УДК 57.083.12*13:582.475.4:630*232

И.А. Хархасова, асп., мл. науч. сотр.
(ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», г. Гомель)

ПОЛУЧЕНИЕ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ МИКОРИЗООБРАЗУЮЩЕГО ГРИБА *IMLERIA BADIA (FR.) VIZZINI*

Imleria badia (польский гриб) является не только съедобным грибом, относящимся ко второй категории, но также и хорошим микоризообразователем хвойных пород, а в особенности сосны обыкновенной.

Чистую культуру микоризообразователя получают в асептических условиях путем выделения грибного материала (спор или эксплanta вегетативной ткани), что требует подбора условий стерилизации материала и питательных сред для культивирования [1].

Исходя из выше сказанного, целью данной работы являлось введение польского гриба в чистую культуру для изучения ростовых параметров и морфологических особенностей при выращивании на питательных средах с целью дальнейшей микоризации посадочного материала хвойных пород в условиях лесных питомников.

В качестве объекта исследования были использованы плодовые тела польского гриба. Сбор плодовых тел проводили в сосновых насаждениях на территории Грабовского лесхоза, в период их массового появления в сухую погоду. Выбирали молодые неповрежденные плодовые тела, хранили материал в течение 1 недели в холодильнике в промаркированных полиэтиленовых пакетах.

Плодовые тела очищали от растительных остатков и фрагментов почвы, быстро, избегая напитывания влагой рабочего материала, протирая тряпкой, вымоченной в проточной воде. Дальнейшую обработку проводили в ламинар-боксе, подсушив материал на фильтровальной бумаге. Стерилизацию проводили в 70% этиловом спирте погружая цельное плодовое тело на 1 минуту и, после промывая стерильной дистиллированной водой.

Следующим этапом стерилизации плодовое тело погружали в 0,1% раствор хлорида ртути (II) на 5-10 секунд, далее повторно ополаскивали стерильной дистиллированной водой. После извлечения плодовое тело промакивали стерильной фильтровальной бумагой и отделяли ножку плодового тела. Из шляпки стерильно высекали эксплanты размером не более 5 миллиметров таким образом, чтобы не задевать поверхностное покрытие и болеты.

Для выделения инокулюма использовали внутренние, стерильные части ткани. Обработанное плодовое тело одним стерильным

скальпелем разрезали, а другим высекали фрагменты тканей размером около 0,5 см, таким образом, чтобы не задевать поверхностное покрытие и болеты, перенося их по 5 в чашки Петри на плотные питательные среды: ½ Murashige-Skoog (½ MS),картофельно-глюкозный агар (КГА) и среда Чапека, применяя в качестве уплотнителя агар-агар. Водородный показатель (pH) доводили до значений 5,6-5,8 и автоклавировали 20 минут при 0,5 атм (112°C). Чашки с инокулюмом плотно оборачивали полиэтиленовой пленкой для предотвращения пересыхания и помещали в термостат, где культивировали при 24°C.

Подготовку лабораторной посуды и инструментов, посев и культивирование материала проводили согласно общепринятым методикам микробиологических работ [2]. Отмечали продолжительность культивирования до покрытия инокулюма растущими гифами, морфологические особенности развивающегося мицелия, а также срок до полного обрастания им поверхности среды.

Верификацию видовой принадлежности исходного материала и полученной культуры гриба проводили с использованием молекулярно-генетических методов. ПЦР проводилась с использованием набора DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific, США) согласно прилагаемой инструкции. Для амплификации маркерного регион рДНК (ITS1) использовали праймеры ITS1F/ITS2 [3]. ПЦР-продукты секвенировались по Сэнгеру на базе генетического анализатора 3500 Applied Biosystems. Видовая идентификация осуществлялась в базе данных NCBI [4].

После 10 суток культивирования эксплантов из плодовых тел на питательной ½ MS отмечали начало роста гиф, формирующих пушистый мицелий молочно-белого цвета. В случае использования остальных питательных сред, учавствующих при введении экспланты на чашках некротизировали и не имела признаков роста. Через 5-6 суток начинался переход мицелия к росту по поверхности питательной среды, вначале в виде тонкой сети неокрашенных гиф, которые по мере развития утолщались.

Следует отметить, что интенсивность роста мицелия польского гриба на среде MS была крайне низкой, на 23 сутки культивирования уплощенные колонии достигли диаметра 18 мм и прекратили свой рост. В связи с этим было принято решение изменить среду культивирования на модифицированную среду Melin-Norkrans (MMN) и Woody Plant Medium (WPM).

На питательной среде MMN первые гифы, знаменующие начало роста колонии, появились уже на третьи сутки, та же картина отмечалась и на питательной среде WPM. Уже на десятые сутки можно было

увидеть явные ростовые отличия мицелия на средах. Так на питательной среде WPM к этому времени мицелий польского гриба стал плотным и дал стабильную культуру 27 мм в диаметре, в то время как на питательной среде WPM ростовые показатели мицелия польского гриба достигли только 19 мм.

Таким образом, на основании полученных результатов установлено, что выделение и поддержание польского гриба *in vitro* следует проводить на плотной питательной среде Woody Plant Medium. Питательные среды ½ MS и MMN можно использовать при длительном беспересадочном хранении чистой культуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Molina R., Palmer J.G. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi // Methods and principles of mycorrhizal research. – St. Paul, MN: American Phytopathological Society. – 1982. P. 115–129.

2. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа. 2004. С. 149–165.

3. Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specifity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology, 1993, vol. 2, no. 2, pp. 113–118.

4. National Center for Biotechnological Information, NCBI. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ (accessed 24.11.2023)

УДК 58.002+ 343.98

А.Н. Хох, зав. лабораторией
(НПЦ ГКСЭ, г. Минск)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИК-СПЕКТРОСКОПИИ В СОЧЕТАНИИ С ХЕМОМЕТРИЧЕСКИМИ АЛГОРИТМАМИ АНАЛИЗА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ФАКТОВ ФАЛЬСИФИКАЦИИ ТЕРМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ДРЕВЕСИНЫ МЯГКИХ ЛИСТВЕННЫХ ПОРОД

Древесина мягких лиственных пород имеет ряд недостатков, которые ограничивают ее применение в строительстве. Так, она быстро загнивает из-за отсутствия смолистых веществ, растрескивается при высыхании и, как правило, имеет достаточно низкие прочностные показатели. Для устранения указанных недостатков применяются различные способы модификации древесины, в том числе и термическая модификация. Термически модифицированная древесина является экологически безопасным материалом, имеет повышенную био- и из-