

УДК 631.4 + 579.6

ЭФФЕКТЫ АССОЦИИРОВАННЫХ С МИКСОМИЦЕТАМИ БАКТЕРИЙ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ СЪЕДОБНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА *HERICIAM ERINACEUS*

© 2022 г. А. А. Широких^{1,2,*}, Д. В. Попыванов^{1,**}, И. Г. Широких^{1,2,***}

¹Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, 607686 Киров, Россия

²Вятский государственный университет, 610000 Киров, Россия

*e-mail: aleshirokikh@yandex.ru

**e-mail: lfast@mail.ru

***e-mail: irgenal@mail.ru

Поступила в редакцию 27.02.2021 г.

После доработки 15.04.2021 г.

Принята к публикации 22.05.2021 г.

Искусственное выращивание съедобных и лекарственных грибов приобретает в современном мире все большее значение. *Hericiam erinaceus* относится к видам, технологии культивирования которых в настоящее время разработаны недостаточно. Поиск и совершенствование приемов, позволяющих увеличить сбор плодовых тел, обусловили актуальность данной работы. Бактерии, регулирующие рост грибов, могут при совместном культивировании способствовать повышению выхода биомассы плодовых тел, а также ограничивать развитие контаминантов грибной культуры. Поиск бактерий с микорегуляторными свойствами проводили среди культур, выделенных из спорокарпов грибоподобных протистов – миксомицетов. По результатам проверки фиторегуляторной активности и способности к синтезу ИУК были отобраны изоляты *Methylobacterium bullatum* (56L, 55L), *Pedobacter agri* 85Td, *Ewingella americana* 66Mt и *Arthrobacter humicola* 30Ht. В опыте *in vitro* наибольший стимулирующий эффект на рост *Hericiam erinaceus* оказала бактерия *Arthrobacter humicola* 30Ht. При твердофазном выращивании гриба эффект бактериальной инокуляции определялся возрастом и стадией морфогенеза грибной культуры. Установлено также непродолжительное стимулирующее действие на формирование плодовых тел *Hericiam erinaceus* культуральной жидкости *Arthrobacter humicola* 30Ht. На основании выявленных свойств, культуру *A. humicola* 30Ht предложено отнести к группе MGP (mushroom growth promoting) бактерий и рекомендовать к дальнейшему изучению в качестве потенциального инокулянта для повышения урожайности культивируемых съедобных грибов.

Ключевые слова: грибоводство, MGP-бактерии, миксомицеты, стимуляция плодоношения

DOI: 10.31857/S0026364822010111

ВВЕДЕНИЕ

Во многих странах мира в связи с загрязнением окружающей среды, развитием технологий рециклинга, а также трендом общественного сознания в сторону осознанного и ответственного потребления природных ресурсов промышленное грибоводство выделилось в самостоятельную высокопроизводительную отрасль. На сегодняшний день известно около 100 видов грибов, плодоносящих в искусственных условиях, около 60 из них коммерциализированы, но только более 10 видов выращиваются в промышленных масштабах во многих странах (Chang, Wasser, 2017). *Hericiam erinaceus* (Bull.) Pers. относится к видам, твердофазное культивирование которых в настоящее время только разрабатывается. Актуальность работ связана с высокой пищевой и лекарственной ценностью этого вида (Atila et al., 2018; Park et al., 2020).

Известно, что на продуктивность культивируемых грибов оказывают влияние бактерии, названные по аналогии с PGPR-бактериями растений, MGP (mushroom growth promoting) (Carrasco, Preston, 2020). Так, бактериальный компонент субстрата играет значительную роль в росте мицелия и плодоношении двух самых выращиваемых во всем мире грибов – шампиньона (*Agaricus bisporus*) (Cao et al., 2019) и вешенки (*Pleurotus ostreatus*) (Cho et al., 2003). Микробиомы, связанные с мицелием и базидиомами культивируемых базидиомицетов описаны слабо, однако по молекулярно-генетическим данным, наиболее распространены в базидиомах *Agaricus bisporus* являются представители филумов *Proteobacteria*, *Bacterioideetes*, *Actinobacteria* и *Firmicutes* (Carrasco et al., 2019), тогда как в базидиомах *Pleurotus eryngii* доминируют



Рис. 1. Спорокарпы миксомицетов: а – *Lycogala epidendrum*, б – *Trichia decipiens*, в – *Hemitrichia serpula*, г – *Metatrichia vesparium*.

вали *Actinobacteria* и *Firmicutes* (62.5%) (Lee et al., 2015).

Поиск и изоляция штаммов потенциальных MGP-бактерий, как правило, осуществляется в естественных местообитаниях грибов: в подстилке, почве, компостах, а также в эукариотных организмах, экологически связанных с грибами (Cargasco, Preston, 2020). В настоящей работе бактерии выделяли из спорокарпов грибоподобных протистов – миксомицетов, которые подобно ксилотрофным грибам, обитают в лесных биоценозах на разлагающейся древесине, реализуя при этом отличные от грибов экологические стратегии. Характерной чертой миксомицетов является сложный жизненный цикл, включающий свободноживущий многоядерный плазмодий и неподвижный спорокарп (Novozhilov, 1993). Перемещаясь по гниющей древесине или плодовым телам базидиомицетов, плазмодий захватывает различные бактерии, используя их как источник питания. Однако некоторые из бактерий сохраняются в плазмодии и попадают в спорокарпы, где их роль пока слабо изучена.

Цель исследования – поиск, выделение и изучение свойств природных изолятов бактерий, способных оказывать влияние на рост и плодоношение гриба *Hericium erinaceus* при искусственном культивировании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Из стерилизованных в течение 1 мин 75%-м этанолом спорокарпов миксомицетов *Lycogala epidendrum*, *Trichia decipiens*, *Metatrichia vesparium* и *Hemitrichia serpula* (рис. 1) на минеральном агаре с

1% метанола (Netrusov et al., 2005) изолировали 80 культур бактерий, среди которых по результатам проверки фиторегуляторной активности и способности к синтезу ИУК были отобраны 5 изолятов (Shirokikh et al., 2017). На основании анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммы были идентифицированы как *Methylobacterium bullatum* 56L и 55L, *Pedobacter agri* 85Td, *Ewingella americana* 66Mt и *Arthrobacter humicola* 30Ht. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S рРНК бактерий, ассоциированных с миксомицетами, депонированы в GenBank NCBI с присвоением культурам индивидуальных номеров доступа: MW579369, MK966935, MW579370, MK852339 и MW579368 соответственно.

Изоляция в мицелиальную культуру *Hericium erinaceus* BP16 описана ранее (Shirokikh et al., 2020). Нуклеотидная последовательность фрагмента ITS1–5.8S–ITS2 *H. erinaceus* BP16 депонирована в NCBI под номером MK809367.

Влияние бактерий на культуру гриба *in vitro* оценивали методом агаровых блоков. В центр чашки с сусло-агаром (4° по Баллингу) помещали блок с культурой гриба в возрасте 15 суток, выращенной на сусло-агаре (Netrusov et al., 2005). Вокруг него на одинаковом расстоянии раскладывали по три блока, вырезанных из агара с культурой бактерий одного из пяти разных бактериальных изолятов, выращенных на RHM (Rich High Medium) (Belimov, Dietz, 2000) в течение 2 суток. Инкубация – в течение 20 суток при 28°C в темноте, затем 5 суток – при естественном освещении и комнатной температуре (20 ± 2°C). По окончании инкубации оценивали влияние бактерий на рост

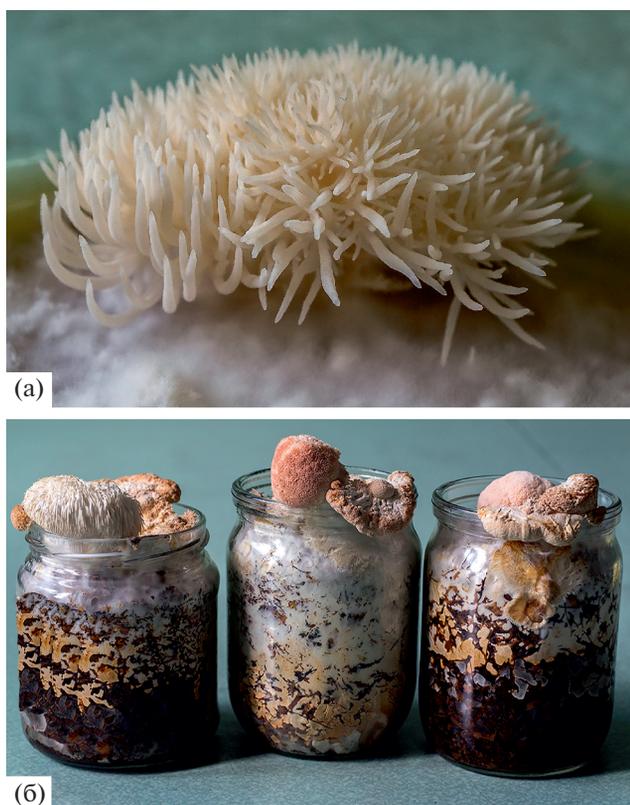


Рис. 2. Внешний вид плодовых тел при культивировании *Hericium erinaceus* ВР16 на сусло-агаре (а); на смеси дубовых опилок, зерна овса и соломы (1 : 3 : 6 об. %) (б).

мицелия гриба и формирование им зачатков плодовых тел.

Влияние бактерии и культуральной жидкости (КЖ) *Arthrobacter humicola* 30Ht на продукцию биомассы плодовых тел *Hericium erinaceus* ВР16 изучали, культивируя гриб на лигноцеллюлозном композитном субстрате. Для этого дубовые опилки, зерно овса и солому смешивали в соотношении 1 : 3 : 6 (об. %), запаривали нагретой до 90°C водой, оставляли на 12 ч, после чего воду сливали и заполняли приготовленной смесью стеклянные культивационные емкости объемом 0.5 л. Заполненные субстратом на три четверти объема емкости стерилизовали автоклавированием при 1 атм. в течение 25 мин. Посевной материал *H. erinaceus* ВР16 выращивали на сусло-агаре в чашках Петри

в течение 15 суток. Затем из грибного газона пробочным сверлом (10 мм диам.) вырезали агаровые блоки с мицелием и инокулировали ими субстрат в емкостях, внося по 2 агаровых блока в каждую емкость.

Суспензию бактерий *Arthrobacter humicola* 30Ht выращивали на капустно-глюкозном бульоне в течение 3 суток. Для получения КЖ суспензию в течение 20 мин центрифугировали при 6000 об./мин, в надсадочной жидкости определяли, используя реактив Сальковского (Pausheva, 1988), концентрацию ИУК, которая составила 18 мкг/мл. По 1 мл бактериальной суспензии (титр 10^7 КОЕ/мл) в первом эксперименте и КЖ *A. humicola* 30Ht во втором эксперименте наносили на агаровые блоки с мицелием гриба в разные сроки, в зависимости от варианта. Схема опыта: 1 – инокуляция/нанесение КЖ при закладке опыта, одновременно с внесением в субстрат грибных блоков, 2 – спустя 2 недели после закладки опыта и начала роста гриба, 3 – спустя 4 недели после закладки опыта и начала роста гриба. Контролем служили варианты без инокуляции грибных блоков бактерией или нанесения КЖ *A. humicola* 30Ht (рис. 2). В каждом варианте культуру гриба выращивали в 3 отдельных емкостях. По мере формирования грибом плодовых тел, начиная с четвертой недели культивирования, каждые 10–15 дней плодовые тела срезают, высушивают до постоянного веса при 60°C и гравиметрически определяют сухую массу.

В таблицах приведены средние значения из трех биологических повторений и их стандартные отклонения. Подсчет средних значений и стандартных отклонений выполняли в программе Microsoft Excel. Обработку результатов методами непараметрической статистики осуществляли с помощью программы Past v.4.06. Значимость различий между вариантами оценивали с помощью критерия Фридмана, а для попарного сравнения вариантов использовали Т-критерий Вилкоксона (уровень значимости $p = 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате скрининга бактерий на микорегуляторную активность выявили штамм *A. humicola* 30Ht, способный стимулировать рост мицелия и примордиев *Hericium erinaceus* ВР16:

	<i>Metilobacterium bullatum</i> 55L	<i>Metilobacterium bullatum</i> 56L	<i>Ewingella americana</i> 66Mt	<i>Pedobacter agri</i> 85Td	<i>Arthrobacter humicola</i> 30Ht
<i>Hericium erinaceus</i> ВР16	+/-	+/-	-	-	+

Примечание: +/- – отсутствие видимого влияния, – – угнетающее действие, + – стимулирующее действие

Штаммы *Methylobacterium bullatum* 56L и 55L также способствовали росту грибного мицелия,

но степень их влияния была невелика по сравнению с артробактером, примордии в течение срока

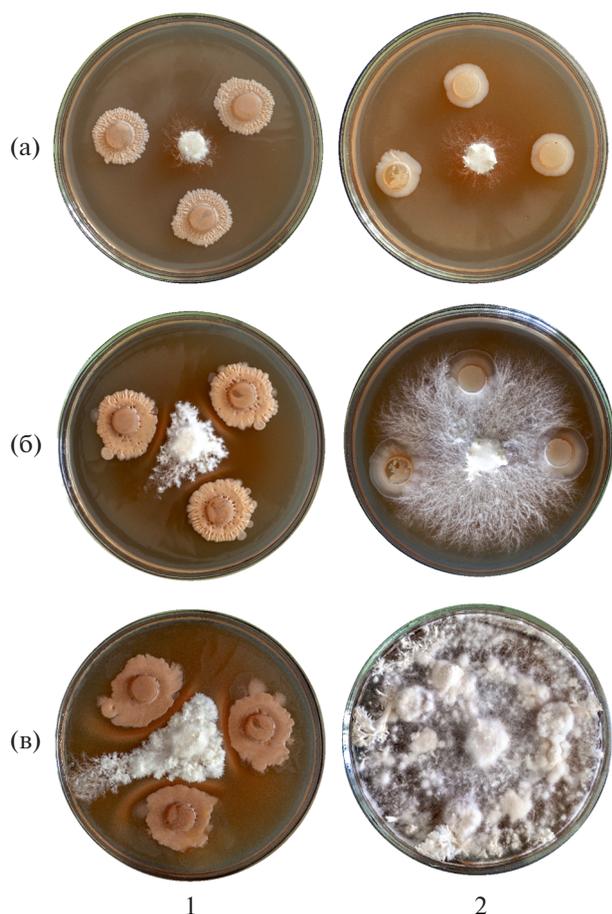


Рис. 3. Влияние выделенных из спорocarпов миксоциетов бактерий *Pedobacter agri* 85Td (1) и *Arthrobacter humicola* 30Ht (2) на рост гриба *Hericium erinaceus* BP16 in vitro: а, б и в – 7-е, 14-е и 25-е сутки роста соответственно.

наблюдений не образовывались. Культуры *Pedobacter agri* 85Td и *Ewingella americana* 66Mt, напротив, оказали на гриб угнетающее действие. Ранее сообщалось об обнаружении бактерий рода *Pedobacter* в ассоциации с *Tricholoma matsutake*, однако экологическая роль этих бактерий не совсем ясна (Li et al., 2016). По мнению некоторых исследователей, бактерии рода *Pedobacter* способны к расщеплению целлюлозы и гемицеллюлозы, что позволяет им формировать синтрофные ассоциации с некоторыми ксилотрофными грибами (López-Mondéjar et al., 2016). По-видимому, *Hericium erinaceus* к числу таких грибов не относится, т.к. вокруг агаровых блоков с бактерией *Pedobacter agri* 85Td, в отличие от блоков с бактерией *Arthrobacter humicola* 30Ht, наблюдали зоны отсутствия роста гриба, что указывает на антагонистический характер их взаимодействия (рис. 3).

Вид *Ewingella americana* известен как условный патоген человека, способный вызывать случаи с тяжелыми клиническими проявлениями у пациентов, которые страдают от тяжелых сопутствующих

заболеваний или получают иммуносупрессивную терапию (Esposito et al., 2019). Вместе с тем, *E. americana* вызывает “болезнь коричневых пятен” у шампиньонов, массовые поражения плодовых тел *Flammulina velutipes* (Madbouly et al., 2014; Liu et al., 2018). Кроме того, вид *Ewingella americana* отмечен как преобладающий (более 73% среди всех выделенных представителей семейства *Enterobacteriaceae*) в плодовых телах грибов *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* (Reyes et al., 2004). Недавние исследования показали, что бактерии родов *Ewingella* и *Pedobacter* входят в состав микробных сообществ, разрушающих мертвый мицелий базидиомицетов в лесных почвах (Brabčová et al., 2016).

Далее в инокуляционном эксперименте изучали влияние *Arthrobacter humicola* 30Ht на продукцию плодовых тел *Hericium erinaceus* BP16 в зависимости от времени нанесения бактериальной суспензии на блоки с культурой гриба, помещенные на поверхность лигноцеллюлозного композитного субстрата. Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики. Для проведения сравнительного анализа вариантов (четыре независимых групп данных) использовали число наблюдений, равное шести (шесть волн плодоношения) (табл. 1). Сравнение проводили при помощи критерия Фридмана, который базируется на ранжировании значений исследуемого параметра (биомасса плодовых тел) и позволяет установить или опровергнуть однотипность статистических данных. Разброс сумм рангов в зависимости от варианта был достаточно велик – от 11 до 22. Расчетное значение критерия ($\Phi_r = 8.2$) превысило табличное значение ($\Phi_r = 7.6$; $p = 0.043$), что позволяет считать различия между вариантами с разными сроками инокуляции статистически значимыми, с риском ошибки меньшей или равной 5%.

Для оценки направленности и выраженности выявленных в зависимости от срока инокуляции различий проводили попарное сравнение вариантов с помощью Т-критерия Вилкоксона. Выявленный эффект стимуляции плодовых тел проявился в варианте с наиболее поздним сроком нанесения бактерий *Arthrobacter humicola* 30Ht – спустя 4 недели от начала роста гриба (табл. 1). При этом суммарный сбор биомассы за шесть волн плодоношения повысился на 25% по сравнению с контролем. Для числа пар сравнений, равном 18 (6 моментов наблюдения \times 3 повторения) табличный Т-критерий при 1%-м уровне значимости составляет 32, а при 5%-м – 47. Полученное значение ($T = 43$) меньше табличного, следовательно, различия между рассматриваемыми вариантами статистически значимы при $p = 0.05$.

По литературным данным, польза для грибов от формирования мутуалистических ассоциаций с бактериями может заключаться в улучшении пи-

Таблица 1. Биомасса плодовых тел *Hericium erinaceus* ВР16 в зависимости от времени инокуляции блоков с грибным мицелием суспензией бактерий *Arthrobacter humicola* 30Нt

Дата учета плодоношения	Средняя биомасса плодовых тел (г) по вариантам			
	контроль	1	2	3
2.03.2020	2.94 ± 0.65	3.68 ± 1.84	3.63 ± 2.89	5.55 ± 0.49*
10.04.2020	5.78 ± 1.84	3.13 ± 1.05*	4.43 ± 3.12	7.63 ± 5.11
21.04.2020	7.00 ± 2.03	8.35 ± 4.76	7.54 ± 4.31	10.67 ± 4.19
12.05.2020	8.39 ± 0.54	8.13 ± 7.95	4.99 ± 3.94	8.21 ± 4.43
29.05.2020	5.73 ± 2.79	4.34 ± 2.90	4.56 ± 1.40	5.12 ± 0.44
15.06.2020	3.5 ± 2.51	1.95 ± 0.95	2.96 ± 1.21	4.66 ± 3.12
В сумме	33.34	29.58	28.11	41.84

Примечание. Контроль – без инокуляции; 1 – инокуляция при закладке опыта, одновременно с внесением в субстрат грибных блоков; 2 – спустя 2 недели после закладки опыта и начала роста гриба; 3 – спустя 4 недели после закладки опыта и начала роста гриба. *Различие с контролем достоверно при $P \geq 0.95$.

Таблица 2. Биомасса плодовых тел *Hericium erinaceus* ВР16 в зависимости от времени нанесения на блоки с грибным мицелием КЖ бактерии *Arthrobacter humicola* 30Нt

Дата учета плодоношения	Средняя биомасса плодовых тел (г) по вариантам			
	контроль	1	2	3
27.07.2020	6.06 ± 0.67	6.39 ± 3.85	10.28 ± 3.17*	9.78 ± 3.01*
10.08.2020	3.24 ± 0.89	4.58 ± 2.81	2.37 ± 1.38	4.10 ± 2.14
24.08.2020	5.04 ± 1.01	4.00 ± 2.42	5.69 ± 0.59	5.03 ± 1.32
7.09.2020	5.48 ± 1.89	4.97 ± 3.35	4.02 ± 0.12	2.84 ± 1.15
29.09.2020	3.66 ± 0.37	4.34 ± 1.34	2.80 ± 2.39	3.65 ± 1.27
23.10.2020	0.44 ± 0.32	0.51 ± 0.55	0.26 ± 0.19	0.55 ± 0.39
В сумме	23.92	24.79	25.42	25.95

Примечание. Контроль – без КЖ; 1 – нанесение КЖ при закладке опыта, одновременно с внесением в субстрат грибных блоков; 2 – спустя 2 недели после закладки опыта и начала роста гриба; 3 – спустя 4 недели после закладки опыта и начала роста гриба. *Различие с контролем достоверно при $P \geq 0.95$.

тания за счет деградации сложных полисахаридов в результате активизации лигноцеллюлозных ферментов (Vieira, Recchia, 2018), а также в потреблении бактериями летучих органических соединений октенола и этилена, блокирующих плодоношение грибов (Kües et al., 2018). Возможно, одним из активных компонентов комплекса бактериальных метаболитов является ИУК, которая усиливает вегетативный рост грибов (Jemsi, Aryantha, 2017).

Инокуляция бактерией одновременно с внесением в субстрат блоков с грибным мицелием при закладке опыта, а также инокуляция, отсроченная на две недели от начала роста гриба, не оказали положительного влияния на процесс плодоношения. Суммарная биомасса плодовых тел составила в этих вариантах соответственно 88.7 и 83.4% от контрольного значения. Снижение биомассы собранных в этих вариантах плодовых тел оценивалось, согласно полученным значениям Т-критерия Вилкоксона, как статистически незначимое.

Таким образом, обработка суспензией бактериальных клеток *A. humicola* 30Нt оказала выра-

женный стимулирующий эффект на *Hericium erinaceus* ВР16 только при инокуляции на относительно поздней стадии развития гриба – в период формирования примордиев. Инокуляция в более ранние сроки способствовала увеличению продолжительности вегетативного роста гриба и, соответственно, препятствовала активизации генеративных процессов. Ранее возможность как положительного, так и отрицательного эффектов от инокуляции бактериальными культурами *Pseudomonas putida* и *P. tolaasii*, в зависимости от стадии развития гриба *Agaricus bisporus*, была отмечена в работе (Frey-Klett et al., 2011).

В отдельном эксперименте изучали влияние на продукцию плодовых тел *Hericium erinaceus* ВР16 культуральной жидкости *Arthrobacter humicola* 30Нt. В первую волну плодоношения биомасса в вариантах с нанесением КЖ на блоки с грибным мицелием через две и четыре недели после начала роста гриба увеличилась соответственно на 70 и 61% по сравнению с контролем (табл. 2). В остальные сроки наблюдений различия между варианта-

ми не были существенными. Суммарная за шесть волн плодоношения биомасса гриба практически не различалась по вариантам. Обработка полученных данных ранговым методом подтвердила отсутствие между вариантами с разными сроками нанесения КЖ статистически значимых различий. Сумма рангов по вариантам изменялась от 13 до 17, полученное значение критерия Фридмана ($F_p = 1$) оказалось ниже табличного значения ($F_p = 7.6$, $p = 0.043$). Результаты попарного сравнения опытных вариантов с контролем путем расчета значений Т-критерия Вилкоксона также указывали, что изменения массы плодовых тел гриба в результате обработки КЖ не являются статистически значимыми ($p = 0.05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обработка *Hericium erinaceus* ВР16 суспензией бактериальных клеток *Arthrobacter humicola* 30Нt оказала стимулирующий эффект на поздних стадиях развития гриба, тогда как обработка культуральной жидкостью этой же бактерии способствовала формированию плодовых тел только в начале плодоношения, и этот эффект был непродолжительным. Можно предположить, что кратковременное стимулирующее действие было вызвано наличием в КЖ остаточных компонентов питательной среды, но вместе с тем, присутствие в экзометаболитах бактерий веществ, стимулирующих рост гриба, тоже вполне вероятно.

На основании полученных результатов штамм *A. humicola* 30Нt можно отнести к группе MGP-бактерий и рекомендовать к дальнейшему изучению в качестве потенциального инокулянта для повышения урожайности культивируемых съедобных грибов. Объект, из которого был выделен данный штамм – спорокарп миксогастриевого грибоподобного протиста *Hemitrichia serpula*, равно как и спорокарпы других исследованных миксомицетов, можно рассматривать как новый перспективный источник для выделения бактерий, как с антифунгальными свойствами, так и MGP, которые имеют реальные перспективы для использования в промышленных технологиях выращивания съедобных грибов, при условии тщательного подбора стадии развития гриба для инокуляции.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0767-2019-0090 “Изучить потенциал полифункционального действия мицелиальных микроорганизмов в региональных типах почв с целью создания новых препаратов для повышения адаптивности и экологической безопасности растениеводства и защиты окружающей среды от загрязнений”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Atila F., Tuzel Y., Fernández J.A. et al.* The effect of some agro-industrial wastes on yield, nutritional characteristics and antioxidant activities of *Hericium erinaceus* isolates. *Scientia Horticulturae*. 2018. V. 238. P. 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.049>
- Belimov A.A., Dietz K.J.* Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations. *Microbiol. Res.* 2000. V. 155. № 2. P. 113–121. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80046-4](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80046-4)
- Brabcová V., Nováková M., Davidová A. et al.* Dead fungal mycelium in forest soil represents a decomposition hotspot and a habitat for a specific microbial community. *New Phytol.* 2016. V. 210. № 4. P. 1369–1381. <https://doi.org/10.1111/nph.13849>
- Cao G., Song T., Shen Y. et al.* Diversity of bacterial and fungal communities in wheat straw compost for *Agaricus bisporus* cultivation. *HortScience*. 2019. V. 54. № 1. P. 100–109. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13598-18>
- Carrasco J., Preston G.M.* Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. *Environm. Microbiol.* 2020. V. 22 (3). P. 858–872. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14765>
- Carrasco J., Tello M.L., de Toro M. et al.* Casing microbiome dynamics during button mushroom cultivation: implications for dry and wet bubble diseases. *Microbiology*. 2019. V. 165. № 6. P. 611–624. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000792>
- Chan S., Wasser S.* The cultivation and environmental impact of mushrooms. *Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science*. 2017. <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780199389414.013.231>
- Cho Y.S., Kim J.S., Crowley D.E. et al.* Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003. V. 218. № 2. P. 271–276. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)01144-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01144-8)
- Esposito S., Miconi F., Molinari D. et al.* What is the role of *Ewingella americana* in humans? A case report in a healthy 4-year-old girl. *BMC Infectious Diseases*. 2019. V. 19. № 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4021-4>
- Frey-Klett P., Burlinson P., Deveau A. et al.* Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2011. V. 75. № 4. P. 583–609. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00020-11>
- Jemsi W.S., Aryantha I.N.P.* Potential MGPB in optimizing paddy straw mushroom (*Volvariella volvacea* WW-08) growth. *Microbiology Indonesia*. 2017. V. 11. № 2. P. 2. <https://doi.org/10.5454/mi.11.2.2>
- Kües U., Khonsuntia W., Subba S. et al.* Volatiles in Communication of *Agaricomycetes*. In: *Anke T., Schüffler A.* (eds). *Physiology and Genetics. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research)*. V. 15. Springer, 2018, pp. 149–212.
- Lee C.K., Haque M.A., Choi B.R. et al.* Molecular diversity of endobacterial communities in edible part of king oyster

- mushroom (*Pleurotus eryngii*) based on 16S rRNA. Kor. J. Microbiol. 2015. V. 51. P. 148–155.
- Li Q., Chen C., Penttinen P. et al. Microbial diversity associated with *Tricholoma matsutake* fruiting bodies. Microbiology. 2016. V. 85. № 5. P. 531–539.
- Liu Z.H., Sossah F.L., Li Y. et al. First report of *Ewingella americana* causing bacterial brown rot disease on cultivated needle mushroom (*Flammulina velutipes*) in China. Plant Disease. 2018. V. 102. № 12. P. 2633–2633. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0351-PDN>
- López-Mondéjar R., Zühlke D., Becher D. et al. Cellulose and hemicellulose decomposition by forest soil bacteria proceeds by the action of structurally variable enzymatic systems. Scientific Reports. 2016. V. 6. P. 25279.
- Madbouly A.K., El-Shatoury E.H., Abouzeid M.A. Etiology of stipe necrosis of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) in Egypt. Phytopathologia Mediterranea. 2014. P. 124–129. <https://www.jstor.org/stable/43871764>
- Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. et al. Workshop on Microbiology. Moscow, 2005 (in Russ.).
- Novozhilov Yu.K. Definitorium Fungorum Rossiae. Issue 1. Class Myxomycetes. Nauka, SPb., 1993 (in Russ.).
- Park S., Lim S.H., Kim J. Y. et al. Cultivation characteristics and genetic diversity of wild-type collections of *Hericum erinaceus* in Korea. Journal of Mushroom. 2020. V. 18. № 1. P. 84–90.
- Pausheva Z. P. Practicum on plant cytology. Agropromizdat, Moscow, 1988 (in Russ.).
- Reyes J.E., Venturini M.E., Oria R. et al. Prevalence of *Ewingella americana* in retail fresh cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*) in Zaragoza (Spain). FEMS Microbiology Ecology. 2004. V. 47. № 3. P. 291–296. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00283-6](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00283-6)
- Shirokikh A.A., Nazarova Ya.I., Abubakirova R.I. et al. Detection of phyto regulatory activity of methylotrophic bacteria isolated from mushroom-like protists. In: Experimental plant biology: fundamental and applied aspects. Moscow, 2017, p. 360 (in Russ.).
- Shirokikh I.G., Shirokikh I.G., Polezhaeva T.V. et al. Cryoprotective properties of the polysaccharide fraction of the mushroom *Hericum erinaceus* BP 16. Biology Bulletin. 2020. V. 47. P. 1–6. <https://doi.org/10.1134/S1062359020010124>
- Vieira F.R., Pecchia J.A. An exploration into the bacterial community under different pasteurization conditions during substrate preparation (composting phase II) for *Agaricus bisporus* cultivation. Microbial Ecol. 2018. V. 75. № 2. P. 318–330.
- Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. (Netrusov et al.) Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
- Новожилов Ю.К. (Novozhilov) Определитель грибов России. Отдел Слизевки. Вып. 1. Класс Миксомицеты. СПб.: Наука, 1993. 288 с.
- Паушева З.П. (Pausheva) Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 111 с.
- Широкых А.А., Назарова Я.И., Абубакирова Р.И. и др. (Shirokikh et al.) Обнаружение фиторегуляторной активности метилотрофных бактерий, изолированных из грибоподобных протистов // Матер. конф. “Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты”. Крым, Судак. Москва, 2017. С. 360.

Effects of Isolated from Myxomycetes Bacteria on the Cultivation of the Edible Medicinal Mushroom *Hericum erinaceus*

A. A. Shirokikh^{a,b,#}, D. V. Popyvanov^a, and I. G. Shirokikh^{a,b}

^a Federal Scientific Agricultural Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russia

^b Vyatka State University, Kirov, Russia

[#]e-mail: aleshirokikh@yandex.ru

Cultivation of edible and medicinal mushrooms is becoming increasingly important for the sustainable use of natural mushroom resources. *Hericum erinaceus* it refers to the species whose cultivation technologies are currently insufficiently developed. The search and improvement of techniques that allow increasing the collection of geranium fruit bodies have determined the relevance of this work. Bacteria that regulate the growth of fungi can, when co-cultured, increase the yield of the biomass of fruit bodies, as well as limit the development of contaminants in the mushroom culture. The search for bacteria with mycoregulatory properties was carried out among cultures isolated from sporocarps of myxomycetes. According to the results of checking the phyto regulatory activity and the ability to synthesize IAA, isolates of *Methylobacterium bullatum* 56L, 55L, *Pedobacter agri* 85Td, *Ewingella americana* 66Mt and *Arthrobacter humicola* 30Ht were selected. In the *in vitro* experiment, the bacterium *A. humicola* 30Ht had the greatest stimulating effect on the growth of *Hericum erinaceus*. In solid-phase mushroom cultivation, the effect of bacterial inoculation was determined by the age and stage of morphogenesis of the mushroom culture. A short-term stimulating effect on the formation of *H. erinaceus* fruit bodies of water-soluble metabolites of *Arthrobacter humicola* 30Ht was also established. On the basis of the identified properties, culture *A. humicola* 30Ht is proposed to be assigned to the group of MGP (mushroom growth promoting) bacteria and recommend for further study as a potential inoculant to increase the yield of cultivated edible mushrooms.

Keywords: fruiting stimulation, MGP-bacteria, mushroom farming, myxomycetes