

УДК 57.02:631.151.6:632.954:631.811.98:633.16

Біотехнології отримання міцелію гливи звичайної на зерні пшениці різних сортів

Іванова Т. В., кандидат сільськогосподарських наук
Ковалишина Г. М., доктор сільськогосподарських наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України
Україна, 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15
e-mail: tivanova1@ukr.net

Мета. Дослідити вплив сортових властивостей зерна різних сортів пшениці озимої на ріст вторинного міцелію гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* штаму НК-35. **Методи.** Дослідження проводили на кафедрі екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України впродовж 2015–2018 рр. з сортами пшениці м'якої озимої селекції Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла НААН –Берегиня миронівська, Зимоярка, Мирлена, Миронівська 65, Смуглянка, Подолянка. Використовували біотехнологічні (одержання і субкультивування штаму НК-35 в умовах *in vitro*), мікробіологічні (отримання чистої культури гриба, вивчення культуральних властивостей колоній, вимірювання водневого показника рН живильного середовища), мікологічні (вимір швидкості, визначення радіального росту міцелію, біологічної ефективності гриба) та статистичні методи. **Результати.** У ході експерименту було встановлено, що максимальне вторинне середовища міцелієм відбувається на 21-у добу. Дослідження з отримання міцелію *Pleurotus ostreatus* на різному зерновому матеріалі свідчать, що для напрацювання міцелію гливи звичайної доцільно використовувати зерно пшениці озимої. Для отримання первинного міцелію з метою подальшого розвитку вторинного міцелію *Pleurotus ostreatus* кращим живильним середовищем був відвар вівса з додаванням відвару з кори дуба. Радіальний ріст первинного міцелію при цьому становив 210,4 мм. Показано залежність швидкості росту міцелію від сорту пшениці, строків, а також режимів культивування, які ефективно впливають на технологію отримання вторинного міцелію. Переваги субстрату із зерна пшениці – підвищена життєздатність і швидке розростання міцелію. Кращі результати одержано за інокуляції зерна методом агаризованих блоків шаровим способом (приріст міцелію – 5,1 мм/добу) на відміну від методу посіву платиною петлею (3,6 мм/добу). **Висновки.** Для виробництва зернового міцелію гливи звичайної пропонуємо використовувати сорти пшениці озимої Миронівська 65 і Мирлена, які найкраще зарекомендували себе як зерновий субстрат.

Ключові слова: глива звичайна, міцелій, зерновий субстрат, пшениця, сорт

Вступ. Гриби є унікальною культурою овочівництва закритого ґрунту. На відміну від вирощування вищих рослин культура грибів відносно недавно піддалася інноваціям. Історично склалося, що в дикій природі гриби збирали для споживання та медичного застосування. Для харчування та лікувальних цілей використовували більше 200 видів грибів, переважно на Далекому Сході. Уперше про комерційне вирощування їстівних грибів згадується в XVII ст. у Франції. До нашого часу близько 35 видів грибів культивуються з комерційною метою. Завдяки високій поживній та лікувальній цінності близько 20 з них вирощують у промисловому масштабі в усьому світі. Тому першочерговим завданням у грибівництві є отримання міцелію грибів. Цей процес полягає у рості грибного міцелію в середовищі з контрольованими умовами вирощування. Як матрицю для міцелію зазвичай використовують стерильне зерно, що за біохімічними властивостями та практичною продуктивністю має перевагу над іншими субстратами. На жаль, постійно зростаюча потреба у харчовому зерні для споживання людини переводить на другий план його застосування для виробництва міцелію. Розвиток грибівництва в Україні виявив потребу в нових оптимальних умовах для росту та живлення міцелію, що сприяють реалізації сучасних вимог: вдосконалення процесу отримання міцелію шляхом підбору сортів зернових як субстрату, збільшення обсягу посівного матеріалу, підвищення продуктивності і товарних якостей міцелію [1, 2].

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Промислово культивовані їстівні гриби є цінним, екологічно безпечним харчовим продуктом з вираженими цілющими властивостями. Гриби мають високий вміст вітамінів, мінералів і білків, стимулюють імунну систему людського організму, справляють на нього загальнозмцнюючу і тонізуючу дію. Крім того, гриби є важливим резервом у розширенні асортименту продукції, що вирощується у спорудах закритого ґрунту.

Основою для отримання якісного міцелію є правильно приготовлене зернове живильне середовище для його культивування. Актуальним завданням виробництва посівного матеріалу грибів є науково обґрунтований підхід до вибору перспективної сировини для живильного середовища і технології її підготовки, оскільки біологічні властивості зерна визначають режими його термообробки і подальші терміни зберігання міцелію.

Назрілим є питання щодо удосконалення окремих біотехнологічних прийомів отримання посівного матеріалу їстівних грибів, що дасть можливість скоротити тривалість виробничого процесу і прискорити обіг культури міцелію в рік. Розв'язати цю проблему можливо шляхом використання низькотемпературного способу стерилізації, який широко застосовується в медицині більшості країн світу.

Дуже гостро стоїть проблема стійкості міцелію проти зеленої плісняви роду *Trichoderma*, що колонізує субстратні блоки і викликає відмирання міцелію на ранніх стадіях розвитку. У зв'язку з цим великого значення набуває розробка біотехнологічних прийомів, спрямованих на посилення захисно-стимулюючих властивостей середовища для вирощування міцелію, що забезпечить отримання екологічно чистої продукції [1, 2].

Останніми роками в Україні ведеться розробка способів отримання міцелію їстівних та лікарських грибів шляхом глибинного культивування на поживному середовищі (з додаванням цитрату цинку, цитрату селену, цитрату германію, що отримані за аквананотехнологією, та дигідрофосфату калію і пептону як азотовмісної добавки); способів обробки посівного міцелію їстівного гриба *Pleurotus ostreatus* шляхом дії на нього низькоінтенсивним лазерним випромінюванням у червоній частині спектра (довжина хвилі 633 нм) [2].

Проте, нерозкритими залишаються питання щодо впливу зерна різних сортів пшениці на проходження основних фізіолого-біохімічних процесів, які лежать в основі формування високої продуктивності посівного матеріалу їстівних грибів, зокрема гливи. Біологічне обґрунтування впливу зерна різних сортів пшениці на отримання міцелію гливи дасть можливість розробити науково аргументовані настанови, що на сьогодні є дуже актуальними та необхідними.

Мета досліджень – дослідити вплив сортових властивостей зерна пшениці озимої на ріст вторинного міцелію гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* штаму НК-35.

Матеріал і методика. Дослідження проводили на кафедрі екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України впродовж 2015–2018 рр.

Зерно різних сортів пшениці озимої було надане Миронівським інститутом пшениці імені В.М. Ремесла НААН, зерно жита, вівса, ячменю, проса і кукурудзи – Всеукраїнським науковим інститутом селекції. Посівний матеріал, представлений штамом гливи звичайної НК-35, надано науково-виробничим підприємством «РКС».

Використовували біотехнологічні (одержання і субкультивування штаму НК 35 в умовах *in vitro*), мікробіологічні (отримання чистої культури гриба, вивчення культуральних властивостей колоній, встановлення водневого показника рН живильного середовища), мікологічні (вимір швидкості, визначення радіального росту міцелію, біологічної ефективності гриба) та статистичні методи.

Для отримання чистої культури через місяць після початку плодоношення було відібрано плоді тіла штаму НК-35, які очищали пензликом

та обтирали ватою, змоченою 70 % розчином етилового спирту. Ніжку зрізали майже до капелюшка, а плодове тіло поміщали на дно стерильної чашки Петрі і нещільно накривали кришкою, попередньо обклавши краї чашки стерильною ватою, щоб затримувався пил. Зразки зберігали в лабораторії за температури +20 °С. У закритих чашках Петрі їх можна зберігати до двох місяців [2].

Для вирощування міцелію *Pleurotus ostreatus* спочатку отримували чисту культуру даного гриба (рис. 1).



Рис. 1. Чиста культура *Pleurotus ostreatus* штаму НК-35

Живильними середовищами для отримання і субкультивування чистої культури *Pleurotus ostreatus* нами вибрано такі: агар з відваром вівса і кори дуба, картопляно-глюкозний агар, голодний (контроль). Живильні середовища розливали у стерильні чашки Петрі і пробірки та стерилизували 40 хвилин в автоклаві за температури 130 °С.

Попередньо простерилізовану у етанолі тканину плодового тіла гриба (підкапелюшкова частина) переносили на живильні середовища. Проростання гіф у вигляді утворення білого ниткоподібного міцелію візуально помітне на 8–10-у добу інкубації. Подальше субкультивування з пробірок на чашки Петрі проводили на 14-у добу культивування. Далі зразки міцелію поміщали у термостат за температури +25...27 °С, поступово знижуючи її до +20...22 °С [2].

Біотехнологія отримання зернового міцелію Pleurotus ostreatus. Для напрацювання міцелію гливи звичайної використовують зерно різних злаків. В Україні найпоширенішим субстратом є зерно пшениці і вівса. Для порівняння нами проведено дослідження серед таких зернових культур, як пшениця, жито, овес, ячмінь, просо та кукурудза.

Для отримання зернового міцелію *Pleurotus ostreatus* нами було відібрано шість районуваних для зони Правобережного Лісостепу сортів озимої пшениці, наданих Миронівським інститутом пшениці: Берегиня Миронівська, Зимоярка, Мирлена, Миронівська 65, Смуглянка, Подолянка (рис. 2).

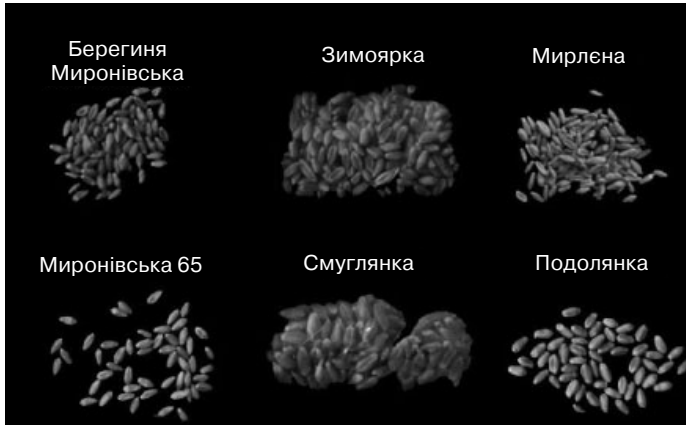


Рис. 2. Зерно досліджуваних сортів пшениці озимої

Усі сорти були вирощені в рівних ґрунтово-кліматичних умовах після однакових попередників. Для отримання зернового міцелію по два зразки зерна (35 г) пшениці кожного сорту проварювали в 500 мл води на слабкому вогні протягом 15 хвилин. Далі воду зливали через ватно-марлевий фільтр, зерно поверхнево висушували та додавали гіпс (5 г) і крейду (1,5–2,0 г), що регулюють значення рН середовища, яке має бути близьким до слабкислого (рН 6,5–6,7). Потім зерно засипали у скляні пеніцилінові флакони (об'ємом 10 мл), герметично закривали алюмінієвою фольгою й автоклавували. Стерилізацію субстрату проводили впродовж 1,5 год за температури +121 °С і тиску 1 МПа. Після охолодження до температури нижче +30 °С у ламінарному боксі здійснювали засів субстрату отриманим раніше міцелієм, який виконували двома способами – за допомогою платинової петлі і методом агаризованих блоків.

Перед посівом *платинову петлю* стерилізували у полум'ї спиртівки, краї пробірки також проносили через полум'я пальника. Охолоджену петлю опускали у пробірку з міцелієм і обережно набирали матеріал. Далі петлю з нитками міцелію переносили у флакон із зерном, який також був попередньо обпалений над полум'ям спиртівки. Посуд щільно закривали і знову обпалювали. Після кожної маніпуляції стерилізували інструмент [3].

Для посіву *методом агаризованих блоків* із шару середовища у чашці Петрі, яке ми ділили на 4 рівні частини, стерильним скальпелем вирізали агарові блоки, що містять нитки міцелію, і обережно переносили їх у флакони із зерном. З активно ростучої колонії за допомогою фізіологічного свердла виділяли також диски діаметром 5 мм (рис. 3).

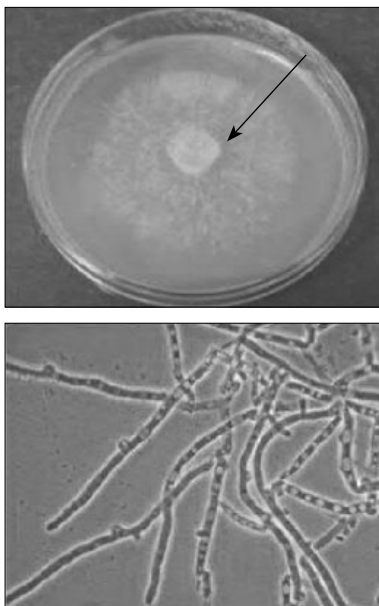


Рис. 3. Мікрофотографія міцелію *Pleurotus ostreatus* на 7-у добу (метод агаризованих блоків)

Інокульоване зерно інкубували за температури +25 °С у темряві впродовж 7 діб [4], дотримуючись максимальної стерильності. Усі зразки поміщали в термостат (температура +22...25 °С, відносна вологість повітря 60 %).

Для запобігання склеювання зерна і прискорення росту міцелію вміст флаконів струшували через 7 діб після посіву міцелію.

Технологія інокуляції зерна міцелієм. Для прикріплення субстрату використовували три методи. Поверхневий міцелій – міцелій, посаджений безпосередньо на поверхню субстрату і покритий тонким шаром зерна. Закритий міцелій – міцелій, ретельно змішаний із субстратом. Пошаровий міцелій – міцелій, посаджений на субстрат у багатошаровий (3 шари) спосіб. Цей варіант пізніше розглядали як контроль і використовували в усіх експериментах [5].

Визначення вологості та рН. Сушу вагу стерильних зразків визначали шляхом сушіння 5 г кожної проби у сушильній шафі при 103 °С впродовж 4 годин. Вміст вологи розраховували за формулою: вміст вологи = $(\text{вага}_{\text{поч.}} - \text{вага}_{\text{суха}}) / \text{вага}_{\text{поч.}} \times 100 \%$.

За допомогою лабораторного рН-метра (MeterLabTM) вимірювали рівень кислотності шляхом промивання 5 г готового зерна впродовж 1 год у 100 мл дистильованої води.

Визначення біологічної ефективності гриба. Біологічна ефективність (БЕ) грибів була розрахована як відсоток виходу свіжих грибів відносно сухої ваги субстрату за формулою:

$$\text{БЕ} = M_{\text{пл. тіла}} / M_{\text{сух. суб.}} \times 100 \%,$$

де $M_{\text{пл. тіла}}$ – маса плодового тіла гриба; $M_{\text{сух. суб.}}$ – маса сухого субстрату.

Визначення радіального росту міцелію. Міцеліальний радіальний ріст визначали щодобово. Початок проведення замірів почали з 7-ї доби інкубації. Довжину міцелію (від краю інокуляра до краю міцелію) вимірювали під прямим кутом лінійкою та визначенням середньої величини двох значень з повторами. Параметри щодо радіального темпу росту фіксували до повної колонізації міцелію.

Статистичний аналіз. Аналіз даних проводили шляхом розподілу за найменшою суттєвою різницею Фішера (LSD). Кожен аналіз проводили у п'яти повтореннях. Статистичне значення було встановлено на $p \leq 0,05$ [6].

Обговорення результатів. Аналіз дисперсії свідчить, що діаметр поширення колонії на зерні різних культур неоднаковий, і на це суттєво впливає тип субстрату. Максимальний темп росту колонії спостерігали на кукурудзі (табл. 1).

Таблиця 1. Ріст колоній гливи звичайної на зерні різних злакових культур

Зерно (субстрат)	Діаметр колоній на 14-у добу інокуляції, мм
Пшениця (контроль)	35,60
Жито	27,20*
Ячмінь	32,40
Овес	26,30*
Просо	26,80*
Кукурудза	38,30*

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

Більша площа поверхні субстрату (зерно злаків) і наявність у ньому пор сприяють інтенсивнішому росту міцелію. Зважаючи на те, що розмір зерна кукурудзи більший порівняно з пшеницею, житом, просом тощо, пори у ньому також більші. Тому це впливає на темпи росту міцелію. Ріст міцелію на кукурудзі може прискорюватись і за рахунок підвищення вентиляції та концентрації кисню в кукурудзяному субстраті. Саме O_2 виконує важливу роль в обміні речовин і є необхідним для дихання грибів. За максимального дихання спостерігається активне заростання субстрату міцелієм. Швидкість дихання безпосередньо пов'язана з концентрацією O_2 в субстраті [7].

Вимір радіальної швидкості росту міцелію здійснюється за формулою:

$$R_1 = R_0 + K_r \times (t_1 - t_0),$$

де R_0 – радіус колонії (мм), K_r – константа швидкості росту колонії *P. ostreatus* (коефіцієнт дорівнює 4 мм/добу), $t_1 - t_0$ – тривалість лінійного росту (дів).

Радіальний міцеліальний ріст *P. ostreatus* досліджували на трьох видах живильного середовища. Наведені у таблиці 2 дані середнього радіального росту міцелію ($R_{\text{ср}}$) демонструють найвищу швидкість росту міцелію на агарі з відварів вівса та кори дуба, тоді як ріст міцелію на середовищі з відваром вівса мав найнижчий показник.

Таблиця 2. Радіальний ріст міцелію гливи звичайної на агаризованому середовищі

Живильне середовище	$R_{\text{ср}}$, мм
З відваром вівса	141,0*
З відваром вівса з додаванням кори дуба	210,4*
Контроль (картопляно-глюкозний агар)	170,3

Примітка. * $p \leq 0,05$ у порівнянні з контролем

Після етапу глибинного культивування міцелію виміряли рН культуральної рідини потенціометричним методом. Активна кислотність (рН) на 9-у добу по закінченню культивування підвищувалась. Це свідчить, що у процесі росту гриб виділяє метаболіти, які закислюють середовище. У таблиці 3 показано значення показника рН на початок та кінець культивування залежно від сортів пшениці.

На сортах Мирлена та Подолянка рН міцелію на початку культивування становив 5,64 і 5,72 відповідно, що нижче від встановленого дослідниками [7] оптимального діапазону рН (6,5–6,7) для виробництва зернового міцелію *P. ostreatus*. У інших сортів пшениці за культивування гриба при 25 °С значення рН варіювали від 6,51 до 6,63, не відрізняючись істотно за сортами, і були, як правило, в оптимальному діапазоні. На кінець культивування рН на сортах Зимоярка і Смуглянка дуже знизився (від 6,53 до 3,62 та від 6,63 до

Таблиця 3. Показник рН середовища за культивування міцелію гливи звичайної

Сорт пшениці	Початок культивування (7-а доба)	Кінець культивування (21-а доба)
Берегиня миронівська	6,51	5,33**
Зимоярка	6,53	3,62**
Мирлена	5,64*	3,40**
Миронівська 65 (контроль)	6,60	4,83**
Смуглянка	6,63	3,64**
Подольянка	5,72*	3,81**

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем; після стерилізації рН субстрату повинен дорівнювати 6,5–6,7, **старий міцелій нижче 6,0, у деяких випадках нижче 5,0

3,64 відповідно). Оскільки в описаному досліді використовували стерильний міцелій і при повторних стерильних тестах не було виявлено бактерій, то, ймовірно, високий показник рН і присутність кислого запаху при зберіганні викликається продуктами обміну речовин самого міцелію. За холодного зберігання міцелій стає особливо чутливим до спиртів, і ця чутливість зростає зі збільшенням терміну зберігання. Дослідження продуктів обміну речовин міцелію та їхнього впливу на тривалість зберігання міцелію були проведені багатьма вченими, проте це питання лишається відкритим [8].

Міцелій на зерні різних сортів пшениці розвивався неоднаково. Майже всі представлені сорти показали позитивний результат, що обумовлено зовнішніми факторами, змінами внутрішньоклітинної організації та активністю ферментних систем. Специфічна (відносна) швидкість росту визначається приростом біомаси за одиницю часу, розрахованим на одиницю нарощеної біомаси [9, 10]. На ріст міцелію впливали такі фактори, як вид зернового субстрату, матеріал посудини, кількість субстрату і провітрювання. Загальновідомо, що на високоеклейковинному зерні ріст та зберігання міцелію найнижчі, тоді як на стерильному субстраті (субстрат Тилля) міцелій може зберігатися у холодильнику впродовж року і більше. Матеріал посудини, кількість і маса зерна мали другорядне значення за умови однакового співвідношення між об'ємом посудини та її наповненням. Одним з найбільш важливих факторів була аерація міцелію. За недостатньої аерації міцелій може пошкоджуватися, при цьому ускладнюється повітрообмін і в результаті сповільнюється пронизування субстрату гіфами. Особливе значення має аерація посудини з міцелієм від моменту взяття її із холодильника до інокуляції субстрату [10, 11].

Зерно сортів пшениці Мирлена, Миронівська 65, Смуглянка і Подольянка з інокуляцією агаризованими блоками виявилось кращим для

отримання вторинного міцелію на відміну від сортів Берегиня миронівська і Зимоярка (рис. 4–6).

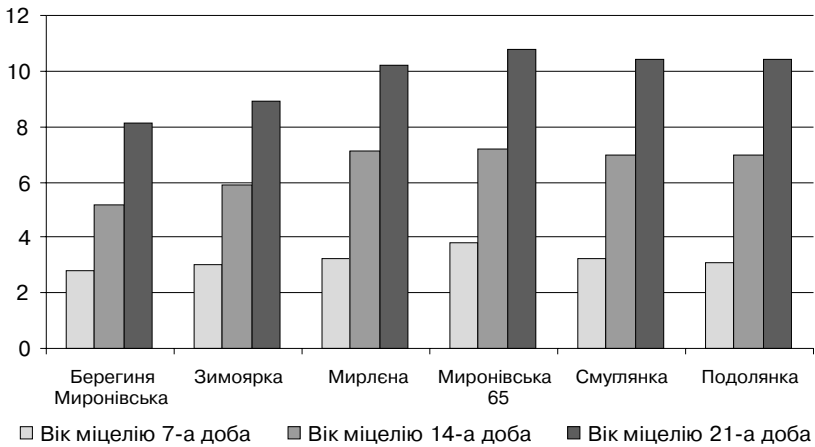


Рис. 4. Динаміка росту *Pleurotus ostreatus* на зерні різних сортів пшениці (метод агаризованих блоків)



Рис. 5. Ріст міцелію штаму НК-35 *Pleurotus ostreatus* на 14-у добу (метод агаризованих блоків)*

*Примітка. Тут і далі сорти пшениці: 1 – Берегиня миронівська, 2 – Зимоярка, 3 – Мирлена, 4 – Миронівська 65, 5 – Смуглянка, 6 – Подольанка

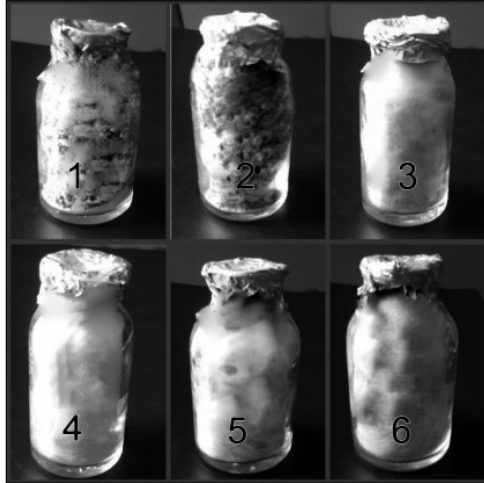


Рис. 6. Ріст міцелію штаму НК-35 *Pleurotus ostreatus* на 21-у добу (метод агаризованих блоків)*

Параметр росту міцелію залежав від сортових властивостей зерна пшениці. Використання зерна сортів озимої пшениці Миронівська 65, Мирлена, Смуглянка і Подолянка за інокуляції петлею позитивно вплинуло на динаміку росту міцелію *Pleurotus ostreatus*, середній приріст між сортами склав 2–5 мм/добу (рис. 7–9).

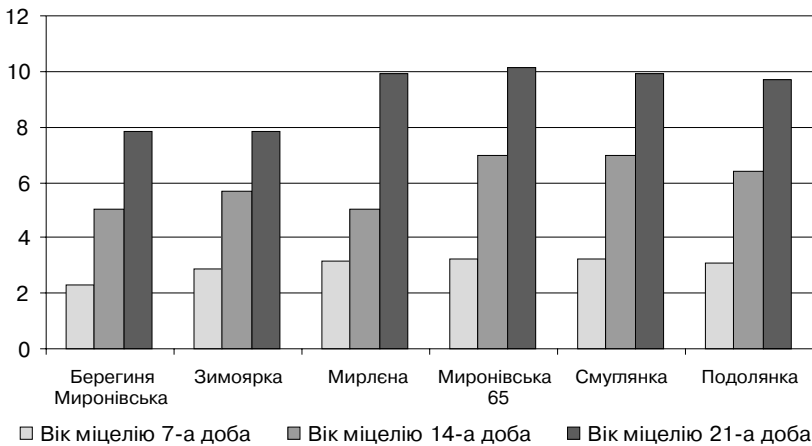


Рис. 7. Динаміка росту міцелію *Pleurotus ostreatus* на зерні різних сортів пшениці (інокуляція петлею)

Дослід з отримання міцелію показав, що використання зерна сорту Миронівська 65 сприяло збільшенню виходу біомаси міцелію гриба (на 22–30 %) та скороченню тривалості культивування (швидкість росту до 6,2 мм/добу).

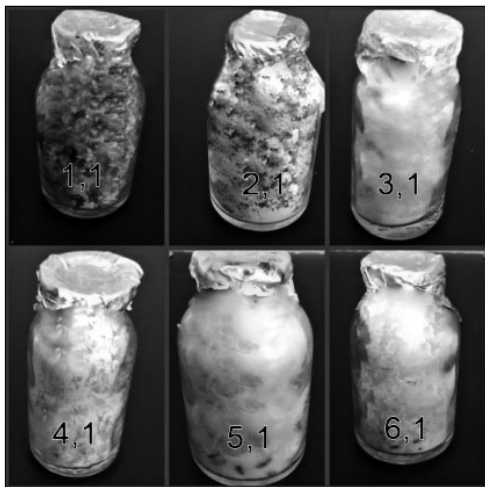


Рис. 8. Ріст міцелію штаму НК-35 *Pleurotus ostreatus* на 10-у добу (посів петлею)*

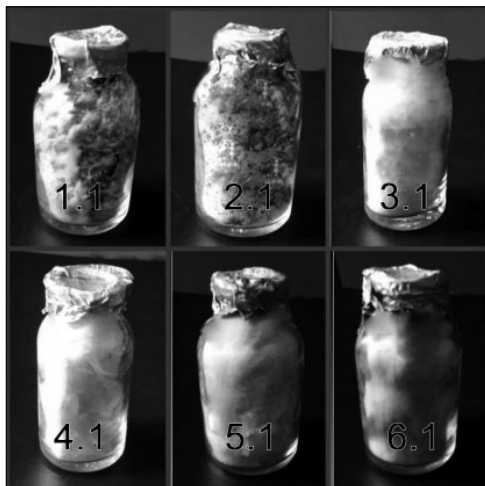


Рис. 9. Ріст міцелію штаму НК-35 *Pleurotus ostreatus* на 21-у добу (посів петлею)*

Необхідно зазначити, що особливих розбіжностей щодо технології і способу інокуляції не спостерігали, але було визначено загальну характеристику. Застосування методу петлі (саме на сортах Миронівська 65, Мирлена, Смуглянка і Подолянка) позитивно вплинуло на динаміку росту міцелію. Найбільший його приріст відмічено на сорті Миронівська 65 (6,2 мм/добу), дещо менший – на сортах Мирлена (4,7 мм/добу), Смуглянка (4,6 мм/добу), Подолянка (4,5 мм/добу), Зимоярка (3,7 мм/добу) та Берегиня миронівська (3,6 мм/добу). Рекомендуємо також застосовувати пошарову технологію інокуляції зерна.

Біологічна ефективність, що визначається як перетворення субстрату на плодові тіла грибів на основі сухої маси плодового тіла (у відсотках), виявилася максимально високою на сортах Миронівська 65, Мирлена, Смуглянка – 60–77 г/100 г субстрату (табл. 4). Проведений аналіз засвідчує, що міцелій, вирощений на зерні цих сортів, мав більш високу живильну цінність порівняно з іншими субстратами (сортами).

Таблиця 4. Біологічна ефективність гливи звичайної на зерні різних сортів пшениці (метод агаризованих блоків)

Сорт озимої пшениці	Біологічна ефективність, %
Берегиня миронівська	51
Зимоярка	42
Мирлена	64
Миронівська 65	77
Смуглянка	60
Подолянка	53

Висновки. 1. Дослідження з отримання міцелію *Pleurotus ostreatus* (гливи звичайної) на різному зерновому матеріалі показали, що окрім класичного застосування як зернового субстрату зерна пшениці та проса можна використовувати й зерно кукурудзи.

2. За отримання первинного міцелію з метою подальшого розвитку вторинного міцелію *Pleurotus ostreatus* кращим було живильне середовище з відваром вівса і додаванням відвару кори дуба. Радіальний ріст первинного міцелію становив 210,4 мм.

3. Для напрацювання міцелію гливи звичайної доцільно використовувати зерно злакових культур, зокрема пшениці озимої. Переваги такого субстрату – підвищена життєздатність і швидке розростання міцелію. Кращими були результати за використання методу агаризованих блоків (5,1 мм/добу) на відміну від методу посіву петлею (3,6 мм/добу). Для напрацювання зернового міцелію гливи звичайної рекомендуємо використовувати зерно таких сортів пшениці озимої, як Миронівська 65, Мирлена, Смуглянка і Подолянка, що позитивно впливало на приріст міцелію (максимальний показник – 6,2 мм/добу).

4. Як зерновий субстрат найкраще зарекомендували себе сорти пшениці озимої Миронівська 65 і Мирлена, які ми пропонуємо використовувати для виробництва зернового міцелію.

Список використаних джерел

1. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев : Наукова думка, 1988. 148 с.
2. Choi I. Y., Joung G. T., Ryu J. et al. Physiological characteristics of green mold (*Trichoderma* spp.) isolated from oyster mushroom (*Pleurotus* spp.). *Mycobiology*. 2003. Vol. 31, Iss. 3. P. 139–144.
3. Іванова Т. В., Откидач І. С., Кузьомко Н. О. та ін. Живильні середовища отримання чистої культури грибів роду *Pleurotus in vitro*. *Biotechnologia Acta*. 2016. Т. 9, № 2. С. 82–86. doi: org/10.15407/biotech9.02.082
4. Pereima I. V., Ivanova T. V. Stimulation of growth of species of the fungus of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. at a glucose nutrition. *Biotechnologia Acta*. 2017. Vol. 10, No. 6. P. 45–52. doi: org/10.15407/biotech10.06.045
5. Іванова Т. В., Мельничук М. Д., Лопата Д. Ю. та ін. Нові підходи екстракції вірусних РНК з істівних грибів. *Scientific Journal «ScienceRise»*. 2015. № 10/1. С. 44–46. doi: 10.15587/2313-8416.2015.51517
6. Siddhant, Yadav S., Singh C. S. Spawn and spawning strategies for the cultivation of *Pleurotus eous* (Berkeley) Saccardo. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. 2013. Vol. 2, Iss. 3. P. 1494–1500.
7. Adebayo E. A., Alao M. B., Olatunbosun O. O. et al. Yield evaluation of *Pleurotus pulmonarius* (oyster mushroom) on different agricultural wastes and various grains for spawn production. *Ife Journal of Science*. 2014. Vol. 16, No. 3. P. 475–480.
8. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии. Киев : Наукова думка, 1982. 550 с.
9. Narh D. L., Obodai M., Baka D., Dzomeku D. The efficacy of sorghum and millet grains in spawn production and carpophore formation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer. *International Food Research Journal*. 2011. Vol. 18, Iss. 3. P. 1143–1148.
10. Дудка І. А., Вассер С. П. Грибы: Справочник миколога и грибника. Киев : [б. и.], 1987. 534 с.
11. Bhatti M. I., Jiskani M. M., Wagan K. H. et al. Growth, development and yield of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer as affected by different spawn rates. *Pakistan Journal of Botany*. 2007. Vol. 39, Iss. 7. P. 2685–2692.

References

1. Bukhalo, A. S. (1988). Higher Edible Basidiomycetes in Pure Culture. Kiev: Naukova dumka. [in Russian]
2. Choi, I. Y., Joung, G. T., Ryu, J., Choi, J. S., & Choi, Y. G. (2003). Physiological characteristics of green mold (*Trichoderma* spp.) isolated from oyster mushroom (*Pleurotus* spp.). *Mycobiology*, 31(3), 139–144.
3. Ivanova, T. V., Otkydach, I. S., Kuzomko, N. O., Zarutskya, A. V., Mamontova, A. O., Yuronka, K. V., & Melnychuk, M. D. (2016). Nutrient media for obtaining a pure culture of fungi of the genus *Pleurotus in vitro*. *Biotechnologia Acta*, 9(2), 82–86. [in Ukrainian]. doi: org/10.15407/biotech9.02.082
4. Pereima, I. V., & Ivanova, T. V. (2017). Stimulation of growth of species of the fungus of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. at a glucose nutrition. *Biotechnologia Acta*, 10(6), 45–52. doi: org/10.15407/biotech10.06.045
5. Ivanova, T. V., Melnychuk, M. D., Lopata, D. Yu., Lutsyk, V. O., Otkydach, I. S., Stepanova, V. L., & Yashchenko, Yu. V. (2015). New approaches to extraction of viral RNA from

- edible mushrooms. *Scientific Journal «ScienceRise»*, 10(1), 44–46. [in Ukrainian]. doi: 10.15587/2313-8416.2015.51517
6. Siddhant, Yadav, S., & Singh, C. S. (2013). Spawn and spawning strategies for the cultivation of *Pleurotus eous* (Berkeley) Saccardo. *Int. J. Pharm. Chem. Sci.*, 2(3), 1494–1500.
 7. Adebayo, E. A., Alao, M. B., Olatunbosun, O. O., Omoleye, E. O., & Omisakin, O. B. (2014). Yield evaluation of *Pleurotus pulmonarius* (oyster mushroom) on different agricultural wastes and various grains for spawn production. *Ife J. Sci.*, 16(3), 475–480.
 8. Bilay, V. I. (1982). *Methods of Experimental Mycology*. Kiev: Naukova dumka. [in Russian]
 9. Narh, D. L., Obodai, L., Baka, M., & Dzomeku, D. (2011). The efficacy of sorghum and millet grains in spawn production and carpophore formation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer. *Int. Food Res. J.*, 18(3), 1143–1148.
 10. Dudka, I. A., & Vasser S. P. (1987). *Funfi: Reference Book of the Mycologist and the Mushroom Hunter*. Kiev: N.p. [in Russian]
 11. Bhatti, M. I., Jiskani, M. M., Wagan, K. H., Pathan, M. A., & Magsi, M. R. (2007). Growth, development and yield of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer as affected by different spawn rates. *Pak. J. Bot.*, 9(7), 2685–2692.

Биотехнологии получения мицелия вешенки обыкновенной на зерне пшеницы разных сортов

Иванова Т. В., кандидат сельскохозяйственных наук

Ковалышина А. Н., доктор сельскохозяйственных наук

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины

Украина, 03041, г. Киев, ул. Героев Оборона, 15

e-mail: tivanova1@ukr.net

Цель. Исследовать влияние сортовых особенностей зерна разных сортов пшеницы озимой на рост вторичного мицелия вешенки обыкновенной *Pleurotus ostreatus* штамма НК-35. **Методы.** Исследования проводили на кафедре экобиотехнологии и биоразнообразия Национального университета биоресурсов и природопользования Украины в течение 2015–2018 гг. с сортами пшеницы мягкой озимой селекции Мироновского института пшеницы имени В. Н. Ремесло НААН Берегиня миронівська, Зимоярка, Мирлена, Миронівська 65, Смуглянка, Подольянка. Использовали биотехнологические (получение и субкультивирование штамма НК-35 в условиях *in vitro*), микробиологические (получение чистой культуры гриба, изучение культуральных свойств колоний, измерение водородного показателя рН питательной среды), микологические (измерение скорости, определение радиального роста мицелия, биологической эффективности гриба) и статистические методы. **Результаты.** В ходе эксперимента было установлено, что максимальное обрастания среды мицелием происходит на 21-е сутки. Исследования по получению мицелия *Pleurotus ostreatus* на разном зерновом материале свидетельствуют, что для наработки мицелия вешенки обыкновенной целесообразно использовать зерно пшеницы озимой. При получении первичного мицелия с целью дальнейшего развития вторичного мицелия *Pleurotus ostreatus* лучшей питательной средой был отвар овса с добавлением отвара из коры дуба. Радиальный рост первичного мицелия при этом составлял 210,4 мм. Показана зависимость скорости роста мицелия от сорта пшеницы, сроков, а также режимов культивирования, которые эффективно влияют на технологию получения вторичного мицелия. Преимущества субстрата из зерна пшеницы – повышенная жизнеспособность и быстрое разрастание мицелия. Лучшие результаты получены при инокуляции зерна методом агаризованных блоков послойным способом (прирост мицелия 5,1

мм/сутки) в отличие от метода посева платиновой петлей (3,6 мм/сутки). **Выводы.** Для наработки мицелия вешенки обыкновенной предлагаем использовать сорта пшеницы озимой Миронівська 65 и Мирлена, которые хорошо зарекомендовали себя как зерновой субстрат.

Ключевые слова: вешенка обыкновенная, мицелий, зерновой субстрат, пшеница, сорт

Biotechnological production of oyster mushroom spawn on wheat grain of different varieties

Ivanova T. V., Candidate of Agricultural Sciences
Kovalyshyna H. M., Doctor of Agricultural Sciences

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
15, Heroiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine
e-mail: tivanova1@ukr.net

Purpose. To investigate the influence of the varietal properties of grain of different winter wheat varieties on the growth of the secondary mycelium of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* NK-35 strain. **Methods.** The studies were conducted at the Department of Ecobiotechnology and Biodiversity of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine during 2015-2018 with bread winter wheat varieties bred at the V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat Berehynia myronivska, Zymoiarika, Myrliena, Myronivska 65, Smuhlianka, Podolianka. There were used biotechnological (obtaining and sub-culturing NK-35 strain *in vitro*), microbiological (obtaining pure culture of the fungus, studying the cultural properties of the colonies, measuring the pH of nutrient medium), mycological methods (measuring the speed, determining the radial growth of mycelium, biological effectiveness of the fungus), statistical methods. **Results.** During the experiment, it was found that the maximum fouling the medium by the mycelium occurs on the twenty-first day. Studies on obtaining the mycelium *Pleurotus ostreatus* on different grain material indicate that for the production of oyster mushroom mycelium, it is advisable to use winter wheat grain. For obtaining the primary mycelium in order to further develop the secondary mycelium of *Pleurotus ostreatus*, the best nutrient medium was oats decoction with the addition of oak tree bark decoction. In this case the radial growth of the primary mycelium was 210.4 mm. It is shown the dependence of the growth rate of mycelium on the variety of wheat, dates, and cultivation regimes effectively influencing the technology for the production of secondary mycelium. The advantages of wheat grain substrate are increased viability and rapid mycelium growth. The best results were obtained when grain was inoculated using the agar block method using a layer-by-layer method (increase of mycelium of 5.1 mm/day) in contrast to the method of sowing by the platinum loop (3.6 mm/day). **Conclusions.** For producing oyster mushroom mycelium, we suggest using the winter wheat varieties Myronivska 65 and Myrliena as a grain substrate.

Key words: oyster mushroom, mycelium, grain substrate, wheat, variety