

## ОЦІНКА ЯКОСТІ ШАПИНКОВИХ ГРИБІВ ЗА УМОВ ПРИРОДНОГО ДОВКІЛЛЯ ТА СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

**О. А. БОЙКО, кандидат біологічних наук**  
**Національний університет біоресурсів і природокористування**  
**України**

*В роботі подаються результати дослідження якості базидіоміцетів за різних умов їх вирощування. При цьому значна увага була зосереджена на грибах природних біоценозів Полісся, Лісостепу та інших екологічних регіонів їх поширення. Цілеспрямовані дослідження були виконані з оцінкою якості різних видів грибів, які також були задіяні в біотехнологіях різного рівня складності. В досліджах застосували традиційні та сучасні молекулярно-біологічні методи вивчення росту і розвитку плодових тіл, якості міцелію, морфології спор та проведення діагностики бактерій, вірусів і мікроскопічних грибів, які часто, за різних умов, знижували урожай базидіоміцетів на 55 – 100 %*

**Базидіоміцети, біотехнологічний процес, бактерії, РНК – вмисні віруси, продуценти, екологічні умови , біохімічні речовини**

На сьогоднішній період розвитку грибовництва в Україні виникло ряд проблем отримання якісної сировини шапинкових грибів для різних галузей: харчового, фармацевтичного, біотехнологічного спрямування [1]. Враховуючи, що грибовництво повинно входити в загальну народногосподарську структуру [5], в якій існує більше 96 приватних та державних спеціалізованих підприємств, виникає складна проблема оцінки якості плодових тіл грибів за різних умов їх вирощування.

Значною загрозою для вирощування базидіоміцетів є комплексна інфекція, яка фактично інколи контролюється тільки за зовнішніми ознаками - габітусу плодових тіл. При цьому часто міграція первинної латентної інфекції від міцелію до формування повноцінних грибів відмічається дослідниками тільки за повного формуванні плодових тіл. Такі гриби мають: локальні бурі плями, почорніння шапинок, повну деформацію та загнивання плодових тіл, водянистість ніжок, «кратерні» локальні впадини та інше [2].

Слід відзначити, що базидіоміцети у природних біоценозах (Шацького національного парку, Полісся та перехідної території до Лісостепу Житомирської області, «Ізмаїльські острови» Одеської

області та інші) мають менше типів інфекцій, які викликаються патогенами різних таксономічних груп, ніж ті, які вирощуються в біотехнологічних процесах. При цьому останні стають носіями патогенів, які «закинуті» через ґрунт, систему поливу, використання сировини рослин та нагнітання повітряної маси.

Досліджено, що гриби у відкритому ґрунті стають сорбентами токсинів, радіонуклідів, космічного пилу, дрібних залишків метеоритів, які в свою чергу можуть стати нерозгаданими «нанобактеріями» [3]. Враховуючи, що із грибів за певних умов виділяється десятки міліграм очищеного «сферичного» вірусу, а ще більше є можливість отримувати концентровану бактеріальну суспензію, постає питання про можливість використання таких грибів у формуванні лікарських препаратів та стимуляторів росту і розвитку сільськогосподарських рослин, вживання плодових тіл певних видів для харчових цілей.

Слід відмітити, що якість грибів на основі їх централізованого діагностичного контролю патогенів різних таксономічних груп в Україні майже не проводиться. Більше того, часто виробничники за різних причин вирощують гриби низької якості. Також досліджено, що, наприклад ідентифікацію специфічного вірусу грибів (MVX) за різних причин, інколи складно проводити на основі молекулярних методів його виявлення. Разом з тим, вірус здатний знижувати якість плодових тіл [6].

**Мета досліджень** була направлена на відповідний контроль інфекцій у базидіоміцетів, які були задіяні у біотехнологічних процесах (трансформованому середовищі), а також таких, що поширені в природних біоценозах. При цьому робота включала різні методичні підходи, розробки яких використовують у мікології, вірусології та мікробіології. Для цих досліджень нами було використано ряд цільових завдань, які базувались на розробці нових способів діагностики патогенів, вивчення росту і розвитку цінних видів грибів [3].

**Матеріали і методики досліджень.** Матеріалом різнопланових досліджень слугували базидіоміцети, які були поширені в різних кліматичних регіонах [5] та види грибів, задіяних в умовах виробництва. До останніх слід віднести: різні види печериць, глива звичайна, трутовик лакований, дощовик шипуватий, козляк (решітка) та інші. За визначення поширених хвороб грибів у % використовували відому формулу, яка застосовується виробничниками:

$$p = \frac{n \times 100}{N},$$

де  $p$  – розповсюдження;  $N$  – загальна кількість плодових тіл;  $n$  – кількість уражених плодових тіл.

Гриби відстежували та відбирали в умовах виробництва та в різних кліматичних зонах упродовж 10-ти і більше років. Досліджувані території поділяли на 10 ділянок (10 м<sup>2</sup> кожна). У виробничих та лабораторних умовах визначали: морфологію, розміри, забарвлення

спор, симптоми на шапинках, зовнішній стан ніжок грибів (особливо прикоренева частина), стан зразків грибів, ґрунту, навколишніх супровідних рослин.

Для поглибленого вивчення зразків грибів та рослин у роботі були задіяні: поживні середовища, модельні об'єкти (здорових) грибів, електронна та люмінесцентна мікроскопія, електрофорез структурних білків окремих РНК- вмісних вірусів, які були ідентифіковані на основі відомих методів; ІФА, метод Ухтерлоні, біологічне тестування на рослинах-індикаторах, титрування бактеріофагів на агарових шарах (Грація); для виділення біохімічних сполук грибів-стимуляторів росту і розвитку («БОА», «Біоекофунге -1») сільськогосподарських рослин використовували плодові тіла та їх міцелій на основі якісних показників, які були розроблені нами в процесі різнопланових завдань [2,4].

Останнім часом в дослідях з грибами різних таксономічних груп нами був розроблений і застосований експрес-метод виявлення патогенів. Суть методу заключається в тому, що контрастування об'єкту солями важких металів відбувається безпосередньо в комірці шапинки, ніжки, шару міцелію з послідуєчим вивченням об'єкту в електронному мікроскопі [3]. Метод набуває широкого застосування в спеціалізованих лабораторіях. Він, як виявилось у наших дослідях, може бути застосований для виявлення бактеріофагів в агарованому шарі під час вивчення фаготерапії.

В роботі також було використано явище зміни забарвлення спор у деяких видів базидіоміцетів за ураження їх за умов латентної інфекції. Як показують наші дослідження це явище наглядно проглядається особливо у різних видів печериць.

**Результати досліджень.** Аналіз якості грибів (*Basidiomycetes*) на основі різнопланових дослідів дає змогу зробити певні заключення за результатами.

Досліджено, що ця група грибів надзвичайно чутлива до факторів довкілля, за умов якого гриби уражаються патогенами різних таксономічних груп. При цьому в умовах виробництва базидіоміцети потребують глибоких широкопланових аналізів, які здатні наблизити спеціалістів-виробничників до збільшення урожаю та підвищення якості плодівих тіл. Динаміка росту і розвитку грибів в трансформованому середовищі показує, що поява інфекцій у грибів часто розпочинається безконтрольно із посівного матеріалу (міцелію). За цих умов у грибів «програмується» зниження урожаю у 1,5-3,0 рази. У природних біоценозах різні види грибів у меншій мірі інфікуються збудниками хвороб ніж ті, які задіяні в біотехнологіях.

Слід відмітити, що базидіоміцети мають «свої» збудники хвороб, які відбулися у процесі еволюції і такі, що занесені в біотехнологічні процеси грибівництва в результаті біологічного забруднення. На нашу

думку до перших слід віднести: вірус з кубічним типом симетрії («сферичний»), який уражує печериці, гливу звичайну, яку слід віднести до групи вірусів (*Totiviridae*); бактерію *Pseudomonas fluorescens* (biom. G – syn. *tolaasii*). Виділяється також бактеріофаг з коротким хвостовим відростком (*Podoviridae*); мікроскопічні гриби *Mycogone pernicioso*, *Verticillium fungicola* та інші.

Залишається частково загадковим потрапляння у технологічний процес вирощування грибів потівірусів, потексвірусу, ВТМ, карлавірусу, а також інших патогенів (див. таблицю).

### Результати виявлення патогенів різними методами при оцінці якості грибів

Тест	Об'єкт дослідження	Результати
ІФА	плодові тіла печериць (часто при ґрунтовій поверхні)	ВТМ, потівірус, карлавірус
Експрес-метод (див. метод)	плодові тіла грибів (печериці, глива звичайна та їх міцелій, козляк (решітка) та ін.	різні патогени та їх фрагменти (бактерії, фаги ( <i>Podoviridae</i> ), мікроскопічні гриби, віруси – рабдоподібні, бацилоподібні, паличкоподібні)
Електрофорез структурних білків	печериці	РНК-вмісний вірус ( <i>Totiviridae</i> )
Ухтерлоні	<i>Helix pomatia</i> після харчування на інфікованому ВТМ подорожнику та печериці	«придорожній» ізолят – ВТМ (Tobamovirus)
Рослини-індикатори	ніжки плодових тіл грибів в зоні ґрунту	реакція на ВТМ – некрози на <i>Datura stramonium</i> ; поті вірус – <i>D. metel</i> – хлоротичність; карлавірус – <i>Nicotiana debney</i> – хлоротичні некрози; потексвірус – в основному хлоротичність на <i>D. stramonium</i>

**Висновки.** Таким чином, базидіоміцети під час їх вирощування уражаються патогенами різних таксономічних груп, які значно знижують якість і урожай грибів. Для отримання продуктивних плодових тіл слід використовувати здоровий посівний матеріал. З метою профілактики хвороб необхідно проводити заходи боротьби із

патогенами: своєчасна діагностика збудників, вибраковка хворих плодових тіл, застосування антипатогенних біологічних препаратів («БОА»), підбір стійких до захворювань видів та штамів грибів.

### Список літератури

1. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А. С. Бухало // – К.: Наук. думка, 1988. – 180 с.
2. Бойко О. А. Екологія та діагностика вірусних хвороб печериць / О. А. Бойко. – К.: Фітосоціоцентр, 1999. – 24 с.
3. Бойко О. А. Морфологія та структурні особливості патогенів *Basidiomycetes* / О. А. Бойко, Т. П. Шевченко, А. А. Бойко // Мікробіологічний журнал. – 2013. – Т.75. - №3. – С. 54-59.
4. Пат. 53983 Україна, АОІС 21/00 СО5F 11/00. Композиція біохімічних речовин для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин / О. А. Бойко, М. Д. Мельничук, А. Л. Бойко, І. П. Григорюк, В. О. Дубровін – № u201004473 – заявка 16.04.2010; опубл. 25.10.2010, Бюл. №20.
5. Циліурік А. В. Грибы лесных биоценозов / А. В. Циліурік, С. В. Шевченко – К.: Выша школа. Атлас, 1989. – 256 с.
6. Іванова Т. В. Ідентифікація міковірусів печериці двоспорової (*Agaricus bisporus* (J.Lge) Imbach) / Т. В. Іванова // III Всеукраїнська наук. – практ. конф. студ., аспір. та молод. Вчених «Біотехнологія: звершення та надії», 15-16 травня 2014. – м. Київ, 2014. – С.26-27.

*В работе поданы результаты исследования качества грибов базидиомицетов, выращенных в различных условиях внешней среды. При этом значительное внимание было уделено грибам природных биоценозов Полесья, Лесостепи и других экологических биоценозов их распространение. Целенаправленные исследования были выполнены с оценкой качества различных видов грибов, которые выращивались в биотехнологических процессах различного уровня сложности. В опытах применялись традиционные и современные молекулярно-биологические методы изучения роста и развития грибов, качества мицелия, морфологии спор, проведения диагностики бактерий, вирусов и микроскопических грибов, которые часто снижали урожай базидиомицетов на 55-100 %.*

**Базидиомицеты, биотехнологический процесс, бактерии, вирусы, продуценты, экологические условия, биохимические вещества**

*The research results of quality of Basidiomycetes mushrooms grown in various conditions of external environment are given in this article. Thus considerable attention was given to mushrooms in natural biocenoses of Polissya, Forest-steppe and other ecological biocenoses. Their spreading, targeted studies were performed with the assessment of quality of different*

*types of mushrooms involved in biotechnological processes at various levels of complexity. Traditional and modern molecular-biological methods for studying the mushrooms growth and development, mycelium quality, spores morphology conducting diagnosis of bacteria, viruses and fungi, which often reduces the basidiomycetes yield on 55-100 %.*

***Basidiomycetes, biotechnological processes, bacteria, viruses, producers, environmental conditions, biochemicals***