



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(65), 2013

ԿՈՄՊՈՍՏԻՑ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ԲԱԿՏԵՐԻՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
AGARICUS BISPORUS ԱՃԻ ՎՐԱ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԵՎ ՓՈՐՁԱՄՐՏԱԴՐԱԿԱՆ
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա.Գ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Հ.Գ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ՀՀԳԱԱ՝ Հայկենսատեխնոլոգիա՝ ԳԱԿ
hhov@sci.am

Ուսումնասիրվել է սնկի կոմպոստից անջատված և միջատասպան բակտերիաների ազդեցությունը *Agaricus bisporus*-ի աճի և որակի վրա: Ապացուցվել է, որ կոմպոստից անջատված բակտերիաների ներմուծումը ծածկող շերտ սնկերի աճի ընթացքում բերում է բերքատվության զգալի բարձրացման: Մյուս կողմից *Bacillus thuringiensis* տեսակին պատկանող միջատասպան բակտերիաների սփռումը կոմպոստի մակերեսին կտրուկ նվազեցնում է պտղամարմինների վնասվածությունը:

Agaricus bisporus – կոմպոստային միկրոօրգանիզմներ – սիներգիզմ

Изучено влияние выделенных из компоста и энтомопатогенных бактерий на рост и качество гриба *Agaricus bisporus*. Доказано, что внесение бактерий, выделенных из компоста в процессе роста грибов в покровный слой, приводит к повышению их урожайности. Но с другой стороны, опрыскивание поверхности компоста энтомопатогенными бактериями вида *Bacillus thuringiensis* резко снижает повреждаемость плодовых тел.

Agaricus bisporus – компостные микроорганизмы – синергизм

The impact on growth and quality of *Agaricus bisporus* of isolated from compost and entomopathogenic bacteria is studied. The introduction of isolated from compost bacteria into the coating cover enhances the mushroom harvest. On the other hand, entomopathogen bacteria belonging to *Bacillus thuringiensis* species spreading on compost surface decreases of damages of fruit bodies.

Agaricus bisporus – compostal microorganisms – synergism

Կոմպոստացումն ինքնաբերաբար ընթացող մանրէաբանական ֆերմենտացիայի ձև է: Միկրոօրգանիզմները (բակտերիաներ, ցածրակարգ սնկեր), որոնք մասնակցում են այդ պրոցեսին, լայնորեն տարածված են բնության մեջ, բավականին մեծ քանակությամբ պարունակվում են նաև կոմպոստի բաղադրիչներում՝ զոմաղբում և բուսական մնացորդներում: Բարենպաստ պայմաններում այդ միկրոօրգանիզմները արագորեն զարգանում են [3, 4]: Կոմպոստի միկրոօրգանիզմների ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ դրանց 87%-ը պատկանում են *Bacillus* ցեղին, ընդունակ են զարգանալ 65°C-ի պայմաններում [7]: Դրանցից առավել հաճախ հանդիպում է *B. stearotherophilus* տեսակը [12]: Կոմպոստացումը ուղղեկցվում է ջերմաստիճանի բարձրացմամբ (50-60°C), որը բերում է մեզոֆիլ օրգանիզմների քանակի կտրուկ անկման և ջերմասեր միկրոօրգանիզմների աճի խթանման:

Կոմպոստավորման վերջնական նպատակն է ստեղծել սելեկտիվ սուբստրատ, նպաստավոր սնկի միցելիումի և օգտակար միկրոօրգանիզմների զարգացման համար [4,14]: Միկրոօրգանիզմները կարևոր դեր են խաղում ինչպես կոմպոստացման գործընթացում, այնպես էլ միցելիումի կուլտիվացման և *Agaricus bisporus*-ի պտղամարմին

գոյացման ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ *A. bisporus*-ը ստերիլ պայմաններում ընդհանրապես չի պտղաբերում: Պտղամարմնի ձևավորման հարցում մեծ դեր են խաղում միկրոօրգանիզմների կողմից կատարվող պրոցեսները, որոնք ընթանում են կոմպոստը ծածկող հողային շերտում: *A. bisporus*-ի պտղաբերման պրոցեսում հողային միկրոօրգանիզմների խթանող ազդեցություններից կարելի է նշել հետևյալները՝ ա) *A. bisporus*-ի աճը ճնշվում է միկրոօրգանիզմների կողմից, որի արդյունքում ձևավորվում է պտղամարմինը [13], բ) միցելիումի աճը և պտղաբերումը խթանվում է միկրոօրգանիզմների կողմից [9], գ) միկրոօրգանիզմները առաջացնում են նյութեր, որոնք խթանում են պտղաբերումը [10], դ) միկրոօրգանիզմները կլանում են *A. bisporus*-ի կողմից անջատված ավտոինհիբիտորները [10,15], իսկ բակտերիաները այդ դեպքում նպաստում են երկաթի իոնների ազատմանը, որն անհրաժեշտ է պտղաբերման համար [11]:

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել կոմպոստի նմուշներից մեր կողմից անջատված սպորավոր բակտերիաների որոշ տեսակների ազդեցությունը *A. bisporus*-ի վրա լաբորատոր և փորձնական արտադրության պայմաններում:

Նյութ և մեթոդ: *Bacillus sphaericus* AH9, *B. sphaericus* AH11, *B. megaterium* AH102, *B. stearotheophilus* AH122 անջատվել է կոմպոստից. *B. sp.* WS1 – անջատվել է շամպինյոնի ցորենային վարակված ցանքասնկոթից: *B. thuringiensis subsp. israelensis* INMIA2477, *B. thuringiensis subsp. israelensis* INMIA1125, *B. sphaericus* IHMIA2633 և *Pseudomonas sp.* ոչ սպորավոր կուլտուրա ստացվել են ՀՀ ԳԱԱ, Հայկենսատեխնոլոգիան ԳԱԿ-ի Մանրէների ավանդադրման կենտրոնից (ՄԱԿ): Ուտելի սնկերի *A. bisporus* 20 և *A. bisporus* 3712 շտամները (և ՄԱԿ-ից): Պինդ քաղցու՝ քաղցու ածիկ (շաքարայնությունը 7%) – 1000 մկ, դիֆկո ագար – 20,0 գ, pH 6,0-6,5. Տրիպտոգ ագար Ferak Berlin.

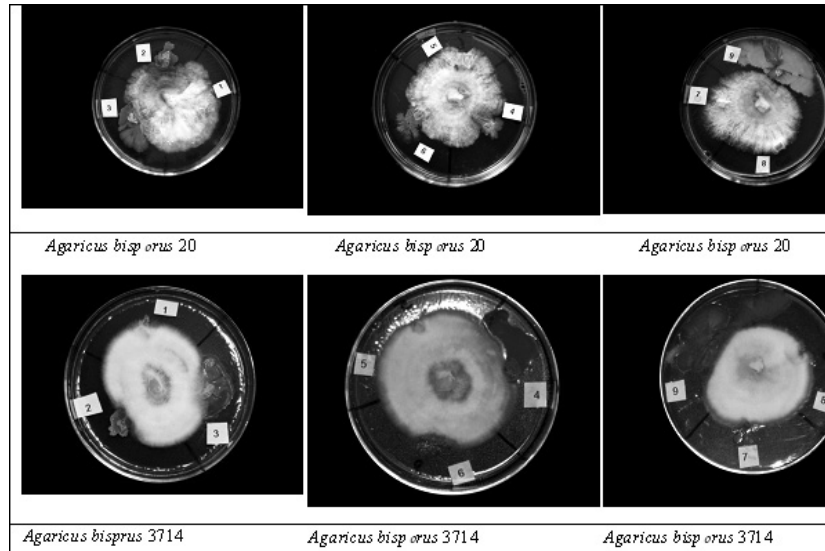
Ցանքասնկոթի պատրաստման համար ցորենի հատիկները լվացվում է հոսող ջրի տակ, 10 կգ ցորենին ավելացվում է 15 լ ջուր, եռացվում 15-20 րոպե թույլ կրակի վրա: Եփված ցորենը քամվում և մոտ 20 րոպե չորացվում է օդափոխվող սենյակում, այնուհետև pH-ի կարգավորման նպատակով ավելացվում է 120 գ կիր, 30 գ կավիճ և լավ խառնվում: Հետո ցորենը (մոտ 350-400 գ) 2/3 ծավալով լցվում է 1լ-ոց ապակյա տարաների մեջ, փակվում բամբակե խցանով և ստերիլիզացվում է ավտոկլավում 121°C տակ 1,5 ժ: Մուբստորատը ավտոկլավից հանելուց հետո սառեցվում է մինչև 24-26°C ու ինոկուլացվում սրվակում թեթ ագարի վրա աճեցված միցելիումով: Հետագա ինկուբացումը կատարվում է թերմոստատում 24-26°C-ում 3-4 շաբաթ: Ցորենի հատիկների սոսնձումը կասեցնելու և միցելիումի աճը խթանելու նպատակով տարաների պարունակությունը շաբաթը մեկ լավ խառնվում է: Աճած միցելիումը պահվում է սառնարանում 2-4°C-ում:

Բազիդիոմիցետների աճեցումը փորձաարտադրական պայմաններում տարվել է հետևյալ կերպ՝ կոմպոստի և ցորենի հատիկի վրա աճեցված բազիդիոմիցետների միցելիումի համասեռ խառնուրդը լցվել է 10 կգ պարկերի մեջ և տեղադրվել սնկանոցում 24 C-ում [2, 4]:

Կոմպոստը պատրաստվել է ցորենի ծոցից և ոչխարի գոմաղբից 1:1 հարաբերությամբ, հետևյալ հավելումներով (կգ/տ)՝ գիպս – 62, գաջ – 62, սելիտրա – 37, սուլֆերֆոսֆատ – 25, կարբամիդ – 1, մինչև 80% խոնավությամբ: Օդոտի թրջումից 5 օր անց խառնվում է գոմաղբ, հավելումները և ձևավորվում է բուրտը (1.8 մ x 1.8 մ x 1.8 մ), որը պարբերաբար խառնվում է: Մոտ մեկ ամիս հետո հասունացված կոմպոստը պաստերիզացվում է 60°C-ում 36 ժ ընթացքում, այնուհետև լցվում է պոլիէթիլենային պարկերի մեջ 30-40 սմ հաստությամբ:

Արդյունքներ և քննարկում: Ստուգվել է կոմպոստից անջատված սպորավոր բակտերիաների աճի ազդեցությունը սնկերի վրա Պետրիի թասիկներում: Ագարիզացված սննդամիջավայրի կենտրոնում տեղադրվել է սնկի միցելիումը ագարից կտրված խորանարդիկի ձևով, 7 օր աճից հետո թասիկների պարագծով հավասար հեռավորության վրա տեղադրվել են թեստ բակտերիաների ագարային զագոններից կտրված խորանարդիկները և համատեղ աճեցվել 26°C պայմաններում ևս 7 օր: Մսկերի և բակտերիաների փոխազդեցության պատկերը ներկայացված է նկ. 1-ում:

Ինչպես երևում է նկ.1-ից, կոմպոստից անջատված AH9(5), AH11(7), AH122(8) կուլտուրաները, ինչպես նաև *B.sphaericus* 2633(1), բացառությամբ AH-102(6), սնկերի հետ գտնվում են համակեցության վիճակում, չցուցաբերելով անտագոնիզմ: *B. megaterium* տեսակին պատկանող AH102 շտամը (6), *B. thuringiensis* 1125(2), *B. thuringiensis* 2477(3), և *Pseudomonas sp.* (4) շտամները ճնշում են ստուգված երկու սնկային կուլտուրաների աճը: Մսկերի հանդեպ առավել ցայտուն անտագոնիզմ է դրսևորում *Bacillus sp.* WS1(9) շտամը, որի շուրջ աճի ճնշման գոտու առկայությունը վկայում է նրա կողմից հակասնկային միացությունների ակտիվ սինթեզի մասին:



Նկ. 1. Կոմպոսից անջատված սպորավոր բակտերիաների փոխազդեցությունը

A. bisporus-ի 3714 և 20 շտամների հետ ագարային միջավայրում:

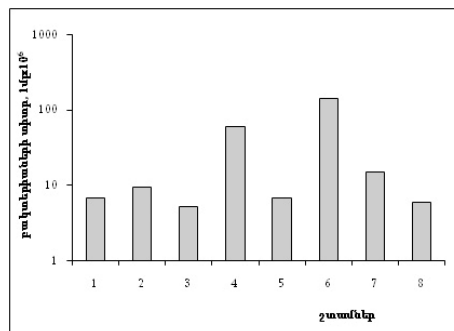
1 – *B.sphaericus* 2633, 2 – *B. thuringiensis* 1125, 3 – *B. thuringiensis* 2477,

4 – *Pseudomonas* sp., 5 *B.sphaericus* – AH9, 6 – *B.megaterium* – AH-102,

7 – *B.sphaericus* – AH11, 8 – *B. stearothermophilus* – AH122, 9 – *Bacillus* sp. WSI շտամները:

Բարձրակարգ ուտելի սնկերի կենսունակությունը մեծապես կախված է բիոտիկ գործոններից, որոնք սուբստրատում առաջանում են այնտեղ առկա միկրոօրգանիզմների կենսագործունեության արդյունքում [8]: Սնկերի աճի և որակի վրա կարող են ազդել նաև միջատները (*Sciaridae*, *Phoridae*, *Cecidomyiidae*), որոնք հանդիսանում են այնպիսի հիվանդությունների փոխադրիչներ, ինչպիսիք են չոր և թաց փտումը, սարդոստայնակերպ բորբոսը, տրիխոդերման: Դրանցից մի քանիսը, օրինակ, սցիարիդների թրթուրները, նեմատոդները, վնասելով պրիմորժիները կանխարգելում են պտղամարմինների առաջացումը [1, 5]:

Քանի որ սնկերը աճեցվում են 24-26°C-ում, նախքան բակտերիաների ազդեցության ուրոշումը նրանց աճի և պտղաբերության վրա ուսումնասիրվել է փորձարկման համար նախատեսված բակտերիաների աճի պոտենցիալը նշված ջերմաստիճանի տակ: Թեք ագարի վրա աճած կուլտուրաները լվացվել են ծորակի ստերիլ ջրով և որոշվել է նրանցում բջիջների տիտրը մանրադիտակի տակ՝ ըստ Գորյանի (նկ. 2):



Նկ. 2. Բակտերիալ բջիջների քանակը 1 մլ կախույթում 26°C-ում աճի տակ

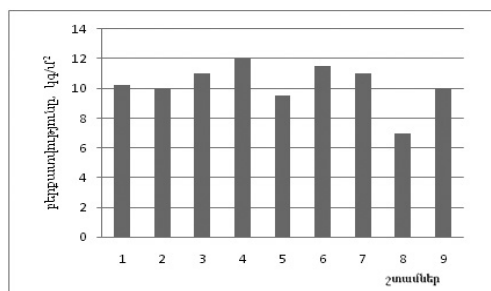
1 – *B.sphaericus* 2633, 2 – *B. thuringiensis* 1125, 3 – *B. thuringiensis* 2477,

4 – *B.sphaericus* – AH9, 5 – *B.megaterium* – AH-102, 6 – *B.sphaericus* – AH11,

7 – *B.stearothermophilus* – AH122, 8 – *Bacillus* sp. WSI

Ինչպես երևում է նկ.1-ից, կոմպոստից անջատված *B.sphaericus* AH9 և *B.sphaericus* AH11 կուլտուրաները նշված ջերմաստիճանի պայմաններում ցուցաբերում են առավել աճի ընդունակություն համեմատած մյուս կուլտուրաների:

Ուսումնասիրվել է կոմպոստից անջատված բակտերիաների ազդեցությունը սնկերի աճի վրա փորձաարտադրական պայմաններում: Որպես ստուգիչ օգտագործվել են հայտնի միջատասպան *B.sphaericus* 2633, *B.thuringiensis* 1125, *B.thuringiensis* 2477 կուլտուրաները: Բակտերիալ սուսպենզիաները 9 մլ. յուրաքանչյուրը պոլվելիզատորի միջոցով սփռվել է պարկի մակերեսին 1-ին և 14-րդ օրը 60-70 % միցելիումի աճի առկայության դեպքում, երբ միջատները գտնվում են զարգացման թրթուրային փուլում: Այնուհետև երկու օր անց պարկերը ծածկվել են հողի բարակ շերտով: Բակտերիաների երրորդ ներմուծումը կատարվել է ինկուբացիայի 21-րդ օրը, երբ սնկային միցելիումը ներաճած է լինում հողի ծածկող շերտում: Փորձնական պարկերի սնկերի բերքատվությունը համեմատվել է ստուգիչ պարկի հետ (նկ. 3):



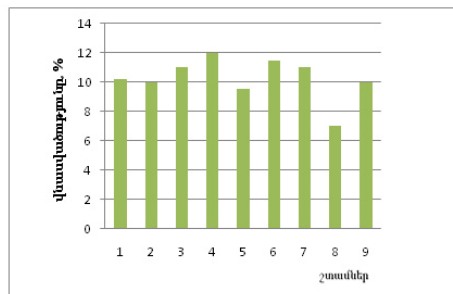
Նկ. 3. *Agaricus bisporus* 3712 և 20 շտամների միջին բերքատվությունը, կգ/մ²

1-*B.sphaericus* 2633, 2 - *B. thuringiensis* 1125, 3 - *B. thuringiensis* 2477,
4 *B.sphaericus* - AH9, 5 *B.megaterium* AH-102, 6- *B. sphaericus* -AH11,
7-*B.stearothermophilus* AH122, 8-*Bacillus* sp. WS1, 9- Ստուգիչ

Ինչպես երևում է ներկայացված հիստոգրամից, սնկերի աճի վրա դրական ազդեցություն են գործել կոմպոստից անջատված *B. sphaericus* – AH9, *B. sphaericus* – AH11 և *B. steaerothermophilus* – AH122 կուլտուրաները, բարձրացնելով բերքատվությունը 10-20 %-ով:

Մյուս կուլտուրաները, բացի *B. sp.* WS1-ից, ընդհանուր առմամբ չեն ազդել սնկային միցելիումի աճի և պտղամարմինների ձևավորման վրա: Պարկերը, որոնցում միցելիումը վարակված է *B. sp.* WS1-կուլտուրայի սուսպենզիայով, ձևավորել են մեծ քանակությամբ պրիմորժներ, որոնք հետագայում չեն հասունացել:

Ի տարբերություն բերքատվության առողջ պտղամարմինների առաջացման վրա դրական ազդեցությամբ են օժտված հայտնի միջատասպան *B. thuringiensis* կուլտուրաները, որոնք իջեցրել են վնասվածությունը 3-4 անգամ: Համաձայն մեր դիտարկումներին, պարկերը, որոնք վարակված են եղել *B. thuringiensis* – 2477, *B. thuringiensis* – 1125 և *B. sphaericus* – 2633 բակտերիաների սուսպենզիաներով, թրթուրներ և մլակներ չեն զարգացել: Այն դեպքում երբ կոմպոստից անջատված *B. sphaericus* շտամները համեմատաբար թույլ են ազդում միջատների զարգացման վրա (նկ. 4):



Նկ. 4. Պտղամարմինների վնասվածությունը, %

1-*B.sphaericus* 2633, 2-*B. thuringiensis* 1125, 3-*B. thuringiensis* 2477,
4-*B.sphaericus* AH9, 5-*B.megaterium* AH102, 6-*B. sphaericus* AH11,
7-*B.stearothermophilus* AH122, 8-*Bacillus* sp. WS1, 9-Ստուգիչ

Անհրաժեշտ է նշել, որ միջատասպան բակտերիաները հանդես չեն գալիս որպես անտագոնիստներ բարձրակարգ սնկերի նկատմամբ և չեն ազդում պտղամարմինների որակի և արտաքին տեսքի վրա: Պարզվեց, որ բակտերիաների ներմուծումը կոմպոստ չի ուղեկցվում ջերմաստիճանի բարձրացմամբ, ինչը վկայում է ցածր մետաբոլիկ ակտիվության մասին: Նկատված երևույթը կարելի է բացատրել կոմպոստացման ընթացքում բակտերիաներին հասանելի սննդանյութերի սպառմամբ: Հայտնաբերված դրական ազդեցությունը սնկերի աճի և որակի վրա հավանաբար արդյունք է երկրորդային մետաբոլիտների սինթեզի, ինչպիսիք են հակաօքսիդանտները և միջատասպան բյուրեղները:

Այսպիսով կարելի է եզրակացնել, որ բարձրակարգ սնկերի աճեցման ժամանակ նպատակահարմար է *B. thuringiensis* և մեր կողմից կոմպոստից անջատված *B. Sphaericus* բակտերիաները համատեղ օգտագործումը՝ առաջինները միջատների դեմ, իսկ վերջինները՝ որպես սնկի աճի խթանիչներ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Мокроусова Е.П., Селиванова О.К., Холодов Г.А. Фауна членистоногих на шампиньонниках Ленинградской области. Школа грибоводства. 1, 31, с.10, 2005.
2. Морозов А. И. Промышленное производство шампиньонов. М., ООО, Изд-во АСТ, Донецк, Сталкер, 173с, 2004.
3. Ранчева Ц. Производство на гъба печурки. София, Земиздат. б., 200с., 1965,
4. Ранчева Ц. Интенсивное производство шампиньонов.М.: Агропромиздат, с. 22, 23, 27-29, 107-109. 1990.
5. Сафрай А.И. Средства защиты культуры шампиньона от вредителей. Школа грибоводства. 41, с. 8, 2006.
6. Смирнов Ф.Г. Сухая гниль или вертициллез. Школа грибоводства. 1, 31, с.21, 2005.
7. Bitton, Gabriel, Wastewater Microbiology. p. 212. Wiley-Liss, Inc. 605 Third Avenue, New York, NY 10518-0012, 1994.
8. Chang Shu-Ting, Miles P.G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. CRC Pressp. 159-185, 2004.
9. Curto S., Favelli F. Stimulative effect of certain microorganisms (bacteria, yeasts, microalgae) upon fruitbody formation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. In: Mushroom Science. VIII, London, p.67-74, 1972.
10. Eger G. Experiments and comment on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. In: Mushroom Science ,VIII, London, p.719-725, 1972.
11. Hayes W.A. Nitritonal factors in relation to mushroom production. In: Mushroom Science. VIII, London, p. 663-674, 1972.
12. Heltay I. Report of the situation and problems of Hungarian mushroom-research and experimental work. Mushrom Sci.3, p.120-124 1956.
13. Peerally A. Sporophore initiation in *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitorquis* in relation to bacteria and activated charcoal. In: Mushroom Science X. Bordeaux, 1, p. 611-639, 1979.
14. Wood D.A. Fermor J.R. Nutrition of *Agaricus bisporus* in compost In: Mushroom Science XI. Sydney, 2, 63-71, 1981.
15. Wood D.A. Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing.J. Gen. Microbiol., 2, 313-323,1976.

Ստացվել է 17.12.2012