

УДК 631.87

## ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ НА УРОЖАЙНОСТЬ И КАЧЕСТВО РЕДИСА

Ольга Ивановна Кляйн<sup>1</sup>, Наталья Александровна Куликова<sup>2</sup>,  
Елена Владимировна Степанова<sup>3</sup>, Алексей Владимирович Софьян<sup>4</sup>,  
Ольга Игоревна Филиппова<sup>5</sup>, Елена Олеговна Ландесман<sup>6</sup>,  
Ольга Владимировна Королева<sup>7</sup>

Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН  
119071 Москва, Ленинский пр-т, д. 33

ООО «Велес»  
127591 Москва, ул. Дубнинская, д. 75, стр. 1А

<sup>1</sup> – аспирантка; e-mail: klein\_olga@list.ru

<sup>3</sup> – канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; e-mail: evst@inbi.ras.ru

<sup>4</sup> – канд. биол. наук, науч. сотр.; e-mail: sofin@inbi.ras.ru

<sup>6</sup> – главн. специалист; e-mail: landesman@mail.ru

<sup>7</sup> – доктор биол. наук, зав. лабораторией, проф.; e-mail: koroleva@inbi.ras.ru

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
факультет почвоведения, кафедра общего земледелия  
119234, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12

<sup>2</sup> – докт. биол. наук; e-mail: knat@darvodgeo.ru

<sup>5</sup> – инж.-лаб. I кат.; e-mail: philolga@mail.ru

*Изучено влияние биопрепаратов на основе эктомикоризных базидиальных грибов *Trametes hirsuta* и *Trametes maxima* на урожайность и качество редиса. Показано, что обработка почвы биопрепаратом, содержащим наряду с базидиальными грибами биосолюбилизованные гуминовые вещества угля, способствует повышению в редисе уровня витамина С. Сделан вывод о перспективности дальнейшего изучения биопрепаратов на основе эктомикоризных грибов.*

**Ключевые слова:** биопрепараты, эктомикориза, *Trametes hirsuta*, *Trametes maxima*, биосолюбилизация угля, редис

Основной областью сельскохозяйственной биотехнологии, где представители царства грибов нашли наиболее широкое применение, является биологический контроль над патогенными микроорганизмами, насекомыми-вредителями и сорняками [1]. Менее изучено использование грибов в качестве биопрепаратов, позволяющих повысить продуктивность сельскохозяйственных культур и качество урожая. В ряде работ было показано, что инфицирование растений микоризными грибами способствует усилению поглощения растениями питательных элементов, прежде всего, азота и фосфора [1, 2]. Среди микоризных грибов

принято выделять эктомикоризные, эндомикоризные и экто-эндомикоризные виды. К настоящему времени разработан ряд биопрепаратов на основе эндомикоризных грибов (BioCarry, Mycostar, Stanes Symbion® VAM Plus и др.), успешно используемых в сельскохозяйственной практике. Однако проблема практического применения в сельском хозяйстве биопрепаратов на основе эктомикоризных грибов изучена недостаточно. В то же время важным преимуществом эктомикоризных грибов по сравнению с эндомикоризными является простота их культивирования в промышленных условиях. Кроме того, наряду со способностью улучшать азотное и фосфорное питание растений, эти грибы могут также защищать растения от избыточного поглощения тяжелых металлов [3], заражения патогенными микроорганизмами [4] и облегчать поступление воды в растения [5]. Неоспоримым достоинством эктомикоризных грибов является также их способность разлагать ксенобиотики различных классов, включая пестициды, полиядерные ароматические углеводороды и др. [6], что особенно важно в условиях возрастающего загрязнения пахотных земель.

*Работа подготовлена при финансовой поддержке ГК П211 в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы и ГК №16.512.11.2028 в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы».*



## 1. Влияние биопрепаратов КЖ и КЖУ на некоторые агрохимические свойства почвы

Вариант	C, %	pH <sub>вод.</sub>	N общ., %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100 г	K <sub>2</sub> O, мг/100 г	ПФА × 10 <sup>3</sup> , мкмоль/мин × г
До начала эксперимента						
Среднее значение по опыту	4,0 ± 0,2	8,0 ± 0,1	0,31 ± 0,05	35,2 ± 0,8	20,1 ± 0,9	0,20 ± 0,01
После окончания эксперимента						
Контроль	4,5 ± 0,2	7,7 ± 0,1	0,41 ± 0,05	45,6 ± 0,9	20,4 ± 0,9	0,61 ± 0,01
КЖ	4,9 ± 0,1	7,8 ± 0,1	0,38 ± 0,05	39,0 ± 0,8	21,2 ± 0,9	1,26 ± 0,01
КЖУ	4,8 ± 0,1	7,7 ± 0,1	0,40 ± 0,05	42,9 ± 0,9	19,6 ± 0,8	1,82 ± 0,02

Целью работы было изучение влияния биопрепаратов на основе эктомикоризных грибов класса базидиомицетов *Trametes hirsuta* (Wulf.:Fr.) Pil. и *Trametes maxima* (Mont.) David & Rajchenb на урожайность и качество редиса *Raphanus sativus* L. *T. hirsuta* и *T. maxima* были выбраны в качестве объектов исследования благодаря их способности разлагать труднодеградируемые субстраты с высокой эффективностью, обусловленной продуцированием высокоактивных лакказ и пероксидаз [7].

Для проведения исследований в качестве биопрепарата наряду с чистой культурой базидиомицетов, получаемой на традиционной культуральной среде, использовали также грибы, выращенные в присутствии бурого угля. Так как базидиомицеты благодаря выделяемым ими эстрацеллюлярным ферментам способны деградировать природные полимеры, данный подход позволил получить грибной биопрепарат, содержащий в качестве действующего начала наряду с грибными штаммами биосолюбилизирующие гуминовые вещества угля.

**Методика.** Биопрепараты получали на основе бурого угля и штаммов базидиальных грибов *T. hirsuta* [8] и *T. maxima* [9] из коллекции культур Ботанического института имени В.Л. Комарова РАН. В качестве образца угля использовали бурый уголь Солнцевского месторождения (о. Сахалин). Для получения биопрепаратов проводили культивирование базидиомицетов поверхностным способом согласно [8]. В колбы объемом 750 мл вносили 20 г измельченного угля (с размером частиц ≤ 1 мм), 200 мл питательной среды (г/л: глюкоза 10,0; пептон 3,0; NaNO<sub>3</sub> 3,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,6; ZnSO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O 0,001; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,4; FeSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 0,0005; MnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 0,05; MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 0,5; CuSO<sub>4</sub> 0,25; pH 6,0) и 10 мл инокулята каждого гриба. Среда перед засевом автоклавировали при 120° и 1 атм. в течение 1 ч. По окончании культивирования (45 суток) проводили отделение мицелия и остатков бурого угля путем фильтрования через бумажный фильтр. Далее полученный фильтрат культуральной жидкости (КЖУ) разбавляли в два раза водопроводной водой и использовали в качестве биопрепарата. В

качестве контрольного биопрепарата использовали культуральную жидкость (КЖ) грибов *T. hirsuta* и *T. maxima*, выращенных аналогичным образом без угольного субстрата.

Оценку биологической активности КЖ и КЖУ проводили в микроделяночном эксперименте на агроземе светлом типичном [10] легкосуглинистом (Московская обл., Мытищинский р-н). Предварительная подготовка почвы включала вспашку, боронование и внесение удобрений в дозе N90P90K90. Внесение КЖ и КЖУ осуществляли путем полива сразу после высева редиса (сорт «Политез» (среднеранний), производитель «Семко-Юниор»). Доза внесения КЖ и КЖУ составляла 3,3 л/м<sup>2</sup>. Контрольные делянки обрабатывали водой. Через неделю после посева проводили учет всходов. Далее по мере необходимости растения поливали и пропалывали. Размер опытных делянок 0,3 × 1 м, повторность трехкратная. Посев проводили 25 мая, учет опыта – 30 июня.

Для оценки влияния исследуемых биопрепаратов на свойства почвы почвенные образцы отбирали перед началом эксперимента (25 мая) и в конце вегетационного сезона (10 сентября). Поздний пробоотбор был обусловлен тем, что согласно существующим данным, именно в это время наблюдается минимальная вариабельность показателей почвенных свойств, обусловленная изменениями погодных условий и микробиологической активности [11]. Пробоотбор осуществляли с поверхности методом конверта. В отобранных образцах почвы определяли pH, содержание органического углерода по модифицированному методу Тюрина и содержание подвижного калия и фосфора по Кирсанову [12]. Кроме того, в почве была определена полифенолоксидазная активность (ПФА) согласно [13] с использованием в качестве субстрата сириналдазина.

Оценку качества редиса проводили на основании определения таких показателей как содержание аскорбиновой кислоты [14], общее содержание фенолов (ОСФ) [15] и содержание антоцианов [16]. ОСФ выражали в эквивалентах галловой кислоты (ГКЭ).



## 2. Влияние КЖ и КЖУ на всхожесть и урожайность редиса

Варианты	Параметры	
	Всхожесть, шт.	Урожайность, кг/10 м <sup>2</sup>
Контроль	90 ± 3	23 ± 3
КЖ	92 ± 3	20 ± 3
КЖУ	92 ± 3	20 ± 3

## 3. Влияние КЖ и КЖУ на некоторые характеристики качества редиса

Вариант	ОСФ, мг ГКЭ/100 г	Антоцианы, мг/100 г	Витамин С, мг/100 г
Контроль	95,3 ± 3,3	17,7 ± 1,8	15,6 ± 1,8
КЖ	80,0 ± 3,0	11,1 ± 1,3	14,0 ± 1,5
КЖУ	100,3 ± 1,0	18,5 ± 1,8	21,7 ± 1,1

**Результаты и обсуждение.** В результате определения агрохимических свойств было установлено, что исследуемая почва имеет нейтральную реакцию и характеризуется высокой обеспеченностью подвижным фосфором и калием (табл. 1). За время проведения эксперимента было отмечено увеличение содержания органического углерода в почве, что связано, по-видимому, с сезонной динамикой лабильных компонентов почвенного гумуса, обусловленных активностью почвенной микрофлоры. Действительно, в почве контрольного варианта в течение периода наблюдения был отмечен значительный (более чем в два раза) рост активности полифенолоксидазы – фермента, ответственного за превращение ароматических органических соединений в гумусовую компоненту почвы путем окисления моно-, ди- и трифенолов до хинонов с их последующей конденсацией с аминокислотами и пептидами. Полученные данные о взаимосвязи роста содержания органического углерода в почве в конце вегетационного сезона одновременно с увеличением полифенолоксидазной активности хорошо согласуются с данными работы [11], авторы которой объясняют наблюдаемый факт увеличения содержания гумуса зависимостью активности лигноцеллюлолитических ферментов от доступности субстрата. О высокой микробиологической активности в течение периода наблюдения свидетельствует также увеличение содержания подвижного фосфора (табл. 1), которое связано, по-видимому, с процессом его мобилизации в присутствии низкомолекулярных органических кислот, образующихся путем биохимической трансформации почвенных углеводов. В пользу высказанного предположения свидетельствует снижение рН почвы с 8,0 до 7,7–7,8 (табл. 1).

Внесение исследуемых препаратов не оказало значимого влияния на такие почвенные характеристики как рН, содержание органического углерода и подвижного фосфора и калия. Тем не менее, использование КЖ и КЖУ привело к значимому ( $p < 0,05$ ) возрастанию полифенолоксидазной активности в почве. В случае КЖ наблюдался рост этого показателя в 2,2, а в случае КЖУ – в 2,9 раза. Так как использованные биопрепараты представля-

ли собой штаммы базидиальных грибов, то логично предположить, что установленный рост ферментативной активности почвы непосредственно связан с продукцией ими экстрацеллюлярных ферментов.

Полевая всхожесть редиса в контрольном варианте и в присутствии КЖ и КЖУ значимо не различалась, что свидетельствует об отсутствии влияния исследованных биопрепаратов на этот показатель. Аналогично, в наших опытах не было выявлено положительного или отрицательного влияния КЖ и КЖУ на урожайность редиса (табл. 2).

Наряду с урожайностью не менее важными являются также и потребительские свойства редиса, среди которых оценивали содержание витамина С, фенолов и антоцианов. Выбор данных показателей был обусловлен тем, что именно аскорбиновая кислота и соединения фенольной природы определяют такой важный показатель биологической (пищевой) ценности продукта как антиоксидантная активность [17]. ОСФ в редисе в контрольном варианте составило 95,3 ± 3,3 мг ГКЭ/100 г (табл. 3), что позволяет рассматривать исследуемый сорт как один из наиболее высоко полифенолсодержащих: согласно существующим данным, ОСФ в редисе различных сортов колеблется от 28 до 110 мг ГКЭ/100 г продукта [18]. Обработка почвы препаратом КЖУ не повлияла на этот показатель; аналогично нами не было обнаружено влияния КЖУ на содержание антоцианов. В то же время, было установлено, что внесение препарата КЖ значимо ( $p < 0,05$ ) снижало ОСФ и содержание антоцианов.

Содержание витамина С в редисе является одним из основных показателей его пищевой ценности; в зависимости от сорта и условий выращивания содержание витамина С в редисе варьирует в пределах 14–33 мг/100 г продукта [19]. Полученные результаты свидетельствуют, что использованный в работе сорт редиса можно отнести к сортам с невысоким содержанием аскорбиновой кислоты, однако использование биопрепарата КЖУ позволяет достоверно ( $p < 0,05$ ) повысить этот показатель до значений, соответствующих средним значениям диапазона (табл. 3). Это указывает на положительное влияние биопрепарата, полученного на основе базидиальных грибов, выращенных в присутствии бурого угля, на потребительские свойства редиса.



**Заключение.** Таким образом, проведенные исследования показали, что обработка почвы биопрепаратами КЖ и КЖУ приводит к значимому увеличению полифенолоксидазной активности почвы. Использование препарата КЖУ положительно влияет на содержание витамина С в корнеплодах редиса. На основании проведенных экспериментов, можно рекомендовать препарат на основе базидиомицетов *T. hirsuta* и *T. maxima* и гуминовых веществ угля для дальнейшего изучения в качестве биопрепарата, способствующего накоплению витамина С в растительной продукции.

#### Литература:

1. Douds D.D., Nagahashi G.Jr., Reider C., Hepperly P.R. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi increases the yield of potatoes in a high P soil // Biol. Agric. Hort. – 2007. – Vol. 25. – P. 67–78.
2. Cimen I., Pirinc V., Sagir A., Akpinar C., Guzel S. Effects of solarization and vesicular arbuscular mycorrhizal fungus (VAM) on phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leonian) and yield in pepper // Afric. J. Biotechnol. – 2009. – Vol. 8, № 19. – P. 4884–4894.
3. Blaudez D., Jacob C., Turnau K., Colpaert J.V., Ahonen-Jonnarh U., Finlay R., Botton B., Chalot M. Differential responses of ectomycorrhizal fungi to heavy metals in vitro // Mycol. Res. – 2000. – Vol. 104. – P. 1366–1371.
4. Shrestha Vaidya G., Shrestha K., Wallander H. Antagonistic study of ectomycorrhizal fungi isolated from Baluwa Forest (Central Nepal) against with pathogenic fungi and bacteria // Sci. World – 2005. – Vol. 3, № 3. – P. 49–52.
5. Shi L.B., Guttenberger M., Kottke I., Hampp R. The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi // Mycorrhiza – 2002. – Vol. 12. – P. 303–311.
6. Pointing S.B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 57, № 1–2. – P. 20–33.
7. Степанова Е.В., Королева О.В., Васильченко Л.Г., Карпетян К.Н., Ландесман Е.О., Явметдинов И.С., Козлов И.П., Рабинович М.Л. Разложение овсяной соломы при жидкофазном и твердофазном культивировании – Прикл. биохим. микробиол. – 2003. – Том 39, № 1. – С. 74–84.
8. Koroleva-Skorobogat'ko O., Stepanova E., Gavrilova V., Morozova O., Lubimova N., Dzchafarova A., Yaropolov A., Makower A. Purification and characterization of the constitutive form of laccase from the basidiomycete *Coriolus hirsutus* and effect of inducers on laccase synthesis // J. Biotechnol. Appl. Biochem. – 1998. – V. 28, № 1. – P. 47–54.
9. Сивочуб О.А. Каталог культур базидиомицетов Коллекции Ботанического Института им. В.Л. Комарова РАН. – СПб.: Наука, 1992. – 25 с.
10. Классификация и диагностика почв России / Смоленск: Ойкумена, 2004. – 342 с.
11. Boerner R.E.J., Brinkman J.A., Smith A. Seasonal variations in enzyme activity and organic carbon in soil of a burned and unburned hardwood forest // Soil Biol. Biochem. – 2005. – Vol. 37. – P. 1419–1426.
12. Воробьева Л.А. Химический анализ почв – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 272 с.
13. Solomon E.J., Sundaram U.M., Machonkin T.E. Multicopper oxidases and oxygenases // Chem. Rev. – 1996. – Vol. 96. – P. 2563–2605.
14. Измерение концентраций аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны. МУК 4.1.0.409–96 / Утв. Пред. Госкомсанэпиднадзора России Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Е.Н. Беляевым 8 июня 1996 г.
15. Singleton V.L., Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents // Am. J. Enol. Vitic. – 1965. – Vol. 16. – P. 144–158.
16. Li W., Hydamaka A.W., Lowry L., Beta T. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn // Cent. Eur. J. Biol. – 2009. – Vol. 4, № 4. – P. 499–506.
17. Westerhoff P., Aiken G., Amy G. Relationships between the structure of natural organic matter and its reactivity towards molecular ozone and hydroxyl radicals // J. Debrox Wat. Res. – 1999. – V. 33, № 10. – P. 2265–2276.
18. Xianli W., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., Prior R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States // J. Agric. Food Chem. – 2004. – V. 52. – P. 4026–4037.
19. Lu, Z.L., Liu, L.W., Li, X.Y., Gong, Y.Q., Hou, X.L., Zhu, X.W., Yang, J.L., Wang, L.Z. Analysis and Evaluation of Nutritional Quality in Chinese Radish (*Raphanus sativus* L.) // – Agric. Sci. China – 2008. – V. 7, № 7. – P. 823–830.

Klein O.I., Kulikova N.A., Stepanova E.V., Sof'in A.V., Philippova O.I., Landesman E.O., Koroleva O.V.

### INFLUENCE OF BASIDIOMYCOTA-BASED BIO-PRODUCTS ON RADISH YIELD AND QUALITY

*Influence of bio-products produced using Basidiomycota *Trametes hirsuta* and *Trametes maxima* on radish yield and quality has been evaluated. Application of the bio-products containing basidiomycetes and coal derived biosolubilized humic substances has been demonstrated to increase vitamin C content in radish. Further study of the basidiomycota-based bio-products has been concluded to be of great interest.*

**Keywords:** bio-products, ectomycorrhizal fungi, *Trametes hirsuta*, *Trametes maxima*, coal biosolubilization, radish.