

УДК 582.284

Третьякова Д.М. ORCID 0000-0001-8713-2476

Велигодська А.К. ORCID 0000-0002-8789-673X

ПРОДУКТИВНІСТЬ ШТАМІВ РОДУ *PLEUROTUS* НА ЛІГНОЦЕЛЮЛОЗНИХ ВІДХОДАХ ПЕРЕРОБКИ ОЛІЙНИХ КУЛЬТУР

© Третьякова Д.М., Велигодська А.К.

*Донецький національний університет імені Василя Стуса, м. Вінниця**a.velygodska@donnu.edu.ua,**tretiakova.d@donnu.edu.ua*<http://doi.org/10.5281/zenodo.2543657>

У статті представлено результати дослідження можливості одержання комерційних плодівих тіл за культивування штамів роду *Pleurotus* звичайної – *Pleurotus ostreatus* на лігноцелюлозних відходах олійної промисловості.

Вивчення ростових показників та здатності до плодоношення проходило в декілька етапів. Початковим етапом досліджень стало вивчення показників радіального росту міцелію 7 штамів *Pleurotus ostreatus* на стандартному КГА. Наступним етапом було дослідження плодоношення та виявлено здатність до утворення плодівих тіл *in vitro* всіма дослідними штамми *Pleurotus ostreatus*. Штами на зволоженому лушпинні соняшника спочатку культивували в повній темряві при температурі $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ до повного обростання субстрату міцелієм (темнова фаза), після чого колби виставляли на стелажі під лампи денного світла з інтенсивністю освітлення 1500 лк при $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ (світлова фаза). Процес вирощування закінчували після двох хвилок плодоношення гриба. Для визначення показників лінійного росту вимірювали діаметр колонії. Досліджувані гриби висівали в центр поверхні цільного живильного середовища та вимірювали діаметр у двох взаємно перпендикулярних напрямках в двох-трьох повторностях. У результаті були виділені найбільш продуктивні культури: *P. ostreatus* Нк-35 та Р-192, лідери за показниками зростання на зволоженому лушпинні соняшника. Вони можуть використовуватися для подальшої селекції високопродуктивних промислових культур *Pleurotus ostreatus*.

Ключові слова: *глива звичайна, міцелій, плодіві тіла, радіальний ріст, культивування.*

ВСТУП

Особливу увагу в експериментальному грибівництві приділяють ксилотрофним базидіальним грибам, які є багатим джерелом харчових білків, мають значну конкурентоспроможність по відношенню до сторонньої мікрофлори та здатні засвоювати різні рослини, у т. ч. целюлозні та лігноцелюлозні відходи [1, 16]. Як свіжі, так і сушені гриби є хорошим джерелом полісахаридів (37–48%), білків (20–25%), клітковини (13–24%), вітамінів (наприклад вітаміни групи В, вітамін С) і мінералів (наприклад, К, Р, Na, Са, Mg) при низькому вмісті жиру (4–5%) і невисокій калорійності. Вони також містять ряд вторинних метаболітів, таких як фенольні сполуки, полікетиди, терпени і стероїди, які корисні для здоров'я [18]. Одним з таких комерційно важливих істивних ксилотрофів є *Pleurotus ostreatus* – *глива звичайна*. Це зумовлює необхідність пошуку нових високопродуктивних штамів *P. ostreatus*, з наступним дослідженням їх культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних показників, що дасть змогу про-вести селекцію промислових грибних культур [1, 21].

Вирощування базидіальних грибів на лігноцелюлозних відходах це один з найбільш економічних процесів органічної переробки.

Виходячи з цього метою роботи було дослідження ростових показників та продуктивності деяких штамів базидіального гриба *Pleurotus ostreatus*.

Для досягнення мети роботи ставили завдання вивчити добовий приріст та середню радіальну швидкість росту штамів *P. ostreatus*, встановити показники плодоношення досліджених штамів *P. ostreatus* на зволоженому лушпинні соняшника.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами дослідження були культури *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm.: 2 штам, що використовуються у грибівництві: Нк-35 (Sylvan, США) та Р-кл29 (штам, виділений з комерційного плодового тіла *гливи місцевого виробництва*) [17], 5 дикорослих: Р-192, Р-151, Р-153, Р-154, Р-155, виділених з плодівих тіл, знайдених на території Донецького та Вінницького регіонів [3, 12], а також штам Р-ег, який належить до виду *Pleurotus eryngii* (DC.) Quel. Всі вони знаходяться в колекції культур базидіальних грибів біологічного факультету Донецького національного університету імені Василя Стуса. Штами культивували на стандартному картопляно-глюкозному агарі (КГА) в чашках Петрі та на зволоженому лушпинні соняшника в колбах Ерленмейера ємністю 250 мл.

Гриби виділяли в чисту культуру та досліджували за загальноприйнятими методиками [2, 19]. Для визначення лінійного росту штами культивували на щільному живильному середовищі КГА, в чашках Петрі при температурі $27,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (термін – 7 діб) та вимірювали діаметр колонії від місця посіву до кінця зони росту міцелію.

Для визначення продуктивності штамів на лігноцелюлозних відходах олійного виробництва підготовлений за загальноприйнятими методами субстрат у кількості 40 г поміщали в колби Ерленмейера ємністю 250 мл і стерилізували в автоклаві протягом однієї години при 1,2-1,4 атм. Після охолодження субстрату проводили інокуляцію культур [20, 13]. В якості інокулюму виступав блок агаризованого середовища ($0,5 \times 0,5$ см) з міцелієм, вирізаним із зони росту досліджених культур [1, 10]. Штами на зволоженому лущині соняшника спочатку культивували в повній темряві до повного обростання субстрату міцелієм (темнова фаза), після чого колби виставляли на стелажі під лампи денного світла (світлова фаза). В ході світлової фази протягом одного місяця фіксували період ініціації плодоношення і підраховували кількість примордіїв в одній колбі для кожної культури. Процес вирощування закінчували після двох хвиль плодоношення гриба. В ході експериментів враховували термін повного заростання субстрату, добу виникнення перших плодкових тіл та їхню питому масу [6, 11]. Температура культивування в колбах Ерленмейера при темновій фазі становила $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, при світловій $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$, термін – 31 день.

Всі дослідження проводили у трикратній повторності. З метою статистичної обробки експериментальних даних проводили дисперсійний аналіз. Відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$. Розкид величин наведений у форматі $M \pm m$. Обчислення проводили з використанням комп'ютерних програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів (Statistica 10, Excel) [9].

РЕЗУЛЬТАТИ

Дослідження загальних ростових показників культур показало, що всі штами здатні до росту на стандартному КГА протягом всього терміну культивування (7 діб). Максимальний показник добового приросту для комерційних штамів *P. ostreatus* P-кл 29 та Hk-35 зареєстровано на 6-ту добу культивування (рис. 1). Слід зазначити, що для міцелію Hk-35 на 6-ту добу культивування цей показник був вищий за міцелій P-кл29 аналогічного віку на 10% і становив $5,6 \pm 0,3$ мм на добу.

Дослідження добового приросту міцелію дикорослих штамів (рис. 2) показало наступне. Штам *P. ostreatus* P-192 характеризується максимальним значенням цього показника. При цьому, найбільший приріст штаму *P. eryngii* P-er відмічався на 5-ту добу культивування і становив $5,2 \pm 0,24$ мм, штаму P-192 – на 6-ту добу ($6,1 \pm 0,17$ мм), а у інших штамів – 7-му добу культивування.

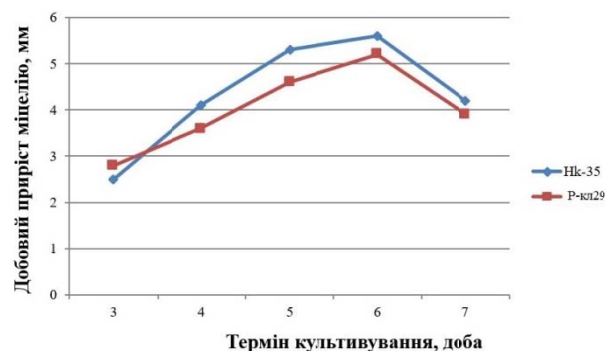


Рис. 1. Добовий приріст міцелію комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* на стандартному КГА.

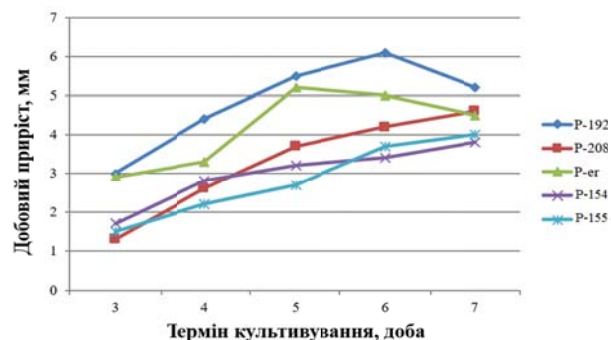


Рис. 2. Добовий приріст міцелію дикорослих штамів *Pleurotus ostreatus* на стандартному КГА.

В ході проведення експерименту також було проаналізовано показники середньої швидкості радіального росту (рис. 3), максимум яких спостерігався для дикорослого штаму *P. ostreatus* P-192 ($4,84 \pm 0,22$ мм/добу) та для комерційного штаму Hk-35 ($4,34 \pm 0,16$ мм/добу).

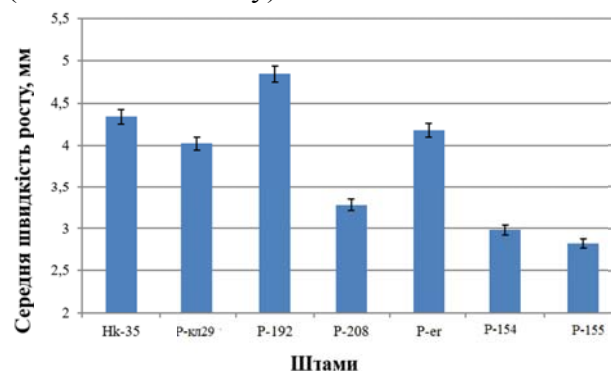


Рис. 3. Середня швидкість радіального росту міцелію штамів *P. Ostreatus*.

Культивування штамів роду *Pleurotus* на зволоженому лущині соняшника показало наступне. Повне заростання субстрату (рис. 4) масою 40 г для штамів Hk-35, P-er та P-192 спостерігалось на 9-ту добу культивування, для штамів P-кл29 та P-208 – на 10-ту добу. Міцелій штамів *P. ostreatus* P-155 та P-154 заростав субстрат на 11-ту та 12-ту добу відповідно.

Формування плодкових тіл відмічено для всіх досліджених культур вже на 15–17 день культивування (рис. 5).

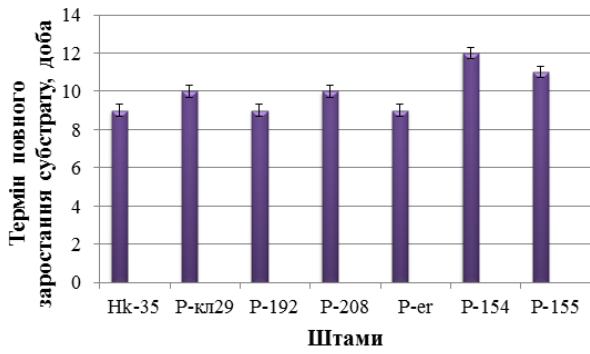


Рис. 4. Термін повного заростання субстрату міцелієм.

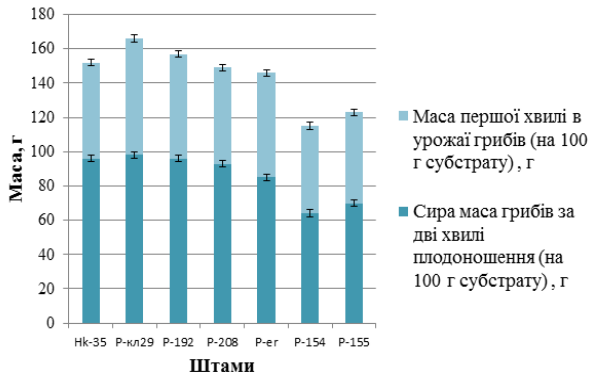


Рис. 5. Маса плодівих тіл досліджуваних штамів за дві хвилі плодоношення.

Найвищим накопиченням маси плодівих тіл за дві хвилі плодоношення характеризувалися карпофори комерційного штаму *P. ostreatus* Hk-35, де цей показник становив 28% від загальної маси субстрату, а також дикорослий штам P-192, маса плодівих тіл якого становила 34% від маси субстрату. Таким чином, найбільш продуктивними були ті штами, які також мали максимальний добовий приріст міцелію на 6-ту добу культивування (штами Hk-35 та P-192). В той же час, досліджені штами досягають максимального добового приросту у різний термін.

ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження потенціалу біоконверсії відходів у грибівництві підтвердило можливість використання лігноцелюлозної біомаси як субстрату для вирощування їстівних грибів з подальшою утилізацією відпрацьованого субстрату в біогаз [8]. Ще одне дослідження ефективності біоконверсії субстратів рослинних відходів показало, що досліджені субстрати здатні забезпечувати ріст *P. ostreatus*, однак ступінь засвоєння грибом того чи іншого субстрату (за показником накопичення біомаси) був різний. Ефективність біоконверсії лігноцелюлозних субстратів становила від 14 до 44% [5], що в певній мірі відповідає продуктивності плодівих тіл досліджених нами культур за показником співвідношення отриманої біомаси до загальної маси субстрату.

При вивченні впливу хімічного складу субстрату на ростові показники штамів *P. ostreatus* при твердофазному культивуванні було визначено, що в середньому термін повного заростання субстрату становив

6-7 діб, термін появи примордіїв – 11-19 діб, а урожайність першої хвилі – від 11 до 40 г [4].

Обростання міцелієм *P. ostreatus* субстратів, які містили відходи хвойних порід, відбувалося протягом 20-40 днів (маса субстрату 100-110 г), плодоношення починалось на 26-48 добу, урожайність становила 64-75% [7].

Певні розходження отриманих нами даних із результатами інших експериментальних досліджень може пояснюватися індивідуальними особливостями використаних штамів *P. ostreatus*, різним хімічним складом досліджених субстратів, а також неможливістю прямопропорційного масштабування експериментів. В цілому пропонується нами процедура оцінки дозволяє проводити первинну селекцію нових продуктивних штамів роду *Pleurotus* для введення їх у комерційну культуру, що зумовлює необхідність подальшої розробки багатофакторного аналізу властивостей грибів [17].

ВИСНОВКИ

1. За ростовими показниками – добовим приростом та середньою радіальною швидкістю міцелію були виділені наступні продуктивні культури: серед комерційних штамів – *P. ostreatus* Hk-35, серед дикорослих штамів – *P. ostreatus* P-192, отриманий з плодового тіла, зібраного на території Донецької області.

2. В ході дослідження процесів плодоношення виявлено, що всі вивчені штами *Pleurotus ostreatus* здатні до утворення плодівих тіл *in vitro*. При цьому найбільш продуктивними можна вважати комерційний штам *P. ostreatus* Hk-35 та дикорослий штам P-192, які є лідерами за показниками добового приросту міцелію, швидкості заростання субстрату та накопиченням маси карпофорів при зростанні на зволоженому лушпинні соняшника. Дані штами є перспективними для отримання монокаріонів з подальшою селекцією високопродуктивних промислових культур *Pleurotus ostreatus*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Becker С.Е. Physiology and biochemistry of mushrooms. Moscow: Moscow State University; 1988. 230 p. [In Russian]
2. Belitsky, I.V., Krasnopol'skaya L.M. Seeding mycelium of edible and medicinal xylotrophic fungi: growing technologies and quality criteria. Gavrish 2000; 3: 11. [In Ukrainian]
3. Bilay V. I. Methods of Experimental Mycology. Directory. Kiev: Scientific thought; 1982. 550 p. [In Ukrainian]
4. Velyod'skaya A.K., Fedotov O.V. New receipts to the collection of cabbage mushrooms of the biological faculty of DonNU (Vinnitsya). Fundamental and Applied Research in Biology and Ecology. 2016; p. 36. [In Ukrainian]
5. Vlasenko K.M. Influence of the chemical composition of the substrate on growth parameters, yields and the synthesis of volatile organic compounds in solid-phase cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. Scientific reports of NUBiP of Ukraine. 2018; 2 (72): 18-29. [In Ukrainian]

6. Krupudirova T.A., Barshtein V.Y., Peschuk L.V., Gashchuk O.I., Kostenko Y.E. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. on plant wastes. *Biotechnology acta*. 2014; 7 (4): 92-99. [In Ukrainian]
7. Krupudirova T.A., Barshtein V.Y. Alternative substrates for the cultivation of medicinal and edible fungi. *Microbiology and Biotechnology*. 2012; 5: 47-55. [In Ukrainian]
8. Les M.M. Substrate for the cultivation of ordinary clay (*Pleurotus ostreatus*) in mixtures with coniferous wastes. *Scientific Bulletin of NLTU of Ukraine*. 2011; 21 (9): 33-36. [In Ukrainian]
9. Myronichyova O.S., Ryzhkov A.O. The potential of bioconversion of mushroom waste. The work of TDATU. 2011; 11 (2): 241-245. [In Ukrainian]
10. Priesadsky South. Statistical processing of the results of biological experiments. Donetsk: Cassiopeia; 1999. 210 p. [In Ukrainian]
11. Solovyov I.O., Mudrak S.V. Marketing horizons of mushroom business. *Marketing in Ukraine*. 2005; 1: 18-22. [In Ukrainian]
12. Tishenkov A.D., Galynkin V.A., Kovalenko A.E. *Fundamentals of Biotechnology of Higher Mushrooms. Tutorial*. St. Petersburg: Prospect of Sciences; 2007. 336 p. [In Russian]
13. Fedotov O.V., Chayka O.V., Voloshko T.E., Velyodskaya A.K. The collection of carnivorous mushroom cultures is the basis of mycological research and strategy for preserving biodiversity of basidiomycetes. *Bulletin of Donetsk National University; Sir A: Natural sciences*. 2012; 1: 209-213. [In Ukrainian]
14. Fedotov O.V. Intensity of processes of peroxidation of lipids of strains of fungi of the orders of Agaricales and Polyporales. *Bulletin of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology*. 2016; 24 (2): 317-323. [In Ukrainian]
15. Dubey S.C. Effect of different substrates and amendments on yield of *Pleurotus* sp. *Mycol. Plant Pathol*. 1999; 29: 209-216.
16. Montoya S., Orrego C., Levin L. Growth, fruiting and lignocellulolytic enzyme production by the edible mushroom *Grifola frondosa* (maitake). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012; 4: 1533-1541
17. Myronycheva O., Bandura I., Bisko N., Gryganskyi A., Karlsson O. Assessment of the growth and fruiting of 19 oyster mushroom strains for indoor cultivation on lignocellulosic wastes. 2017; *BioRes*. 12(3): 4606-4626.
18. Niedzielski P., Mleczek M., Budka A., Rzymyski P., Siwulsk M. A screening study of elemental composition in 12 marketable mushroom species accessible in Poland. *European Food Research and Technology*. 2017; 10: 1759-1771.
19. Royse D.J., Zaki S.A. Yield stimulation of *Pleurotus flabellatus* by dual nutrient supplementation of pasteurized wheat straw. *Science and cultivation of edible fungi*. Ed. M. J. Maher. Rotterdam: Balkema; 1991. P. 545-547.
20. Wasser S.P., Weis A.L. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2008; 1: 31-62.
21. Woźniak W., Sobkowska E., Gapiński M., Ziombra M. Wpływ podłoża uprawowego na skład boczniaka ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm.). *Priblemny Higieny*. 1987; 32: 86-98.

UDC 582.284

PRODUCTIVITY OF *PLEUROTUS* STRAINS ON LIGNOCELLULOSIC OILSEEDS WASTE

Tretiakova D.M., Velygodskaya A.K.

The article presents the results of the study of the possibility of obtaining commercial fruit bodies of mushrooms for the cultivation of strains of the genus *Pleurotus* on lignocellulosic waste from the oil industry. The study of growth rates and fertility was carried out in several stages. The initial stage of the research was the study of indicators of radial growth of mycelium 7 strains of the clay common on a standard KGA. The next stage was the study of basidiomata and found the ability to form fruit bodies of mushrooms *in vitro* by all of the experimental strains *Pleurotus ostreatus*. The strains on the wet sunflower husk were first cultivated in complete darkness at a temperature of $+26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ until the substrate was completely overgrown with mycelium (dark phase), after which the flasks were exposed on the rack under the daylight lamp (the intensity of the light was 1500 lux, the temperature – $+ 22^\circ\text{C}$) (light phase). The cultivation process was completed after two fungal waves. To determine linear growth, the diameter of the colony was measured. The investigated mushroom was sown to the center of the surface of a dense nutrient medium and measured the diameter in two mutually perpendicular directions in two to three replicates at certain intervals. In the study of the growth of strains *Pleurotus ostreatus*, the most productive cultures were isolated: *P. ostreatus* Hk-35 and *Pleurotus ostreatus* P-192. According to the indices, when growing on moist husk, sunflower leaders are *P. ostreatus* Hk-35 and wild straw P-192. These strains are promising for the further selection of highly productive industrial crops *Pleurotus ostreatus*.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, mycelium, basidioma, radial height, cultivation.

Стаття надійшла 01. 10. 2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування