

ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ МІЦЕЛІЮ

грибів шиїтаке *Lentinula Edodes (Berk.) Pegler* в умовах *in vitro*

Мета. Дослідження росту міцелію гриба шиїтаке *Lentinula Edodes (Berk.) Pegler* на живильних середовищах різного складу та вивчення особливостей застосування мікроелементного комплексу «Аватар-1» і селеніту натрію. Відомо, що фракції, збагачені селеном, виділені з полісахариду міцелію *Lentinula edodes*, можуть мати вищу біологічну активність, ніж незбагачені фракції, власне які сьогодні використовуються для лікування онкологічних захворювань людини. **Методи.** Використали різні біотехнологічні методи досліджень. Застосовували селеніт натрію (Na_2SeO_3) в концентрації 1,0 ммоль/л. Розчин додавали до всіх живильних середовищ, використаних в роботі. Необхідно зазначити, що культивування *L. edodes* з розчином селеніту натрію спричинило блиск та міцність міцелію. Чиста культура гриба мала дуже щільну структуру, білосніжний відтінок забарвлення. У роботі ми використовували біотехнологічні методи (одержання субкультивуванням штаму *L. edodes* в умовах *in vitro*); мікробіологічні (отримання чистої культури гриба, вивчення культуральних властивостей колоній). Встановили водневий показник (рН) живильних середовищ на початку і наприкінці інкубації. Застосували мікологічні методи, такі як вимір швидкості, щільності росту і сухої маси міцелію. Використали метод світлової мікроскопії. Виконали статистичну обробку даних. **Результати.** Дослідження показали, що прискорення росту міцелію та найбільший вихід маси вегетативного міцелію *L. edodes* спостерігався на живильних середовищах з мікродобривом «Аватар-1». Встановлено, що максимальне обростання середовища міцелієм відбувається на сьому добу. **Висновки.** Продемонстровано залежність активності росту від типу живильного середовища, норми введення доз препарату, а також режимів культивування, які ефективно впливають і здешевлю-

¹**Т.В. ІВАНОВА,**
кандидат сільськогосподарських наук

²**Н.М. ВОЛОЩУК,**
кандидат біологічних наук
Національний університет біоресурсів
та природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ,
03041, Україна
e-mail: ¹tivanova1@ukr.net,
²voloshchuk_m_nataliia@ukr.net

ють технологію одержання первинного міцелію *L. edodes*.

ріст, міцелій, *L. edodes*, нанопрепарат, мікродобриво

В Україні у виробничих умовах окрім печериці двоспорової та гливи звичайної поступово впроваджується вирощування менш відомого делікатесного базидіального гриба — шиїтаке *Lentinula edodes (Berk.) Pegler*. Це зумовлено його підтвердженими лікувально-профілактичними властивостями.

Функціональні препарати на основі грибів виробляють в широких масштабах у всьому світі. Нині медицина приділяє високу увагу фунготерапії, причина — пошук засобів від складних хвороб: онкологічних захворювань, ВІЛ та СНІДу. Саме такими властивостями добре відомий шиїтаке. До хімічного складу гриба входить полісахарид — лентінан, що гальмує розвиток ракових клітин та характеризується антивірусними властивостями, а також лентінін — бі-

лок, що надає гальмуючий ефект розвитку лейкемії. Відомо, що шиїтаке у висушеній формі містить сполуки, які блокують утворення канцерогенів [1]. Лікувальні властивості підтверджені багатовіковою практикою застосування гриба в фунготерапії, а також новітніми клінічними випробуваннями, проведеними в Південно-Східній Азії, Європі та Америці [2]. Гриб шиїтаке поєднує в собі високі харчові та поживні властивості, а також синтезує широкий спектр речовин білкової, ліпідної природи, вітаміни та інші фізіологічно-активні сполуки (табл. 1).

Для збільшення врожайності та покращення якості посівного міцелію нині застосовують білкові добавки. Проте грибний організм потребує в особливому догляді не тільки високої концентрації білків та вуглеводів у складі поживного середовища, а також елементів живлення, зокрема мікроелементів. Самі по собі мікроелементи не беруть участі у створенні білкових молекул, але стимулюють ферментативні реакції їх синтезу і тим самим суттєво прискорюють їхнє продукування [3].

В результаті спільної праці української «Науково-виробничої компанії «Аватар» та групи вчених Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного під керівництвом доктора біологічних наук Н.А. Бісько було створено мікродобриво «Аватар-1», яке у своєму складі містить: Cu (800,0 мг/л), Zn (70,0 мг/л), Mg (800,0 мг/л), Mn

1. Харчова цінність грибів шиїтаке (за Коробан Л.П., 2004)

Назва продукту		Протеїни	Ліпіди	Зола
Шиїтаке	Плодове тіло	25,0	8,0	7,0
	Міцелій	32,0—55,0	3,1—7,0	11,1
Картопля		9,0	0,7	6,3
Яйця		50,0	43,0	4,0
Молоко		24,0	29,0	5,2
М'ясо (кураче)		23,2	1,6	0,9

(50,0 мг/л), Со (25,0 мг/л), Мо (25,0 мг/л), Fe (80,0 мг/л) (за ТУ У 24.137033728—001:2010) [4]. Воно широко використовується для росту злакових культур, соняшника, кукурудзи, сої [5]. Протягом останніх років проводяться дослідження впливу препарату «Аватар-1» на ростові показники печериці двоспорової *Agaricus bisporus*. Встановлено, що розчин металів має низку позитивних чинників застосування: збільшення росту міцелію, врожайності, отримання твердших плодових тіл; збільшення вмісту незамінних мінеральних мікроелементів [6].

Показано, що мікродобриво «Аватар-1» володіє високим рівнем біодоступності для міцелію печериці — 98%, високою хімічною чистотою — 99,9% та має клас небезпеки 4 (малонебезпечні речовини). Складові препарату виконують як трофічну функцію — компенсують дефіцит елементів живлення, так і регуляторну, шляхом активізації всіх біохімічних процесів.

Для складових елементів «Аватар-1» на внутрішньоклітинні процеси грибів: Mg відносять до функціонально незамінних елементів, які відіграють переважну роль в обміні речовин, процесі росту грибів; Zn входить до складу ферментів, які беруть участь у вуглеводному обміні, збільшуючи масу міцелію по відношенню до засвоєних речовин з поживного середовища; Fe — елемент катализи, пероксидази та інших компонентів, що перетворюють складові поживного середовища на доступні для шийтаке джерела живлення; Mn бере участь у синтезі нуклеїнових кислот в клітинах міцелію; Мо необхідний для ферментів, які залучені до процесів створення плодових тіл; Со входить до складу вітаміну B₁₂, який необхідний для синтезу нуклеїнових кислот в клітинах міцелію.

Вплив наноконкомпексу «Аватар-1» на культурах культивованих грибів вивчали лише на печериці.

Метою даної роботи було дослідити вплив мікродобрива «Аватар-1» на особливості росту міцелію штаму *L. edodes* 3667.

Матеріали і методи. Використовували вітчизняний нанопрепарат «Аватар-1» — мікроелементний комплекс розчину карбоксилатів особливо чистих біогенних мета-

лів, наданий Українським науково-дослідним інститутом Нанобіотехнології та ресурсозбереження Державного агентства резерву України. Особливості росту міцелію шийтаке досліджували на штамі *L. edodes* 3776, який отримали з Колекції культур інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Дослідження росту міцелію проводили на рідких та агаризованих живильних середовищах на основі відварів вівса, кори дуба, а також картопляно-глюкозному бульйоні та агарі (КГА), до яких додавали мікродобриво «Аватар-1» та розчин селеніту натрію (Na₂SeO₃).

Перші два живильні середовища готували наступним чином: окремо зерно вівса та кору дуба заливали окропом та залишали у темному місці на 8 год. Після цього настої фільтрували, доводили до початкового об'єму водопровідною водою та додавали 2% мікробіологічного агару, кип'ятили протягом 2 хв та піддавали стерилізації. Для приготування 1 л середовища КГА брали 200 г очищеної картоплі, яку відварювали 40 хв у водопровідній воді. Далі фільтрували, доводили до об'єму і додавали 20 г глюкози та 16 г агару.

У стерильних умовах препарат «Аватар-1» та розчин селеніту натрію (1,0 ммоль/л) додавали до стерильного живильного середовища, охолодженого до 45°C у нормі 20 мл/л. Агаризовані середовища розливали у чашки Пет-

рі приблизно по 20 мл, а рідкі — по 50 мл у колби об'ємом 100 мл. Контролем слугували середовища без додавання препаратів.

Чашки Петрі та колби із середовищами інокулювали агаровими блоками діаметром 5 мм, які вирізали із 7-денної культури штаму *L. edodes* 3776, вирощеної на середовищі КГА. Посіви інкубували за температури +23°C±2 протягом 7-ми діб. Дослідження проводили у триразовій повторності. Спостереження проводили на 3-, 5- та 7-му добу росту міцелію гриба.

Для вивчення швидкості росту міцелію *L. edodes* 3776 за радіус окремої колонії в даний момент часу брали середнє арифметичне вимірювання, яке проводили в двох взаємно перпендикулярних напрямках та розраховували за формулою [7]:

$$Kr = r - r_0 / t - t_0,$$

де Kr — радіальна швидкість росту; r_0 — радіус колоній в початковий момент часу t_0 ; r — радіус колоній в момент часу t .

Діаметр колонії вираховували середньоарифметичним вимірюванням, яке проводили у двох взаємно перпендикулярних напрямках.

Щільність заростання середовища розраховували за 3-бальною шкалою (1 — міцелій рідкий, прозорий; 2 — міцелій середньої щільності, прозорий; 3 — міцелій щільний, середовище не просвічується) (рис. 1) [7].

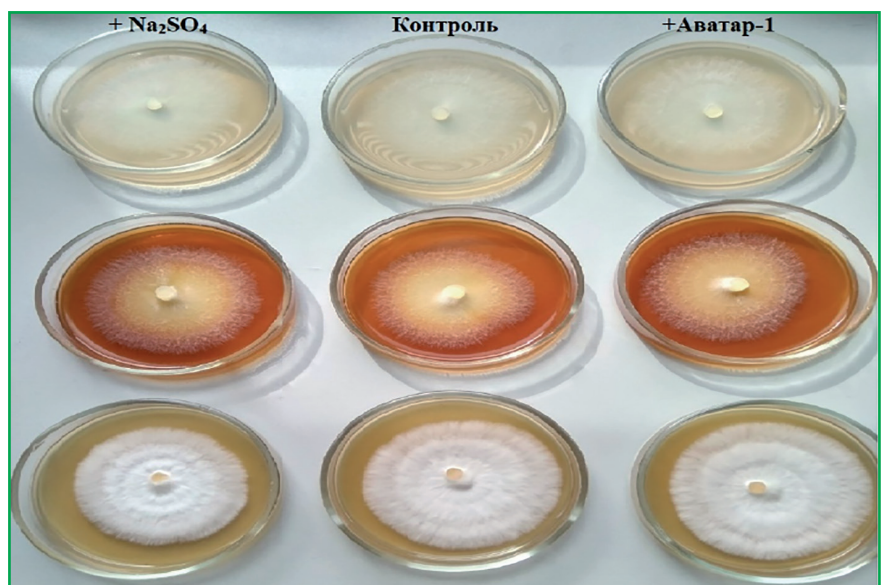


Рис. 1. Розвиток колоній *L. edodes* 3776 на різних живильних середовищах із додаванням препаратів: 1-й ряд — відвар вівса, 2-й ряд — відвар кори дуба, 3-й ряд — КГА, (5-та доба росту)

Приріст біомаси досліджували на живильних середовищах без додавання агару. Абсолютно суху біомасу (АСБ) міцелію визначали на 9-ту добу культивування. Для цього міцелій відділяли від культуральної рідини фільтруванням, тричі промивали дистильованою водою, підсушували фільтрувальним папером, висушували за температури 60°C до постійної маси протягом 80 хв та зважували [7].

Водневий показник (рН) культурального фільтрату визначали потенціометричним методом на рН-метрі «рН—150 МИО» [7].

Зміни морфології міцелію *L. edodes* 3776 досліджували методом роздавленої краплі із застосуванням мікроскопа Axiostar Plus (Zeiss, Німеччина) [7].

Результати. Під час досліджень швидкості росту колонії гриба *L. edodes* 3776 спостерігали її залежність від складу живильного середовища і присутності в ньому мікродобрив (рис. 2—4). Середньодобова швидкість росту гриба у досліджуваній період знаходилась в межах 3,6—4,0 мм/добу. Повне заростання живильного середовища відбувалось на 7-му добу.

Виявлена позитивна динаміка росту міцелію *L. edodes* 3776 на середовищі з відвару вівса, із додаванням «Аватар-1» у порівнянні з контролем (рис. 3). За дві останні доби спостережень приріст колонії склав понад 8 мм. Селеніт натрію не дав високих показників.

Колонії *L. edodes* 3776 на середовищі з відвару кори дуба продемонстрували більш активний ріст міцелію за додавання «Аватар-1» у порівнянні з іншими варіантами досліді (рис. 4).

Середовище КГА виявилось найбільш сприятливим для росту міцелію *L. edodes* 3776 порівняно із агаризованими відварами з вівса і кори дуба, а застосування нанокмплесу «Аватар-1» мало найбільший стимулюючий ефект на розвиток гриба (рис. 5). Додавання до КГА селеніту натрію інгібувало ріст міцелію.

Загалом, використання препарату «Аватар-1» позитивно вплинуло на динаміку росту порівняно з контролем на 2—6 мм/добу та порівняно з селенітом натрію — на 2—4 мм/добу. Високі показники спостерігались саме на середовищі КГА. Параметр висоти міцелію

показав характерну залежність від типу використаного середовища. Середовище з корою дуба у складі мало найнижчі результати — від 3,6 до 9,3 мм. Найбільший ріст

мав міцелій на картопляно-глюкозному агарі — 5,6—15,3 мм. Під час проведення досліді з отримання первинного міцелію *L. edodes* 3776 встановлено, що внесення

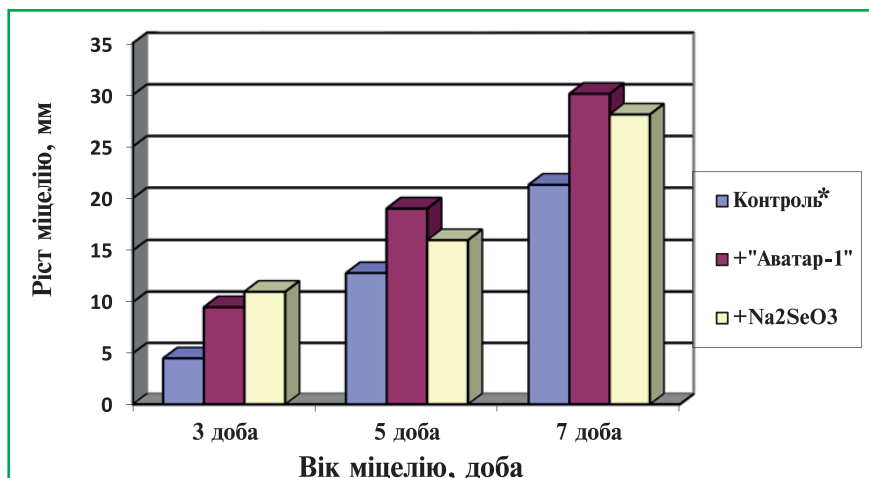


Рис. 2. Динаміка росту міцелію *L. edodes* 3776 на агаризованому середовищі з відваром вівса

Примітка: у якості контролю було середовище агар + відвар вівса

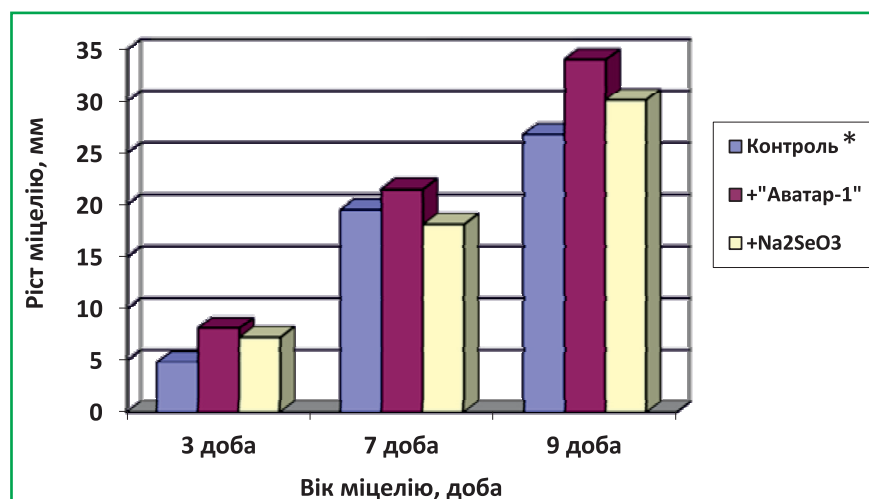


Рис. 3. Динаміка росту міцелію *L. edodes* 3776 на агаризованому середовищі з відваром кори дуба

Примітка: у якості контролю було середовище агар + відвар вівса та кори дуба

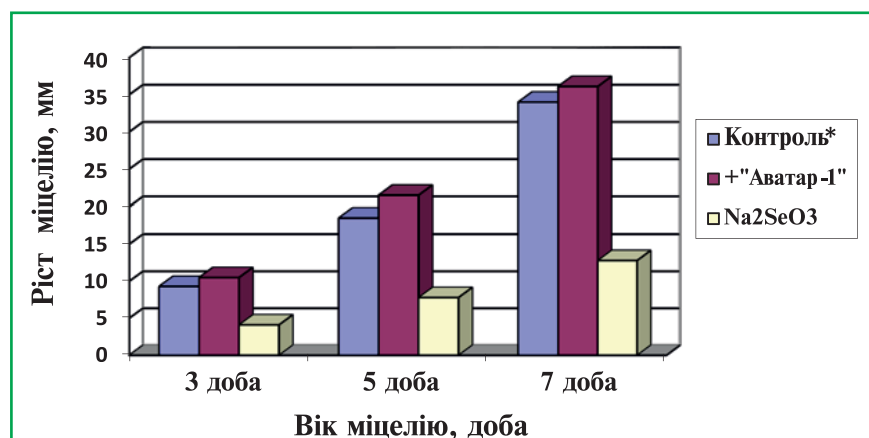


Рис. 4. Динаміка росту міцелію на середовищі КГА

Примітка: у якості контролю було середовище картопляно-глюкозний агар

нанопрепарату сприяло збільшенню виходу біомаси та скороченню тривалості культивування. У відсотковому вираженні цей показник становив 22–30%. Швидкість росту становила до 5 мм/добу.

Щільність міцелію на початковому етапі розвитку колоній штаму *L. edodes* 3776 була низькою — до 1 бала, на 5-ту добу підвищилась до 2–3 балів.

Приріст міцелію *L. edodes* 3776 варіював у межах $0,3 \pm 0,05$ г (табл. 2).

Суттєве збільшення маси відбувалось на середовищі КГА, яке містило препарат «Аватар-1», що свідчить про його позитивну дію на ріст і масу міцелію.

За досягнення максимального росту колонії *L. edodes* 3776 (повне обростання чашки Петрі) проводили візуальний аналіз чистоти міцелію з подальшим його вивченням за допомогою світлової мікроскопії (рис. 6).

Морфологічну характеристику міцелію досліджуваного штаму, вирощеного на різних середовищах, наведено в таблиці 3.

Слід зазначити, розбіжностей щодо виду середовища не спостерігали, була встановлена загальна характеристика: міцелій *L. edodes* 3776 має однорідну щільну структуру із товщиною гіф $1,0\text{--}1,5$ мкм (рис. 6).

Активна кислотність (рН) культурального фільтрату після культивування міцелію *L. edodes* 3776 на 9-ту добу підвищувалась. Це свідчить про те, що у процесі росту гриб виділяє метаболіти, які підкислюють середовище. Серед них добре відома вугільна кислота, яка утворюється при виділенні макроміцетами CO_2 . В таблиці 4

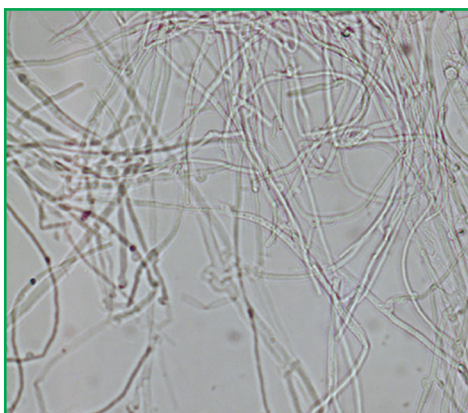


Рис. 6. Мікрофотографія міцелію шітаке на середовищі КГА із додаванням «Аватар-1», Ч400

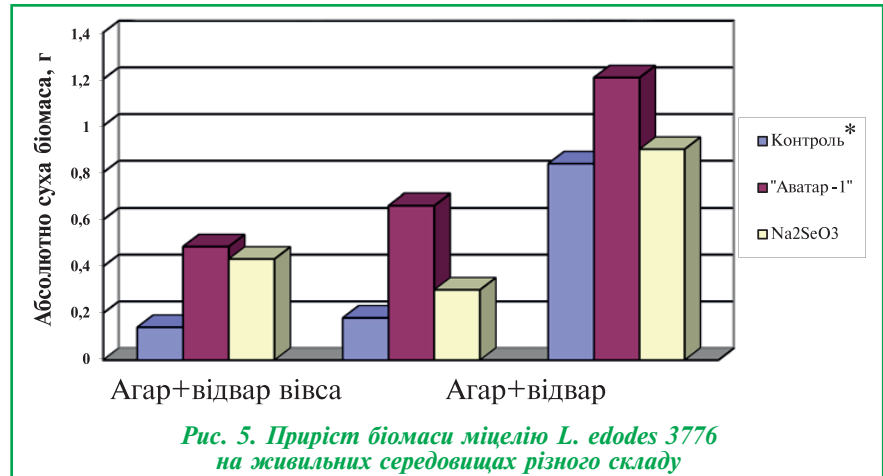


Рис. 5. Приріст біомаси міцелію *L. edodes* 3776 на живильних середовищах різного складу

2. Абсолютно суха біомаса міцелію *L. edodes*, вирощеного на середовищах різного складу

Назва живильного середовища		Абсолютно суха маса, г
Агар+	Відвар з вівса (контроль)	0,14±0,02
	Відвар з вівса + «Аватар-1»	0,49±0,03
	Відвар з вівса + Na ₂ SeO ₃	0,43±0,03
Агар+	Відвар з вівса та кори дуба (контроль)	0,18±0,02
	Відвар з вівса та кори дуба + «Аватар-1»	0,66±0,03
	Відвар з вівса та кори дуба + Na ₂ SeO ₃	0,30±0,04
Агар	Картопляно-глюкозний (контроль)	0,84±0,02
	Картопляно-глюкозний + «Аватар-1»	1,21±0,1
	Картопляно-глюкозний + Na ₂ SeO ₃	0,90±0,02

Примітка: достовірна різниця з контрольним варіантом за P < 0,05

3. Вплив живильних середовищ та препаратів на морфологію міцелію *L. edodes* 3776

Живильне середовище	Морфологія міцелію
Контрольні зразки	Щільність звичайна. Наявні пряжки. Рівномірний ріст
Середовища з «Аватар-1»	Потовщення і збільшення розгалужених гіф та збільшення кількості пряжок. Рівномірний ріст. Не має занадто тонких або товстих гіф
Середовище з Na ₂ SeO ₃	Міцелій хвилястий, тонкий скручений в клубок. Багато пряжок

4. Показник рН середовища за глибинного культивування міцелію штаму *L. edodes* 3776

Назва агаризованого живильного середовища	Показник рН	
	Початок культивування	Кінець культивування
Відвар з вівса (контроль)	6,5	5,3
Відвар з вівса + «Аватар-1»	6,5	3,6*
Відвар з вівса + Na ₂ SeO ₃	5,6*	3,4*
Відвар з вівса та кори дуба (контроль)	6,6	4,8
Відвар з вівса та кори дуба + «Аватар-1»	6,6	3,6*
Відвар з вівса та кори дуба + Na ₂ SeO ₃	5,6*	3,8*
КГА (контроль)	6,6	5,2
КГА + «Аватар-1»	6,5	4,5*
КГА + Na ₂ SeO ₃	5,8*	3,6*

Примітка: P ≤ 0,05 у порівнянні з контролем (середовища без додавання мікродобрив)

продемонстровано різницю показника рН на початок та кінець культивування на різних за компонентним складом живильних середовищах.

Обговорення. Життєдіяльність грибів залежить від помітної кількості зовнішніх і внутрішніх чинників, серед яких дія біоактиваторів та їх аналогів на ростові, фізіологічні та біохімічні процеси всього організму. Стимулювання процесів росту та розвитку грибів пов'язане із залученням їх генетичного потенціалу та спрямуванням цих ресурсів на підвищення біологічної продуктивності. Основне джерело підвищення урожайності — якісний посівний матеріал.

За результатами досліджень застосування трьох агаризованих живильних середовищ для одержання міцелію шийтаке: з відвару вівса, відвару кори дуба та КГА з їх модифікацією у вигляді додавання мікроелементного комплексу «Аватар-1» та мінерального добрива — розчин Na_2SO_4 . Кращим серед досліджуваних середовищ для росту *L. edodes* 3776 виявилось КГА. Це узгоджується з даними Н.Ю. Соболевої, 2010 р., що за макроморфологією розвитку штамів *L. edodes* на щільних середовищах та відповідно до загальноприйнятої візуальної трибалої системи оцінки, дослідні середовища забезпечували високу інтенсивність розвитку повітряного міцелію [7]. Творожисту текстуру колонії формували саме на середовищі КГА.

Використання препарату «Аватар-1» з нормою внесення 20 мл/л позитивно вплинуло на динаміку росту порівняно з контролем. Параметр висоти міцелію показав характерну залежність від типу використаного середовища. Найбільший ріст мав міцелій *L. edodes* 3776 на середовищі КГА — 5,6—15,3 мм, що у відсотковому вираженні становило 22—30%, у середньому швидкість росту — 5 мм/добу. Наші дані щодо параметрів культивування міцелію шийтаке при застосуванні препаратів, які стимулюють його ріст, збігаються із відомостями інших вчених: А.С. Бухало (2001), Л.П. Коробан (2004), Л.М. Краснопольська (2009) [7-10]. Існують рекомендації Б.Є. Нікітіної (2005) культивувати міцелій *L. edodes* на

середовищах, що містять картопляний відвар та добову культуру бактерій роду *Azospirillum*, для стимулювання росту [11].

Згідно з отриманими результатами, на середовищі з додаванням мікродобрива «Аватар-1» відбулось стимулювання росту до 5 мм/добу та збільшення абсолютної сухої маси міцелію на 0,3 г. Візуально колонії відрізнялись більш щільною структурою, мали потовщені гіфи та збільшену кількість пряжок, що говорить про інтенсивність процесів обміну генетичним матеріалом. Це узгоджується із даними інших дослідників, зокрема дослідження Н.А. Бисько показали, що використання мікродобрива «Аватар-1» на печерицях призводить до одержання більш щільних плодових тіл із меншим (на 10—30%) вмістом води; збільшення вмісту фізіологічно функціональних, незамінних для людини мінеральних мікроелементів на 5—15% [4]. У дослідженнях І.І. Бандури (2014) зазначається, що комплексне добриво «Аватар-1», яке складається із суміші цитратів різних металів, позитивно впливає на приріст біомаси грибів роду *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. [12].

Слід зазначити, що культивування штаму *L. edodes* 3776 з розчином селеніту натрію спричинило ущільнення його міцелію та появу білосніжного відтінку. Під час культивування фіксували негативну реакцію міцелію гриба, а також суттєву різницю у швидкості росту та прирості біомаси залежно від виду живильного середовища. В літературних джерелах повідомляється (J. Turlo, 2010), що за умов підвищеної концентрації розчину селеніту до 4 моль/л і додавання його у живильне середовище у *L. edodes* з'являється червона пігментація міцелію, що може свідчити про деструкцію селеніту натрію до вільного елементного Se [13]. Дослідник П.А. Полубоярінов (2016), вивчаючи механізм дії Na_2SeO_3 на культуру шийтаке, а також, досліджуючи вплив діацетофенонілу селеніту на ріст *Pleurotus ostreatus* також стверджує про обумовленість червоної пігментації міцелію елементним Se [14].

Незначний приріст міцелію на селеновмісних середовищах скоріш за все пов'язаний із вмістом

лімітуючих компонентів, тобто із збільшенням об'єму середовища підвищується і вміст лімітуючих компонентів, що забезпечує тривалість росту міцелію в експоненціальній фазі.

Нами визначено, що накопичення біомаси міцелію і позитивна динаміка росту гриба шийтаке спостерігається за культивування протягом 7-ми діб, коли культури знаходяться в логарифмічній стадії росту.

Дослідження мікроморфології міцелію *L. edodes* 3776 не виявило різниці у його структурі залежно від складу середовища. Міцелій *L. edodes* мав однорідну щільну структуру та пряжки. З цього приводу Н.Ю. Соболева (2010) зазначає, що загальним для всіх вивчених штамів шийтаке, вирощених на щільних середовищах і в глибинній культурі, є наявність на гіфах регулярно присутніх пряжок і перегородок.

Водневий індекс культурального фільтрату *L. edodes* 3776 незалежно від складу живильного субстрату суттєво знижувався порівняно з вихідним. Це може бути пов'язане з поглинанням кисню та виділення CO_2 макроміцетом із наступним утворенням вугільної кислоти, через що рН значно знижується. Одержані нами дані збігаються із дослідженнями О.О. Мельникової (2016) про те, що штам базидіоміцетів можуть рости в широкому інтервалі рН середовища, при цьому максимальна питома швидкість росту деяких видів, наприклад культури *Pleurotus pulmonarius*, досягається за рН 5,7 і становить близько $0,048 \pm 0,005$. Таким чином досягається «оптимум рН» [15].

ВИСНОВКИ

З одержаних даних можна зробити висновок, що використання мікроелементного комплексу перспективне, особливо за поєднання культивування з багатими на вуглеводи живильними середовищами. Окрім прискорення росту, виявили збільшення біомаси міцелію на середовищі з мікродобривом «Аватар-1». Це дає підстави рекомендувати застосовувати мікроелементні добрива для виробництва посівного міцелію з метою стимулювання розвитку грибного міцелію шляхом підвищення біохімічних процесів у

клітині. Можна припустити, що додавання мікроелементних розчинів прискорює ферментативні реакції та відіграє роль метаболічного регулятора в клітині гриба. Загалом проведені експерименти показали, що прискорення росту мицелію та найбільший вихід біомаси первинного мицелію штаму *L. edodes* 3667 відбувався на живильних середовищах із мікродобривом «Аватар-1». Досліджені нами особливості росту гриба шиїтаке на середовищах, збагачених нанопрепаратом «Аватар-1», можуть бути використані за подальших досліджень у промислових і біотехнологічних лабораторіях та грибних підприємствах.

ЛІТЕРАТУРА

- Rashydov N., Kliuchnikov O., Seniuk O., Gorovyy L., Zhidkov A., et al. Radiobiological Characterization Environment Around Object "Shelter", Nuclear Power Plants, Dr. Soon Heung Chang (Ed.), InTech, 2012. P. 340. URL: <https://www.intechopen.com/books/nuclear-power-plants/radiobiologic-characterization-environment-around-object-shelter>
- Chen L., Gong Y., Cai Y., Liu W., Zhou Y., Xiao Y., et al. Genome Sequence of the Edible Cultivated Mushroom *Lentinula edodes* (Shiitake) Reveals Insights into Lignocellulose Degradation. *PLoS ONE* 11(8): e0160336, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160336>
- Lesmono Aji I.M. Development and production of *Lentinula edodes* (Shiitake mushrooms) on inoculated logs of a range of tree species. *Department of Forest and Ecosystem Science The University of Melbourne*, 2009, 94 p. URL: <http://hdl.handle.net/11343/35307>
- Бісько Н.А. Застосування мікроелементного комплексу «Аватар-1» для істівних грибів. Київ, 2012. С. 24.
- Димчев В.А., Романенко О.Т. Природна формула мікроелементів — «Аватар-1». *Агроном*, 2013, 4, С. 583—584.
- Капітанська О.М. Мікродобрива основа карбоксилатів природних кислот basis. *Агроном*, 2014, 3, С. 294—295.
- Соболева Н.Ю., Краснопольская Л.М., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. Антибиотические свойства и рост в погруженной культуре штаммов лекарственного базидиального гриба *Lentinula edodes*. *Успехи медицинской микологии*. М., 2004, Т. 3, С. 240—242.
- Бухало А.С., Бісько Н.А., Білай В.Т., Митропольская Н.Ю., Поєдинок Н.Л. Культивирование съедобных и лекарственных грибов: Практик. реком. Киев, 2004. 120 с.
- Ivanova, T.V. et al. New approaches extraction of viral RNA from edible mushrooms. *Scientific Journal «ScienceRise»*, 2015, 1 (15), P. 44—46.
- Ivanova T.V. Mamontova A.A., Biotechnology of the sowing material of shiitake (*Lentinula Edodes* (Berk.) Sing) for the use of domestic nanoparticles In: XII International scientific conference Youth and the progress of biology 2016 Apr. 19—21, Lviv, Ukraine. 2016, P. 126.
- Никитина В.Е., Цивилева О.М., Гарибова Л.В. Стимуляторы лектиновой активности *Lentinula edodes* на синтетических агаризованных средах *Биотехнология*. 2004. № 3.
- Бандура І.І. Удосконалення елементів технології промислового виробництва істівних грибів роду *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm: дис. ... канд. с.-г. наук: 06.01.06 / Грина Іванівна Бандура; Таврійський державний агротехнологічний університет. — Мелітополь, 2014. — 227 с.
- Turlo, J., Gutkowska B., Herold F. Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts. *Food Chem Toxicol*, 2010 Apr; 48(4):1085—91. doi: 10.1016/j.fct.2010.01.030. Epub 2010 Feb 4.
- Полубояринов П.А., Моисеева И.Я. Определение продуктов взаимодействия селенита натрия и аминокислоты селеноцистина с восстановленным глутатионом методом ВЭЖХ. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*, (2016). (4 (16)), 77—87.
- Мельникова Е.А., Мельников Е.Б., Миронов П.В. (2013). Исследование состава биологически активных соединений, выделяемых при совместном культивировании *Pleurotus pulmonarius* и *Lentinula edodes*. *Хвойные бореальной зоны*, 30 (5—6), 88—92. <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-sostava-biologicheskii-aktivnykh-soedineniy-vydelyаемых-pri-sovmestnom-kultivirovanii-pleurotus-pulmonarius-i-lentinus>

**Іванова Т.В.,
Волощук Н.М.**

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев Оборони, 15, г. Киев, 03041, Украина, e-mail: tivanova1@ukr.net, voloshchuk_m_nataliia@ukr.net

Особенности роста мицелия грибов шиитаке *Lentinula Edodes* (Berk.) Pegler в условиях *in vitro*

Цель. Исследование роста мицелия гриба шиитаке *Lentinula Edodes* (Berk.) Pegler на питательных средах различного состава и изучение влияния особенностей применения микроэлементного комплекса «Аватар-1» и селенита натрия. **Методы.** Биотехнологические методы исследования. Также применяли селенит натрия (Na_2SeO_3) в концентрации 1,0 ммоль/л. Раствор добавляли ко всем питательным средам, используемым в работе. Необходимо отметить, что культивирование *L. edodes* с раствором селенита натрия привело к блеску и прочности мицелия. Чистая культура гриба имела очень плотную структуру, но окраске — белый оттенок. В работе использовали биотехнологические методы (получение субкультивированием штамма *L. edodes* в условиях *in vitro*); микробиологические методы (получение чистой культуры гриба, изучение культуральных свойств колоний). Установили водородный показатель (рН) питательных сред в начале и в конце инкубации. Применяли микологические методы, такие как измерение скорости, плотности роста и сухой массы мицелия. Использовали метод световой микроскопии. Выполнили статистическую обработку данных. **Результаты.** Исследования показали, что ускорение роста мицелия и наибольший выход массы вегетативного мицелия *L. edodes* наблюдался на питательных средах с микроудобрением

«Аватар-1». В ходе эксперимента установлено, что максимальное обрастание среды мицелием происходит на седьмые сутки. **Выводы.** Продемонстрирована зависимость активности роста от типа питательной среды, нормы введения доз препарата, а также режимов культивирования, которые эффективно влияют и удешевляют технологию получения первичного мицелия *L. edodes*.

мицелий гриба шиитаке, нанопрепарат, микроудобрение

Іванова Т.,

Волощук Н.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15, Heroiv Oboronu str. building 3, Kyiv, Ukraine, 03041, e-mail: tivanova1@ukr.net, voloshchuk_m_nataliia@ukr.net

Characteristics growth of mycelium of mushroom shiitake *Lentinula Edodes* (Berk.) Pegler *in vitro*

Goal. The purpose of this work is to study the growth of the mycelium of the fungus *Lentinula Edodes* (Berk.) Pegler on nutrient media of different composition and also to study the features of the use of Avatar-1 micro fertilizer and sodium selenite. **Methods.** Biotechnological research methods. Sodium selenite (Na_2SeO_3) at a concentration of 1.0 mmol / l was also used. Pure culture of the mushrooms had a very dense structure and white color. In our work, we used biotechnological methods — obtain this by subculturing the *L. edodes* strain *in vitro*; microbiological methods — obtaining pure culture of the fungus, the study of the cultural properties of the colonies. We set the pH value (pH) of nutrient media at the beginning and at the end of incubation. We applied mycological methods to measure the speed, density of growth and dry mass of mycelium. We used the light microscopy method. We performed statistical data processing. Method of light microscopy. **Results.** The experiments showed about acceleration of mycelial growth, mass and the greatest yield of mycelium *L. edodes* were on a nutrient medium with microfertilizer Avatar-1. In the experiment, it was found that the maximum overgrowth of the medium by mycelium occurs at 7 days. We have been proved that in the «Avatar-1» nutrient medium there was an increase and consolidation of bifurcated hyphae and buckles of *L. edodes*. There was even germination of mycelium that did not have too thin or thick hyphae. The dependence of growth rate on the type of nutrient medium. Also, the of doses of the drug, which effectively influences the technology of obtaining primary mycelium *L. edodes*. **Conclusions.** The dependence of the growth rate on the type of nutrient medium, the dose administration rate, as well as the cultivation regimes, that effectively influence and cheapen the technology of obtaining the primary mycelium *L. edodes* is demonstrated.

mycelium of shiitake mushroom, nanopreparation, microfertilizer.

Рецензент:

М.В. Патица,

доктор сільськогосподарських наук,
професор, член-кореспондент

НААН України

Національний університет біоресурсів
та природокористування України

Надійшла 28.02.2019 р.