

УДК 582.28

## **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО СТИМУЛЯТОРА РОСТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ *PLEUROTUS OSTREATUS***

О.В. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, Н.В. МАЛИНОВСКАЯ<sup>2</sup>, В.А. ГЕРАСИМЕНКО<sup>2</sup><sup>1</sup> Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины  
Украина, 01601, Киев–1, ул. Терещенковская, 2<sup>2</sup> Украинский государственный химико-технологический университет  
Украина, 49005, Днепрпетровск–5, пр. Гагарина, 8  
e-mail: Olga\_59k@mail.ru

*Приведены данные о влиянии стимулятора нового поколения биоугмат на рост и развитие мицелия *Pleurotus ostreatus* на агаризованных питательных средах при поверхностном культивировании. Получены результаты позитивного воздействия определенных концентраций биоугмат на разные стадии онтогенеза гриба: длительность лаг-фазы, скорость радиального роста, появление примордиев.*

*Ключевые слова: биоугмат, средняя радиальная скорость роста мицелия, примордии, культурально-морфологические признаки колоний.*

**В**ведение. Современная биотехнология представлена большим разнообразием практических направлений, и одно из них – агробиотехнология. Эта отрасль биотехнологии предлагает сельскому хозяйству широкий спектр методов и средств, позволяющих значительно интенсифицировать процессы, связанные с получением продуктов питания человека, поднять продуктивность растениеводства, животноводства, рыбоводства, грибоводства и др. Интересным направлением по данной проблеме является фитогормональная регуляция и саморегуляция продуктивного процесса у растений [1].

В литературе довольно широко распространено мнение о том, что формирование гормонального аппарата разных групп организмов является результатом длительной эволюции, связанной с превращением отдельных биологически активных метаболитов в регуляторные гормональные вещества [2]. Единство происхождения гормонов у разных организмов подтверждается обнаружением известных гормонов животных в клетках простейших, грибов, низших и высших растений, где они выполняют функции регуляторов клеточного деления, движения ресничек, вакуолей и др. [3]. Подобность гормональной системы микроорганизмов, грибов, низших и высших растений дает основание для утверждения, что фитогормоны возникли еще у прокариот, а дальше в процессе эволюции они сохранились у всех организмов, а у животных и высших растений приобрели регуляторную роль [4].

Однако у грибов процессы фитогормональной регуляции несколько отличаются от растений и животных. Большинство грибных гормонов находится в связанной форме. Кроме того, грибы способны продуцировать фитогормоны всех основных групп в количествах, в 100–1000 раз превышающих их содержа-

ние у высших растений [5]. Принцип гормональной регуляции у грибов практически не раскрыт. Поэтому существует много нерешенных вопросов относительно роли фитогормонов у грибов. Изучение экзогенного влияния фитогормонов на рост и развитие грибного мицелия началось еще в 50-х годах XX столетия. Регуляторная роль любых гормонов, в том числе и фитогормонов, в основном изучается путем исследования их эндогенного уровня и эффектов экзогенного действия. Большинство научных работ, которые направлены на исследования влияния экзогенных гормонов, ставят целью повышение продуктивности грибов с помощью природных или синтетических стимуляторов роста. Например, работа Краснопольской Л.М. и соавт. [6] была посвящена исследованиям действия стимуляторов на вегетативный рост и плодоношение *Agaricus bisporus* и ряда грибов симбиотрофов [6]. Этой же теме посвящены работы других авторов [7,8].

В то же время о действии стимуляторов на рост и морфогенез макромицетов в чистой культуре известно немного. Показано, что кинетин угнетал, а индолилуксусная кислота стимулировала рост мицелия *Volvariella volvaceae* [9], фитогормоны в определенной концентрации стимулировали рост *Pleurotus ostreatus* [10].

Целью данной работы является изучение влияния комплексного стимулятора роста биогумата на рост и развитие высшего базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* на агаризованных средах различного состава с разными источниками азота и углерода, а также возможности использования биогумата в технологическом процессе получения посевного мицелия.

### Материалы и методы

Объектом исследования был штамм съедобного гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. IBK-551, полученный

из коллекции шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, который широко используют в отечественном грибоводстве под шифром НК-35. Маточный мицелий *P. ostreatus* выращивали и сохраняли в пробирках на скошенном кукурузном агаре.

В исследовании использовали натуральные среды (кукурузный агар – КА, агаризованную измельченную лужу подсолнечника – ЛП) и синтетические: глюкозо-аммонийную (Г-АМ) и глюкозо-аспарагиновую (Г-АС). В питательные среды добавляли биогумат в концентрациях 0,01 %, 0,005 %, 0,001 %, 0,0001 %. Биогумат использовали в виде водного экстракта биогумуса – продукта вермикультивирования, содержание фитогормонов – 0,28 г/л (производитель – НИИ «Биотехнология» Украинского государственного химико-технологического университета, г. Днепрпетровск). Биогумат – комплексный стимулятор роста, содержит биологически активные вещества, макро- и микроэлементы, его рекомендуют для повышения урожайности овощных и плодовых культур, увеличения плодов, ускорения прорастания семян и развития корневой системы [11]. В качестве контрольной среды использовали кукурузный агар без стимулятора роста.

Подготовку и стерилизацию питательных сред проводили согласно общепринятым методикам [12, 13]. В качестве посевного материала использовали 9-суточные культуры, выращенные в чашках Петри. Инокуляцию осуществляли дисками мицелия диаметром 8 мм. Поверхностное культивирование *P. ostreatus* проводили при температуре  $26 \pm 1$  °С. На протяжении процесса культивирования каждый день измеряли радиус колоний на средах в чашках Петри и проводили микроскопический контроль. После полного зарастания чашек Петри, их помещали в ростовую камеру с температурой 14–16 °С для проверки

мицелия на способность образовывать зачатки плодовых тел (примордии). Для исследования пролонгированности действия стимулятора полученным мицелием инокулировали зерновой субстрат на чашках Петри, который затем использовали для получения плодовых тел гриба.

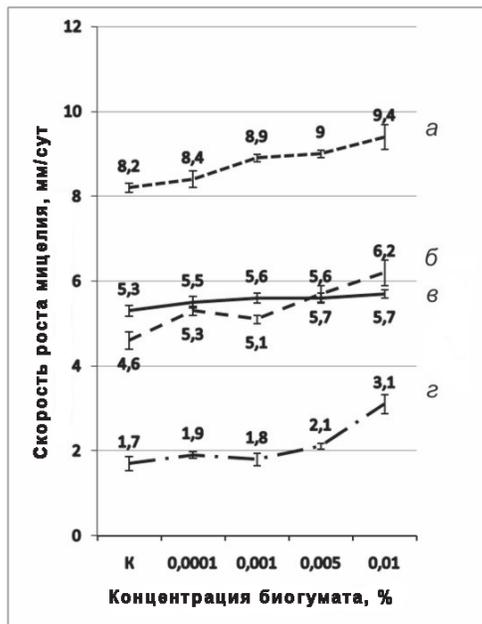
Опыт проводили в трехкратной повторности. По полученным данным определяли продолжительность лаг-фазы роста мицелия на разных средах, среднюю скорость радиального роста мицелия (мм/сут) и промежуток времени до начала образования примордиев (сут) [14].

Полученные результаты обрабатывали методами математической статистики. Все выборки подчинялись закону нормального распределения. Данные считали достоверными при  $p < 0,05$  (по Стьюденту) [15].

### Результаты и обсуждение

Проведенные экспериментальные исследования показали наличие эффекта ускорения роста *P. ostreatus* при использовании определенных концентраций биогумата не только в период вегетативного роста мицелия, но и на стадии формирования примордиев.

Сокращение длительности лаг-фазы по сравнению с контролем отмечено на всех исследованных средах, особенно оно заметно на КА. Так, средняя длительность лаг-фазы роста *P. ostreatus* в культуре на средах с добавлением биогумата составила: 4 часа – на КА, 8 часов – на ЛП, 12 часов – на Г-АМ и 20 часов – на Г-АС, что на 50–70 % меньше, чем в контрольных вариантах. Сокращение длительности лаг-фазы свидетельствует об ускорении начального развития гриба, что соответствует физиологическому действию биогумата, установленному на растениях [11]. На рисунке приведены данные о средней скорости вегетативного роста мицелия гриба в зависимости от концентрации стимулятора.



**Рисунок.** Скорость радиального роста мицелия *P. ostreatus* в зависимости от концентрации биогумата на разных питательных средах: а – КА; б – Г-АМ; в – ЛП; г – Г-АС

Анализ представленных данных показал, что на использованных агаризованных питательных средах практически все концентрации биогумата положительно влияют на рост мицелия *P. ostreatus*, но наибольший стимулирующий эффект проявляют более высокие концентрации биогумата (0,01 % и 0,005 %). На натуральных средах, которые обеспечивают достаточно высокую скорость радиального роста мицелия в контроле без стимулятора – 8,2 мм/сут (на КА) и 5,3 мм/сут (на ЛП), увеличение скорости роста при добавлении биогумата по сравнению с контролем составило 14,6 и 7,5 % соответственно. На синтетических средах, где в контроле наблюдалась низкая скорость роста мицелия – на Г-АМ (4,6 мм/сут) и Г-АС (1,7 мм/сут), при внесении биогумата увеличение линейной скорости роста мицелия было

более значительным и составило 34,8 и 82,4 % соответственно.

Анализ культурально-морфологических признаков колоний вегетативного мицелия *P. ostreatus* на средах различного состава показал, что присутствие биогумата не влияет на такие признаки, как тип колоний, образующихся на разных по составу средах (ватоподобные, бархатистые, войлочные), их окраску (белые) и плотность, в то время как микроскопическое исследование образцов мицелия выявило определенное влияние состава питательной среды и концентрации стимулятора на характер ветвления гифов, их толщину и длину.

В ходе исследования было отмечено влияние биогумата на формирование зачатков плодовых тел (примордиев) – важной стадии в онтогенезе высших базидиальных грибов. Первые массовые примордии появились на кукурузном агаре с концентрацией биогумата 0,0001 % – на 12-е сутки. Также наблюдались одиночные примордии на агаре с измельченной лузгой подсолнечника с концентрацией биогумата 0,005 % – на 10-е сутки. В то время как на контрольной среде первые примордии появились только на 20-е сутки.

При пересеве полученного маточного мицелия *P. ostreatus* на зерновой субстрат было отмечено увеличение радиальной скорости роста мицелия в вариантах, инокулированных мицелием, выращенным на среде с биогуматом, что свидетельствует о пролонгированности действия стимулятора. В этих же вариантах наблюдалось более раннее развитие стадии телеоморфы – появление примордиев, их рост и дифференциация плодовых тел на шляпку и ножку.

### Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что интенсивность действия комплексного стимулятора биогумата на морфогенез *P. ostreatus* зависит от внесенной концентрации и состава основной питательной среды. Сочетание различных групп фитогормонов в биогумате (ауксинов, гиббереллинов, цитокининов) приводит к комплексному влиянию определенных концентраций стимулятора на рост и развитие *P. ostreatus* в поверхностной культуре на агаризованных средах: сокращению длительности лаг-фазы, увеличению скорости радиального роста мицелия, ускорению процесса формирования стадии телеоморфы.

Пролонгированность действия стимулятора позволяет получать качественный посевной мицелий *P. ostreatus*, что может быть полезным в биотехнологическом процессе получения маточного и посевного мицелия вешенки обыкновенной в грибоводстве.

Таким образом, стимулятор роста биогумат, который используют для ускорения роста растений, способен проявлять такое же физиологическое действие относительно грибного организма, в частности, *P. ostreatus*.

### Список литературы

1. *Сельскохозяйственная биотехнология* / В. С. Шевелуха, Е. А. Калашникова, Е. С. Воронин и др. / Под ред. В. С. Шевелухи. – Москва. – 2003. – 469 с.
2. *Холодный Н.Г.* Фитогормоны. – Киев. – 1939. – 263 с.
3. *Neumann K.-H., Imani J., Kumar A.* Phytohormones and Growth Regulators. – Plant Cell and Tissue Culture. – A Tool in Biotechnology. Basics and Application. – Springer Berlin Heidelberg, 2009. – P. 227–233.
4. *Медведев С. С.* Физиология растений. – Санкт-Петербург. – 2004. – 336 с.
5. *Гормональний комплекс рослин і грибів* / К. М. Ситник, Л. І. Мусатенко, В. А. Васюк та ін. – Київ. – 2003. – 186 с.
6. *Краснопольская Л.М., Нагубнова Л.А., Сафрай А.И. и др.* Влияние регуляторов роста на рост и развитие некоторых шляпочных базидиомицетов // Микология и фитопатология. – 1994. – Т. 28, вып. 3. – С. 15–20.

7. Vinklarkova K., Sladky Z. Exogenous Regulators in the Mycelium of *Pleurotus ostreatus* after Exogenous Application // Folia Microbiologica. – 1978. – Vol. 23, № 1. – P. 55–59.
8. Halbert C. R., Schisler L. C. Effects of growth regulator compounds on yield and size of the commercial mushroom, *Agaricus bisporus* // Proc. Int'l. Sym. Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi. The Penna. State Univ., 1986. – P. 79–90.
9. Ghosh A. K., Sengupta S. Influence of some growth factors on the production of mushroom mycelium in submerged culture // J. Food Sci. Technol. – 1982. – Vol. 19, № 2. – P. 57–60.
10. Соломко Е. Ф. Вплив біостимуляторів на ріст *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) KUMM // Укр. бот. журн. – 1989. – Т. 46, № 6. – С. 57–61.
11. Гармаш С. М. Дослідження біохімічних властивостей біогумусу та біогумату // Вопросы химии и хим. технологии. – 2004. – № 4. – С. 82–84.
12. Методи експериментальної мікології: Справочник / Под ред. В. И. Билай. – Киев. – 1982. – 552 с.
13. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – Киев. – 1988. – 157 с.
14. Соломко Е. Ф., Ломберг М. Л., Митропольська Н. Ю., Чоловська О. В. Ріст окремих видів лікарських макроміцетів на поживних середовищах різного складу // Укр. бот. журн. – 2000. – Т. 57, № 2. – С. 119–126.
15. Лакин Г. Ф. Биометрия. – Москва. – 1980. – 293 с.

Представлена Е.Ф. Соломко  
Поступила 6. 10.2011

**ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОГО СТИМУЛЯТОРА РОСТУ НОВОГО ПОКОЛІННЯ НА МОРФОГЕНЕЗ *PLEUROTUS OSTREATUS***

О.В. Кузнецова<sup>1</sup>, Н.В. Малиновська<sup>2</sup>,  
В.О. Герасименко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України  
Україна, 01601, Київ–1, вул. Терещенківська, 2  
<sup>2</sup>Український державний хіміко-технологічний  
університет  
Україна, 49005, Дніпропетровськ–5, пр. Гагаріна, 8  
e-mail: Olga\_59k@mail.ru

Наведено дані про вплив стимулятора нового покоління біогумату на ріст і розвиток міцелію *Pleurotus ostreatus* на агаризованих живильних середовищах при поверхневому культивуванні. Отримані результати позитивної дії визначених концентрацій біогумату на різні стадії онтогенезу гриба: тривалість лаг-фази, швидкість радіального росту, поява примордії.

**Ключові слова:** біогумат, середня радіальна швидкість росту, примордії, культурально-морфологічні ознаки колоній.

**INFLUENCE OF COMPLEX GROWTH STIMULATOR OF NEW GENERATION ON MORPHOGENY OF *PLEUROTUS OSTREATUS***

O.V. Kuznetcova<sup>1</sup>, N.V. Malinovskaya<sup>2</sup>,  
V.A. Gerasimenco<sup>2</sup>

<sup>1</sup>N.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine  
Ukraine, 01601, Kyiv–1, Tereschenkivska str., 2  
<sup>2</sup>Ukraining State chemical-technology University  
Ukraine, 49005, Dnipropetrovsk–5, Gagarina str., 8  
e-mail: Olga\_59k@mail.ru;

Data on the influence of new generation stimulator, biogumat, on growth and development of *Pleurotus ostreatus* mycelium on agar nutrient medium upon surface cultivation is provided. The results on the positive effect of biogumat specific concentrations on various mushroom developmental stages, i.e. lag-phase, radial growth rate, appearance of primordias were generated.

**Key words:** biogumat, of average radial growth rate, primordias, cultural morphological traits.