



УДК 582.28:635.8:577.19

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ШТАММА *PLEUROTUS OSTREATUS* 186 И ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Д.Д. Жерносеков, Т.А. Толкачева, Е.Е. Павлова, Я.В. Лазаренко, И.А. Гурский

Учреждение образования «Витебский государственный
университет имени П.М. Машерова»

Современная тенденция к использованию биологического сырья и разработке уникальных технологий, востребованных в сельском хозяйстве, экологии, медицине и пищевой промышленности, привела к стремительному росту интереса к представителям ксилотрофных грибов. Эти грибы являются одним из ключевых биологических ресурсов, который может быть внедрен для разработки широкого спектра экологически чистых продуктов с многообещающими возможностями применения. Среди обширной группы ксилотрофных грибов особое положение занимают грибы рода *Trichoderma* и *Pleurotus*. Они проявляют высокую активность в разложении сложных полимеров, а в условиях лабораторного культивирования выделяют в среду ферменты, которые находят успешное использование в пищевой, текстильной и фармацевтической промышленности.

Цель исследования — провести глубинное культивирование ксилотрофных грибов рода *Trichoderma* и промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186, исследовать ферментативную активность культуральной жидкости, а также изучить влияние мицелия ксилотрофных грибов на рост сельскохозяйственных и декоративных растений.

Материал и методы. Объектами исследования послужили мицелий и культуральная жидкость грибов рода *Trichoderma* и промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186. В культуральной жидкости определяли целлюлолитическую и молоковертывающую активность. Мицелий, полученный в результате культивирования, брали для стимуляции роста сельскохозяйственных и декоративных растений. Эффект влияния мицелия ксилотрофных грибов на рост растений сравнивали с коммерческими препаратами.

Результаты и их обсуждение. В лабораторных условиях были получены образцы мицелия грибов рода *Trichoderma* и промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186. Исследована ферментативная активность культуральной жидкости промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma*. В культуральной жидкости *Pleurotus ostreatus* наблюдалась достаточно высокая молоковертывающая активность. В культуральной жидкости грибов рода *Trichoderma* в течение всего периода инкубации молоковертывающая активность зафиксирована не была, при этом отмечена целлюлолитическая активность, которая увеличивалась в присутствии фторида натрия. Изучено влияние коммерческих препаратов триходермы и полученного в лаборатории мицелия данного гриба на прорастание семян и укоренение черенков, а также влияние мицелия промышленного штамма вёшенки на прорастание семян томата.

Заключение. Штаммы грибов рода *Trichoderma* из Витебского региона могут служить источником целлюлаз, применяемых в пищевой и текстильной промышленности. Культуральную жидкость промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 целесообразно использовать как источник молоковертывающего фермента. Мицелий промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma* оказывает положительное влияние на рост сельскохозяйственных и декоративных растений.

Ключевые слова: ксилотрофные грибы, культивирование, ферментативная активность, проращивание и укоренение растений.

CULTIVATION OF THE INDUSTRIAL STRAIN OF *PLEUROTUS OSTREATUS* 186 AND *TRICHODERMA* GENUS FUNGI IN ORDER TO OBTAIN BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

D.D. Zhernosekov, T.A. Tolkacheva, E.E. Pavlova, Ya.V. Lazarenka, I.A. Gurski
Education Establishment "Vitebsk State P.M. Masherov University"

The current trend towards the use of biological raw materials and the development of unique technologies in demand in agriculture, ecology, medicine and the food industry has led to a rapid increase in interest in representatives of xylophilic fungi. These fungi are one of the key biological resources that can be used to develop a wide range of environmentally friendly products with promising application possibilities. Fungi of the genus *Trichoderma* and *Pleurotus* occupy a special position among the extensive group of xylophilic fungi. They exhibit high activity in the decomposition of complex polymers, and in laboratory cultivation they release enzymes into the medium that are successfully used in the food, textile and pharmaceutical industries.

The aim of the study was to carry out deep cultivation of xylophilic fungi of the genus *Trichoderma* and the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186, to study the enzymatic activity of the culture fluid, and to study the effect of the mycelium of xylophilic fungi on the growth of agricultural and ornamental plants.

Materials and methods. The objects of the study were mycelium and culture fluid of fungi of the genus *Trichoderma* and the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186. The cellulolytic and milk-clotting activity was identified in the culture fluid. The mycelium obtained as a result of cultivation was used to stimulate the growth of agricultural and ornamental plants. The effect of the mycelium of xylophilic fungi on plant growth was compared with commercial preparations.

Findings and their discussion. Mycelium samples of fungi of the genus *Trichoderma* and the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186 were obtained in laboratory conditions. The enzymatic activity of the culture fluid of the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186 and fungi of the genus *Trichoderma* was studied. A sufficiently high milk-clotting activity was recorded in the culture fluid of *Pleurotus ostreatus*. No milk-clotting activity was detected in the culture fluid of *Trichoderma* fungi during the entire incubation period, while cellulolytic activity was noted, which increased in the presence of sodium fluoride. The effect of commercial preparations of *Trichoderma* and the mycelium of this fungus obtained in the laboratory on seed germination and rooting of cuttings, as well as the effect of the mycelium of the industrial oyster mushroom strain on the germination of tomato seeds, was studied.

Conclusion. Strains of *Trichoderma* genus fungi from Vitebsk region can serve as a source of cellulases used in the food and textile industries. The culture fluid of the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186 can be used as a source of milk-clotting enzyme. The mycelium of the industrial strain *Pleurotus ostreatus* 186 and *Trichoderma* genus fungi has a positive effect on the growth of agricultural and ornamental plants.

Key words: xylophilic fungi, cultivation, enzymatic activity, germination and rooting of plants.

Актуальность применения ксилотрофных грибов в интересах агропромышленного комплекса обусловлена их свойством быстро расти на дешевых питательных средах, превращать содержащиеся в среде соединения и обогащать культуральную жидкость разнообразными экзоферментами.

Способность ксилотрофных грибов эффективно расти на природных субстратах и осуществлять различные процессы биотрансформации, в сочетании с достижениями в области рекомбинантной ДНК-технологии, метаболомики и протеомики, привела к изучению их огромного потенциала в большинстве промышленных ферментативных процессов. Кроме того, благодаря возможности адаптации к более дешевым субстратам для роста ксилотрофные грибы могут обеспечить альтернативный подход к экономически эффективной разработке продукта. В настоящее время ксилотрофные грибы нашли применение в производстве различных соединений, включая органические кислоты, ферменты, липиды, красители, гликолипиды и другие ценные продукты в промышленных масштабах [1]. Особое положение среди ксилотрофных грибов занимают грибы рода *Pleurotus* и *Trichoderma*. Как показали недавние исследования, эти грибы способны к полной биоконверсии сельскохозяйственных растительных отходов [2]. В нашей работе проведено культивирование вышеуказанных грибов, определение целлюлолитической и молокосвертывающей активностей в культуральной жидкости и обосновано использование мицелия, полученного в результате глубинного культивирования, для стимуляции роста сельскохозяйственных и декоративных растений.

Материал и методы. Опыты были выполнены в научно-исследовательских лабораториях ПЦР-анализа и структурно-функциональных исследований ВГУ имени П.М. Машерова. Штамм гриба рода *Trichoderma* был выделен из почвы, взятой в ботаническом саду университета. Забор почвы

и получение маточной культуры грибов рода *Trichoderma* делали согласно методике, описанной в [3]. Для получения инокулюма выросшие колонии триходермальных грибов пересаживали микробиологической петлей на чашки Петри со средой Чапека — Докса (рН 5,0±0,2) и инкубировали в термостате на протяжении 7 дней при 26 °С. Опыт проводили в трех повторностях. Мицелий в виде нескольких фрагментов площадью 1 см² переносили в стерильную колбу с питательной средой. Глубинное культивирование грибов рода *Trichoderma* осуществлялось на среде Чапека — Докса в двух вариантах: с использованием в качестве источников углерода целлюлозы и винассированного жома. По истечении срока культивирования мицелий гриба отделяли от среды.

Для поверхностного культивирования промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 брали первичный мицелий данного промышленного штамма, выращенный на сусло-агаровой среде. Промышленный штамм был предоставлен Государственным научным учреждением «Институт леса НАН Беларуси» (С.А. Коваленко). Для получения инокулюма культуру, выросшую на сусло-агаровой среде, пересаживали на чашки Петри фрагментом ковра сток-культуры мицелия площадью 1 см² на картофельно-сахарозную агаровую среду (рН 6,0±0,2) под ламинарным боксом для исключения риска контаминации. Инкубировали при комнатной температуре на протяжении 10 дней. Для глубинного культивирования промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 мицелий переносили в колбу с картофельно-сахарозной средой или с модифицированной средой Чапека — Докса (рН 6,0±0,2) с добавлением винассированного жома в качестве источника углерода.

Расчет молокосвертывающей активности культуральной жидкости изучаемых штаммов производился по формуле (1), предлагаемой в [4]:

$$SU = (M \times 2400) / (E \times t), \quad (1)$$

где SU — единицы молокосвертывающей активности, ед/см³;

M — объем субстрата, см³;

E — количество ферментного экстракта, см³,

t — время свертывания, сек.

Целлюлолитическая активность и концентрация белка определялись феррицианидным методом из ГОСТа 31662-2012 и по методу Брэдфорда [5; 6]. По завершении культивирования культуральную жидкость *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma* применяли для исследования ферментативной активности, а мицелий использовался в дальнейшем эксперименте. Расход мицелия промышленного штамма вёшенки *Pleurotus ostreatus* 186, выращенного на картофельно-сахарозной среде, составил 20 г/дм³, в то время как мицелий гриба рода *Trichoderma*, полученный методом глубинного культивирования на среде Чапека — Докса с винассированным жомом, вносили из расчета 60 г/дм³ почвенного грунта. Коммерческие препараты триходермы «Триходерма Profit» («Энергия роста», Беларусь), «Trichoderma veride» («Ваше хозяйство», Россия), а также мицелий грибов рода *Glomus* «Микориза для рассады» («Зеленое сечение», Россия) и «Биомикориза» («Ортон», Россия) вносили в почву, как указано в инструкциях к препаратам.

Прозрачные пластиковые контейнеры наполняли землей, смешанной с коммерческими препаратами, согласно инструкции (Триходерма вериде, Profit, Биомикориза, Микориза для рассады), и с выращенным нами в лаборатории мицелием. Зерновки ржи и пшеницы предварительно ничем не протравливали, раскладывали на проращивание и присыпали землей слоем в 0,5 см. Учитывали энергию прорастания и измеряли длину образовавшихся листьев.

Для укоренения кустарников самшита и крупнолистной гортензии были отобраны черенки методом срезки верхушечных побегов с растений, растущих в открытом грунте (молодые, без видимых повреждений, крепкие, но не до конца одревесневшие побеги длиной 10–13 см). Черенки были разделены на 3 группы: 1 группа — контрольная, 2 — с применением мицелия выращенной в лабораторных условиях триходермы, 3 — с использованием препарата, наиболее распространенного в продаже, — «Триходерма вериде». Для каждой группы были взяты пластиковые кассеты, наполненные рыхлым грунтом. Черенки во 2-й и 3-й группах предварительно обрабатывали мицелием или порошком

триходермы, затем высаживали в почву. Кассеты накрывали пленкой для уменьшения испарения влаги. Досвечивали до 12-часового светового дня фитолампами.

При анализе влияния грибов рода *Trichoderma* и *Pleurotus ostreatus* 186 на прорастание семян определяли энергию прорастания семян (число проросших семян (в %) в течение установленного для каждой культуры срока).

Статистическую обработку данных проводили в компьютерной программе Microsoft Excel 2019. Весь цифровой материал вводили для хранения и обработки в таблицы Microsoft Excel. При нормальном распределении данные представляли как среднее (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). Для проверки гипотез о различии средних значений изучаемого признака в исследуемых группах применяли t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Нами была проведена идентификация грибов рода *Trichoderma* при помощи микроскопического анализа мицелия. Колонии на среде Чапека — Докса при температуре 26 °С растут быстро, видимый рост наблюдается на 1-й день инкубирования. Гриб достиг окончательного этапа развития на 5-й день инкубирования. Профиль — выпуклый. Текстура — бархатистая. Мицелий бесцветный, стелющийся, ватообразный. Спороношение появляется на 4-й день роста. Колонии достигли краев чашки. Пигмент в среду не выделяется. Экссудат не наблюдался. Запах резкий плесневый, землистый. Гифы бесцветные. Конидиеносцы неокрашенные, гладкие, извилистые. Ветвятся часто, регулярно, веточки расположены по две-три, редко по одной, прямые, иногда согнутые. Фиалиды ампуловидные, расположены на веточках мутовками по 2–5, реже поодиночке. Шейка вытянутая, узкая. Хламидоспоры округлые или грушевидные, гладкостенные, бесцветные. Конидии бесцветные, собраны в слизистые головки, округлые, гладкие. Результаты исследования приведены на рис. 1.

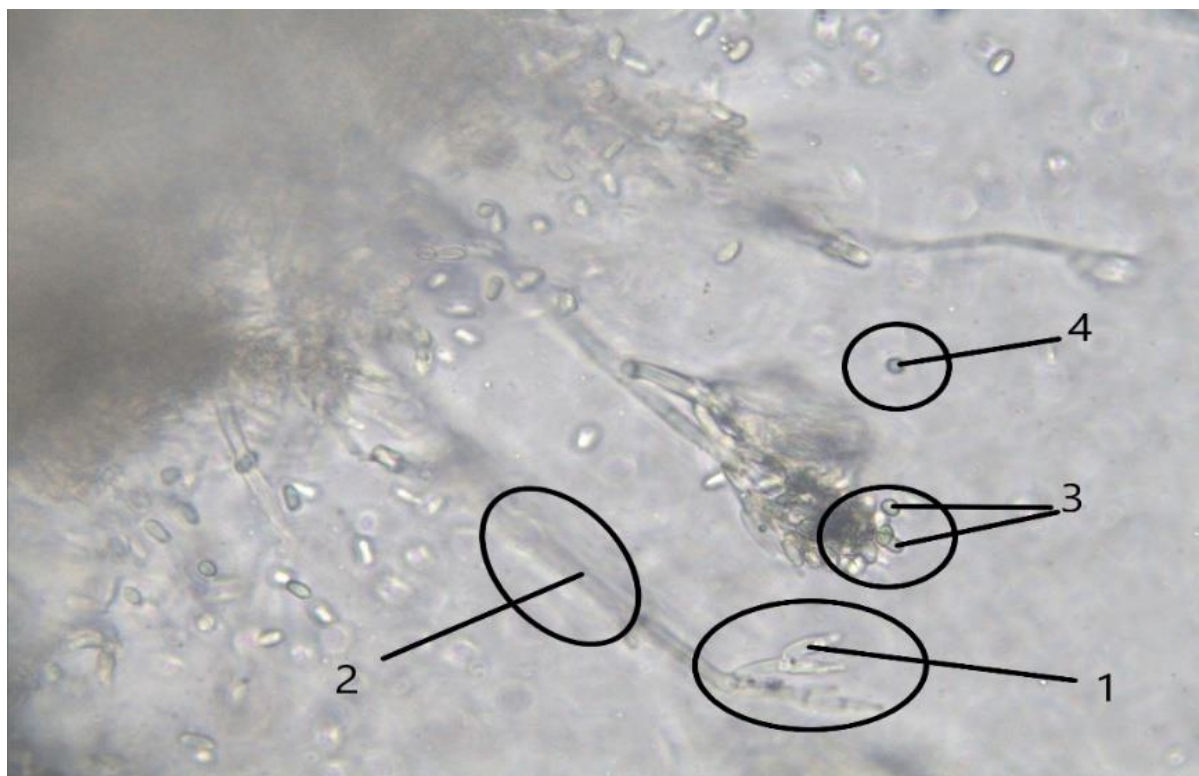


Рис. 1. Микроскопическое исследование грибов рода *Trichoderma* из почвы Витебского региона под микроскопом Levenhuk (увеличение $\times 400$).
(1 — фиалиды на конидиеносцах; 2 — конидиеносцы; 3 — хламидоспоры; 4 — конидии)

Динамику роста мицелия триходермы при глубинном культивировании можно видеть на рис. 2. Показаны результаты роста мицелия на 1, 3, 5 и 7 сутки.

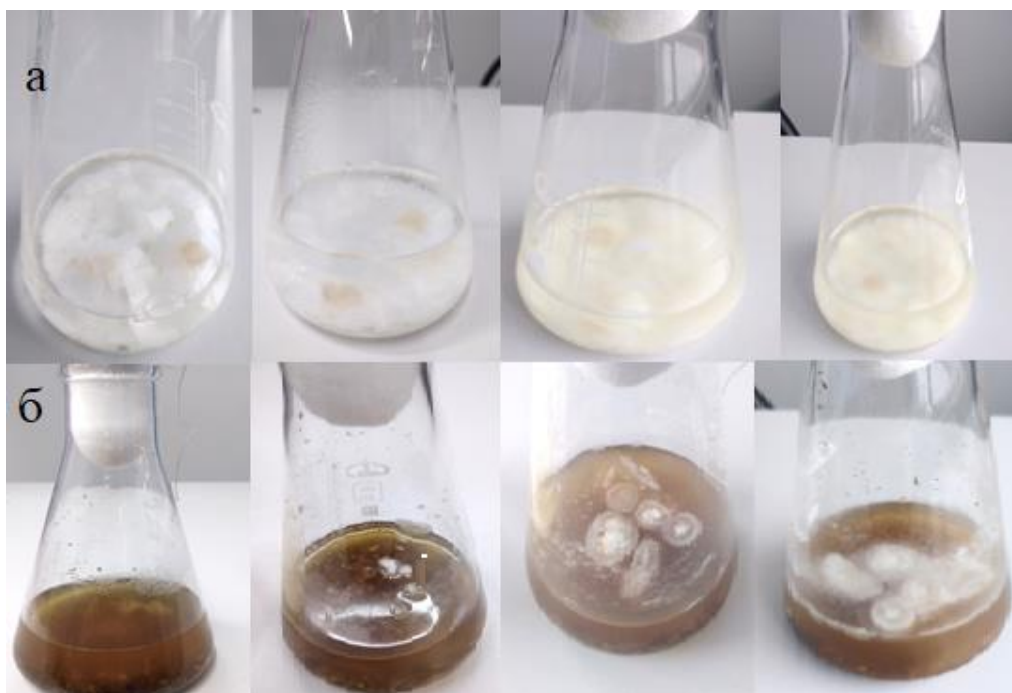


Рис. 2. Рост мицелия грибов рода *Trichoderma* на среде Чапека — Докса: а — с целлюлозой в качестве источника углерода; б — с виннассированным жомом в качестве источника углерода

Целлюлолитическую активность грибов рода *Trichoderma* определяли на 3, 5, 7, 10 и 14 сутки. Минимальная целлюлолитическая активность фиксировалась на седьмые сутки, а максимальная активность — на 14 сутки глубинного культивирования. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Целлюлолитическая активность гриба рода *Trichoderma* на 14-й день инкубирования (n=3)

Среда культивирования на 14-е сутки	Концентрация белка (мг/см ³)	Общая активность (единицы активности) на см ³	Удельная активность (на мг белка)
Чапека — Докса с целлюлозой	0,47±0,02	0,353±0,020	0,751±0,020
Чапека — Докса с целлюлозой с добавлением фторида натрия	0,47±0,02	0,493±0,015	1,048±0,015
Чапека — Докса с виннассированным жомом	0,430±0,040	0,412±0,030	0,96±0,03
Чапека — Докса с виннассированным жомом с добавлением фторида натрия	0,430±0,040	0,551±0,030	1,28±0,03

Ранее в научной литературе было показано, что целлюлолитическая активность триходермальных грибов может стимулироваться добавлением фторида натрия [7]. В своем исследовании мы проверили это утверждение. Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что фторид натрия в конечной концентрации 100 мг/дм³ стимулирует целлюлолитическую активность культуральной жидкости грибов рода *Trichoderma* на среде с целлюлозой в среднем на 40%, а на среде с виннассированным жомом — в среднем на 34%. Полученные результаты согласуются с теми, которые получили авторы [7]. В работе было показано, что при использовании фильтровальной бумаги в качестве субстрата целлюлолитическая активность культуральной жидкости *Trichoderma viride* в присутствии фторида натрия в конечной концентрации 100 мг/дм³ возрастала в среднем на 50%.

Действие фторида на активность целлюлаз изучено еще недостаточно. Эффект влияния фторида можно объяснить его вмешательством в процесс кислотно-основного катализа: взаимодействуя со специфическими лигандами в области активного центра фермента, анион может менять степень поляризации аминокислотных остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот и молекул воды. В зависимости от особенностей строения активного центра это может сопровождаться изменением активности целлюлолитического фермента. Авторы [7] считают, что аналогичная картина наблюдается при активации хлоридом альфа-амилазы [8].

Эти результаты по влиянию фторида натрия могут оказаться полезными при использовании целлюлолитических ферментов для непищевых целей (например, в текстильной промышленности). Известно, что целлюлазы в текстильной промышленности применяют для разрушения целлюлозы с целью улучшения качества тканей: для биополировки (удаление ворса), создания эффекта «вареных» джинсов (биостоунинг), биоотпарки (обработка хлопка, льна) и повышения стойкости к истиранию, что делает процесс экологичнее и экономичнее, чем традиционные методы.

В своей работе мы проверили также наличие молокосвертывающей активности в культуральной жидкости промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma* (рис. 3).

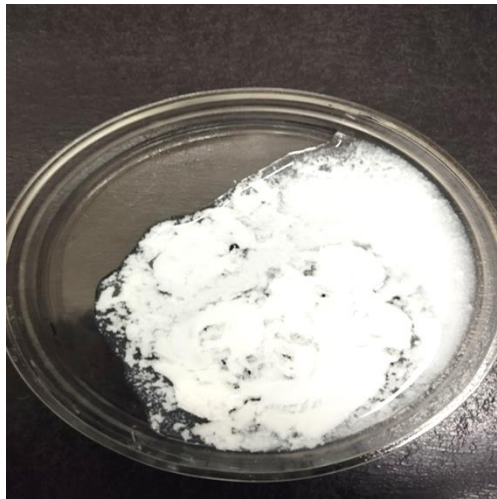


Рис. 3. Молочный сгусток, полученный при использовании культуральной жидкости *Pleurotus ostreatus* 186, картофельно-сахарозная среда, 14 сутки культивирования

Время образования сгустка на картофельно-сахарозной среде в случае использования промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 составляло в среднем 20 минут. По формуле (1) рассчитали значение активности молокосвертывающего фермента:

$$U = (10/2400) \times (2/1200) = 10 \text{ ед/см}^3.$$

Культуральная жидкость промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186, выращенного на среде Чапека — Докса с винассированным жомом, имела молокосвертывающую активность в среднем на 15% ниже, чем при использовании картофельно-сахарозной среды. На 20-е сутки культивирования фиксируется значительный спад молокосвертывающей активности полученных ферментных препаратов, выращенных на обоих субстратах (на среде Чапека — Докса с винассированным жомом и на картофельно-сахарозной среде, в среднем — на 20%).

Полученные данные отличаются от результатов предыдущих исследований промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* x *floridanus* 462, культивируемого на среде Чапека — Докса с винассированным жомом [9]. По-видимому, для штамма *Pleurotus ostreatus* x *floridanus* 462 характерна более высокая молокосвертывающая активность.

При определении молокосвертывающей активности нами применялись две различные концентрации хлорида кальция (0,0015 Моль и 0,02 Моль). Следует отметить, что наиболее выраженное

образование молочных сгустков фиксировалось при использовании хлорида кальция в конечной концентрации 0,02 Моль. Кроме того, в ходе эксперимента молокосвертывающая активность проверялась при различных значениях кислотности среды. Установлено, что наиболее высокая активность наблюдалась, когда значение pH инкубационной среды было равно 5.

Анализ культуральной жидкости грибов рода *Trichoderma* не выявил наличия молокосвертывающей активности на всех сроках культивирования при росте на питательных средах с различными источниками углерода (винассированный жом и целлюлоза).

В работе было проверено влияние мицелия промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma* на рост сельскохозяйственных и декоративных растений. Актуальность данного исследования обусловлена тем, что при использовании препаратов грибного мицелия триходермы для стимуляции роста сельскохозяйственных растений отечественные и зарубежные потребители зачастую сталкиваются с низкой эффективностью коммерческих препаратов. Так, например, авторы [10] отмечают, что они обнаружили существенные различия в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) между различными продуктами, при этом во всех продуктах количество КОЕ было меньше, чем заявлено. Степень подобного несоответствия была особенно высока в случае биоудобрений. Этими же авторами была определена видовая принадлежность изолятов, выделенных из коммерческих препаратов. Оказалось, что для большинства продуктов результаты идентификации видов показали несоответствие с таксономической классификацией, приведенной на этикетках продуктов, или не подтвердили их таксономический статус.

В нашем случае при тестировании мицелия, полученного методом глубинного культивирования, на семенах ржи энергия прорастания составила 100%, в отличие от коммерческих препаратов «Profit» и «Микориза для рассады». Средняя длина листьев проростков ржи при добавлении в почву мицелия, выросшего в лабораторных условиях, выше, чем при добавлении препарата «Триходерма вериде», в 1,5 раза; препарата Profit — в 1,4 раза; препарата Биомикориза — в 1,1 раза; препарата «Микориза для рассады» — в 1,6 раза. Энергия прорастания пшеницы не достигла 100% ни в одном из случаев. При этом среднее значение длины листьев проростков пшеницы при добавлении в почву микоризы, выросшей в лабораторных условиях, выше, чем при добавлении препарата «Триходерма вериде», в 1,7 раза; препарата «Profit» — также в 1,7 раза; препарата Биомикориза — в 1,2 раза; препарата Микориза для рассады — в 1,7 раза. Таким образом, была доказана большая эффективность полученного в лаборатории мицелия триходермы. Энергия прорастания и средняя длина листьев тестируемых растений при действии самого распространенного коммерческого препарата отражены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние препарата «Триходерма вериде» на прорастание зерновых культур

Показатель	Энергия прорастания (%)	Средняя длина листьев (мм), M±m
рожь		
Опытная группа	100	10,7±1,5*
Контроль	90	14,6±1,2
пшеница		
Опытная группа	40	7,4±1,9
Контроль	60	10,7±1,7

Примечание*: $p \leq 0,05$.

Предположительно выделяемые в процессе жизнедеятельности гриба природные метаболиты способны подавлять вокруг себя рост возбудителей корневой, семенной и почвенной инфекции. Кроме того, *Trichoderma* может вступать в симбиоз с корнями растений, усиливая приток к ним азота, ассимилированного из воздуха (по принципу микоризных грибов).

В нашей работе мы также использовали мицелий триходермы, полученный в лабораторных условиях, и коммерческие препараты триходермы для укоренения черенков декоративных кустарников. В результате проведенного эксперимента по укоренению черенков были измерены и проанализированы следующие показатели: % укореняемости, количество и длина корней (табл. 3).

Таблица 3

Укоренение черенков самшита *Buxus sempervirens* и гортензии *Hydrangea macrophylla* при действии биопрепарата «Триходерма вериде»

Показатель	% укорененности	Количество корней, шт., М±m	Длина корней, М±m
самшит			
Опытная группа	100	17,2±2,6	37,7± 4
Контроль	80	13,63±3,7	32,5± 8,77
гортензия			
Опытная группа	90	7,0±0,5*	23,3±0,8*
Контроль	30	4,3±0,7	7,6±0,7

Примечание*: p ≤ 0,05.

Из данных таблиц видно, что применение препарата триходермы привело к 100% укореняемости черенков самшита и 90% укореняемости черенков гортензии. Количество корней у черенков самшита при обработке «Триходерма вериде» больше в 1,3 раза по сравнению с контролем, у гортензии в 1,6 раза больше контроля. Средняя длина корней самшита в группе, где черенки обработаны коммерческим препаратом, в 1,2 раза больше, чем в контрольной группе. Средняя длина корней гортензии в 3 раза больше, чем в контрольной группе.

Чтобы сделать заключение об эффективности полученного в лаборатории мицелия триходермы по сравнению с коммерческим препаратом «Триходерма вериде», параллельно был заложен опыт по укоренению самшита (результаты исследования приведены в табл. 4).

Таблица 4

Укоренение черенков самшита *Buxus sempervirens* при действии препаратов триходермы

Опытная группа	% укорененности	Количество корней, шт., М±m	Длина корней, М±m	Количество вегетативных приростов, шт., М±m	Длина вегетативных приростов, см, М±m
Контроль	80	13,63±3,7	32,5± 8,77	1,88±0,35	17,75±2,71
Коммерческий препарат «Триходерма вериде»	100	17,2±2,6	37,7± 4	2,9±0,54	22,5±1,11
Мицелий триходермы, полученный в лабораторных условиях	100	25,9±2,35*	46,7± 3,93	2,7±0,33	12,5±0,67

Примечание*: p ≤ 0,05.

Как видно из приведенных данных, использование коммерческого препарата и мицелия триходермы способствовало 100% укореняемости черенков самшита. Количество корней у черенков самшита при обработке препаратом «Триходерма вериде» больше в 1,2 раза по сравнению с контролем,

при обработке мицелием триходермы статистически значимо больше в 1,9 раза по сравнению с контролем. Средняя длина корней в группе, где черенки обработаны коммерческим препаратом, в 1,16 раза, а в группе, где черенки обработаны мицелием, — в 1,4 раза больше, чем в контрольной группе. Количество вегетативных приростов в 1,5 раза больше во 2 группе и в 1,4 раза — в 3 группе по сравнению с контролем. Длина вегетативного прироста в 1,3 раза больше у черенков в группе, обработанной «Триходермой вериде», по сравнению с контролем, и в 0,7 раза меньше в группе, обработанной выращенным мицелием, по сравнению с контролем. Отмечено, что в группе, где наблюдается большее количество корней и большая средняя их длина, — меньший вегетативный прирост, что может быть обусловлено интенсивным корнеобразованием. Таким образом, можно сделать вывод, что использование мицелия триходермы, выращенного в лабораторных условиях, более эффективно по сравнению с имеющимися коммерческими препаратами.

В дальнейшей работе мы также проверили влияние мицелия промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 на проращивание семян томата, сорт «Снегирёк» (табл. 5). По литературным данным мицелий вёшенки обыкновенной оказывает стимулирующее действие на рост растений из семейства паслёновых [11]. Кроме того, в экспериментах других авторов было выявлено, что мицелий вёшенки оказывает антагонистическое действие на мицелий грибов, вызывающих болезни сельскохозяйственных злаковых культур [12].

Таблица 5

Влияние мицелия промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 на проращивание семян томата, сорт «Снегирёк», 36 дней проращивания

Показатель	Энергия прорастания (%)	Длина надземного побега, мм	Длина корней, мм
Опытная группа	100	57,5±4,5	57,6±4,3
Контроль	90	42,6±3,0	45,5±3,5

Из данных табл. 5 видно, что при использовании мицелия промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 длина побега томатов увеличивается в среднем на 35%, а длина корней — в среднем на 24%.

Следовательно, мы доказали, что мицелий промышленного штамма вёшенки *Pleurotus ostreatus* 186 может быть рекомендован для стимуляции роста сельскохозяйственных культур семейства паслёновых.

Заключение. Проведено глубинное культивирование промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и грибов рода *Trichoderma*. Показано, что для культивирования вёшенки целесообразно применять картофельно-сахарозную среду, а при культивировании триходермы — среду Чапека — Докса. В последнем случае неплохой результат был достигнут при использовании среды Чапека — Докса с винассированным жомом в качестве источника углерода.

Исследована ферментативная активность культуральной жидкости промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 и гриба рода *Trichoderma*. В культуральной жидкости *Pleurotus ostreatus* на 14 сутки инкубирования зафиксирована молокосвертывающая активность 10 ед/см³. В культуральной жидкости грибов рода *Trichoderma* в течение всего периода инкубации молокосвертывающая активность обнаружена не была, при этом отмечена целлюлолитическая активность, которая увеличивалась в присутствии фторида натрия в конечной концентрации 100 мг/дм³.

Установлено влияние мицелия грибов рода *Trichoderma* и промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 на рост сельскохозяйственных и декоративных растений. Мицелий *Trichoderma*, полученный в лабораторных условиях, оказывал более выраженное положительное влияние на проращивание ржи, пшеницы и укоренение черенков самшита и гортензии по сравнению с коммерческими препаратами триходермы и препаратами грибов рода *Glomus*. Мицелий промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* 186 оказывал положительное влияние на проращивание семян томата.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Entrepreneurship with microorganisms / comp. by A.C. Shukla. — Academic Press, 2023. — 508 p.
2. A targeted fungal bioconversion strategy for renewable plant waste: solid-state fermentation with *Pleurotus ostreatus* (MBI-2022) and residual biomass valorization with *Trichoderma spp.* / K.F. Bakhshaliyeva, S.A. Jafarzadeh, V.V. Musayeva [et al.] // International Journal of Agriculture and Biosciences. — 2026. — Vol. 15, № 2. — P. 466–478.
3. Лицкевич, Т.Н. Грибы рода *Trichoderma*: глубинное культивирование, целлюлазная активность, влияние фторида натрия / Т.Н. Лицкевич, М.П. Подковенко, Н.А. Новицкий // Природа, человек и экология: сб. материалов X Респ. науч.-практ. конф. молодых ученых, Брест, 30 марта 2023 г. / Брест. гос. ун-т; редкол.: С.Э. Кароза (отв. ред.) [и др.]. — Брест, 2023. — С. 95–96.
4. Purification and characterization of milk-clotting enzyme from edible mushroom *Pleurotus florida* / A. Bakr, O. Ibrahim, Abd El-Sattar El-Ghandour [et al.] // Letters in Applied NanoBioScience. — 2022. — Vol. 11, № 2. — P. 3362–3373.
5. ГОСТ 31662-2012. Методы определения ферментативной активности целлюлазы. — М.: Стандартиформ, 2012. — 13 с.
6. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. — 1976. — Vol. 72, № 1–2. — P. 248–254.
7. Гидролиз целлюлозы ферментным комплексом *Trichoderma viride* в присутствии фторида натрия: влияние структуры субстрата и сорбционной активности целлюлаз / Е.Р. Чашина, З.А. Ефременко, В.П. Саловарова [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. — 2020. — Т. 10, № 2. — С. 261–273.
8. Structural basis of alpha-amylase activation by chloride / N. Aghajari, G. Feller, C. Gerday, R. Haser // Protein Sci. — 2002. — Vol. 11, № 6. — P. 1435–1441.
9. Подбор условий для поверхностного и глубинного культивирования промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* с целью получения молокосвертывающего фермента / Д.Д. Жерносеков, Е.Е. Павлова, А.А. Литенкова [и др.] // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. — 2023. — № 4. — С. 11–16.
10. In-depth comparison of commercial *Trichoderma*-based products: integrative approaches to quantitative analysis, taxonomy and efficacy / T. Kulik, P. Staniszewska, P. Wiśniewski [et al.] // Front Microbiol. — 2025. — Vol. 16. — P. 1–7.
11. Sarkar, R. Efficacy of *Pleurotus ostreatus* mycelia as bioinoculant to improve growth of pepper plant and protect against wilt causing *Fusarium oxysporum* / R. Sarkar, B. Datta // Physiological and Molecular Plant Pathology. — 2024. — Vol. 134. — P. 96–104.
12. Innocenti, G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture / G. Innocenti, N.G. Garibyan, S.M. Badalyan // Phytopathologia Mediterranea. — 2002. — Vol. 41, № 3. — P. 220–225.

R E F E R E N C E S

1. Entrepreneurship with microorganisms / comp. by A.C. Shukla. — Academic Press, 2023. — 508 p.
2. A targeted fungal bioconversion strategy for renewable plant waste: solid-state fermentation with *Pleurotus ostreatus* (MBI-2022) and residual biomass valorization with *Trichoderma spp.* / K.F. Bakhshaliyeva, S.A. Jafarzadeh, V.V. Musayeva [et al.] // International Journal of Agriculture and Biosciences. — 2026. — Vol. 15, № 2. — P. 466–478.
3. Litskevich T.N., Podkovenko M.P., Novitski N.A. *Priroda, chelovek i ekologiya: sb. materialov X Rosp. nauch.-prakt. konf. molodykh uchenykh, Brest, 30 marta 2023 g.* [Nature, Man and Ecology: Proceedings of the 10th Republic Scientific and Practical Conference of Young Scholars, Brest, March 30, 2023], Brest, 2023, pp. 95–96.
4. Purification and characterization of milk-clotting enzyme from edible mushroom *Pleurotus florida* / A. Bakr, O. Ibrahim, Abd El-Sattar El-Ghandour [et al.] // Letters in Applied NanoBioScience. — 2022. — Vol. 11, № 2. — P. 3362–3373.
5. *GOST 31662-2012. Metody opredeleniya fermentativnoi aktivnosti tsellulazy* [State Standard 31662-2012. Identification Methods of Cellulase Enzyme Activity], M.: Standartinform, 2012, 13 p.
6. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. — 1976. — Vol. 72, № 1–2. — P. 248–254.
7. Chashina E.R., Yefremenko Z.A., Salovarova V.P. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*. [University Journal. Applied Chemistry and Biotechnology], 2020, 10, 2, pp. 261–273.
8. Structural basis of alpha-amylase activation by chloride / N. Aghajari, G. Feller, C. Gerday, R. Haser // Protein Sci. — 2002. — Vol. 11, № 6. — P. 1435–1441.
9. Zhernosekov D.D., Pavlova E.E., Litenkova A.A. *Vesnik Vetsebskaga dzyarzhaynaga universiteta* [Journal of Vitsebsk State University], 2023, 4, pp. 11–16.
10. In-depth comparison of commercial *Trichoderma*-based products: integrative approaches to quantitative analysis, taxonomy and efficacy / T. Kulik, P. Staniszewska, P. Wiśniewski [et al.] // Front Microbiol. — 2025. — Vol. 16. — P. 1–7.
11. Sarkar, R. Efficacy of *Pleurotus ostreatus* mycelia as bioinoculant to improve growth of pepper plant and protect against wilt causing *Fusarium oxysporum* / R. Sarkar, B. Datta // Physiological and Molecular Plant Pathology. — 2024. — Vol. 134. — P. 96–104.
12. Innocenti, G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture / G. Innocenti, N.G. Garibyan, S.M. Badalyan // Phytopathologia Mediterranea. — 2002. — Vol. 41, № 3. — P. 220–225.

Поступила в редакцию 12.01.2026

Адрес для корреспонденции: e-mail: chemikdd@mail.ru — Жерносеков Д.Д.