

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА ГРИБА *PHLEBIOPSIS GIGANTEA* НА ОТХОДАХ ПРОИЗВОДСТВА ЭТАНОЛА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЛЕСА

Кузнецов И. Н., Ручай Н. С.

УО «Белорусский государственный технологический университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В мире остро стоит вопрос болезней леса. Наибольшую опасность представляют корневые гнили. Одним из методов борьбы является биологический способ, основанный на использовании явления антагонизма среди сапротрофных дереворазрушающих грибов *Phlebiopsis gigantea* и возбудителя болезни. В данной работе исследован рост гриба *P. gigantea* на жидких отходах производства этанола (послестирвовая барда, твердая часть барды, фугат барды). Показано, что послестирвовая барда и ее компоненты является благоприятной питательной средой для роста гриба. При этом глубинное культивирование с добавлением различных индукторов образования оидий — активных форм биопрепаратов, показало целесообразность использования фугата барды с добавлением 0,5% кормовых дрожжей в качестве питательной среды с получением высокого титра ($0,5 \text{ млн/см}^3$) в культуральной жидкости. Это свидетельствует перспективах производства высокоактивного биопрепарата с использованием отхода производства.

Summary. Forest diseases is an important problem in a world. The greatest danger is root rot. One of the methods of struggle is the biological method based on the antagonism among saprotrophic *Phlebiopsis gigantea* wood-destroying fungi and diseases. In this research work were investigated the growth of the fungus *P. gigantea* on liquid waste ethanol production (alcohol stillage, its solid part and fugate). It is shown that stillage and its components is a favorable medium for the fungus. In this case deep cultivation with addition of various inducers formation oidy - biologics active forms showed the usefulness of fugate with 0.5% fodder yeast as a medium to obtain high titer (0.5 million/cm^3) in the medium. This indicates that using waste is potential for production of highly active biological product.

Введение. Большой вред лесам наносят болезни и вредители. Массовые вспышки численности вредителей часто охватывают обширные территории. Болезни леса, вызванные паразитическими грибами, ржавчиной, вирусами и паразитическими червями служат причиной порчи 45% заготовленной древесины.

Корневые гнили древесных пород принадлежат к числу наиболее распространенных и вредоносных болезней леса. Микроскопические грибы — возбудители корневых гнилей заражают деревья спорами (главным образом через поврежденные или отмершие корни) и мицелием — при соприкосновении или срастании здоровых и пораженных корней. Среди болезней этой группы наиболее опасностью представляют гнили, вызываемые корневой губкой.

Ущерб, наносимый лесному хозяйству всего мира корневыми гнилями огромен. Наибольшую вредоносность и глобальную распространенность имеют грибные патогены корней древесных пород из родов *Heterobasidion* и *Armillaria*. Проблеме корневых гнилей посвящено значительное количество научно-исследовательских работ, позволивших получить подробные сведения о биологии, распространяемости и вредоносности возбудителей.

Существуют химические, физические (локальная вырубка леса) и биологические способы борьбы

Биологические методы защиты лесных насаждений основываются на использовании явления антагонизма и конкуренции среди сапротрофных разрушающих грибов и возбудителя болезни [2, 3].

Первые исследования по возможности использования биометода в лесном хозяйстве провел английский ученый Джон Ришбет в 1951 г., предложив использовать сапротрофный гриб *Phlebiopsis gigantea* (Пениофора гигантская) для ограничения распространения инфекции корневой губки и, как следствие, уменьшения патологического отпада в насаждениях.

Многочисленные исследования по изучению биозкологических особенностей *P. gigantea*, подбору перспективных штаммов и сред для их выращивания, выполнены сотрудниками кафедры защиты леса Белорусского государственного технологического университета (БГТУ) [4].

В мировой практике для культивирования штаммов с получением биопрепаратов преимущественно используется поверхностный способ, которые обеспечивают образование в поверхностном слое мицелия большого количества жизнеспособных спор – оидий, обладающих наибольшей биологической активностью и сохраняющих свою активность при оптимальных условиях хранения в течение 5-6 месяцев.

Производство таких препаратов затруднено сложным составом питательных сред, содержащих древесные опилки, картофельную муку, пептон, мелассу и другие компоненты, а также трудоемкостью производства и низкой производительностью растительных установок. Более производительным и гораздо менее трудоемким является глубинный метод культивирования грибов. Однако в этом случае необходим подбор состава питательной среды, обеспечивающей достаточно высокий уровень образования оидий.

Цель работы: исследование роста гриба *P. gigantea* на жидких отходах производства этанола (послеспиртовая барда, твердая часть барды, фугат барды) с оценкой потенциальной возможности производства высокоактивного биопрепарата с использованием крупногоннажного отхода производства.

Материал и методика исследований. Объектом исследования являлся штамм *Phlebiopsis gigantea* из коллекции кафедры защиты леса БГТУ. Послеспиртовая зерновая барда (барда) была получена на ОСП ПЦ «Березинский спиртзавод» ОАО «Минск Кристалл» – управляющая компания холдинга «Кристалл групп». Барда и ее компоненты (фугат, кек) являются полноценной питательной средой. В данном субстрате содержится все необходимые для роста *P. gigantea* вещества, которые не только положительно влияют на рост гриба, но и стимулируют образование большого количества оидий, что является важным для получения высокоактивного биопрепарата.

На первом этапе был исследован рост гриба на твердом остатке барды (рис. 1). Результаты проведены в таблице 1. Эксперименты показали, что гриб растет на твердом остатке барды с высокой линейной скоростью (табл. 1) и покрывает поверхность среды в чашке Петри за 12 сут. (для сравнения поверхность агаризованного пивного сусли в чашке Петри покрывается мицелием за

10 сут.). Из полученных результатов следует, что оптимальная влажность среды составляет 80%.

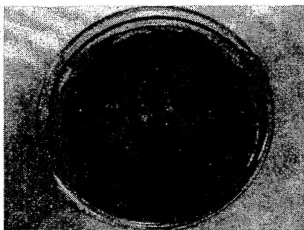


Рисунок 1 – Гриб *Phlebiopsis gigantea* на твердом остатке барды

Таблица 1 – Линейный рост гриба *Phlebiopsis gigantea* на твердом остатке (кеке) ржаной послеспиртовой барды

№ чашки Петри	Влажность сыпучей среды, %	Диаметр колонии гриба, мм	Средний диаметр колонии гриба, мм
Продолжительность инкубирования 5 сут.			
№1	80	21	21
№2		22	
№3		21	
№4	85	21	20
№5		20	
№6		20	
№1	80	40	41
№2	85	45	36
№3		37	
№4		34	
№5		40	
№6		34	
Продолжительность инкубирования 10 сут.			
№1	80	75	78
№2		80	
№3		78	
№4	85	68	68
№5		70	
№6		65	
Продолжительность инкубирования 12 сут.			
№1	80	90	90
№2		89	
№3		90	
№4	85	85	87
№5		90	
№6		85	

Эксперименты по глубинному культивированию гриба *P. gigantea* (табл. 2) в качалочных колбах с жидкой средой на основе послеспиртовой барды по-

казали, что барда является полноценной питательной средой, обеспечивающей высокий уровень накопления биомассы гриба, составляющий 6,4-9,6 г/дм³ среды при продолжительности культивирования 7 сут.

Увеличение продолжительности культивирования гриба до 12 сут приводит к частичному лизису мицелия и снижению выхода биомассы. Установлено, что обогащение барды кукурузной мукой или кукурузным экстрактом целесообразно. В процессе культивирования гриба в результате кругового перемешивания жидкой среды в качалочной колбе формируется в плотные структуры мицелия шарообразной формы диаметром 2,5-3,5 мм (рис. 2).



Рисунок 2 – Мицелий гриба *Phlebiopsis gigantea* сформированный в плотные структуры шарообразной формы

При этом титр оидий в культуральной жидкости невысокий. С целью предотвращения агрегирования мицелия применили интенсивное механическое перемешивание ферментационной среды магнитной мешалкой. Известно, что формирование оидий при глубинном культивировании можно стимулировать введением в жидкую питательную среду определенных веществ (пептона, кормовых дрожжей, древесных опилок и др.).

Таблица 2 – Глубинное культивирование гриба *Phlebiopsis gigantea* в качалочных колбах на среде с ржаной послеспиртовой бардой

Питательная среда	Концентрация биомассы гриба, г/дм ³		
	Продолжительность культивирования, сут.		
	4	7	12
Барда, разбавленная в два раза водой	9,2	9,6	4,6
Разбавленная водой барда + 2% кукурузного экстракта	6,4	6,8	6,0
Разбавленная водой барда + 5% кукурузного экстракта	8,6	8,2	4,6

Для изучения роста и определения влияния различных добавок на образование оидий провели эксперименты по культивированию гриба на жидкой части барды (фугате) в присутствии кормовых дрожжей (0,5%) при интенсивном механическом перемешивании среды. Как свидетельствуют полученные

данные (табл. 3), фугат барды в сравнении с натуральной бардой обеспечивает меньший уровень накопления биомассы гриба (5,6-7,4 г/дм³), при этом титр оидий в культуральной жидкости высокий (0,5 млн./см³).

Таблица 3 – Глубинное культивирование гриба *Phlebiopsis gigantea* в капроновых колбах с механическим перемешиванием на фугате послеспиртовой барды

Питательная среда	Количество сухой биомассы гриба, г/дм ³	Количество оидий, млн./см ³ среды
Продолжительность культивирования 7 сут.		
Фугат	4,7	0,42
Фугат барды разбавленный в два раза водой + 0,5% кормовых дрожжей	4,3	0,35
Фугат барды + 0,5% кормовых дрожжей	5,6	0,50
Фугат барды + 2% мелассы	5,5	0,49
Фугат барды + 4% мелассы	3,4	0,30



Рисунок 2 – Оидии *Phlebiopsis gigantea*

Микрофотография сформированных оидий представлена на рис. 2. Титр оидий определяли прямым подсчетом в камере Гаряева. Из экспериментальных данных (табл. 3) видно, что лучшим из исследованных стимулятором оидиеобразования являются кормовые дрожжи. Все эксперименты выполнялись со строгим соблюдением условий асептики.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что отходы производства этанола – послеспиртовая барда и ее компоненты (твердая часть и фугат) являются благоприятной и недорогой питательной средой для накопления биомассы дереворазрушающего гриба *Phlebiopsis gigantea* глубинным культивированием, что делает это сырье перспективным

для производства биопрепарата, предотвращающего распространение в лесонасаждениях корневой губки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Негруцкий, С. Ф. Корневая губка / С.Ф. Негруцкий. - М., 1986.
2. Алексеев, А. Лесохозяйственные меры борьбы с корневой губкой / А. Алексеев. - М.: Лесная промышленность, 1969. - 234 с.
3. Лесная энциклопедия: В 2-х т. / Гл. ред. Г.И.Воробьев; Ред. кол.: Н.А.Анучин, В.Г.Атрохин и др. - М.: Сов. энциклопедия, 1985. - 563 с.
4. Мальженкова, А. Антагонистические взаимоотношения между возбудителями инфекционного полегания и грибами из рода триходерма / А. Мальженкова // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. 1. Лесное хозяйство. - Минск: БГТУ, 2000. - Вып. 8. - С. 173-176.

УДК: 619:614.48(476)

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА АЭРОЗОЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Левшенко А. В., Кузнецов Н. А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

Аннотация. В статье рассмотрены основные подходы к микробиологической оценке качества аэрозольной дезинфекции в условиях Республики Беларусь. Обозначена микрофлора производственных помещений и санитарно-показательные микроорганизмы. Также показаны особенности оценки микробиологической эффективности при использовании метода седиментации.

Summary. The article describes the main approaches of the assessment of the microbiological quality of the aerosol disinfection in the Republic of Belarus. Denoted the microflora of production premises and sanitary indicative microorganisms. Also disclosed features of microbiological efficacy assessment using sedimentation method.

Введение. В настоящее время аэрозольной дезинфекции производственных помещений для содержания крупного рогатого скота, свиней и птицы уделяется большое внимание. Этот метод дезинфекции позволяет эффективно санировать воздушную среду, а также увеличивать экономический эффект санитарных мероприятий [1].

При этом аэрозольную дезинфекцию следует рассматривать в двух направлениях: как собственно дезинфекцию и санитарную обработку. Собственно аэрозольная дезинфекция предусматривает подготовительный этап, включающий освобождение помещения от животных и птицы, механическую очистку, мойку, и направлена на полное уничтожение условно-патогенной и патогенной микрофлоры.

Санитарная аэрозольная обработка производственного помещения дезинфицирующим препаратом носит профилактический характер и может осуществляться в присутствии животных и не требует подготовительного этапа, в