуре +14 °С [5].

Результаты и их обсуждение

Влияние фумара на рост мицелия *P. ostreatus* зависит от способа внесения стимулятора роста в питательную среду [7]. Предварительная обработка мицелиальных блоков в растворе фумара концентрации 0,01 % оказывает положительное действие на процесс развития мицелия, особенно в первоначальный период: сокращается лаг-фаза, образуются плотные, белые, пушистые колонии. Наибольшая скорость линейного роста мицелия наблюдались на питательных средах на кукурузном агаре и на агаризованном пивном сусле. Увеличение количества примордиев (зачатков плодовых тел) в вариантах опыта с использованием фумара, гетероауксина и гиббереллина говорит о влиянии данных веществ на процессы морфогенеза гриба.

При культивировании *P. ostreatus* в глубинных условиях отмечено повышение биосинтетической активности мицелия под влиянием стимулятора роста фумара разной концентрации в питательной среде (табл.).

Таблица

Содержание белка в мицелии и плодовых телах *Pleurotus ostreatus* при использовании фумара (по Лоури, мг/г сухого вещества)

Часть гриба	Питательная среда	Содержание общего белка
Мицелий	Кукурузный отвар, контроль	8,879 ± 0,001
	Кукурузный отвар + фумар 0,00001 %	10,666 ± 0,003*
	Кукурузный отвар + фумар 0,0001 %	11,298 ± 0,001*
	Кукурузный отвар + фумар 0,001 %	9,093 ± 0,002*
Плодовые тела	Кукурузный отвар, контроль	6,271 ± 0,001
	Кукурузный отвар + фумар 0,0001 %	8,456 ± 0,001*

Примечание: * – достоверность отличий $p < 0,05$.

При добавлении фумара в концентрации 0,0001 % содержание белков в грибном мицелии увеличивается на 27,2 %, а в плодовых телах – на 34,8 %. Увеличение содержания белка в плодовых телах, возможно, свидетельствует о пролонгированности действия биостимулятора на ферментную систему грибной клетки.

Повышение активности пектолитических ферментов при глубинном культивировании *P. ostreatus* обнаружено при внесении гетероауксина в концентрации 0,001 % в питательную среду – кукурузный отвар [6]. При этом мацерация растительных тканей составила на седьмые сутки наблюдения от 10 до 50 % (в контроле – 3–5 %). Повышение активности пектолитических ферментов способствует более эффективному расщеплению грибом пектиновых веществ питательной среды и лучшему усвоению дереворазрушающими макромицетами субстрата. Пектолитические ферменты также применяются в пищевой промышленности для осветления соков, а в методах клеточной инженерии – для разрушения клеточной стенки растительной клетки и получения протопластов. Возможность использования ферментов культуральной жидкости при глубинном культивировании высших базидиомицетов в методах микроразмножения культурных растений расширяет области использования макромицетов в современных методах исследования.

Еще одной областью применения рострегуляторов является солодоращение. Получение солода является традиционной и очень важной стадией пивоварения. Качество солода значительно влияет на вкусовые и биохимические особенности этого напитка. На пивоваренных заводах, в основном, используют ячменный солод, на спиртовых – ячменный, ржаной, овсяный, просяной. Значительное место в интенсификации солодоращения занимают способы, основанные на использовании активаторов роста зерна

и ингибиторов процессов дыхания при проращивании. Наибольшее распространение в качестве активатора роста при солодоращении получила гибберелловая кислота. Спиртовым раствором гиббереллина, смешанным с водой, зерно опрыскивают на вторые сутки от начала ращения или добавляют в замочную воду 150–200 мг гиббереллина на 1 т ячменя перед последними 6–8 часами замачивания [5].

Изучение возможности применения фумара в процессах солодоращения показало, что присутствие в замочной воде данного стимулятора роста активировало ферменты зерна. При этом амилолитическая активность солода составила 558 ед. Виндиша–Кольбаха (контроль – 254 ед. активности) [2], а процесс солодоращения сократился на 1,0–1,5 суток. Сокращение сроков солодоращения с использованием стимулятора роста при обработке семян способствовало получению солода с хорошими органолептическими свойствами и высокой ферментативной активностью протеаз и амилаз [3].

Исследование влияния на процесс проращивания семян пшеницы гетероауксина и фумара также показало, что энергия прорастания (количество проросших семян) при использовании фумара в концентрации 0,001 % составила 100 %, при использовании гетероауксина – 90% [2].

Перспективными для использования в сельском хозяйстве являются синтетические регуляторы роста растений из группы 3-аминомалеинимидов. Основным преимуществом данных веществ по сравнению с другими является стойкость к гидролизу, что значительно повышает технологичность их использования. Изучение данных синтетических регуляторов роста позволило отнести их к фиторегуляторам с высокой биологической активностью. Положительные результаты получены на опытах по проращиванию зерен кукурузы [3].

Выводы

Фиторегуляторы можно использовать не только в сельском хозяйстве для стимуляции роста агрокультур, но также и в других областях хозяйствования – в грибоводстве, солодоращении, клеточной инженерии, что несомненно повысит отдачу продукции и ее качество. Особенно эффективно использование стимуляторов роста нового поколения, таких как фумар – рострегулятора с широким спектром действия, экологически безопасного и доступного. Фумар способствует ускорению роста мицелия *P. ostreatus* на агаризованных средах, повышает активность грибных ферментов при глубинном культивировании, позитивно влияет на процесс солодоращения, улучшая органолептические свойства ячменного солода и активируя его ферменты.

Библиографические ссылки

1. **Билай В. И.** Методы экспериментальной микологии. Справочник / В. И. Билай, И. А. Дудка, С. З. Коваль и др. / Под ред. В. И. Билай. – К. : Наукова думка, 1982. – 552 с.
2. **Вареня І. В.** До проблеми інтенсифікації процесу солодоростіння / І. В. Вареня, О. В. Кузнецова // Trans-Mech-Art-Chem. Зб. тез II Міжнар. наук. студ. конф. – Д. : УДХТУ, 2004. – С. 85.
3. **Голуб Є. В.** Вплив на процес солодозрошення стимуляторів росту / Є. В. Голуб, О. В. Кузнецова, С. М. Лисицька // Хімія і сучасні технології. Тези доп. III Міжнар. наук.-тех. конф. студ., асп. та мол. вчених. – Д. : УДХТУ, 2007. – С. 254.
4. **Гормональний комплекс рослин і грибів** / К. М. Ситник, Л. І. Мусатенко, В. А. Васюк та ін. – К. : Академперіодика, 2003. – 186 с.
5. **Ермолаева Г. А.** Технология и оборудование производства пива и безалкогольных напитков / Г. А. Ермолаева, Р. А. Колчева. – М. : ИЦ Академия, 2000. – 416 с.

6. **Житомирська В. В.** Мацерація рослинних тканин за допомогою грибних пектолітичних ферментів / В. В. Житомирська, О. В. Кузнецова, М. Л. Косарева // Хімія і сучасні технології. Тези доп. II Міжнар. наук.-техн. конф. студ. і асп. та молодих вчених. – Д. : УДХТУ, 2005. – С. 287.
7. **Кузнецова О. В.** Влияние биостимуляторов роста и питательных сред на ростовые качества мицелия *Pleurotus ostreatus* / О. В. Кузнецова, Н. В. Заколесник, О. Н. Лебедева // Вопр. химии и хим. технологии. – 2004. – № 4. – С. 89–93.
8. **Медведев С. С.** Физиология растений. – СПб. : Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.
9. **Патент (11) 19786, 19/UA, (51) 5 A 01 № 37/06, A 01 C 1/00.** Засіб обробки бульб картоплі перед посадкою / О. В. Просяник, О. С. Москаленко, Т. В. Хохлова, М. Ю. Кольцов, В. М. Міцко. – № 1124555. Заяв. 07.02.1989; Опубл. 25.12.1997 // Бюл. № 6.
10. **Сельскохозяйственная биотехнология** / В. С. Шевелуха, Е. А. Калашникова, Е. С. Воронин и др. / Под ред. В. С. Шевелухи. – М. : Высш. шк., 2003. – 469 с.
11. **Buchalo A. S.** Catalogue of the culture collection of mushrooms / A. S. Buchalo, N. Y. Mitropolskaya et al. – K., 2001. – 32 p.
12. **Glucans** from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity / A. Synytsya, K. Mickova, I. Jablonsky et al. // Carbohydrate Polymers. – 2009. – Vol. 76, N 4. – P. 548–556.
13. **Guo X.** Effects of phytohormones on mycelia growth and exopolysaccharide biosynthesis of medicinal mushroom *Phellinus linteus* / X. Guo, X. Zou, M. Sun // Bioprocess Biosyst. Eng. – 2009. – Vol. 32, N 5. – P. 701–709.
14. **Hobbs C.** Medicinal mushrooms. An exploration of tradition, healing and culture / C. Hobbs, L. Ac. – Santa Cruz : Botanica Press, 1995. – 252 p.
15. **Microbial** producers of plant stimulators and their practical use: A review / E. A. Tsavkelova, S. Y. Klimova, T. A. Cherdynseva, A. I. Netrusov // Appl. Biochemistry and Microbiology. – 2006. – Vol. 42, N 2. – P. 133–143.
16. **Moubayidin L.** Cytokinin-auxin crosstalk / L. Moubayidin, R. Di Mambro, S. Sabatini // Trends Plant Sci. – 2009. – Vol. 14, N 10. – P. 557–562.
17. **Sanchez F. E.** Studies on the effects of carbon: Nitrogen ratio, inoculums type and yeast extract addition on jasmonic acid production by *Botryodiplodia theobromae* Pat. strain RC1 / F. E. Sanchez, M. Gutierrez-Rojas, E. Favela-Torres // Rev. Iberoam Micol. – 2008. – Vol. 25, N 3. – P. 188–192.
18. **The role** of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica* / J. Vadassery, C. Ritter, Y. Venus et al. // Mol. Plant Microbe Interact. – 2008. – Vol. 21, N 10. – P. 1371–1383.

Надійшла до редакції 16.07.2010