

ЗАСТОСУВАННЯ ЕКОЛОГІЧНО ЧИСТИХ РІСТРЕГУЛЮЮЧИХ РЕЧОВИН

Представники класу Basidiomycetes цікавлять дослідників не тільки з позицій промислового грибництва, але й як активні продуценти цінних біологічно активних речовин, таких як антибіотики, ферменти, ліпіди, вітаміни, токсини, фітогормони та інші. Це безперечно має важливе теоретичне і практичне значення у зв'язку з можливістю їх використання як екологічно чистих регуляторів росту.

Одним з актуальних завдань сучасної біотехнології є виявлення нових об'єктів, в тому числі мікологічних, для отримання фізіологічно активних речовин. Активними продуцентами є

представники класів *Zygomycetes*, *Ascomycetes* та *Basidiomycetes* [9], які синтезують ряд речовин з фізіологічною активністю, в тому числі ліпіди, полісахариди, амінокислоти, аміни, феноли,

вуглеводи, вітаміни, токсини та фітогормони [2]. Фізіологічно активні речовини, екстраговані з плодових тіл, міцеліальної біомаси, культуральної рідини можуть проявляти стимулюючу та інгібуючу активність широкого спектру дії [6].

Не зупиняючись на нетрадиційному практичному використанні базидіальних грибів як продуцентів цінних біологічно активних речовин, що використовуються у медицині, таких як антибіотики, ферменти, ліпіди, токсигенні, психогенні, ароматичні речовини, що розглянуті в недавньому огляді [9], ми зупиняємо свою увагу на регуляторах росту рослин - фітогормонах, які не представлені у згаданому огляді. На сьогодні відомо близько 50-ти видів представників класу *Basidiomycetes*, здатних продукувати фітогормони [1]. Крім того, слід зауважити, що гриби не лише здатні синтезувати значні кількості фітогормонів, які в 100-1000 разів перевищують їх вміст у вищих рослинах, але і виділяти їх у середовище.

Фітогормони базидіальних грибів майже не досліджені, а наявних даних недостатньо для характеристики гормонального комплексу, взаємодії його складових та перетворень вільних і зв'язаних форм, їх метаболізму та ролі на різних етапах росту і розвитку представників цього класу грибів.

Найбільше регуляторів росту рослин синтезується різноманітними класами організмів, такими, як бактерії, гриби, водорості. Гриби

можуть продукувати гібереліни [ГБ], ауксини [ІОК], цитокініни [ЦТК], абсцизову кислоту [АБК] і етилен, а також нещодавно відкриті речовини з гормональними властивостями - брасиностероїди, олігосахарини та фузикокоцин [5].

Біологічно активні сполуки гормональної дії є могутніми факторами, з допомогою яких можна активно включатися в регуляторні механізми клітини, керувати ними, переключаючи метаболізм на принципово новий напрямок, піднімаючи в цілому рівень життєдіяльності організму.

Гібереліни були відкриті у 1926 році японським вченим Куросава у виділеннях гриба *Gibberella fujikuroi* (конідіальна стадія *Fusarium moniliforme*), який пошкоджує рисові плантації. У даний час виділено більше 120 різних гіберелінів, які відрізняються головним чином за кількістю і розташуванням додаткових груп (наприклад, -ОН).

Близько 40 видів грибів можуть продукувати ГК₃ та інші гібереліни. Їх утворюють деякі види дріжджів із роду *Torula* і *Mucotorula*, із гіфоміцетів - *Actinomucor rimbosus*, *Fusidium viride*, *F. bulbigenum*, *Spicaria violacea* та інші [14]. Одні види грибів (*Gibberella fujikuroi*, *Torula pulcherrima*, *Sphaceloma manihoticola*) надзвичайно багаті гіберелінами, особливо *Fusarium moniliforme*, який синтезує ГК₁, ГК₃, ГК₄, ГК₇, ГК₉, ГК₁₃, ГК₁₄, ГК₂₄, ГК₃₆, ГК₃₇, ГК₄₀₋₄₂, ГК₄₇, ГК₅₄₋₅₇. Завдяки такій різноманітності й активному синтезу цей грибок використовується у промислових масштабах. ГК₇ - це єдиний із відомих гіберелінів, який

перевищує за активністю загальноприйнятий GK_3 (в деяких випадках у сотні раз) [6]. ГПР грибів класу *Basidiomycetes* найкраще вивчені для порядку *Agaricales*. Так речовини гіберелінового типу визначено у міцелії *Cliptopilus pinsitus* Fr. і культуральних фільтратах *Collybia conigena* Fr., *Huipholoma fasciculare* (Fr.) Kum та *Clitocybe dicolor* (Pers.) Lange.

У культурі гриба *Phaeoaphaeria* sp. виявлено GK_1 , вміст якої в культуральному фільтраті складав 50 $\mu\text{g/l}$ після трьох тижнів культивування. Установлено, що фітогормони накопичуються в культуральному середовищі у фазі лінійного росту, коли проходить основний синтез гіберелінів [1]. Доведено стимулюючий вплив світла на рівень окислення кауренової кислоти, а також віку культур гриба *G. fujikuroi*. Якщо використовувалися 6-денні культури *G. fujikuroi*, то світло на синтез GK_3 не впливало, коли ж як інокулянт використовували 2-денні культури, то вміст GK_3 збільшувався на 35% [1].

Проведені нами дослідження ГПР у печериці та гливи дозволили виявити незначну їх активність, що відповідає 10^{-7} - 10^{-10} М по GK_3 . Плодові тіла печериці характеризуються більшою активністю ГПР, особливо фракції з більш високим Rf, порівняно з гливою. Слід відмітити, що базидії гливи мають більш широкий спектр та кількісний вміст зв'язаних ГПР.

Ауксини. Зараз відомо близько 90 ауксинів, які продукуються бактеріями, грибами, вищими рослинами. 343 види із 115 родів

здатні синтезувати ауксини, зокрема, *Aspergillus* (22 види), *Fusarium* (27), *Helminthosporium* (10), *Penicillium* (15), *Ustilago* (13), *Taphrina* (15), *Exobasidium* (13), *Alternaria* (8), *Boletus* (8), *Phytophthora* (8), *Rhizopus* (8), *Gloesporium* (7), *Gibberella* (3), *Cunninghamella* (15) [14]. Досліджуючи вміст ауксинів у 20 видах грибів, Торев показав його наявність у *Boletus satanas* Lenz, *Russula nigricans* (Merat) Fr., *Agaricus campestris* Fr., *Lentinus cochleatus* Pers. Гриби *Aspergillus niger* і *Phizopus suinus* є активними продуцентами ауксинів. Гриб *Taphrina deformans* продукує одночасно ІОК і ЦТК. У плодовому тілі *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. виявлено кислі ауксини у вільній та зв'язаній формах [3]. Розвиток галів при пузирчастій сажці кукурудзи є одним із прикладів посиленого синтезу ауксинів фітопатогенних грибів *Ustilago maydis* (DC.) Cda, які викликають порушення в ауксиновому обміні рослин.

Дослідження ауксинів у плодових тілах *Agaricus bisporus* свідчать про вдвічі вищий рівень вільних форм ІОК порівняно з кон'югованими. У гливи, навпаки, переважала зв'язана форма: 403 $\mu\text{g/l}$ сирої речовини проти 217 $\mu\text{g/l}$ вільної ІОК. Що може бути пов'язано з різною швидкістю їх росту. В цілому печериця містить менше як вільної, так і зв'язаної форм ауксинів, ніж глива, що узгоджується з даними Кагіної.

Властивість утворювати індольні сполуки частіше зустрічаються у мікоризних грибів,

ніж у представників інших груп вищих базидіальних грибів. Мікоризні види майже завжди утворюють індолні речовини, в той же час як підстилкові тільки в 25-35 випадках зі 100. При цьому мікоризні гриби стимулюють ріст коренів у всіх випадках, а немікоризні - тільки в 75% [15].

Відомо декілька шляхів утворення ауксинів у грибів. Основний шлях синтезу ІОК, як і у вищих рослин, іде через утворення триптофану. Деякі види грибів продукують ІОК без синтезу триптофана, шляхом утворення її з індоліл - 3-етанолу. Вивчення впливу рН середовища на біосинтез ауксинів різними видами грибів показало, що існують дві межі рН середовища для оптимального росту культури і максимальної продукції ауксинів - 4,5 - 7,0, що важливо на стадії перетворення ацетальдегіду до ІОК [14]. При дослідженні біосинтезу ІОК у *Colletotrichum gloeosporioides f. sp.* доведено його триптофан-залежність. У культуральних фільтратах виявлені сполуки індоліл - 3-піруватного та індоліл - 3-ацетатного шляхів утворення ІОК. Останній використовується цими грибами переважно для синтезу ІОК у культурі [17].

Цитокініни. На даний час хімічно ідентифіковані 27 різних ЦТК. Речовини з цитокініновою активністю були виявлені у 35 видів мікоризних та фітопатогенних грибів або продуктах їх життєдіяльності (культуральній рідині) [7]. Найчастіше із цитокінінів у грибів зустрічається цис-, транс-ізомери зеатину та рибозидзеатину,

диксаденін та дигідрозеатин.

Визначено, що представники родів базидіоміцетів *Puccinia*, *Uromyces*, *Ustilago* (13 видів), *Amanita*, *Boletus*, *Rhizopogon*, *Suillus*, синтезують цитокініни [1]. Вивчалася роль ЦТК у патогенезі сажкових та іржавчних грибів. У уредоспорах *Puccinia graminis f. sp. i P. recondita*, вміст ЦТК (1410нг зеатин -еквівалента та 527нг відповідно). Ряд патогенів можуть одночасно синтезувати декілька класів фітогормонів, наприклад, *Ustilago mydis (DC.) Cda* - ГПР та ЦТК, *Puccinia graminis Pers* - ЦТК, ІОК. Вивчення динаміки накопичення цих фітогормонів показало, що у *Ustilago maydis* максимальне накопичення ЦТК відмічено на 3 тижні, і потім їх кількість зменшується протягом 6 тижнів [4]. Особливості синтезу ЦТК у період прискореного вегетативного росту зв'язані, ймовірно, з певною роллю цих фітогормонів у патогенезі. Гриби *P. graminis* синтезують ЦТК, збагачують ними заражені клітини рослин, тим самим забезпечують приток до місця свого розвитку поживних речовин. Збудник бурої іржі *Puccinia recondita f. sp* виділяє із уредоспор у інфекційну краплю більше 500нг ЦТК на 1г спор [4], однак не може виділяти в інфекційну краплю ІОК. Всі три основних типи ЦТК (зеатин, ЗР, 6-БАП) є продуктами метаболізму ектомікоризних грибів *Amanita rubescens*, *Boletus edulis*, *Suillus grevillei*, *S. luteus*, *Rhizopogon luteolus*, *R. rozeolus*. Причому зеатин у *B. griseus* виділявся у середовище, а у *S.*

grivillei містився тільки у міцелії [12].

Рівень ЦТК у базидіомах *Agaricus bisporus*, за нашими даними, в десятки разів перевищує їх вміст у плодових тілах гливи. Обидва види цих базидіальних грибів характеризуються достатньо високим рівнем ЦТК (до $6 \cdot 10^3$ сирі речовини).

АБК - інгібітор росту рослин - спочатку була знайдена лише у фітопатогенних грибах, передбачалась її участь у патогенезі.

Зараз вона зафіксована у 20 видів грибів різних класів, включаючи більше 10 видів базидіальних грибів [1]. Чисті культури фітопатогенних грибів *Rhizoctonia solani*, *Ceratocystis coeruleum*, *Fusarium oxysporum* містять АБК від 15,9 до 31,9 $\mu\text{g/g}$ маси сухої речовини, причому знаходиться вона і в культуральних фільтратах (1,3 - 4,6 $\mu\text{g/ml}$). Гриб *Botrytis cinerea* при культивуванні в стаціонарних умовах до 8 тижнів синтезує до 0,6 $\mu\text{g/g}$ АБК. Наявність АБК було підтверджено у культуральних фільтратах *Coprinus domesticus*, *Agrocybe praecox*, *Polyporus brumalis*, *Trametes versicolor*, найбільша кількість АБК відмічена у *Agrocybe praecox* (2074 $\mu\text{g/g}$ сухого міцелію).

Отримані нами дані, що стосуються дослідження АБК, як у міцелії, так і в плодових тілах грибів *Pleurotus ostreatus* та *Agaricus bisporus*, показали, що плодове тіла печериці та гливи характеризуються наявністю мобільних та іммобільних форм абсцизової кислоти. Базидіоми *A. bisporus*, порівнюючи з *P. ostreatus*

містять значно більшу її кількість, причому переважає вільна форма АБК.

Вивчення біосинтезу АБК показало, що безпосереднім попередником АБК у грибів можуть бути 1', 4' - транс-діол-АБК і 1'-дезоксид-АБК [16].

Слід відмітити, що більшість грибів (близько 60 видів), продуцентів етилену, відносяться до фітопатогенних класів *Hyphomycetes*, *Coelomycetes*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*), а також базидіальні гриби - *Shizophyllum*, *Boletus*, *Suillus*, *Puccinia*, *Uromyces* здатні до синтезу природного регулятора росту рослин - етилену [11].

Гриби *Laccaria bicolor* та *L. laccata* продукують етилен, використовуючи для цього метіонін, але для максимального синтезу етилену необхідна також глюкоза. *Ceratocystis fimbriata* продукує етилен у присутності в середовищі метіоніну і без нього. Молодий (неспорулюючий) міцелій синтезує більше етилену, ніж спорулюючий [13].

Таким чином, проведені дослідження та наявні літературні дані дозволяють зробити висновок про наявність значних кількостей широкого якісного складу всіх відомих класів фітогормонів, особливо стимулюючої дії, що дає можливість практичного використання фізіологічно активних речовин фітогормональної природи як екологічно чистих регуляторів росту і розвитку вищих рослин.

Література

1. Андрианова Т.В., Васюк В.А., Мусатенко Л.И. Состояние и перспективы исследований фитогормонов грибов / АН УССР. Инс-т ботаники. - Препр. - К., 1993. - 50с.
2. Билай В.И. Основы общей микологии. - К.: Вища школа, 1989. - 392с.
3. Кефели В.И. Природные ингибиторы и фитогормоны. - М.: Наука, 1974. - 253с.
4. Музыкантов В.П., Ларина С.Ю., Гусева Н.Н. Цитокинины в патогенезе стеблевой и бурой ржавчины пшеницы // Облигатный паразитизм: Сб. науч. стат. АН СССР. Гл. бот. сад. - М.: Наука, 1991. - С.41-47.
5. Муромцев Г.С. Практическая реализация задач аграрной биотехнологии // Вестн. с-х. науки. - 1987. - №1. - С.70-76.
6. Муромцев Г.С. Физиологическая активность гисббереллина А₁ // II-я конф. Регуляторы роста и развития растений. (Минск, сент., 1990): Тез. докл. - М., 1992. - Ч.2. - С.144.
7. Мурыгина В.П., Аринбасаров М.У., Козловский А.Г. Образование рострегулирующих веществ фитопатогенным грибом *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. // Микология и фитопатология. - 1988. - 22, №2. - С.168-175.
8. Негруцкий С.Ф. Физиология и биохимия низших растений. - К.: Вища школа, 1990. - 191с.
9. Феофилова Е.П. Современные направления в изучении биологически активных веществ базидиальных грибов // Прикл. биохим. и микробиол. - 1998. - 34, №6. - С.597-608.
10. Шиврина А.Н., Низковская О.П., Фалина Н.Н. Биосинтетическая деятельность высших грибов. - Л.: Наука, 1969. - 200с.
11. Daly J., Seevers P.M., Ludden P. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr 6 locus. III. Ethylene and disease reaction // Phytopathol. - 1970. - 60, N11. - P. 1648-1653.
12. Greene E.M. Cytokinin production by microorganisms // Bot. Rew. - 1980. - 46. - P.25-74.
13. Kepczynska E. The effects of spermidine biosynthetic inhibitor mrrhyl bis- on spore germination, growth and ethylene production in fungus // Plant Grow. Regul. - 1995. - 16, N3. - P.263-266.
14. Kumar P.K.R., Lonsane B.K. Microbial production of gibberellic acid // Microbiology. - 1989. - 34. - P.129-139.
15. Moser M. Beitrage zur Kenntnis der Wuchsstoffbeziehung im Bereich ectotropher Mykorrhizen // Arch. Mikrobiol. - 1989. - 34. - P.251-269.
16. Okamoto M., Nirai N., Koshimizu K. Biosynthesis of abscisic acid from L-ionylideneethanol in *Cercopora pini-densi* - florum // Phytochem. - 1988. - 27. - P.3465-3471.
17. Robinson M., Rior J. Indole-3-acetic acid biosynthesis in *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. // Appl. and Environ Microbiol. - 1998. - 64, N12. - P.5030-5032.