
ДИСКУСІЇ

УДК 347.77:60:581.1:504:582.28

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ В ГРИБІВНИЦТВІ ЗА ВИРОЩУВАННЯ *BASIDIOMYCETES*

О.А. Бойко, Т.В. Космідайло

Національний університет біоресурсів і природокористування України

*Проаналізовано наукові результати досліджень в галузі грибовництва, що формують новизну у вивченні грибів (*Basidiomycetes*). Основну увагу звернено на здатність грибів продукувати біологічно активні речовини. Проведено дослідження їхнього впливу на ріст і розвиток рослин та профілактику хвороб. Для встановлення активності отриманих речовин було вивчено їх вплив на репродукцію внутрішньоклітинних вірусних включень у картоплі, томатах та сої.*

Ключові слова: патентування, гриби, біологічно активні речовини, патогени, біотехнологія, екологія.

Дослідження грибів різних таксономічних груп [1] як продуцентів біологічно активних речовин має важливе всебічне значення. Проте існує низка неузгодженостей, які обходять науковці та виробники під час вирощування грибів в умовах трансформованого середовища. До того ж виникає низка важливих проблем використання сировини грибів природних біоценозів для певних галузей господарювання. Як свідчать наші дослідження, гриби, вирощені і в умовах технологічного процесу, і природного походження часто уражуються патогенами різної природи. До таких збудників хвороб плодових тіл грибів та міцелію, особливо гливи звичайної та печериць, належать: мікроскопічні гриби, бактерії та їх бактеріофаги, ряд РНК-вмісних вірусів. Серед останніх поширені віруси з кубічним типом симетрії, бацилоподібні, рабдоподібні, паличкоподібні та поліморфні патогени [2], а також не ідентифіковані своєрідні структури [3], що мають різні морфологічні ознаки. За таких умов їх комплексне ураження часто погіршує фармацевтичні фракції та харчові якості грибів, а використання біологічно активних речовин таких

грибів, зокрема у рослинництві, може набувати непередбачених наслідків.

Результати наших попередніх досліджень свідчать, що [4] для грибів властиві патогени, які супроводжують їх у процесі еволюції, а також ті, що потрапляють в біотехнологічний процес під час вирощування, зокрема печериць, гливи звичайної, трутівика лакованого, дощовика шипуватого та інших видів, шляхом заносу збудників через ґрунт, водопостачання, повітря, переносників та у інший спосіб. За таких умов поливна вода у виробництві часто набуває контамінації патогенами різного походження. Плодові тіла та їх міцелій є носіями також непередбачених збудників хвороб у грибів, що безконтрольно завозяться зарубіжними постачальниками.

Метою роботи було обґрунтувати формування біологічно активних композицій із грибів [5–8] для різних цілей, що вимагає посиленого їх контролю; синтез біохімічних фракцій із них на основі сучасних біотехнологічних процесів. Також необхідно враховувати патентоспроможність технологій [2–9].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Обстеження біоценозів для встановлення відповідних видів грибів виконували за

нашою скринінговою методикою з одночасним описом супровідної рослинності [4]. Виявлення патогенів проводили запатентованим нами універсальним та економічно вигідним експрес-методом, що давав можливість встановити збудники хвороб різних таксономічних груп, навіть за умов латентної інфекції у грибів.

Основна суть методу зводилась до того, що препарати для трансмісивної електронної мікроскопії готували безпосередньо із нативного гомогенату, що формували у виготовлених на поверхні плодового тіла комірки (~0,5 см). А сам контрастер (солі важких металів) вводили у комірку та легким рухом шпателя (1–2 об.) проводили вздовж стінки, а через 1,0–1,5 хв піпеткою Пастера гомогенат наносили на сітку-підкладку та досліджували в мікроскопі ($\times 10000$ – 45000). Метод надає змогу виявляти віруси, фрагменти мікроскопічних грибів, бактерії та їх фаги.

Також застосовували методи ІФА, імунодифузії за Ухтерлоні, люмінесцентної та електронної мікроскопії, електрофоретичні методи для оцінювання молекулярних мас капсидних білків [2, 4, 10, 11]. Біохімічні компоненти грибів отримували на основі гель-фільтрації, а також на основі методу виявлення глікозидаз мікроорганізмів [12]. Визначення чисельності бактерій та мікроскопічних грибів здійснювали за відомими методами [13].

Як носії біохімічних фракцій грибів використовували рослинні сполуки різних родин: ранникові, березові, жимолостеві, коноплеві [6, 7]. Для формування препаратів підбирали вид грибів (проведено аналіз понад 30-ти таксономічних представників) та допоміжні наповнювачі. Очищені біохімічні компоненти грибів і рослинного матеріалу формували в одну фракцію. Перед цим їх ефективність попередньо перевіряли на активності схожості насіння культур. Для обробки сої, кукурудзи, цукрового буряку, соняшнику оцінювали їх загальний стан: фази розвитку, ураження хворобами, технологію обробки.

У дослідках застосовували математичне моделювання основних технологічних про-

цесів, починаючи від лабораторно-вегетативних і закінчуючи польовими варіантами [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження свідчать, що отримані результати мають вагомe значення для формування ключових ланцюгів технологічного процесу в грибовництві. Так, більша частина розробок стосується способів одержання біологічно активних речовин, а решта розкривають новизну структури об'єкта, що надає змогу провести перелік основних отриманих результатів, до яких слід віднести:

- патентування механізмів дії біотичних та абіотичних чинників на ріст і розвиток грибів — розкриття способів впливу;
- оцінювання способу визначення якості грибів на основі їх біохімічного складу;
- розроблення методу первинної експрес-діагностики грибів на ураження їх патогенами різного походження в умовах довкілля;
- реєстрацію біологічно активної речовини для застосування на різних вищих рослинах (БОА, Біоекофунге-1).

Слід підкреслити, особливо важливі результати дало вивчення впливу препарату Біоекофунге-1 на репродукцію внутрішньоклітинних включень, що індукують ВТМ (вірус тютюнової мозаїки), ХВК (Х-вірус картоплі), ВМС (вірус мозаїки сої). Цей тест опосередковано дає змогу зробити важливий висновок про зменшення активності реплікації РНК цих фітовірусів, що здатні значно знижувати врожайність та якість сировини сільськогосподарських культур в агроценозах (рис. 1). Також зауважимо, що такий підхід до оцінювань впливу біостимулятора дає змогу вивчити формування внутрішньоклітинних включень вірусів у динаміці їх формування. Показано, що процес їх репродукції під впливом препарату Біоекофунге-1 знижується залежно від виду рослин. Він впливає на віруси з неоднаковими морфологічними ознаками з перших періодів інфікування томатів, картоплі та сої. Відмічено також, що за обробки інфікованих рослин цим

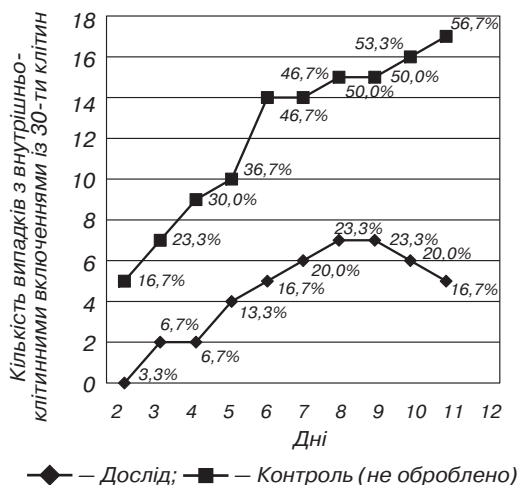


Рис. 1. Динаміка формування внутрішньоклітинних включень у рослин томату, інфікованих ВТМ та під впливом біопрепарату Біоекофунге-1

стимулятором стан клітин покращувався — ядро, прорихи, клітинна стінка набували природних морфологічних ознак. Як свідчать дослідження, найкраще за цими процесами спостерігати в люмінесцентному мікроскопі, що диференційовано освітлює ядро та включення.

Результати наших досліджень [5–10] дають можливість схематично навести основні складові патентування, що охоплюють шлях вивчення біотехнологічних процесів та екологічних чинників у грибовництві на основі *Basidiomycetes* [8, 10]. Під час аналізу було враховано застереження, що біологічні препарати повинні бути нетоксичними, здатними стимулювати ріст і розвиток рослин та адаптованими до відповідних умов довкілля [13–16], а також технології вирощування сільськогосподарських культур.

Результати цих дослідів охоплюють як прикладні, так і фундаментальні основи використання продуцентів грибів для різного спрямування (рис. 4).

Була проведена одноразова інокуляція ВТМ рослин томату Київський тепличний, після чого через 2 дні обприскування 1,0%-м розчином Біоекофунге-1 (дві об-

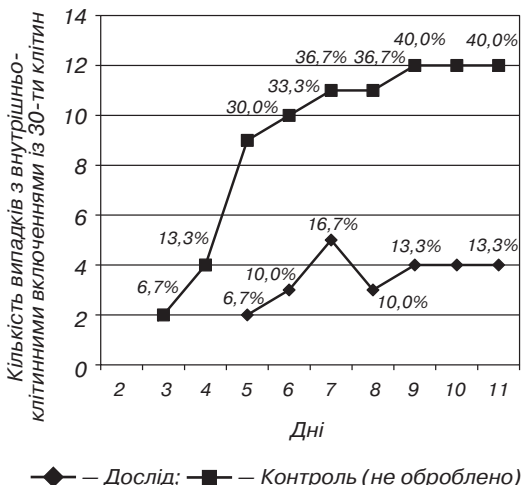


Рис. 2. Динаміка формування внутрішньоклітинних включень у рослин картоплі, інфікованих ХВК та під впливом Біоекофунге-1

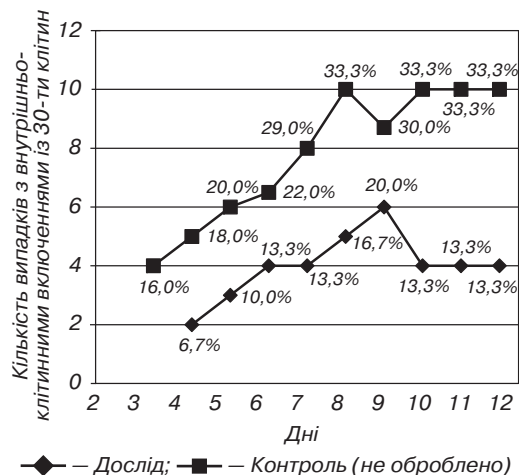


Рис. 3. Динаміка формування внутрішньоклітинних включень у рослин сої, інфікованих ВМС та під впливом Біоекофунге-1

робки з інтервалом між ними у 3 дні). Початок дослідів — у фазі 4–5 листків.

Була проведена одноразова інокуляція ХВК рослин картоплі сорту Промінь, а далі за такою самою схемою, що й для рослин томату.

Рослини сої сорту Аннушка також одноразово були інокульовані ВМС, після чого

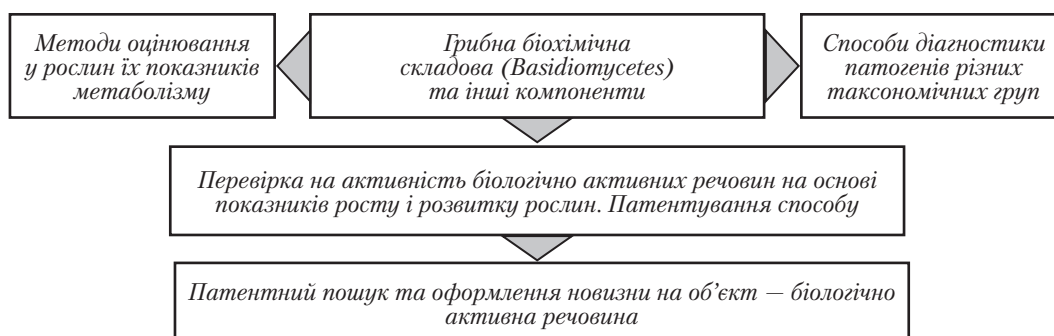


Рис. 4. Оцінювання основних результатів біотехнологічних процесів у грибовництві

через 2 дні було проведено обприскування рослин 1,0%-м розчином (дві обробки Біо-екофунге-1 з інтервалом між ними у 3 дні). Початок досліду — у фазі 3–5 справжніх листків.

ВИСНОВКИ

Розроблено способи отримання біологічно активних речовин на основі біохімічних компонентів із *Basidiomycetes* та рослин.

На основі отриманих стимуляторів і їх похідних відмічено антипатогенну дію на бактерії, мікроскопічні гриби та РНК-вмісні віруси рослин.

За допомогою використання розробленого експрес-способу діагностики патогенів у грибів налагоджено виявлення збудників хвороб на різних стадіях інфекційного процесу.

Встановлено, що біологічно активні речовини із базидіоміцетів стимулюють зниження репродукції внутрішньоклітинних включень: ВТМ — у рослин томату, ХВК — картоплі та ВМС — у рослин сої.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дудка І.О. Гриби — в природі та житті людини / І.О. Дудка, С.П. Вассер. — К.: Наукова думка, 1980. — 167 с.
2. Бойко О. Морфологія та структурні особливості патогенів *Basidiomycetes* / О.А. Бойко, Т.П. Шевченко, А.А. Бойко // Мікробіологічний журнал. — 2013. — Т. 75, № 3. — С. 54–59.
3. Boyko O. Nanobacteria: dissemination, properties, hypothesis / O. Boyko, A. Boyko, O. Grytsev // Агроекологічний журнал. — 2013. — № 3. — С. 115–118.
4. Бойко О.А. Распространение, диагностика и профилактика болезней шампиньона двуспорового / О.А. Бойко, М.Д. Мельничук, Т.В. Иванова //

- Доклады Рос.академии с.-х. наук. — 2009. — № 2. — С. 23–24.
5. Пат. 21757 Україна, МПК (2006), А01N 25/00. Препарат стимуляції росту та розвитку рослин БОА / А.Л. Бойко, В.К. Заблоцький, О.А. Бойко, А.В. Заблоцький. — Заявл. 01.02.07; опубл. 15.03.07, Бюл. № 3.
6. Пат. 53984, Україна, А01C 21/00 СО5F 11/00. Спосіб стимуляції продуктивності сільськогосподарських рослин та їх захисту від хвороб / О.А. Бойко, М.Д. Мельничук, А.Л. Бойко та ін. — Опубл. 25.10.2010, Бюл. № 20.
7. Пат. 98350 Україна. Спосіб одержання біологічного препарату для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин / О.А. Бойко, М.Д. Мельничук, А.Л. Бойко та ін. — Опубл. 10.05.2012, Бюл. № 9.
8. Пат. 72957 Україна. Спосіб виявлення патогенів у шапинкових грибів (*Basidiomycetes*) / М.Д. Мельничук, О.А. Бойко, В.О. Дубровін та ін.). — Опубл. 10.09.2012, Бюл. № 17.
9. Прахов Б.Г. Изобретательство и патентование (словарь-справочник) / Б.Г. Прахов. — К.: Вища школа, 1987. — 181 с.
10. Діагностика та профілактика вірусу плямистого зів'язнення томату на соняшнику: Методичні рекомендації / В.П. Поліщук, Г.М. Орловська, О.А. Бойко, Т.О. Руднева. — К.: ТОВ «ДІА», 2012. — 18 с.
11. Поліщук В.П. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія» / В.П. Поліщук, І.Г. Будзанівська, Т.П. Шевченко. — К.: Фітосоціоцентр, 2005. — 204 с.
12. Варбанець Л.Д. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження / Л.Д. Варбанець, Н.В. Борзова. — К.: Наукова думка, 2010. — 440 с.
13. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / В.В. Волкогон, О.В. Надкєрнична, Л.М. Токмакова та ін. — К.: Аграрна наука, 2010. — 464 с.
14. Курдиш І.К. Гранулированные микробные препараты для растениеводства: наука и практика / И.К. Курдиш. — К.: КВИЦ, 2001. — 141 с.
15. Шерстобоева О.В. Реакція мікробного угруповання кореневої зони озимої пшениці на інтродукцію діазотрофів / О.В. Шерстобоева // Агроекологічний журнал. — 2003. — № 3. — С. 17–20.
16. Коць С.Я. Биологическая фиксация азота. Ассоциативная азотфиксация / С.Я. Коць, В.В. Моргунов, В.Ф. Патыка. — Т. 4. — К.: Логос, 2014. — 412 с.