

УДК 582.287.238:577.175.1

**ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА РАЗВИТИЕ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ
*PLEUROTUS OSTREATUS***

В.В. Кузьмар, 4 курс, Д.А. Слиж

Научный руководитель – **О.Н. Жук, к.б.н., доцент**

Полесский государственный университет

Цель изучить влияние 24-эпибрассинолид (24-ЭБ) и салициловой кислоты (СК), применяемых индивидуально и в комбинации, на рост и развитие глубинной культуры *Pleurotus ostreatus*.

В настоящее время активно изучается возможность использования базидиальных грибов в биотехнологических процессах для получения биологически активных веществ (БАВ) с лечебными свойствами. Последние исследования показали, что базидиальные грибы являются ценным источником разнообразных БАВ, включая белки, липиды, полисахариды, органические кислоты, ферменты и витамины, обладающих благоприятным для человека действием [1]. В процессе культивирования базидиальных грибов они накапливаются в плодовых телах, мицелии и культуральной жидкости [2].

Одним из перспективных подходов к повышению выхода биомассы и целевых метаболитов при глубинном культивировании базидиомицетов является использование экзогенных регуляторов роста – фитогормонов и элиситоров (биологически активных веществ, запускающих защитные реакции клеток и синтез вторичных метаболитов). В частности, брассиностероиды (БС) проявляют выраженную ростостимулирующую активность в отношении мицелия грибов. Наиболее выраженными ростостимулирующими и иммуномодулирующими свойствами среди БС обладают брассинолид, 28-гомобрассинолид (28-ГБ) и 24-эпибрассинолид (24-ЭБ) [3].

СК, которая является классическим элиситором защитных реакций у растений, также может модулировать рост и метаболизм базидиомицетов. Исследования показали, что производные БС – салицилаты (комплексные соединения БС с СК) не только стимулируют накопление биомассы, но и влияют на структурную организацию мицелия. Эти данные свидетельствуют о том, что комбинированное применение БС и СК (или их производных) позволяет влиять не только на количественные показатели выхода биомассы, но и на морфофизиологические характеристики глубинной культуры, что имеет значение для оптимизации процессов биосинтеза БАВ [3].

Объект исследования глубинная культура *Pleurotus ostreatus*. В качестве регуляторов роста использовали фитогормоны: 24-эпибрассинолид (24-ЭБ 10^{-12} М) и салициловую кислоту (СК). СК вносили в питательную среду в концентрациях 0,1 % и 0,35 %; Совместное внесение: 24-ЭБ + СК в концентрациях 24-ЭБ 10^{-12} М и СК 0,1 % или 0,35 %. Исследуемый брассиностероид 24-ЭБ был синтезирован в Лаборатории химии стероидов ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Культивирование проводили на картофельно-сахарозной среде: 200 г картофеля и 20 г сахарозы на 1 литр среды [4, с. 39]. Контролем служила питательная среда без добавок. Культивирование проводили при 27 °С используя орбитальный шейкер Wise Shake SHO с режимом работы 70 об/мин в течение 14 суток с наблюдением за ростом и развитием мицелия, изменения фиксировали на каждые вторые сутки. По окончании культивирования биомассу мицелия отделяли от культуральной жидкости фильтрованием [5, с. 155].

В ходе эксперимента было выявлено влияние 24-ЭБ и СК на рост и развитие глубинной культуры *P. ostreatus*.

Контрольная группа (без добавок) и группа с 24-ЭБ демонстрировали стандартный рост мицелия без выраженных визуальных аномалий в течение всего периода культивирования. Рост был равномерным, мицелий имел типичную структуру, цвет культуральной жидкости оставался неизменным.

Группы с СК в концентрации 0,1 % показали стимулирующее влияние на развитие биомассы. Уже на 3-и сутки мицелий в этих вариантах отличался более рыхлой и «пушистой» морфологией по сравнению с контролем. Эта тенденция сохранялась на протяжении всего эксперимента, и к 10-м суткам мицелий в этих образцах был самым крупным и хорошо развитым. Окрас среды существенно не менялся.

Группа с СК в концентрации 0,35 % характеризовалась отчетливым потемнением культуральной жидкости, начиная с 5-х суток. Интенсивность окраски прогрессивно усиливалась к 7-м, 10-м и 12-м суткам, достигнув максимума к 14-м суткам. Это может быть связано с активацией метаболических путей, приводящей к выделению в среду вторичных метаболитов (например, меланинов или полифенолов). Рост мицелия по биомассе был сопоставим с контролем, но без выраженного «пушистого» эффекта, наблюдаемого при меньшей концентрации СК.

Группа с комбинацией СК 0,35 % и 24-ЭБ демонстрировала замедленный рост мицелия в первую неделю культивирования. На 5-е сутки этот образец был самым мелким среди всех вариантов. Однако к концу эксперимента (14-е сутки) наблюдалась компенсация роста, и биомасса увеличилась. Параллельно, с 10-х суток, в данной группе также началось потемнение культуральной жидкости, аналогичное, но менее интенсивное, чем в варианте с СК 0,35 %.

Группа с комбинацией СК 0,1 % и 24-ЭБ по своим характеристикам была близка к группе с СК 0,1 %, показывая активный рост и пушистую морфологию мицелия. Существенного потемнения среды не наблюдалось (рисунок).

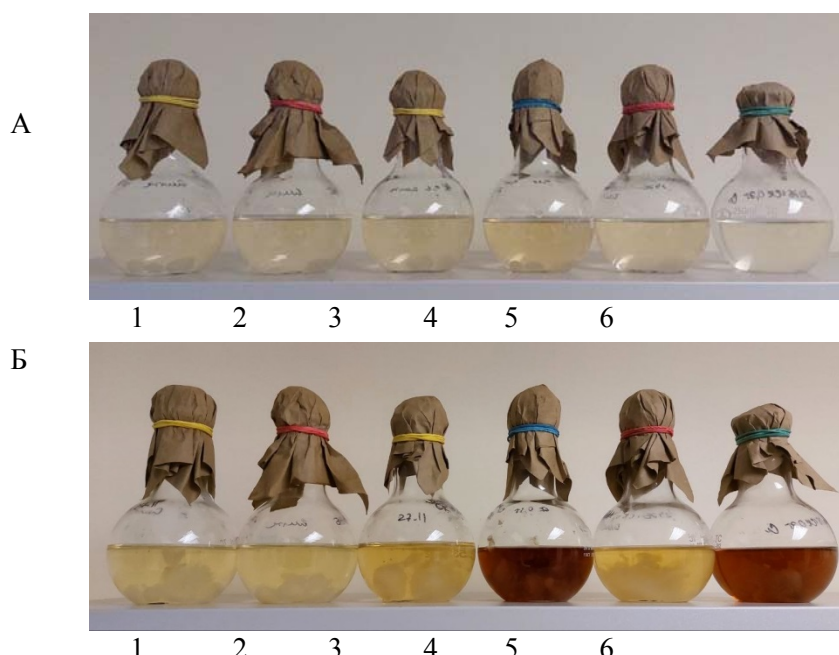


Рисунок – Внешний вид колб с глубинной культурой *P. ostreatus* на 3-е (А) и 14-е (Б) сутки: 1 – Контроль, 2 – 24-ЭБ, 3 – СК 0,1 %, 4 – СК 0,35 %, 5 – 24-ЭБ+СК 0,1 %, 6 – 24-ЭБ+СК 0,35 %

В ходе исследования оценивали влияние 24-ЭБ и СК на влажную и сухую массу мицелия *Pleurotus ostreatus* (таблица).

Таблица – Влияние 24-ЭБ и СК на биомассу мицелия *Pleurotus ostreatus*

Концентрация регуляторов роста	Влажная масса, г	Сухая масса, г
0(контроль)	10,76±1,14	0,39±0,042
24-ЭБ 10^{-12} М	14,47±1,57	0,47±0,054
СК 0,1, %	6,28±0,61	0,26±0,024
СК 0,35, %	8,30±0,77	0,30±0,029
24-ЭБ 10^{-12} М + СК 0,1 %	8,49±1,78	0,33±0,07
24-ЭБ 10^{-12} М + СК 0,35 %	6,94±1,05	0,28±0,043

Было установлено, что внесение 24-ЭБ стимулирует накопление биомассы мицелия: влажная масса увеличилась в 1,34 раза (с 10,76 г до 14,47 г). Это свидетельствует о выраженном ростостимулирующем действии данного БС на *P. ostreatus*.

В противоположность этому, салициловая кислота (СК) в обеих исследованных концентрациях оказывала ингибирующее влияние на рост мицелия. При концентрации СК 0,1 % влажная масса снизилась в 1,71 раза (до 6,28 г) относительно контроля. При концентрации СК 0,35 % ингибирование было менее выраженным: влажная масса составила 8,30 г (снижение в 1,30 раза).

При совместном внесении 24-ЭБ и СК стимулирующий эффект брассинолида полностью нивелировался. Во всех комбинированных вариантах биомасса мицелия оставалась ниже контрольных показателей. Так, в варианте 24-ЭБ + СК 0,1 % влажная масса составила 8,49 г (в 1,27 раза ниже контроля). В варианте 24-ЭБ + СК 0,35 % влажная масса снизилась до 6,94 г (в 1,55 раза).

Следовательно, 24-эпибрассинолид стимулирует рост и накопление биомассы мицелия *P. ostreatus*, тогда как салициловая кислота (как индивидуально, так и в комбинации с 24-ЭБ оказывает ингибирующее действие).

Список использованных источников

1. Белова, Н. В. Современные направления исследования и методы анализа макромицетов / Н. В. Белова // Современная микология в России. Изд-во: Национальная академия микологии – 2008. – 107 с.

2. Бадалян, С. М. Химическое и фармакологическое исследование высших грибов / С. М. Бадалян // Микология и фитопатология, 1996. – 86 с.
3. Жук О. Н. Влияние брассиностероидов на развитие мицелия базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* / О.Н. Жук [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 1. – С. 35-42.
4. Юрченко, Е.О. Культивирование грибов: для специальности "Прикладная биотехнология": электронный учебно-методический комплекс / Е.О. Юрченко; УО "Полесский государственный университет". – ПолесГУ, 2018. – 59 с.
5. Зиганшин, Д. Д. Особенности глубинного и поверхностного культивирования грибов *Trichoderma* для получения биопрепаратов на основе клеток гриба / Д. Д. Зиганшин, А. С. Сироткин // Промышленные биотехнологии, 2017. – № 10. – с. 155–158.