

ВПЛИВ РІЗНИХ ДЖЕРЕЛ КАРБОНУ ТА НІТРОГЕНУ НА КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ *PLEUROTUS CITRINOPILEATUS* ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА АГАРИЗОВАНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Кузнецова О.В., Власенко К.М., Карпикова С.В.

Український державний університет науки і технологій ННІ УДХТУ,
olga59kk@gmail.com

Abstract

The scientific paper presents studies on the influence of different carbon and nitrogen sources on the development of *Pleurotus citrinopileatus* (strain IBK-2160) mycelium when cultivated on an agar medium. It was found that the best carbon source for this strain is sucrose, and the best nitrogen source is ammonium sulfate. The average radial growth rate of mycelium was 1,7 mm/day.

Keywords: *Pleurotus citrinopileatus*, agar medium, sucrose, ammonium sulfate, average radial growth rate.

Вступ. Співвідношення карбону та нітрогену у живильному середовищі при культивуванні вищих базидіоміцетів є важливим показником для оптимального розвитку міцелію. Вважають, що для росту різних видів вищих базидіоміцетів сприятливим є співвідношення С:N від 8:1 до 20:1. Тому підбір джерел карбону і нітрогену є важливим етапом не тільки на стадії отримання плодових тіл грибів, але й на стадії отримання маточного міцелію, дослідження культурально-морфологічних показників його розвитку. При культивуванні *Pleurotus citrinopileatus* на агаризованих середовищах дослідниками було відмічено, що міцелій гливи лимонної добре розвивається на солодово-дріжджовому агарі, екстрактах легкого солоду, картопляно-декстрозному агарі. Також для отримання маточного міцелію *P. citrinopileatus* застосовують агаризовані зернові відвари пшениці, проса, жита [1]. Нами були вивчені як живильні середовища кукурудзяний, солодовий, просяний, гречаний агари та біодобавки - органічна добавка для грибів роду *Pleurotus*, комплексний стимулятор росту біогумат, подрібнені лузга соняшника, соломи, тирси для отримання маточної культури *Pleurotus citrinopileatus* IBK-2041. Відносно оптимальні показники спостерігалися для гречаного та кукурудзяного агарів з додаванням стимулятора росту біогумату ($1,46 \pm 0,05$ мм/добу та $0,96 \pm 0,23$ мм/добу, відповідно) [2]. На просяному агарі отримані низькі показники швидкості росту міцелію. Для отримання маточного міцелію *P. citrinopileatus* (штам IBK-2160) найкращі показники були отримані на солодовому агарі. Додавання дріжджового екстракту пригнічувало ріст та розвиток грибного міцелію. При вивченні росту *P. citrinopileatus* у глибинній культурі дослідники як джерела карбону та нітрогену застосовували фруктозу та соєвий пептон [3].

Метою наукової роботи було дослідження впливу різних джерел карбону та нітрогену на культурально-морфологічні показники *Pleurotus citrinopileatus* при культивуванні на агаризованих живильних середовищах.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була чиста культура *Pleurotus citrinopileatus* штам IBK-2160 на агаризованому солодовому

середовищі, отримана із Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України [4] та зберігається у колекції мікологічної лабораторії кафедри біотехнології та БЖД нашого університету. З музейної культури отримували посівну маточну культуру на солодовому агарі на чашках Петрі. Як основу для різних варіантів живильного середовища використовували синтетичне глюкозо-амонійне середовище, в якому як джерела карбону використовували вуглеводи: фруктозу, лактозу, сахарозу, глюкозу, а як джерела нітрогену – нітрат натрію, пептон, сульфат амонію. Підготовку та стерилізацію живильних середовищ здійснювали загальноприйнятими методами [5]. Значення рН живильного середовища становило 6,1–6,2. Посів міцелію на агаризоване живильне середовище робили блоками діаметром 8 мм, які нарізали на маточному міцелії спеціальним інструментом. Культивування проводили у термостаті при температурі $25 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 14 діб. Визначали наступні культурально-морфологічні показники розвитку грибного міцелію: морфологічний опис колоній, середню швидкість радіального росту, тривалість лаг-фази росту, мікроскопічне дослідження міцеліальних структур, наявність грибних ферментів – фенолоксидаз.

Дослід проводили у трикратній повторності. Отримані результати опрацьовували методами математичної статистики. Дані вважали достовірними при $p > 0,95$ (за Стьюдентом).

Результати та обговорення. За культурально-морфологічними ознаками, міцелій *P. citrinopileatus* на агаризованих живильних середовищах з різними джерелами карбону та нітрогену мав незначні відмінності, які полягали в різній щільності колоній. На варіантах середовищ з додаванням NaNO_3 утворилися нещільні міцеліальні колонії. Більш щільні колонії міцелію *P. citrinopileatus* було зафіксовано на середовищах з сахарозою, фруктозою, а також з пептоном.

Тип грибних колоній, в більшості випадків, був ватоподібним та мав білуватий колір (окрім середовища з пептоном, де колір колоній був кремовий). Усі колонії не мали зональності.

При мікроскопуванні грибного міцелію було виявлено наступні міцеліальні структури: скелетні, генеративні, зв'язуючі гіфи, у деяких випадках зафіксовано анастомози. Було також виявлено ідентифікаційну ознаку базидіоміцетів - «пряжки». Найбільш розвинений міцелій спостерігався на живильних середовищах з фруктозою та сахарозою. В цілому, на усіх варіантах живильних середовищ грибний міцелій *P. citrinopileatus* розвивався відповідно до біологічних особливостей.

При проведенні кольорових реакцій на ферменти фенолоксидази було виявлено наявність лакази в усіх варіантах живильних середовищ (причому зміна забарвлення спостерігалась через 3 хв, окрім середовищ з глюкозою, де забарвлення змінювалось протягом 3-х діб). Зафіксовано наявність тирозинази через 3 доби за допомогою реакції з п-крезолом лише в одному з варіантів середовищ (з пептоном). Пероксидаза була наявна в усіх варіантах досліджуваних середовищ.

Дослідження лаг-фази росту міцелію показало, що найшвидше міцелій *P. citrinopileatus* адаптувався на середовищах: глюкозо-амонійному – 102 год, сахарозо-амонійному – 104 год, глюкозо-нітратному – 106 год. Найдовшу адаптацію міцелію серед усіх варіантів зафіксовано на середовищі з додаванням пептону (115,5 год).

На рис. 1 представлено порівняльну характеристику середньої швидкості росту грибного міцелію на різних середовищах.

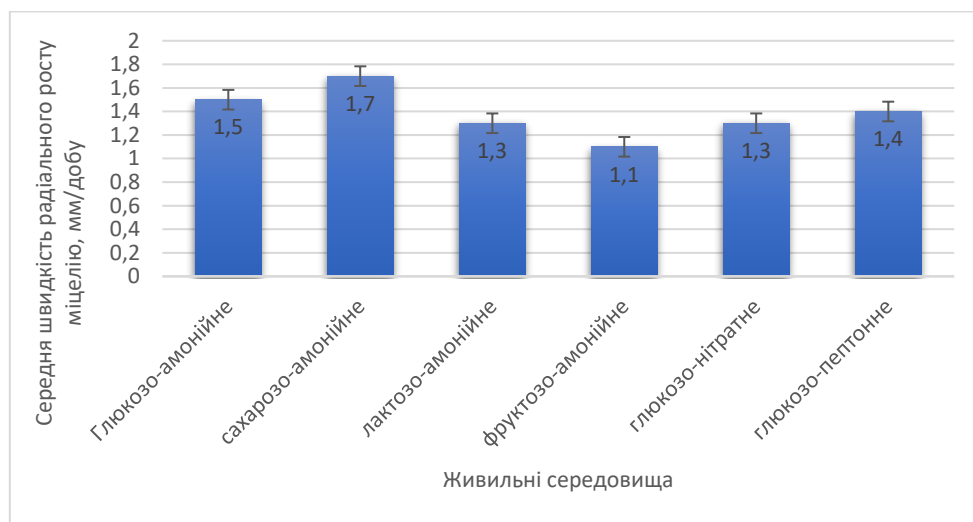


Рис. 1. Середня швидкість росту міцелію *Pleurotus citrinopileatus* на живильних середовищах з додаванням різних джерел карбону та нітрогену.

Високі показники швидкості росту спостерігалися для середовища з додаванням наступних джерел карбону, а саме: сахарози – $1,7 \pm 0,05$ мм/добу та глюкози – $1,5 \pm 0,01$ мм/добу. Серед варіантів живильних середовищ з додаванням джерел нітрогену найвищі показники встановлено для варіантів з додаванням сульфату амонію – $1,5 \pm 0,07$ мм/добу, а також з додаванням пептону – $1,4 \pm 0,12$ мм/добу.

Висновки. Таким чином, для проведення наукових досліджень і отримання маточної культури *P. citrinopileatus* (штам IBK-2160) можна рекомендувати застосування сахарозо-амонійного живильного середовища.

Список використаної літератури:

1. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 1 / Под ред. С. П. Вассера. Киев: Альтерпрес, 2011. 212 с.
2. Кузнецова О.В., Власенко К.М., Лопанова К.Р. Шляхи оптимізації живильного середовища для отримання маточної культури *Pleurotus citrinopileatus*. Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали IV міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції, м. Харків, 22 березня 2024 р. НФаУ. Харків. 2024. С. 244-245.
3. Wu C.-Y. The influence of cultivation conditions on mycelial growth and exopolysaccharide production of culinary-medicinal mushroom *Pleurotus citrinopileatus* Singer (*Agaricomycetidae*). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2008. Vol. 10, no. 3. P. 279–292. URL: <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v10.i3.90>.
4. Колекція культур шапинкових грибів (IBK). Бісько Н. А., Ломберг М. Л., Митропольська Н. Ю., Михайлова О. Б. Київ: Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного Національної Академії наук України, «Альтерпрес», 2016. 120 с.
5. Методичні вказівки до лабораторних занять з дисципліни «Промислова мікологія» за освітнім рівнем «Бакалавр» для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» / Укл.: О.В.Кузнецова, К.М. Власенко. Дніпро: ДВНЗ «УДХТУ», 2024. 86 с.