

УДК 582.284

В. В. Трухоновец, кандидат биологических наук, доцент (Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины); **Н. А. Бисько**, ведущий научный сотрудник (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины);
Н. Л. Поединок, старший научный сотрудник (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины); **О. Б. Михайлова**, старший научный сотрудник (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины); **Н. Ю. Митропольская**, старший научный сотрудник (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины); **Т. А. Колодий**, ассистент (Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины); **И. А. Булавкина**, лаборант (Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины); **Д. В. Плащинская**, лаборант (Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины)

РОСТ И ПЛОДОНОШЕНИЕ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *HERICIUM ERINACEUS* (BULL.: FR.) НА РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТРАТАХ

В статье приведены особенности вегетативного роста и плодоношения гриба *Hericium erinaceus* на пяти растительных субстратах. Продемонстрирована целесообразность выращивания посевного мицелия гриба на зерновых субстратах, получения плодовых тел на субстрате из опилок в смеси с отрубями. Показано, что лазерное излучение в дозах 45–230 мДж/см² активизирует процесс прорастания спор *H. erinaceus* в 10–100 000 раз.

The paper presents the features of vegetative growth and fruiting of the fungus *Hericium erinaceus* on 5 plant substrates. The expediency of growing of spawn mycelium on grain substrates, obtaining fruiting bodies on a substrate in a mixture of sawdust and bran. It is shown that laser irradiation at doses of 45–230 mJ/cm² intensify the process of spore germination.

Введение. В последние десятилетия искусственное выращивание грибов получило большое распространение во многих странах мира. Неизменными лидерами грибного производства являются Китай, США, Голландия, Франция и Польша. Во многом их лидерство обусловлено правильной инвестиционной политикой, обширной сырьевой базой и постоянным внедрением новых технологий и видов грибов. В Беларуси и Украине в промышленных объемах культивируют шампиньон двуспоровый и вешенку обыкновенную, а также начинают осваивать шиитакэ, опенок зимний. Для дальнейшего развития грибоводства наших стран важным является интродукция новых видов и штаммов съедобных и лекарственных грибов. Внимание многих исследователей направлено также на изучение возможности использования грибов в качестве источника биологически активных веществ [1, 2]. Функциональные препараты на основе грибов производятся и широко используются во многих странах мира [3–5]. Перспективным природным источником веществ пищевого и медико-биологического значения является базидиальный гриб гериций шиповатый, *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. Целебные свойства данного гриба подтверждены многовековой историей фунготерапии, а также клиническими исследованиями, проведенными в Юго-Восточной Азии, Европе, Америке. Гериций шиповатый и получаемые из его плодовых тел препараты используются для лечения и профилактики различных заболеваний

человека [6]. Лидерами по производству и использованию *H. erinaceus* являются Китай, Япония и США. Гриб гериций шиповатый сочетает в себе высокие вкусовые и питательные качества, а также синтезирует широкий комплекс веществ белковой, липидной природы, пигменты, витамины и другие физиологически активные соединения. Полисахариды и хитин-глюкановый комплекс обеспечивают высокие онкостатические, иммунокорректирующие и другие свойства грибов [6–8]. Следовательно, интродукция *H. erinaceus* в промышленное производство Беларуси и Украины позволит увеличить объемы производства грибов, расширить их ассортимент, получить ценное сырье для пищевой и фармацевтической промышленности.

Целью наших исследований являлось изучение особенностей вегетативного роста и плодобразования штаммов *H. erinaceus* на местных растительных субстратах, а также влияние сроков и условий хранения базидиоспор гриба на их прорастание.

Основная часть. В исследованиях использовались чистые культуры *H. erinaceus* из Коллекции шляпочных грибов (ИВК) Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины. Для исследований роста мицелия и получения плодовых тел гриба применяли субстраты из соломы, зерна, а также из осиновых опилок в чистом виде или обогащенных отрубями. Осиновые опилки смешивали с пшеничными отрубями в весовом соотношении 75% : 25%; 85% : 15% и 90% : 10% соответственно. Субстраты

увлажняли водой до 65%. Зерно пшеницы отваривали. Для изучения вегетативного роста штаммов гриба субстрат фасовали в биологические пробирки, для исследования плодообразования – по 200 г в 0,5-литровые банки. Емкости закрывали алюминиевой фольгой. Повторность – 5-кратная. Субстрат стерилизовали в автоклаве при температуре 119–121°C, давлении 0,12 МПа в течение 1 ч. После охлаждения субстрат в стерильных условиях инокулировали посевным зерновым мицелием штаммов 963 и 965 в количестве 5% от массы субстрата. Емкости с инокулированным субстратом инкубировали при 26°C в течение 30 сут. Рост мицелия измеряли на 7-е, 11-е, 14-е, 17-е, 19-е, 21-е, 24-е сут. Плотность обрастания субстрата мицелием оценивали по 6-балльной шкале на 28-е сут: 0 – мицелий на субстрате отсутствует; 1 – мицелий очень редкий, плохо различимый невооруженным глазом; 2 – мицелий редкий, просвечивающийся, хорошо виден субстрат; 3 – мицелий средней плотности, субстрат различим; 4 – мицелий плотный, субстрат еле-еле различим; 5 – мицелий очень плотный, субстрат не виден. На 30-е сут организовывали условия для получения плодовых тел гриба: температура воздуха 14–18°C, интенсивность освещения – 100–300 люкс, влажность воздуха – 90–95%, 5-кратный воздухообмен. Для исследования были также собраны базидиоспоры трех штаммов *H. erinaceus*, которые существенно отличались способностью спор к прорастанию (процент прорастания штамма 993 составлял $1,4 \cdot 10^{-4}$, 1756 – $1,3 \cdot 10^{-2}$ и He13 – 9,6%).

Споровые отпечатки помещали в чашки Петри и подвергали действию лазерного облучения в красной части спектра (лазер ЛГН-215, длина волны 632,8 нм) в дозах 45, 230 и 650 мДж/см². Из облученных базидиоспор готовили водные суспензии под микроскопом в камере Горяева, для каждого штамма определяли концентрацию спор и высевали на поверхность голодного агара, равномерно распределяя суспензию. Инкубировали в темноте при температуре 26°C. Прорастание спор контролировали под микроскопом каждый день. Отдельно лежащие проросшие споры изолировали в пробирки с сусло-агаром. Сформированные мицелиальные структуры анализировали на наличие пряжек и кариотичность. Ядра окрашивали по методу Гимза [9]. Повторность опытов 3–5-кратная.

При выращивании плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов часто используются соломенные и опилочные субстраты, для производства посевного мицелия – зерновые. Для оценки возможности применения данных субстратов для культивирования *H. erinaceus* нами изучался мицелиальный рост двух штаммов *H. erinaceus* на пяти растительных субстратах (рис. 1–2).

Из рис. 1 и 2 видно, что наибольшая скорость мицелия наблюдалась при культивировании штаммов *H. erinaceus* на зерне и соломе, а на опилочных – несколько ниже. Среднесуточная скорость роста штаммов гриба за исследуемый период находилась в пределах 3,6–5,0 мм/сут.

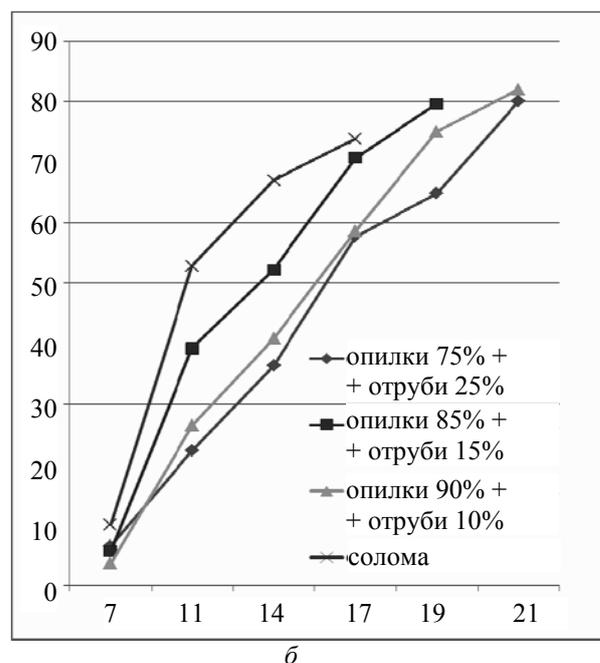
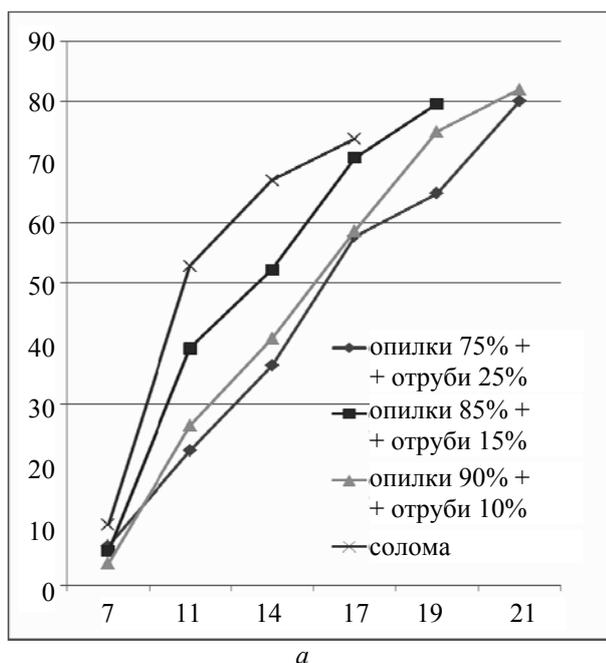


Рис. 1. Динамика вегетативного роста штаммов *H. erinaceus* 963 (а) и *H. erinaceus* 965 (б) на растительных субстратах. По оси абсцисс возраст грибной культуры, в сутках; по оси ординат – высота слоя субстрата, проросшего мицелием, в миллиметрах

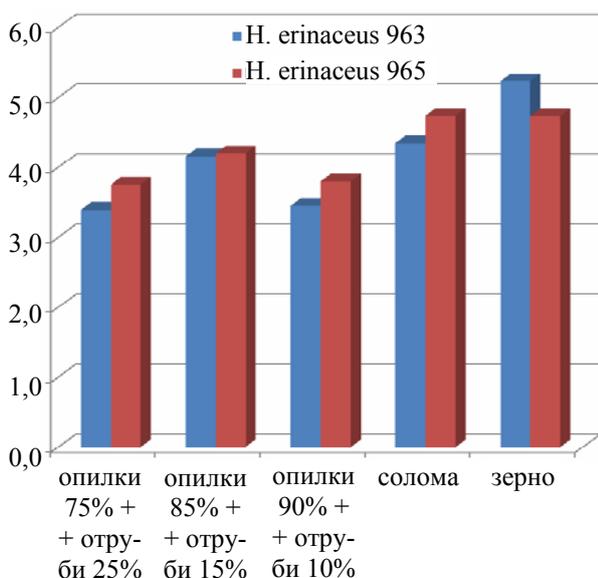


Рис. 2. Среднесуточная скорость вегетативного роста штаммов *H. erinaceus* на растительных субстратах

Следует отметить, что скорость мицелиального роста гриба не была величиной постоянной и менялась в зависимости от возраста, штамма и состава субстрата от 1 до 7,8 мм/сут. На начальном этапе развития герициума шиповатого плотность обрастания субстрата мицелием гриба была низкой, от 1 (солома, зерно) до 2 баллов (опилки с отрубями), с возрастом на 28-е сут увеличивалась от 2 (солома) до 3–4

(опилки с отрубями) и даже 4–5 баллов (зерно). В целом можно сделать предварительный вывод, что зерновые субстраты можно рекомендовать для производства посевного мицелия *H. erinaceus*.

Полное обрастание субстрата мицелием герициума шиповатого в 0,5-литровых банках происходило в течение 28–30 сут. Появление примордий гриба отмечено на 53–59-е сут после инокуляции субстрата. Полное формирование плодовых тел при температуре 14–15°C заканчивалось за 10–14 сут, при температуре 16–18°C за 6–9 сут. Плодовые тела *H. erinaceus* белого цвета, иногда, при низкой температуре, с кремоватым и даже розовым оттенком, очень нежные, округлой формы, состоят из коралло-видного разветвленного основания в виде ветвей, густо покрытых шипиками. Диаметр плодовых тел в эксперименте не превышал 10 см, масса одного плодового тела – 60 г. Повторное плодоношение наблюдалось через 10–14 сут. Штамм *H. erinaceus* 963 отличался более высокой урожайностью (табл. 1). Наиболее высокий урожай получен на субстрате, состоящем из 90% опилок и 10% отрубей (18,8–25,4% от массы субстрата), самый низкий на соломе (1,3–5,2% от массы субстрата). Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о перспективности культивирования штамма *H. erinaceus* 963 на субстрате, состоящем из смеси осинового опилок (90%) и отрубей (10%).

Таблица 1

Урожайность штаммов *H. erinaceus* на растительных субстратах

Штамм	Единица измерения	Субстрат			
		опилки 75% + отруби 25%	опилки 85% + отруби 15%	опилки 90% + отруби 10%	солома
<i>H. erinaceus</i> 963	грамм	44,3 ± 4,2	49,9 ± 4,8	50,7 ± 4,0	10,3 ± 3,3
	%	22,1 ± 2,6	25,0 ± 2,4	25,4 ± 2,0	5,2 ± 1,6
<i>H. erinaceus</i> 965	грамм	26,4 ± 8,8	24,6 ± 2,9	37,5 ± 8,8	2,5 ± 1,6
	%	13,2 ± 4,4	12,3 ± 1,5	18,8 ± 4,4	1,3 ± 0,8

Таблица 2

Влияние лазерного излучения (632,8 нм) на прорастание базидиоспор *H. erinaceus*

Штамм	Прорастание базидиоспор							
	72-й час				96-й час			
	Без облучения	45 мДж/см ²	230 мДж/см ²	650 мДж/см ²	Без облучения	45 мДж/см ²	230 мДж/см ²	650 мДж/см ²
993	0	1,6	8,6	0	0,9 · 10 ⁻⁶	2,75	11,42	0
1756	0	1,3 · 10 ⁻⁶	6,6 · 10 ⁻⁶	0	0,6 · 10 ⁻⁴	1,0 · 10 ⁻³	0,8 · 10 ⁻²	0
He13	9,6	13	36	0	13,6	82	98	0

Таблица 3

Влияние лазерного излучения (632,8 нм) на сроки прорастания базидиоспор *H. erinaceus* и образование воздушного мицелия

Доза облучения, мДж/см ²	Прорастание базидиоспор, сут, %						Образование воздушного мицелия, сут
	3	5	7	9	12	14	
Контроль	0	0	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$	10
45	1,6	2,8	4,5	4,8	–	–	7
230	8,3	13,0	13,3	–	–	–	7
650	–	–	–	–	–	–	–

Примечание. «←» – исследования не проводились.

Получение базидиоспор, их проращивание является очень важным этапом в ряде микологических исследований. Большое значение многими исследователями уделяется получению высших базидиальных грибов из базидиоспор [10]. Монокариотичные культуры, выделенные из одной базидиоспоры, используются в экспериментах, связанных с получением гибридных штаммов, изучением таксономии, генетики, половой дифференциации и другими исследованиями базидиомицетов. Полученные нами результаты показали (табл. 2), что лазерное излучение в дозах 45–230 мДж/см² активизировало процесс прорастания спор у штамма He13 приблизительно в 10 раз, у штамма 1756 – в 100, у 993 – в 105 раз. Причем действие лазера было тем эффективней, чем более низким был начальный процент прорастания спор.

Такую зависимость наблюдали и другие исследователи при стимуляции роста микроорганизмов путем лазерного облучения, причем была выявлена сезонность в ростостимулирующем эффекте, т. е. фоторегуляция в позитивном смысле слова (стимуляция) может проходить только тогда, когда пролиферативная активность клеток (скорость роста культуры) не является максимальной. Летом, когда рост культуры ускорялся, эффект фотостимуляции роста практически не наблюдали, зимой он был максимальным, а весной и осенью – промежуточным.

Кроме увеличения процента прорастания, мы выявили также сокращение времени прорастания облученных спор и формирования воздушного мицелия на агаризованной среде сравнительно с начальными показателями у исследованных штаммов (табл. 3).

У 50 моноспоровых изолятов штамма He13, полученных с базидиоспор и облученных лазерным светом, изучали динамику роста. Полученные результаты дают основание утверждать, что такая обработка позволяет втрое увеличить

скорость роста моноспоровых культур, что имеет большое значение в селекционной работе.

Анализируя полученные результаты, можно допустить, что облучение низкоинтенсивным лазерным светом приводит к перестройке метаболизма клеток гриба и выступает его регулятором. Известно, что скорость прохождения клеточного цикла зависит от многих факторов (ионный состав питательной среды, присутствие гормонов, факторов роста и пр.). Возможно, что монохроматический свет, к которому грибы не адаптированы (в отличие от солнечного света, к которому организмы адаптированы в процессе эволюции), выступает как фактор окружающей среды, способный влиять на активность грибной клетки. В зависимости от штамма, лазерное излучение в дозах 45–230 мДж/см² активизирует процесс прорастания спор *H. erinaceus* в 10–100 000 раз. Причем действие лазера было тем эффективней, чем более низким был начальный процент прорастания спор.

В целом, проведенные исследования показали, что наибольшей урожайностью (25,4% от массы субстрата) оказался субстрат из осинового опилок (90%) в смеси с отрубями (10%). Показано, что низкоинтенсивное лазерное излучение стимулирует ростовые процессы и процессы прорастания спор *H. erinaceus*.

Работа выполнена при поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований и Государственного агентства по вопросам науки, инноваций и информатизации Украины.

Литература

1. Соломко, Э. Ф. Лекарственные свойства базидиальных макромицетов / Э. Ф. Соломко, А. С. Бухало // Проблемы экспериментальной ботаники и экологии растений. – 1997. – Вып. 1. – С. 156–167.
2. Comparative Enzyme Analysis of *Polyporus umbellatus*, *Agaricus blazei*, *Pleurotus osteratus* and *Hericium erinaceus* / С. Cornelius [et al.] //

Clinical Journal of Mycology, July, 2009. – Vol. 3, edition 1. – P. 5–7.

3. Коломиец, Э. Бад нового поколения / Э. Коломиец, В. Бабицкая, Т. Пучкова // Наука и инновации. – 2006. – № 2. – С. 29–35.

4. Горовой, Л. Ф. Препарат «Микотон», полученный из высших базидиальных грибов / Л. Ф. Горовой // Успехи медицинской микологии: материалы первого Всерос. конгресса по медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2003. – Т. 1. – С. 271.

5. Горовой, Л. Ф. Антиинфекционные свойства препарата «Микотон», созданного на основе грибных биополимеров / Л. Ф. Горовой, О. Ф. Сенюк, Г. В. Бекетова // Успехи медицинской микологии: материалы первого Всерос. конгресса по медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2003. – Т. 1. – С. 27.

6. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Практические рекомендации / А. С. Бухало [и др.]; под ред. А. С. Бухало. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 2004. – 128 с.

7. Влияние субстратов на рост базидиальных грибов и их биохимические показатели /

Т. А. Пучкова [и др.] // Рациональное использование и воспроизводство лесных ресурсов в системе устойчивого развития: материалы международного науч.-практ. конф., Гомель, 5–7 сент. 2007 г. / Ин-т леса НАН Беларуси; редкол.: А. И. Ковалевич [и др.]. – Гомель: Ин-т леса НАН Беларуси, 2007. – С. 304–307.

7. *Hericium erinaceus*: биотехнология культивирования и противоопухолевые свойства / И. В. Белицкий [и др.] // Успехи медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2006. – С. 225–227.

8. Оценка иммунологического статуса больных при применении БАДов серии «Микосвит» / Н. А. Бисько [и др.] // Успехи медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2006. – С. 180–182.

9. Методы экспериментальной микологии / И. А. Дудка [и др.]. – Киев: Наукова думка, 1982. – 552 с.

10. Бухало, А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А. С. Бухало. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.

Поступила 01.03.2012