

**ПОВЕРХНОСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ
С ПРИМЕНЕНИЕМ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ****Я.С. Камельчук¹, Н.А. Ламан²**¹Полесский государственный университет, yaninacamal@gmail.com²Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, nikolai.laman@gmail.com

Аннотация. Изучено влияние природных brassinosteroidов 24-эпибрассинолида, 28-гомобрассинолида, 24-эпикастостерона и 28-гомокастостерона в низких концентрациях на рост микоризного гриба *Pezizula sp.* в поверхностной культуре. Все четыре соединения стимулировали рост мицелия. Более эффективными были 28-гомобрассинолид и 24-эпикастостерон, дающие толчок к росту микромицета в первые сутки. В дальнейшем с 24-эпибрассинолидом отмечен наибольший рост мицелия – в 1,3 раза. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения brassinosteroidов с целью увеличения скорости наращивания мицелия микоризных грибов для дальнейшего их использования в биотехнологии.

Ключевые слова: brassinosteroidы, стероидные гормоны, микоризные грибы, мицелий, поверхностное культивирование

Браassinosteroidы – группа стероидных фитогормонов, обладающих значительным модифицирующим влиянием на процессы роста и развития, регуляторная роль которых проявляется в растениях в стимуляции процессов роста, интенсивности фотосинтеза, изменении белкового метаболизма, поступления ионов и многих других сторон обмена веществ [1,2].

Открытие у brassinosteroidов антистрессовых свойств к абиотическим факторам служит основанием для расширения сфер их применения [3]. Одно из них – улучшение приживаемости адаптантов микроклонов растений. Однако при перенесении растений из стерильных условий в условия *ex vitro* значительное их количество погибает, что связано, в том числе, с трудностью извлечения микроклонами питательных веществ из почвы в силу отсутствия в корнях характерного для них микробиотического окружения. На этом этапе возможен подход превентивного внесения микроорганизмов перед посадкой микроклонов в почву [4]. Микориза растений разных видов различна по своему составу, поэтому для обсеменения любого вида растений требуется вносить необходимую конкретно ему микрофлору.

Увеличение выживаемости адаптантов представляет значительный научный и экономический интерес, следовательно, внесение в почву микроорганизмов микоризы, свойственной данному виду, является весьма эффективным технологическим приемом. Немаловажное значение имеет также и состояние самих микроорганизмов, в первую очередь их функциональная активность – способность заселять ризосферу растений, синтезировать и выделять в окружающую его среду биологически активные вещества, в том числе стимуляторы роста и антибиотики, активные против значительного числа фитопатогенных грибов.

Увеличение скорости наращивания мицелия микоризных грибов с помощью brassinosteroidов для дальнейшего получения достаточного объема инокулюма, представляет практический интерес и обуславливает актуальность данного исследования.

Целью настоящего исследования было установление характера воздействия brassinosteroidов представителей ряда brassinolidов и ряда кастостеронов на рост микромицета в поверхностной культуре. Ранее детального анализа влияния brassinosteroidов на микоризные грибы не проводилось.

Материалы и методы. Штамм *Pezizula sp.* был выделен нами и депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» под номером БИМ F-772.

Исследуемые образцы brassinosteroidов были синтезированы в лаборатории химии стероидов «Института биоорганической химии НАН Беларуси».

Культивирование микоризных грибов проводили на плотной питательной картофельно-сахарозной среде. Гормоны вносили непосредственно в чашку Петри перед разливом питательной среды в концентрации 10^{-12} моль/л 24-ЭБ и 28-ГБ, 24-ЭК и 28-ГК. После застывания среды осуществляли посев фрагментов мицелия из маточной культуры размером 5x5мм в чашки Петри и культивировали при температуре +24°C. Все исследования проведены в трех повторностях.

Результаты и обсуждение. Степень влияния 24-ЭБ и 28-ГБ в концентрации 10^{-12} моль/л на рост микромицета *Pezizula* в поверхностной культуре в течение 19 суток анализировалась по экспоненциальному росту мицелия (таблица).

Таблица – Динамика роста *Pezizula* на плотной питательной среде КСС в присутствии brassinolidов, мм²

Сутки	Концентрация 24-ЭБ (моль/л)	Отношение к контролю, %	Концентрация 28-ГБ (моль/л)	Отношение к контролю, %	Контроль
	10^{-12}		10^{-12}		
2	-	-	63,7	-	-
4	87,3	-	125,7	-	-
8	1537,3	-	1258,0	-	-
11	5530,3	634,2↑	4626,3	530,5↑	872,0
15	7268,3	218,8↑	6825,0	205,5↑	3321,7
19	8407,7	125,2↑	7693,3	114,5↑	6716,7

Анализируя данные таблицы, стимулирование роста с brassinolidами в исследуемых нами концентрациях прослеживается на протяжении всего эксперимента. Присутствие brassinolidов стимулирует начало роста мицелия микромицета *Pezizula* в поверхностной культуре на вторые сутки с 28-ГБ и на четвертые с 24-ЭБ, тогда как в контроле к 11 суткам. К 19 суткам наибольший рост мицелия отметили с применением 24-ЭБ – в 1,3 раза. Рост микромицета с применением 28-ГБ оказался несколько слабее, чем с 24-ЭБ и больше чем в контроле в 1,1 раза.

Следовательно, применение brassinolidов стимулирует рост микромицета в поверхностной культуре и дает толчок к началу роста мицелия.

В аналогичных условиях проведен ряд экспериментов с применением другой группы brassinosteroidов – кастостеров в той же концентрации (рисунок 1, 2).

Как видно из рисунка 1, начало роста микромицета *Pezizula* в поверхностной культуре с применением кастостеронов в присутствии 24-ЭК приходилось на 2 сутки, с 28-ГК – на 4 сутки, а в контроле – к 8 суткам. На протяжении всего эксперимента 24-ЭК оказывает благоприятное воздействие – активно стимулирует рост, и к 19 суткам, именно с применением 24-ЭК рост мицелия был наибольшим – в 1,3 раза больше контроля (рис. 1,2).

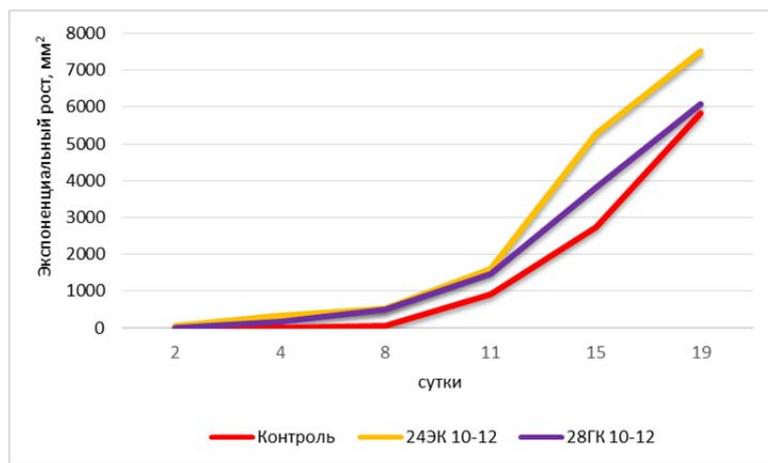


Рисунок 1. – Рост мицелия *Pezicula* при воздействии 24-ЭК и 28-ГК

С применением 28-ГК к 19 суткам рост мицелия чуть превышал контроль – на 4% (рис. 2).

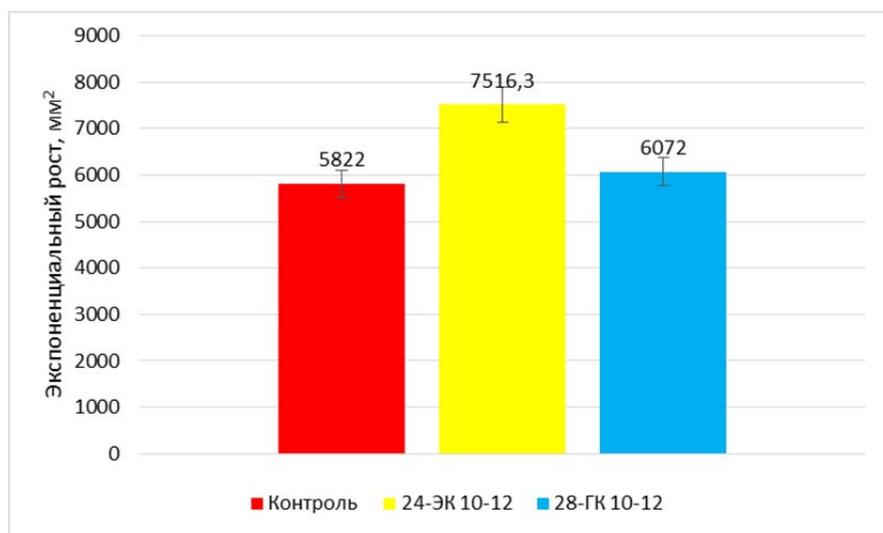


Рисунок 2. – Влияние 24-ЭК и 28-ГК на рост мицелия *Pezicula* (19 сутки культивирования)

Таким образом, при поверхностном культивировании микромицета *Pezicula* происходит стимулирование роста мицелия на начальном этапе при введении brassinosteroids. Степень влияния зависит от их класса и от концентрации. Стимуляция роста мицелия brassinosteroids может служить основанием для введения этих соединений в питательные среды в качестве факторов роста. Наибольшая ростстимулирующая активность исследуемых brassinosteroids по отношению к микромицету *Pezicula* при поверхностном культивировании выявлена при воздействии 24-ЭБ 10^{-12} моль/л, что указывает на развитие гриба в присутствии минимальных концентраций brassinosteroids.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» на 2021-2025 годы (подпрограмма «Химические основы процессов жизнедеятельности» (Биоорхимия), задание 2.3.3.4).

Список использованных источников

1. Кравец, В.С. Брассиностероиды в регуляции метаболизма растений // В.С. Кравец, М.В. Дервянчук, В.А. Хрипач. – Луцк: Терен. – 2017. – 272 с.

2. Zhabinskii, V.N. Steroid plant hormones: effects outside plant kingdom / Zhabinskii V.N., Khripach N.B., Khripach V.A. // *Steroids*. – Volume 97, 2015. – P. 87-97.
3. Колупаев, Ю.Е. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов / Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец // Киев: Основа. – 2010. – 352 с.
4. Алещенкова, З. М. Влияние арбускулярных микоризных грибов на рост и развитие растений / З.М. Алещенкова [и др.] // *Наука и инновации* – 2011. – № 2(96). – С. 59–63.