

Демченко С.И.

## ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ СРЕДЫ НА РОСТ *PENIOPHORA GIGANTEA* (FR.) MASS.

Среди грибных паразитов древесных растений одним из наиболее распространенных и опасных является *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., (корневая губка). Этот патоген вызывает усыхание многих хвойных и лиственных пород, но наибольший вред наносит сосновым массивам, поражая корневую систему и основания стволов сосны<sup>i</sup>. Биологический метод борьбы с корневой губкой имеет существенное преимущество перед другими способами защиты. Он предусматривает локализацию инфекционного начала *H. annosum* путем искусственного заселения пней сапротрофными микроорганизмами, в первую очередь грибами-ксилотрофами, конкурирующими с корневой губкой за древесный субстрат питания<sup>ii</sup>. К числу таких грибов относится *Peniophora gigantea* (Fr.) Mass, (пениофора гигантская), высокие антагонистические качества которого доказаны во многих странах мира<sup>iii</sup>. Поэтому возникает необходимость всестороннего изучения этого гриба для разработки технологии производства биопрепарата для борьбы с корневой губкой, основу которого будет составлять споровая суспензия *P. gigantea*.

Нами исследовались экологические особенности пениофоры гигантской: влияние кислотности среды на ростовые процессы гриба-антагониста. Объектом исследования служил штамм *P. gigantea* P-1-95, выделенный из древесины пня *Pinus silvestris* L. в Краснолиманском лесхоззаге Донецкой области.

При изучении влияния кислотности среды на рост мицелия *P. gigantea*, культивирование гриба проводили при температуре 26<sup>o</sup>C в колбах Эрленмейера на жидких средах – Чапека-Докса, глюкозо-пептонной, 25%-ном неохмеленном пивном сусле и глюкозо-картофельной – с различными значениями pH: от 2.5 до 12.5. Повторность каждого варианта пятикратная. Различные величины pH сред создавали путем добавления к ним необходимого объема 1 N растворов NaOH или HCl с последующей регистрацией кислотности на pH-метре 340 после стерилизации, за исключением высокощелочных значений pH, которые получали введением в среду соответствующего количества раствора NaOH после стерилизации, поскольку при автоклавировании происходит резкое подкисление щелочных растворов углекислотой воздуха. На 15-е сутки роста гриба мицелиальную массу извлекали из колб, промывали и взвешивали в тарированных бюксах. Для определения способности грибом регулировать кислотность экспериментальных сред измеряли pH культуральных жидкостей и исходных сред, не подвергшихся инокуляции. Математическую обработку экспериментальных данных проводили по методам однофакторного дисперсионного анализа и множественного сравнения средних по критерию Дункана<sup>iv</sup>.

Результаты исследований влияния pH различных сред на рост мицелия *P. gigantea* представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Влияние кислотности среды на накопление биомассы мицелия штамма *P. gigantea* P-1-95

Среда Чапека-Докса		Глюкозо-пептонная		25%-ное пивное сусло		Глюкозо-картофельная	
pH	масса мицелия, мг	pH	масса мицелия, мг	pH	масса мицелия, мг	pH	масса мицелия, мг
2.5	—	2.7	30.0 ± 2.1	2.5	237 ± 1.9	2.5	123 ± 1.8
3.8	105.5 ± 1.8	3.7	76.3 ± 1.6	3.6	289 ± 1.5	3.7	242 ± 1.7
4.6	61.7 ± 1.8	4.5	61.5 ± 1.5	4.5	222 ± 1.4	4.6	155 ± 1.8
5.5	50.3 ± 1.4	5.6	52.0 ± 1.6	5.7	194 ± 1.5	5.9	163 ± 0.7
6.8	50.5 ± 1.9	6.5	51.7 ± 1.1	6.4	244 ± 1.6	6.4	184 ± 1.7
7.5	56.0 ± 1.7	7.5	—	7.5	252 ± 1.8	7.5	200 ± 1.4
8.5	—	8.5	—	8.2	244 ± 1.9	8.6	117 ± 1.5
9.5	—	9.5	—	9.6	205 ± 1.7	9.5	—
10.5	—	10.5	—	10.5	—	10.5	—
11.5	—	11.5	—	11.5	—	11.5	—
12.5	—	12.5	—	12.5	—	12.5	—

Анализ таблицы 1 свидетельствует, что рост гриба на среде Чапека-Докса возможен в диапазоне pH от 3.8 до 7.5, на глюкозо-пептонной – от 2.7 до 6.5, на 25%-ном пивном сусле – от 2.5 до 9.6, на глюкозо-картофельной – от 2.5 до 8.6. Сужение диапазона кислотности для роста *P. gigantea* на первых двух средах по сравнению с последними объясняется, вероятно, тем, что среды Чапека-Докса и глюкозо-пептонная имеют более бедный состав питательных компонентов, что существенно снижает возможность гриба переносить сильнокислые и высокощелочные значения pH. Рост гриба-антагониста на глюкозо-картофельной среде и 25%-ном пивном сусле значительно выше, чем на средах Чапека-Докса и глюкозо-пептонной. Наибольшее накопление биомассы мицелия на среде Чапека-Докса имело место в варианте с pH 3.8, на глюкозо-пептонной с pH 3.7, на 25%-ном пивном сусле – с pH 3.6, на глюкозо-картофельной – с pH 3.7. Следовательно, оптимальной кислотностью для ростовых процессов штамма *P. gigantea* P-1-95 является pH 3.6-3.8. На богатых питательных средах (25%-е пивное сусло и глюкозо-картофельная) к оптимуму приближается pH 7.5, при котором накопление биомассы мицелия незначительно отличается от роста гриба при оптимальной кислотности. Биомасса исследуемого штамма гриба-антагониста заметно снижается в сильнокислых (pH 2.5) и щелочных (pH 8.5-9.6) средах.

Таблица 2

### Изменение pH среды под влиянием *P.gigantea*

Среда Чапека-Докса			Глюкозо-пептонная			25%-ное пивное сусло			Глюкозо-картофельная		
нач. pH	кон. pH	pH КЖ	нач. pH	кон. pH	pH КЖ	нач. pH	кон. pH	pH КЖ	нач. pH	кон. pH	pH КЖ
2.5	2.5	2.2	2.7	2.7	2.7	2.5	2.4	2.2	2.5	2.5	2.3
3.8	3.6	3.8	3.7	3.7	3.7	3.6	3.5	3.6	3.7	3.7	3.7
4.6	4.2	3.8	4.5	4.3	3.8	4.5	4.6	3.8	4.6	4.5	3.7
5.5	5.4	3.9	5.6	5.3	4.0	5.7	5.4	3.8	5.9	5.7	3.8
6.8	5.7	4.3	6.5	5.4	4.2	6.4	5.7	3.9	6.4	5.6	3.9
7.5	6.0	5.2	7.5	6.7	6.8	7.5	6.2	3.9	7.5	6.6	4.1
8.6	7.3	7.2	8.6	7.0	7.0	8.2	6.9	4.0	8.6	7.2	4.9
9.5	7.8	7.3	9.5	7.7	7.6	9.6	7.6	5.0	9.5	7.7	7.8
10.5	8.9	8.7	10.6	8.7	8.5	10.5	8.2	8.1	10.5	8.8	8.6
11.3	9.3	9.2	11.2	9.0	8.9	11.4	9.2	9.1	11.8	9.0	9.2
12.2	9.6	9.7	12.1	9.1	9.0	12.1	9.5	9.5	12.2	9.1	9.1

Из таблицы 2 видно, что в неинкубированных колбах кислотность сред изменяется в конце опыта в сторону более кислой реакции, причем это изменение тем сильнее, чем выше первоначальное значение pH. Этот факт объясняется поглощением средами углекислоты воздуха, происходящим более интенсивно в щелочных растворах. В отличие от указанного процесса кислотность культуральной жидкости активно регулируется грибом. В процессе жизнедеятельности *P. gigantea* способен изменять реакцию среды на различное число единиц pH (на 0,2-4,6 единицы pH от исходной величины), приближая ее к оптимальной для своего развития. Данное свойство необходимо для более эффективного использования питательной среды грибом и, вероятно, выработалось в процессе приспособления организма к неблагоприятным условиям.

Наблюдения за характером роста *P. gigantea* показали, что кислотность среды влияет на морфологию колонии гриба. На средах с pH 3,5-7,5 гриб развивает типичную для него мицелиальную пленку белого цвета. На кислых средах (pH 2,5) колонии гриба располагаются в виде отдельных пушистых островков по всей поверхности культуральной жидкости. На щелочных средах (pH 8,5-9,6) колония представляет собой плотную мицелиальную массу, расположенную в виде тяжа вдоль стенок колбы.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Рост *P. gigantea* может осуществляться в широком диапазоне pH – от 2,5 до 9,6.
2. Оптимальной кислотностью для роста штамма *P. gigantea* P-1-95 является pH 3,6-3,8.
3. В процессе жизнедеятельности гриба изменяется реакция среды на различное число единиц pH, приближаясь к оптимальной для его развития.
4. Кислотность среды влияет на морфологию колонии *P. gigantea*.

<sup>i</sup> Негруцкий С. Ф. Корневая губка. – 2-е изд., перераб. и доп. -М.: Агропромиздат, 1986.; Рипачек В.Л. Биология дереворазрушающих грибов. – М.; Лесн. пром-сть, 1967.

<sup>ii</sup> Фильчаков Л.П., Негруцкий С.Ф. Биологическая защита хвойных насаждений от поражения корневой губкой (*Heterobasidion annosum*) // Третья Всесоюзная конференция по биоповреждениям: Тез. докл. – Москва, 1987. – Ч. 1.– С.41.

<sup>iii</sup> Негруцкий С. Ф. Корневая губка. – 2-е изд., перераб. и доп. -М.: Агропромиздат, 1986.; Рипачек В.Л. Биология дереворазрушающих грибов. – М.; Лесн. пром-сть, 1967.

<sup>iv</sup> Лакин Г.Ф. Биометрия. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1980.