Самарская Лука. 2008. – Т. 17, № 3(25). – С. 565-578.

© В.Р. Киреев, О.Н. Макурина, С.В. Киреева*

РОЛЬ ВЫДЕЛЕНОЙ КУЛЬТУРЫ СИМБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБОЦЕНОЗА В ПРОЦЕССЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНВЕРСИИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБОВ И ЕЁ ВЛИЯНИЕ НА РОСТ *PLEUROTUS OSTREATUS, AGARICUS BISPORUS,* И НЕКОТОРЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Проведён процесс климатического биологического кондиционирования гомогенной и оптимизированной питательной среды для высших грибов – базидиомицетов. После третьей волны культивирования *Agaricus bisporus* из полученной биомассы был выделен активный симбиотический микробоценоз. Проведены исследования влияния этого микробоценоза, а так же его метаболитов на рост съедобных грибов *Pleurotus ostreatus, Agaricus bisporus*, а также на развитие таких сельскохозяйственных культур, как *Capsicum annuum*, *Triticum aestivum и Solanum lycopersicum.*

Kireev V.R., Makurina O.N., Kireeva S.V.

ROLE OF THE SELECTED CULTURE SYMBIOTIC MYCROBOCENOSES DURING BIOLOGICAL INVERSION OF NUTRITIOUS ENVIRONMENTS GROWING OF MUSHROOMS AND HERE INFLUENCE ON GROWTH PLEUROTUS OSTREATUS, AGARICUS BISPORUS, AND SOME AGRICULTURAL PLANTS

The process of climatic biological conditioning of homogeneous and optimized nutritious environment for maximum mushrooms – basidiomecetes is carried ou. After the third wave growing *Agaricus bisporus* from received bioweight was selected active symbiotic mycrobiocenoses. The researches of influence it microbocenos, and as it metabolites on growth of edible mushrooms *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, and also on development of such agricultural cultures, as *Capsicum annuum*, *Triticum aestivum* and *Solanum lycopersicum* are carried out.

ВВЕДЕНИЕ

В Мире неуклонно ухудшается ситуации продовольственного обеспечения малообеспеченной категории населения, что ставит перед человечеством задачу поиска новых источников экологически чистых и биологически ценных питательных веществ низкой себестоимости. Такая задача не может быть эффективно решена без поиска новых высокоэффективных биологических редуцентов для осуществления конверсии органической биомассы различных отходов сельхозпроизводства в питательную биомассу пищевого назначения.

В данный момент около 80% потребляемой человеком пищи дают растения, однако увеличение ресурсов за счет естественных угодий имеет свои пределы. К тому же попытки увеличения пищевой ресурсной базы за

* *Самарский государственный университет, г. Самара*

счёт продукции генной инженерии ведут к значительным потенциальным рискам снижения среднестатистических показателей здоровья населения, ввиду малой изученности последствий употребления человеком, в долгосрочном режиме, генетически модифицированной пищевой продукции.

Культивирование широкого видового ряда шляпочных грибов, могло бы открыть новые источники разнообразных белков, биологически активных веществ и витаминов. С точки зрения экологической, биологической и фармакологической ценности, товарная биомасса шляпочных грибов значительно превосходит аналогичные показатели пищевой продукции растительного происхождения и даже приближается по этим показателям к молоку и мясу.

Искусственно культивируемые грибы можно выращивать круглогодично, независимо от продолжительности светового дня и климатических условий. К тому же производство грибов практически любого рода и вида, по показателям прироста товарной биомассы за единицу времени, и по показателю минимальной себестоимости единицы массы продукта, многократно превосходит любое другое сельскохозяйственное производство, включая производство мяса рыбы и молока.

Согласно современным представлениям, практически весь азот живых организмов имеет своим источником биологическую фиксацию молекулярного азота атмосферы, который впоследствии используется грибами для построения своего мицелия и увеличения биомассы. Поиск эффективных природных азотфиксаторов и биологических редуцентов, продукты жизнедеятельности которых могли бы использовать культивируемые грибы, на данный момент составляет одну из главных задач научных изысканий в направлении фундаментальной и прикладной биологии, а так же микологии грибного производства.

Первые опыты искусственного разведения грибов (вешенка) были осуществлены в Германии еще перед Первой мировой войной.

В России исследования методов подготовки субстратов для выращивания грибов проводились сотрудниками Научного центра биологических исследований Российской академии наук в Пущино, на биологическом факультете МГУ, в Университете инженерной экологии (раньше этот ВУЗ назывался Московским институтом химического машиностроения). Эти работы позволили создать первый опытный вариант технологии промышленного культивирования грибов – вешенки на отходах переработки хлопка, льна, подсолнечника, на опилках, а так же на самой разнообразной соломе (Дудка, Шепа, Вассер, 1966).

Выращивание съедобных грибов в настоящее время выделилось в перспективную, рентабельную и быстроразвивающуюся отрасль сельского хозяйства. Мировое производство грибов за последние два десятилетия резко возросло (Выращивание грибов…, 2000).

В естественных условиях грибы – ксилотрофы растут в плотной древесине, развиваясь в ней достаточно медленно.

При интенсивном культивировании грибов – вешенка и других грибов – ксилотрофов в последнее время стали использовать рыхлые субстраты в основном на основе соломы пшеницы, лузги гречихи или подсолнечника, реже на очёсе хлопка.

Производители грибов и питательных сред для их культивирования, в практике часто сталкиваются с появлением конкурентной флоры в субстрате, прошедшем предварительную специальную термическую и бактериальную обработку, именуемую в производственном лексиконе ферментацией. Появление метаболитов этих конкурирующих организмов, представленных в основном различными плесенями, существенно ингибирует жизнедеятельность мицелия культивируемых грибов, что, как правило, вызывает чрезмерное снижение урожая (Сычев, 2000).

Обобщая сказанное, выделяем, что на данный момент главными проблемами вновь образованной и развивающейся отрасли грибного производства в России являются:

1. Экономическая нестабильность профильных предприятий, вызванная несовершенством традиционно используемого в Мире процесса климатического биокондиционирования субстрата перед культивированием на нём грибов;

2. Неоправданные потери (до 60%) общего азота, при приготовлении субстратов и компостов культивирования грибов, вызванные несовершенством традиционно используемого в Мире процесса биологической инверсии сырьевого питательного композита;

3. Низкий уровень содержания белкового азота в традиционных сырьевых источниках для приготовления питательных сред грибов.

Универсальным инструментом, для снятия обозначенных проблем может стать использование выделенной культуры симбиотического микробоценоза в процессе приготовления питательных сред культивирования грибов. Данная культура была получена в российской лаборатории «Прикладная микология и грибоводство» при кафедре «Биохимия» Государственного университета города Самары, посредством её выделения из отработанных питательных нестерильных сред культивирования грибов.

Поэтому **целью** данной работы стало:

Исследование влияния выделенного симбиотического микробоценоза и его метаболитов на весь спектр показателей развития мицелия съедобных грибов *Pleurotus ostreatus, Agaricus bisporus*, а также на развитие отдельных сельскохозяйственных культур.

В рамках поставленной цели решались следующие **задачи**:

Доказательство свойства выделенной симбиотической культуры микробоценоза как эффективного биологического редуцента субстратного и компостного сырьевого питательного композита для культивации *Pleurotus ostreatus* и *Agaricus bisporus* и изучение ее влияния на продуктивность этих культур грибов и некоторых сельскохозяйственных растений;

Доказательство свойства данной симбиотической культуры как эффективного биологического фиксатора атмосферного и минерального азота;

Изучение свойства биомассы субстратного композита, подвергшегося биологической конверсии, посредством данного микробоценоза, как удобрения для различных сельскохозяйственных культур, включая грибы;

Кардинальное снижение потерь белкового азота в субстратах и компостах, происходящих от несовершенства традиционного процесса климатического биологического кондиционирования сырьевых питательных компонентов;

Повышение показателей белкового азота и показателей биологической эффективности питательных сред грибов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служило симбиотическое сообщество микроорганизмов (выделенное из отработанного шампиньонного компоста) в комплексе с питательной биомассой ими редуцируемой (рис. 1), а также съедобные грибы – *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, и культурные растения – *Capsicum annuum, Triticum aestivum и Solanum lycopersicum.*

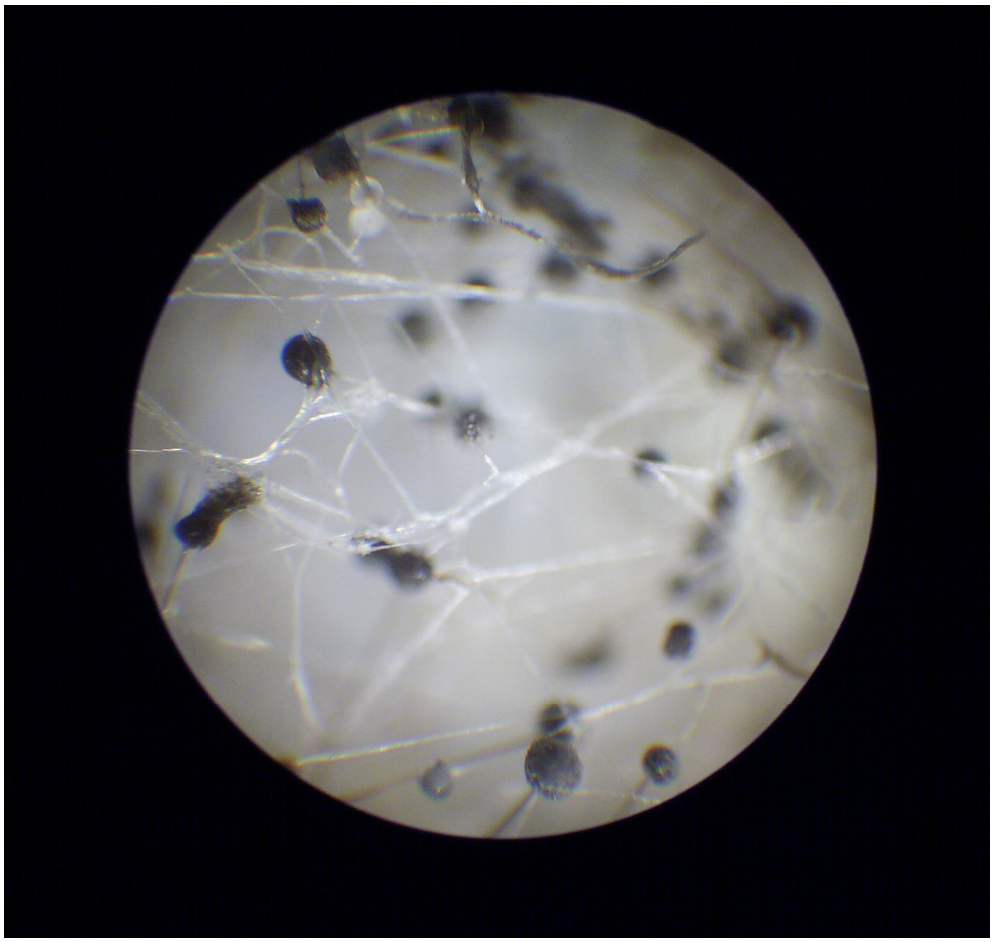

Рис. 1. ***Часть симбиотической культуры под микроскопом увеличено в 56 раз***

ВЫРАЩИВАНИЕ ПОСЕВНОГО МИЦЕЛИЯ *AGARICUS BISPORUS И PLEUROTUS OSTREATUS*

Выращивание посевного мицелия *Agaricus bisporus и Pleurotus ostreatus* осуществляли следующим образом: зерно пшеницы, для придания ему необходимой влажности (50%), варили в течение 25-30 минут, после чего воду сливали, а наружную оболочку зерна просушивали путем продувания вентилятором горячего воздуха. Хорошо приготовленное зерно должно быть разбухшим, а его наружная оболочка должна быть сухой, чтобы не было наружной влаги. После этого зерно раскладывали по банкам (по 1кг 50г), надевали обычные жестяные крышки с отверстиями диаметром 4см. В эти отверстия вставлялся ватно-марлевый тампон, который прижимали кусочком термостойкого материала, посредством резинового кольца.

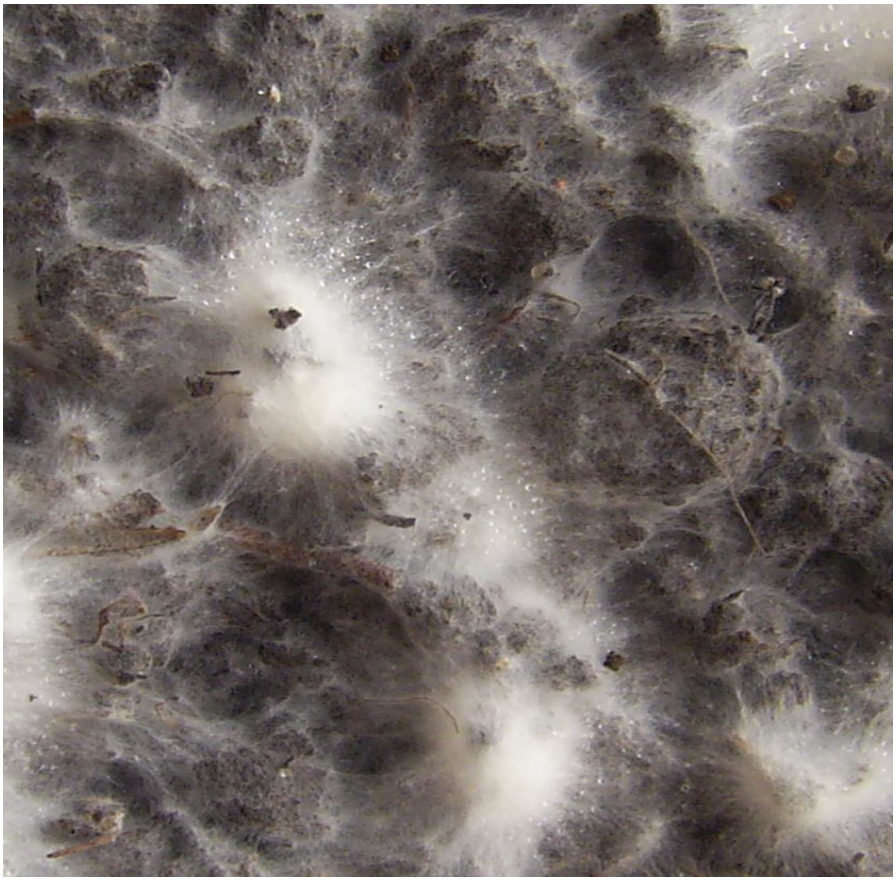

Рис. 2. ***Мицелий первичной культуры Pleurotus ostreatus***

Автоклавирование производилось в стерилизаторе при давлении пара в 1,3-1,5 атм. в течение 2 часов в режиме небольшого стравливания пара через дренажный кран стерилизатора. После этого происходило охлаждение парогенератора с приоткрытым дренажным краном.

После выравнивания давления с окружающим воздухом открывали дверь стерилизатора, производили его разгрузку и перекладывали банки в

чистую зону посева на специальные стеллажи. После 10-ти часового охлаждения производился засев стерильной питательной среды, посредством заранее приготовленного мицелия первичной культуры грибов.

Мицелий первичной культуры грибов готовился аналогичным способом, но выращивался на питательной среде, основу которой составляли лигноцеллюлозные комплексные субстратные вещества (рис. 2).

Посев во всех случаях проводился в условиях особой чистоты, при горящем пламени спиртовки в специальном боксе с фильтрованным воздухом, чтобы обеспечить отсутствие микроорганизмов и спор конкурирующих грибов в посевном материале. После посадки культуры, в крышку банки снова вставляли ватно-марлевый фильтр и укладывали на стеллаж – накопитель.

После окончания посева все банки переносились в термостатную комнату, где круговыми движениями осуществлялось равномерное перемешивание зерна с посевной культурой. После этого банки укладывали на специальные стеллажи, приспособленные для горизонтального расположения банок во время колонизации мицелием питательной среды.

На специальных стеллажах в горизонтальном положении мицелий колонизировал субстрат при t^o +18-20°C в течение 5 дней и до посева хранился в холодильнике при t^o 0+3°C.

ПОДГОТОВКА ОСНОВЫ СУБСТРАТА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ *PLEUROTUS OSTREATUS* И *AGARICUS BISPORUS*

Основой субстрата для вешенки, или шампиньона служила лузга подсолнечника и пшеничная солома. Подготовка сырья включала следующие стадии:

1) для увлажнения сырье заливали холодной водой в специально оборудованной емкости с решётчатым полом и системой воздуховодов и водопроводов (расчетная доза заливаемой воды подбиралась так, чтобы вся вода впиталась в сырьё, и обеспечила необходимую влажность). После увлажнения сырья, включали парогенератор и вентилятор, что обеспечивало принудительную подачу смеси воздуха с паром, для продувки субстрата и создания в нём необходимых климатических условий (прогрев питательной среды до температуры, необходимой для обеспечения дальнейшего процесса биологического её кондиционирования осуществлялся в течение 3х часов);

2) климатическое аэробное биологическое кондиционирование осуществлялось с участием термофильных бактерий при температуре 47-58°C. Данная обработка проводилась с целью минимизации потенциальной энергетики питательных компонентов субстрата, а так же с целью минимизации спорового конкурентного фона и ингибирования развития оставшихся спор конкурентов;

3) охлаждение готового субстрата проводилось в течение 3 часов посредством вентилятора высокого давления (200 мм водного столба).

ПОДГОТОВКА БЕЛКОВОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ ОСНОВЫ СУБСТРАТА, ПОСРЕДСТВОМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕДУКЦИИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫХ ИСТОЧНИКОВ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ПРОИЗВЕДЁННОЙ СИМБИОТИЧЕСКИМ МИКРОБОЦЕНОЗОМ

Биологически редуцируемой питательной средой, для изучаемого микробоценоза (как и в случае с выращиванием мицелия *Agaricus bisporus* и *Pleurotus ostreatus*) являлось стерилизованное зерно пшеницы, и подготовка для неё питательных компонентов велась аналогичным способом. После увлажнения стерилизации и охлаждения, зерно засевалось изолированной культурой выделенного микробоценоза, которая так же, как и в случае с первичным мицелием грибов, содержится на питательной среде, основу которой составляют лигноцеллюлозные комплексные субстратные вещества.

После высевания на увлажнённое и стерилизованное зерно, находящееся в стеклянной банке под крышкой с фильтром, культура микробоценоза равномерно распределялась в толще питательной среды и выставлялась в термостат с температурой t 18-20°C для наращивания её биомассы и осуществления биологической инверсии питательного вещества зерна.

Степень инверсии питательных веществ стерилизованного зерна зависела от временной экспозиции культуры в термостате.

Самыми эффективными оказались свойства питательного вещества подвергшегося биологической инверсии в течение 40 дней. После указанного срока исследуемую биомассу, либо стерилизовали, с последующим засевом первичной культуры мицелия грибов (таким образом, получали посевной мицелий улучшенного качества для субстрата), либо микробоценоз в питательной биомассе сохраняли, используя последнюю в качестве эффективного биологического препарата для исследования его влияния на рост некоторых высших растений.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ СИМБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБОЦЕНОЗА НА ПОСЛЕДУЮЩИЙ РОСТ МИЦЕЛИЯ *PLEUROTUS OSTREATUS* В СУБСТРАТЕ

Методика определения влияния симбиотического микробоценоза на последующий рост мицелия *Pleurotus ostreatus* в субстрате включала перечисленную ниже последовательность событий.

Перед посевом мицелия улучшенного (посредством питательной среды подвергшейся биологической конверсии) качества все зерновки разрыхлялись, гифы гриба разрывались. В барабане вручную осуществлялось перемешивание с субстратом исследуемого посевного материала. Далее осуществлялась фасовка субстрата в цилиндрические полиэтиленовые пакеты, в которых формировались блоки субстрата и переносились в термостат. В термостатной комнате при температуре 18°C, без специально организованной вентиляции и света, субстрат зарастал, а по истечении 14-ти дней пере-

носился в зону культивации, в которой имелась дополнительная приточная, вытяжная и рециркуляционная вентиляция, а так же оборудование для глубокого увлажнения воздуха, что обеспечивало необходимые показатели микроклимата для роста плодовых тел грибов.

Обмен воздуха составлял 150-200м^3/ч на каждую тонну субстрата. Рециркуляционные воздуховоды и отверстия в них распределяли воздух таким образом, чтобы вокруг каждого гриба скорость движения воздуха составляла 0,2-0,3м/с. Освещение зоны культивации составляло около 200 люкс в течение 10-12ч. в сутки, а относительная влажность воздуха находилась на уровне 85-95%.

ВЛИЯНИЕ МИКРОБОЦЕНОЗА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

Данное исследование проводилось в течение трех месяцев. Сообщество микроорганизмов вместе с изменённой питательной биомассой добавляли в очень небольшом количестве в заведомо очень бедную почву, основу которой (80%) составлял только песок. Эта опытная группа растений выращивалась в условиях ограничения освещенности. Контрольная группа растений выращивалась в открытом грунте (богатая плодородная почва) с оптимальным количеством удобрений в ней.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА В ЗЕРНЕ

Определение содержания азота в зерне, подвергшемся биологической конверсии проводилось в г. Кинель в Поволжском НИИ РАСХН селекции и семеноводства им. П.М.Константинова по методу Кьельдаля. Метод основан на минерализации анализируемого удобрения при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии перекиси водорода, смешанного катализатора или раствора фенола в серной кислоте, с последующей отгонкой аммиака в раствор борной кислоты и титровании серной кислотой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании микробоценоза в стерильном зерне пшеницы с влажностью 50% и пшеничной соломе с влажностью 75%, через 2 недели появлялся запах аммиака. Через год солома превратилась в вязкую текучую коричневую жидкость с запахом аммиака (рис. 3), а в зерне наряду с усилением запаха аммиака, количество крахмала снижалось до минимальных значений (около 5%). При этом количество общего азота в субстрате возрастало до 38%, относительно исходного показателя. По-видимому, микробоценоз не только активно связывает азот, но и расщепляет целлюлозу, лигнин и крахмал субстрата. О чем свидетельствует запах аммиака и отсутствие твердых фрагментов в разложившемся субстрате соломы, с од-

ной стороны, и присутствие запаха аммиака и минимальная реакция содержимого крахмала с раствором йодида калия, наблюдаемая на зерновом субстрате, после его инверсии, с другой стороны.

Рис. 3. ***Результат биологической конверсии пшеничной соломы посредством исследуемого микробоценоза***

Кроме того, переход субстрата в жидкую фазу при отсутствии запаха сероводорода свидетельствует о низкой требовательности культуры к содержанию кислорода, то есть данный микробоценоз можно назвать факультативным анаэробом.

Процесс увеличения содержания азота в зерне, подвергшемся биологической инверсии, посредством изучаемой симбиотической культуры, был экспериментально доказан методом Кьельдаля (табл. 1). Содержание общего азота так же, как и сырого протеина, через 3 месяца увеличилось на 6%, а через 6 месяцев – на 38%, относительно аналогичных показателей в контрольных образцах зерна, не подвергавшегося биологической инверсии.

Учитывая тот факт, что в среду не вносились дополнительные источники азота, можно говорить об интенсивном процессе азотфиксации симбиотическим микробоценозом.

Таблица 1

Результаты определения показателей общего азота и сырого протеина по методу Кьельдаля

	Воздушно-сухая навеска	
Наименование образца	% общего азота	% сырого протеина
Контроль (вареное зерно)	2,36±0,03	13,52±0,34
Опытный обр. (3 месяца)	2,51±0,05	14,33±0,26
Опытный обр. (6 месяцев)	3,83±0,07	21,88±0,43

Субстрат, минимально освоенный симбиотической культурой, не поражался конкурирующими грибами, в том числе и основным конкурентом мицелия шампиньона – триходермой.

После введения в традиционный субстрат грибов – ксилотрофов 5% весовой нормы стерилизованной зерновой биомассы микробоценоза, в течение 1,5 месяцев, кроме мицелия высших грибов, ни одна споровая форма конкурентов не смогла прорасти и освоить его. Даже при посеве минимальной нормы 1,5% культивируемого мицелия грибов, в субстрате в течение всего времени инкубации не обнаруживалось признаков контаминаций - гриб постепенно полностью осваивал субстрат.

Зерновой субстрат, влажностью 50%, ферментированный микробоценозом при температуре 10°С в течение 3х месяцев, впоследствии стерилизовался и засевался мицелием вешенки и шампиньона. Начало колонизации такого субстрата мицелием грибов проходила не сразу (табл. 2), что говорит о сильной метаболической защите микробоценоза, которую, например, мицелий шампиньона, имеющий более широкий набор ферментов, чем *Mucor,* смог преодолеть только через 3 недели после посадки.

Таблица 2

Начало процесса колонизации, предварительно ферментированного микробоценозом (в течение 3-х месяцев) и потом стерилизованного зернового субстрата, мицелием Pleurotus ostreatus и Agaricus bisporus

Название гриба	Время начала освоения субстрата	Время полного освоения субстрата
Agaricus bisporus (шампиньон)	Через 3 недели после посадки	Через 8 недель после посадки
Pleurotus ostreatus (вешенка)	Через 5 дней после посадки	Через 30 дней после посадки

Кроме метаболического механизма, подавление микроскопических конкурентов микробоценозом может осуществляться и за счёт быстрого роста самой культуры, а так же и за счёт более полного освоения субстрата с использованием дополнительного источника азота и, следовательно, за счёт скорости белкового синтеза.

Грибы (в том числе *Mucor*) более приспособлены, чем бактерии, в особенности анаэробные, так как они имеют более широкий набор ферментов, в том числе разрушающих целлюлозу, белковые вещества и другие биополимеры до мономеров и могут приготовить стартовое питание (стабилизированное) для азотфиксирующих организмов. Кроме того, в результате своей жизнедеятельности он потребляет O_2, избыток которого подавляет активность нитрогеназной системы *Clostridium* и *Pleurotus ostreatus*. Отмершие клетки плесневого гриба имеют стабильный питательный состав, который использует азотфиксирующая бактерия. *Azotobacter* также нуждается в повышенной влажности, а после переработки грибами рода *Mucor* влажность субстрата увеличивается от 50 до 75% за счет высвобождения биологически связанной воды.

Содержание азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium* sp в симбиотическом микробоценозе также увеличивает скорость накопления азота в культуре. *Azotobacter* очень активно поглощает из среды кислород, создавая его низкое парциальное давление, необходимое для *Clostridium*. В то же время, *Clostridium* образует органические кислоты, которые использует *Azotobacter*. *Clostridium* является кислотообразователем, а *Azotobacter* образует щелочные продукты. Таким образом устраняются скачки pH.

Предположительно, создается сильная метаболическая защита биоценоза, наиболее вероятно, что это гуминовые вещества, так как субстрат накапливает до 4-5% N.

Понятие дружности плодоношения означает единовременность образования плодовых тел грибов *Pleurotus ostreatus* на доступной наружному воздуху поверхности одновременно во всех прорезях полиэтиленовых мешков, что составляют суммарную поверхность плодоношения. Оптимальная температура культивации грибов составляет 17-17,5^{0}С. Температура поддерживалась системой микроклимата и встроенным в неё центральным отоплением. В практике грибного производства зачастую используется посевной мицелий, имеющий средние показатели физиологического состояния (состояния готовности к генеративным процессам). При внесении такого мицелия в субстрат (практически в любой процентной концентрации), по истечении периода инкубации, единовременное образование плодовых тел грибов занимает лишь от 30 до 60% поверхности плодоношения. Если же посевной мицелий того же качества засевать в субстрат, в который предварительно был внесен стерилизованный симбиотический микробоценоз (то есть содержащий его метаболиты), то дружность плодоношения составляет 100% (табл. 3).

Таблица 3

Плодоношение Pleurotus ostreatus в субстрате, имеющем метаболиты симбиотического микробоценоза

Характеристика субстрата	Дружность плодоношения, % от суммарной поверхности плодоношения	Урожайность 1-й волны плодоношения, % от общей массы субстрата	Время начала плодоношения 1-й волны
Обычная солома	30-60%	17	18-24й день инкубации
Солома, содержащая метаболиты симбиотич. микробоценоза	100%	17-18	14й день инкубации

При этом остальные показатели урожайности во втором случае были так же более предпочтительными.

Полученная в итоге биомасса гриба остается практически та же, что говорит о полном использовании мицелием гриба питательных веществ субстрата. При этом распределение питательных веществ в субстратном блоке в первом случае неоднородно – в тех местах, где их меньше, плодообразование наступает позже. Во втором случае они равномерно распределены по субстрату, в результате чего время сбора урожая с одного мешка сокращается, в среднем, в два раза.

По-видимому, благодаря влиянию метаболитов микробоценоза, биологическая конверсия субстрата посредством мицелия гриба идёт более эффективно, в результате питательные вещества субстрата располагаются более однородно, и гриб быстрее генерирует свои плодовые тела. Кроме того, возможно, метаболиты симбиотического микробоценоза, возвращают мицелий *Pleurotus ostreatus* в активную (генеративную) фазу, стимулируя способность гриба к плодообразованию.

Как оказалось в ходе исследований, генеративная фаза развития мицелия, равно как и мицелий, имеющий ярко выраженные генеративные свойства, более требовательны к содержанию кислорода – обычно это хорошо проявляется на высокопитательных средах, где мицелий более активно функционирует. На таких питательных средах, генеративный мицелий, находясь в объеме 1,5л, и при 7^0С уже на 15 сутки хранения изменяет дыхательный баланс, значительно сокращая содержание кислорода, от чего такой мицелий частично отмирает. С другой стороны, мицелий, не имеющий выраженных генеративных свойств в этих же условиях и даже при более высокой температуре – около 10^0С практически полностью сохраняет свою жизнеспособность. При этом морфологические отличия в мицелии гриба в этих двух фазах учеными-микологами не найдены (что подтверждают исследования Л.М. Краснопольской – доктора биологических наук, академика РАЕН - институт им. Гаузе). Можно сделать предположение, что эти две

фазы роста гриба отличаются количественным соотношением различных, в том числе генеративных клеток.

Процесс азотфиксации также интересен для применения к другим сельскохозяйственным культурам – уже после 3-х месяцев (а лучше 6) нахождения микробоценоза на зерне или соломе данный субстрат может использоваться не только для грибов, но и как удобрение для других сельскохозяйственных культур.

Рис. 4. ***Рост Triticum aestivum в грунте, содержащем симбиотическую культуру (слева), и без нее (справа)***

При добавлении (в очень небольшом количестве) данного сообщества организмов в заведомо бедную почву (речной песок) и выращивании на ней перца овощного (*Capsicum annuum*) в условиях лабораторного помещения, и соответственно, в условиях сокращенного светового дня, плоды растения созрели на 1,5 месяца раньше, чем контрольная группа в открытом традиционном садовом грунте и неограниченном дневном освещении. А в контрольной группе находящейся в песке, и имеющей аналогичные ограничения, но без биологической добавки *Capsicum annuum* высох несозревшим.

Влияние на рост грибов *Triticum aestivum* также было доказано экспериментальным путем (рис. 4). За период эксперимента опытные растения значительно превосходили растения контрольной группы по массе листьев, их длине, качеству корневой системы, количеству листьев и их площади.

Жидкость, полученная при длительном культивировании симбиотического микробоценоза на соломистом субстрате, оказалась прекрасным удобрением – при поливе комнатного лимонника, винограда, рассады томатов они росли более интенсивно, а на лимоннике пропали клещи.

Таким образом, можно говорить об азотсодержащих метаболитах симбиотической культуры как о биологическом удобрении – альтернативе нитратам, широко применяемым в сельском хозяйстве.

ВЫВОДЫ

1. Симбиотический микробоценоз, выделенный из отработанного шампиньонного компоста, является ингибитором конкурентов *Pleurotus ostreatus* и *Agaricus bisporus* и способствует колонизации мицелием этих грибов питательных сред (субстратов и компостов), а так же способствует улучшению показателей их плодоношения.

2. Выделенный симбиотический микробоценоз является активным азотфиксатором, о чем свидетельствует увеличение содержания азота в зерне на 38%, относительно контрольных образцов, и в грибных субстратах до 4-5%.

3. Симбиотический микробоценоз является хорошим удобрением: использование его метаболитов сокращает время сбора урожая *Pleurotus ostreatus* с единицы площади, в среднем, в два раза, *Capsicum annuum* - на 1,5 месяца; растения *Triticum aestivum* развиваются в 2 раза более интенсивно, чем контрольные.

ЛИТЕРАТУРА

Дудка И.А., Шепа В.А.,. Вассер С.П. Вешенка обыкновенная. - Киев, «Наукова Думка», 1976. С.185-296.

Выращивание грибов в домашних условиях // Сборник статей. Донецк, 2000. С. 25-28,65,67.

Сычев П.А. Экофизиология высших грибов. - Донецк: Кассиопея, 2000. С. 276.

Поступила в редакцию
25 июля 2008 г.