

... ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ...

УДК: 582.28:521.19

ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА ПРОЦЕС УТВОРЕННЯ ПРИМОРДІЇВ *PLEUROTUS OSTREATUS* Н.В.Заколесник

Український державний хіміко-технологічний університет (Дніпропетровськ, Україна)
ugxtu@dicht.dp.ua

Досліджували вплив фумару, гібереліну і гетероауксину на розвиток та морфологічний стан міцелію на різних етапах культивування гливи звичайної *Pleurotus ostreatus*. Показано, що регулятори росту, залежно від концентрації, позитивно впливають на процес плодоносіння, хоча неоднозначно діють на ріст міцелію. Досліджені регулятори доцільно використовувати для стимуляції плодоносіння гливи звичайної.

Ключові слова: *Pleurotus ostreatus*, плодоносіння, примордії, рістрегулятори, гіберелова кислота, індоліл-3-оцтова кислота, фумар.

Вступ

Вищі їстівні гриби використовуються у багатьох галузях науки та промисловості: вони здатні до синтезу біологічно активних речовин з протипухлинними, антивірусними, антиснідними, радіопротекторними, антисклеротичними лікарськими властивостями (Методы ..., 1982; Теплякова, Змиевская, 2002), їх додають у раціон жуйних тварин (Martinez-Soto et al., 2001). Застосовують для отримання неклітинних ферментів, для розкладання сільськогосподарських відходів (Considine et al., 1989), як білковий продукт харчування та джерело вуглеводів, вітамінів, мінеральних речовин (Пивень, Ермолаева, 1988).

В останні роки в Європі та Америці проводяться інтенсивні дослідження, які спрямовані на вдосконалення умов культивування грибів, скорочення строків вирощування плодкових тіл та збільшення їх виходу (Kurtzman Ralph, 1997). Японськими вченими запропоновані активатори росту грибів, які отримують шляхом кислотного гідролізу хітозану, їх застосовують на стадії отримання грибного міцелію (Йосикава, Ихара, 1989). У складі субстратів для отримання плодкових тіл грибів солі аліфатичних, ациклічних чи гетероциклічних кислот зумовлюють значне зростання врожаю (Parker, 1991).

За допомогою гіберелової кислоти стимулюють ріст та спороносіння печериці. Але дані стосовно її впливу досить суперечливі, бо вона пригнічує мікоризні базидіоміцети (Муромцев, Агностикова, 1971). Дослідження гормонів пов'язані із з'ясуванням їх комплексу у вищих базидіоміцетів, взаємодії його складових та перетворення вільних і зв'язаних форм, впливу ендогенних фітогормонів на метаболізм грибів (Перепелиця та ін., 2000; Веденічева та ін., 1997). Разом з тим ще не достатньо досліджений вплив рослинних фітогормонів – гібереліну та гетероауксину на процес розвитку вищих грибів на різних етапах онтогенезу – формоутворення міцелію, утворення примордіїв, плодоносіння гливи звичайної.

Метою нашої роботи було виявлення впливу екзогенних індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), гіберелової кислоти (ГК) та синтетичного регулятора росту фумару на ріст та розвиток *Pleurotus ostreatus* на різних етапах культивування.

Об'єкт та методика досліджень

У процесі роботи використовували штам *Pleurotus ostreatus* НК-35 (Duna НК-35), отриманий з мікологічної лабораторії кафедри мікробіології Дніпропетровського національного університету. Дослідження впливу гібереліну, гетероауксину та фумару здійснювали на стадії отримання посівного матеріалу та стадії ініціації. Температурний режим складав 18–22°C. Освітлення – природне, тобто було присутнє тільки в денний період доби. Посівний матеріал вирощували поверхневим методом культивування на твердому агаризованому середовищі. Як живильне середовище використовували кукурудзяний відвар, бо він, на нашу думку, є оптимальним для вирощування вищих базидіоміцетів, так як містить достатню кількість вуглеводів та мінеральних елементів (Скурихин, Нечаев, 1991). Агаризовані живильні середовища готували за стандартною методикою (Руководство ..., 1983).

Гіберелову кислоту використовували у формі препарату «Гіберелін», виробництва ПО «Синтез» Росія, з масовою часткою основної речовини 78%, індоліл-3-оцтову кислоту – «Гетероауксин», із вмістом кислоти 920 г/кг, виробник ЗАО ТПК Техноэкспорт, Росія. Фітогормони вносили у живильне середовище перед стерилізацією в автоклаві ВК-75, а фумар – після автоклавування. Фумар є розробкою вчених Українського державного хіміко-технологічного університету (НВП «Агродар» – виробник), рекомендований до застосування для зернових культур, покращення живцювання винограду, саджанців дерев і деяких декоративних культур. За хімічною природою – це диметилловий ефір амінофумарової кислоти, що утворюється у процесі біологічного окислення органічних кислот (Моргун та ін., 2002).

У досліді було 7 варіантів живильного середовища:

- з вмістом гібереліну 0,005 та 0,0005% (Гк 0,005 та Гк 0,0005);
- з вмістом гетероауксину 0,002 та 0,001% (ІОК 0,002 та ІОК 0,001);
- з вмістом фумару 0,001 та 0,0001% (Ф 0,001 та Ф 0,0001).
- контрольний варіант (кукурудзяний відвар – КВ).

Готові живильні середовища інокулювали маточним міцелієм у стерильних умовах.

Міцелій інкубували у термостаті ТС-80 при 25–27°C протягом 8 діб (до повного заростання чашок Петрі). Дослід виконували у чотириразовій повторності.

Після повного заростання чашок Петрі культуру переносили в освітлене приміщення. Підрахунок кількості примордіїв у чашках Петрі проводили щодобово на всіх варіантах досліді.

За допомогою мікроскопічного аналізу отриманого міцелію перевіряли вплив регуляторів росту на наявність «пряжок» – морфологічних утворень на гіфах, зміни загального вигляду гіф та щільність міцелію. Врожайність гливи звичайної в лабораторних умовах оцінювали за появою примордіїв.

Результати досліджень обробляли методами математичної статистики. На рисунках наведені середні значення та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

При культивуванні міцелію *Pleurotus ostreatus* із застосуванням гібереліну, гетероауксину та фумару спостерігалась динаміка наростання міцелію, яка відображена на рис. 1.

При аналізі даних виявлено, що позитивний вплив на процес наростання міцелію спостерігався перші 4–5 діб культивування на всіх варіантах із застосуванням стимуляторів. Надалі швидкість росту зменшувалась, порівняно з контрольним варіантом. Міцелій, який зростав на середовищі без регуляторів, швидше розвивався у фазі експоненціального росту, а швидкість росту на середовищах з гібереловою, індоліл-3-оцтовою кислотою та фумаром зменшувалась.

Відмічено, що міцелій *Pleurotus ostreatus* швидше росте на середовищах із застосуванням низьких концентрацій стимуляторів росту – Гк 0,0005, ІОК – 0,001, Ф – 0,0001. Використання більш високих концентрацій регуляторів призводить до пригнічення росту міцелію в експоненціальній фазі. Так на 7-у добу на середовищах КВ, ІОК 0,001, Ф 0,0001 та Гк 0,0005 діаметр колоній був максимальний, на ІОК 0,002, Ф 0,001 і Гк 0,005 менше на 8,89, 12,22 та 6,66% відповідно. Всі стимулятори росту протягом 6-ти діб позитивно впливають на ріст міцелію *Pleurotus ostreatus*, а на 7-у добу відмічено гальмування процесу (рис. 1).

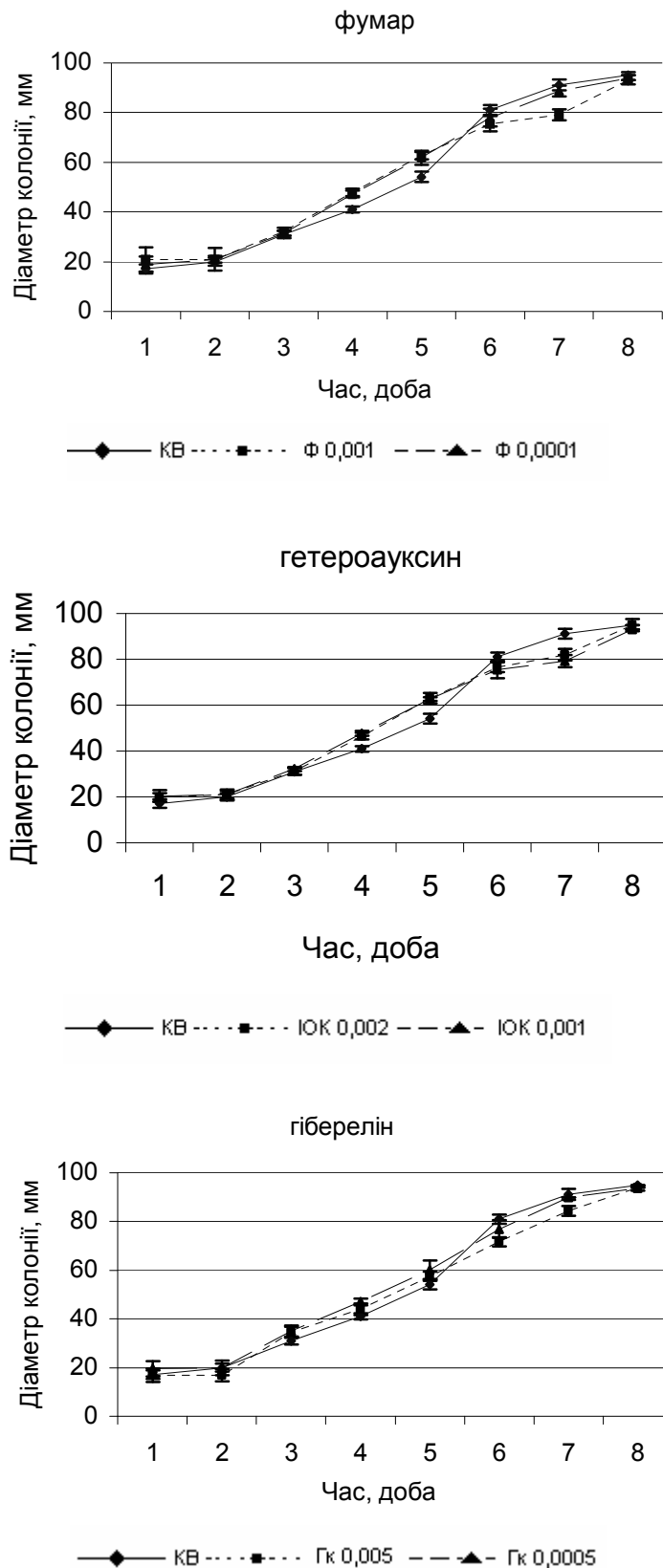
Форма, щільність та висота міцелію, отриманого із застосуванням стимуляторів, не відрізнялась від контрольного варіанту.

Мікроскопічний аналіз міцелію показав, що застосування рістрегуляторів призводить до морфологічних змін у міцелії вищих грибів: на всіх варіантах визначено подовження клітин гіфів, відстань між пряжками значно більша, ніж у контрольному варіанті. Найбільше подовження клітин спостерігалось на варіантах з гетероауксином. У варіантах Гк 0,005, Ф 0,001 виявлено потовщення на кінцях гіф. Кількість пряжок на досліджених варіантах коливалась від 40 до 200 одиниць у полі зору мікроскопу. Найбільшу кількість пряжок відмічено на варіантах з гібереліном та контролі (табл. 1).

Виникнення примордіїв спостерігали протягом 23-х діб. Перші примордії з'явилися на 8-у добу на варіантах ІОК 0,001, Гк 0,005, Ф 0,001. В табл. 1 наведені дані щодо появи примордіїв протягом всього часу спостереження.

Найменша кількість примордіїв утворилась на варіанті ІОК 0,002 та на контролі. Найкраща врожайність прогнозується на середовищі ІОК 0,001 за результатами стадії ініціації, де спостерігалось стабільне збільшення кількості примордіїв протягом всього часу досліді. Добрі результати були отримані на варіантах з гібереліном та фумаром: кількість примордіїв постійно зростала у динаміці. Всі рістрегулятори позитивно впливають на появу зачатків плодкових тіл у порівнянні з контролем.

На нашу думку, рістрегулятори сприяють розвиненню з місць, де знаходяться «пряжки», бокових гіфів, на кінцях яких утворюються зачатки плодкових тіл. Як видно з отриманих даних, кількість «пряжок» не пропорційна кількості примордіїв, тобто не всі «пряжки» можуть дати бокові гіфи, але, чим більше розвивається гіфів, тим вище врожайність, яка прогнозується.

Рис. 1. Вплив гібереліну, гетероауксину та фумару на динаміку росту *Pleurotus ostreatus*

Таблиця 1.
Вплив рiстрегуляторiв на процес утворення примордiїв та пряжок *Pleurotus ostreatus*, n=4

Концентрація регуляторів, %	Число примордiїв на добу росту						Число пряжок на 23-у добу
	8	14	16	18	23	Всього	
ЮОК 0,002	0	0	0	1,00±0,33	1,25±0,23	2,25±0,38	40±2,96*
—//— 0,001	1,25±0,20	4,25±0,20*	5,75±0,69*	8,00±0,74*	11,50±0,51*	30,75±1,46*	50±2,88*
Гк 0,005	1,00±0,52	3,00±0,33*	2,50±0,23*	2,25±0,51*	5,00±0,57*	13,75±1,07*	200±5,27
—//— 0,0005	0	2,00±0,33	2,00±0,33	2,75±0,69*	3,50±0,23*	10,25±0,90*	100±6,55
Ф 0,001	0,75±0,20	1,25±0,2	0,50±0,23	2,75±0,39*	4,25±0,61*	9,50±1,07*	70±2,78
—//— 0,0001	0	0	1,00±0	1,00±0,33	8,00±0,88*	10,00±1,15*	40±3,18*
Контроль	0	0,75±0,2	0,75±0,20	0,50±0,23	0,75±0,20	2,75±0,44	190±4,40

* – рiзниця мiж контролем i варiантом iстотна при $p < 0,05$.

Висновки

За результатами проведеної дослідницької роботи можна зробити наступні висновки.

На стадії отримання посівного матеріалу фумар, гіберелова кислота та індоліл-3-оцтова кислота чинять незначний позитивний ефект на швидкість наростання міцелію. Гк у концентрації 0,005%, ЮОК 0,002% та Ф 0,001% навіть пригнічують ріст гриба під час експоненціальної фази росту. Це, можливо, пояснюється надлишковим вмістом фітогормонів та регулятору росту – фумару в живильному середовищі, які надалі включаються у цикл гормональної регуляції гриба та негативно впливають на його метаболізм.

Індоліл-3-оцтова кислота сприяє розтягненню клітин гіф гриба та в концентрації 0,001% прискорює процес утворення зародків плодових тіл і збільшує їх кількість.

Рiстрегулятори сприяють розтягненню клітин гіфів гриба та їх потовщенню на кінцях, тобто ці речовини викликають не тільки фізіологічні, а й морфологічні зміни міцелію.

На варіантах Гк 0,005 та Ф 0,001 отриманий міцелій, який на фазі ініціації показує найкращі результати: тобто скорочується лаг-фаза, він скоріше пристосовується до змін в навколишньому середовищі (освітлення, температура), що сприяє прискоренню плодоношення.

Досліджувані регулятори росту позитивно впливають на процес плодоношення, кількість примордiїв збільшується у декілька разів, незважаючи на процес гальмування росту міцелію на 7-у добу у порівнянні з контролем. Активну дію стимулятори росту проявляють переважно у низьких концентраціях (гіберелова кислота 0,0005%, індоліл-3-оцтова кислота – 0,001%, фумар – 0,0001%).

Список літератури

- Веденічева Н.П., Генералова В.М., Бісько Н.А. та ін. Фітогормональний комплекс гливи звичайної // Укр. ботан. журн. – 1997. – Т.54, №3. – С. 266–271.
- Йосикава Масаёси; Ихара Кэмикару Кочё И.К. (Япония). Интенсификатор роста грибов. Пат. 35544 Япония, МКИ⁴ А 01 Н 43/16, А 01G 1/04. – Заявка №1211508; Заявл. 18.02.1988; Оpubл. 24.08.1989. – 2с.
- Методы экспериментальной микологии. Справочник / Отв. ред. В.И.Билай. – К.: Наук. думка, 1982. – 550с.
- Моргун В.В., Яворська В.К., Драговоз І.В. Проблема регуляторів росту у світі і її вирішення в Україні // Фізіологія та біохімія культурних рослин. – 2002. – Т.34, №5. – С. 371–375.
- Муромцев Г.С., Агнестикова В.Н. Гиббереллины и урожай. – М.: Колос, 1971. – 127с.
- Перепелиця Л.О., Генералова В.Н., Васюк В.А., Мусатенко Л.І. Фітогормони деяких базидіоміцетів // Укр. ботан. журн. – 2000. – Т.57, №4. – С. 437–442.
- Пивень І.О., Ермолаєва В.Н. Выращивание шампиньонов и вешенки. – Львов: Каменяр, 1988. – 89с.
- Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С.Егорова. – М.: МГУ, 1983. – 222с.
- Скурихин И.М., Нечаев А.П. Все о пище с точки зрения химика: Справ. издание. – М.: Высш. шк., 1991. – 288с.

Теплякова Т.В., Змиевская Е.В. Товароведно-технологическая характеристика вешенки розовой // Тезисы международного симпозиума «Федеральные и региональные аспекты государственной политики в области здорового питания». – Кемерово, Притомское: Изд-во Кемер. технол. ин-та пищ. пром-сти, 2002. – С. 76–78.

Considine P.J., Buckley R.J., Griffin T.O. et al. A simple and inexpensive method of solid-state cultivation // Biotecthnol. Techn. – 1989. – Vol.3, №2. – P. 85–90.

Kurtzman Ralph H. Production and cultivation of mushrooms in the West, particularly Europe and North America // Food Rew. Int. – 1997. – Vol.13, №3. – P. 497–516.

Martinez-Soto G., Ocano-Camacho R., Paredes-López O. Effect of pretreatment and drying on the quality of oyster mushrooms (*Pl. ostreatus*) // Drying technol. – 2001. – Vol.19, № 3–4. – P. 661–672.

Parker F.H. (Великобритания). Method and composition for promoting mushroom growth. Пат. 9014769 S, МКИ⁵ С 05 F 11/00, А 01G 1/04. – Заявка №2234966; Заявл. 03.07.90; Опубл. 20.02.91.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ ПРИМОРДИЕВ *PLEUROTUS OSTREATUS*

Н.В.Заколесник

Исследовали влияние фумара, гиббереллина и гетероауксина на развитие и морфологическое состояние мицелия на разных этапах культивирования вешенки обыкновенной *Pleurotus ostreatus*. Показано, что регуляторы роста, в зависимости от концентрации, позитивно влияют на процесс плодоношения, хотя неоднозначно действуют на рост мицелия. Исследованные регуляторы целесообразно применять для стимуляции плодоношения вешенки обыкновенной.

Ключевые слова: *Pleurotus ostreatus*, плодоношение, примордии, рострегуляторы, гибберелловая кислота, индолил-3-уксусная кислота, фумар.

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON PROCESS OF PRIMORDIA FORMATION OF *PLEUROTUS OSTREATUS*

N.V.Zakolesnyk

The influence of fumar, gibberellin and heteroaucsin on development and morphological state of mycelium on the different stages of cultivation of *Pleurotus ostreatus* is considered. It is shown, that regulators of growth positively influence on the process of fructification, depending on concentration, but they not uniquely act on mycelium growth. The investigated regulators are expedient for applying for stimulation of the fructification of *Pleurotus ostreatus*.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, fructification, primordia, growth regulators, gibberellic acid, indolil-3-acetic acid, fumar.

Представлено Т.П.Кілочок

Рекомендовано до друку В.В.Жмурком