



УКРАЇНА

(19) UA (11) 48331 (13) U
(51) МПК (2009)
C12N 1/14
A01G 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЖИВИЛЬНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ РОБІТ З ПРИРОДНИМИ ТА ГІБРИДНИМИ ШТАМАМИ ЇСТІВНИХ І ЛІКАРСЬКИХ БАЗИДІОМІЦЕТІВ

1

(21) u200910515
(22) 16.10.2009
(24) 10.03.2010
(46) 10.03.2010, Бюл.№ 5, 2010 р.
(72) ТКАЧЕНКО НАТАЛІЯ ПЕТРІВНА, СИЧОВ ПЕТРО АНТОНОВИЧ, ТИМОФЕЕВ ОЛЕКСІЙ АНАТОЛЬОВИЧ
(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(57) Живильне середовище для робіт з природними та гібридними штамми їстівних і лікарських

2

базидіоміцетів, що містить агар-агар, воду, яке **відрізняється** тим, що додатково містить відвар бульб топінамбура і відвар повітряно сухих суцвіть конюшини рожевої при наступному співвідношенні компонентів, мас. г/л:

агар-агар	1,2-1,5
відвар топінамбура	200
відвар повітряно сухих суцвіть конюшини	20
вода водопровідна	решта.

Корисна модель відноситься до біотехнології (мікотехнології) і може бути використана в науково дослідницьких та виробничих лабораторіях для виділення чистих культур з плодових тіл, оновлення колекцій моно і дикаріонів та отримання нових гібридів.

Вищі базидіальні гриби є продуцентами білкових речовин із плодових тіл харчового призначення, певна кількість видів стає джерелом біологічно активних речовин фармакологічної дії [1, 3, 4, 5, 7]. Вищі базидіальні гриби з харчовими і лікарськими властивостями є дуже важливими об'єктами біотехнології.

Відомі живильні середовища на основі відварів ростків картоплі, плодів лоху вузьколистого, плодів каштана кінського [6, 7, 9, 10] та інших компонентів.

Відоме агарізоване поживне середовище невизначеного складу яке прийнято за найближчий аналог, але його найбільш часто використовують в мікологічній практиці: глюкозо-картопляний агар (КГА), [10]. Можливості застосування вказаного середовища обмежуються високою коштовністю основних компонентів - очищені бульби картоплі - 200г/л, глюкоза харчового призначення 20г/л, агар-агар 20г/л. Слід зазначити, що КГА, ТКА частково близькі між собою за вмістом сухих речовин (4-6%) і агар-агару (1,5-2%).

До недоліків цих середовищ є відсутність відомостей про походження ячменю ярого чи озимого, не вказані технічні умови сировини для приго-

тування живильного середовища. Відсутні дані про вміст вуглеводів і азотвмісних речовин. Вказані недоліки є підставою віднесення запропонованого авторами середовища до середовищ невизначеного складу, тобто склад середовища стає непостійним в залежності від походження сировини.

В основу корисної моделі постановлене завдання створити поживне середовище для роботи з природними та гібридними штамми вищих базидіоміцетів - продуцентів харчових білків і фізіологічно активних речовин медичного призначення.

Поставлене завдання вирішується тим, що живильне середовище для роботи з природними і гібридними штамми базидіоміцетів, містить агар-агар, воду, згідно корисної моделі, додатково містить відвар бульб топінамбура і відвар повітряно сухих суцвіть конюшини рожевої при наступному співвідношенні компонентів, мас. г/л.

агар-агар	1,2-1,5
відвар топінамбура	200
відвар повітряно сухих суцвіть конюшини	20
вода водопровідна	решта.

Експериментальні дані свідчать про швидкості лінійного росту (ШЛР) штамів вищих базидіоміцетів, та їх ростових коефіцієнтів. Для досліду нами обрані штамми та ізоляти гливи звичайної, *Pleurotus ostreatus* (Fr) Kummer (гливи двохарової), *Flammulina velutipes* (опенька зимового), *Ganoderma lucidum* Sing, (трутовика лакованого).

(13) U

(11) 48331

(19) UA

Результати експериментальних досліджень швидкості лінійного росту (ШЛР) штамів *P. Ostreatus* (Fr) Kummer, Дон-112, НК-35, Дон 21.3, Дон 21.6., гливи стервової *P.eryngii*, гливи лимонно шапинкової *P.citrinopileatus* (Quel) шії-таке *Lentinus edodes* Sing, *L. edodes* N 356, *L. edodes* N 368, *Flammulina velutipes* Sing строфарії зморшкувато-кільцевої *Stropharia rugoso-annulata* Farlov трутовика лакованого *Ganoderma lucidum* Sing, трутовика лускатого *Polyporus Squamosus* Huds наведені в таблиці 1.

Використовували агаризоване живильне середовище, відвар топінамбура 200г/л, відвар суцвіть

конюшини 20г/л, агар-агар, в якості контрольного середовища - картопляно глюкозний агар (прототип). Температура культивування; чистих міцеліальних культур вищих базидіоміцетів була оптимальною для усіх 24°C. Результати лінійної швидкості росту штамів на дослідному середовищі свідчить про те, що дослідні штами мали більш активний ріст ніж на контрольному.

На підставі наведених даних (табл.1) можна бачити, що живильне середовище топінамбуrowi - конюшиновий агар забезпечує високі показники ШЛР (швидкість лінійного росту) і РК (ростові коефіцієнти).

Таблиця 1

Швидкість лінійного росту (ШЛР мм/ добу) і ростові коефіцієнти (РК) штамів їстівних і лікарських базидіоміцетів.

Штами їстівних і лікарських грибів	Поживні середовища			
	КГА (контр)		ТКА	
	ШЛР	РК	ШЛР	РК
<i>P. ostreatus</i> Дон 112	11,6±0,7	58±0,3	12±0,5	59±0,6
<i>P. ostreatus</i> НК-35	11,8±0,2	57±0,1	11,9±0,4	60±0,5
<i>P. ostreatus</i> Дон 21.3	11,7±0,3	59±0,3	15,1±0,3	60±0,5
<i>P. ostreatus</i> Дон 21.6	11,9±0,4	61±0,1	13±0,3	59±0,2
<i>P. eryngii</i>	10,1±0,3	49±2	10,3±0,2	50±0,3
<i>P. citrinopiliatus</i>	10,3±0,4	47±0,3	10,6±0,3	50±0,4
<i>L. edodes</i> 353	6,5±0,5	33±0,1	6,8±0,5	35±0,3
<i>L. edodes</i> 368	6,3±0,2	36±0,1	6,7±0,2	39±0,1
<i>F. velutipes</i>	5,6±0,1	33±0,2	5,9±0,1	35±0,1
<i>S. rugosoanulata</i>	4,5±0,4	32±0,1	4,8±0,4	33,5±0,1
<i>G. lucidum</i>	5,4±0,1	30±0,1	5,9±0,1	35±0,1
<i>P. squamosus</i>	6,0±0,6	38±0,4	6,3±0,5	40±0,2

Приклади конкретного виконання

Приклад 1

Створити здешевлений і загально доступний склад топінамбуrowo - конюшиновий агар для роботи з природними та гібридними штамами їстівних і лікарських базидіоміцетів: бульби топінамбура 200г очищають від шкірки, нарізаючи шматочками і поміщають в термостійку колбу місткістю 1,5-2л. Додають води 700мл. і варять протягом 25 хвилин на електроплитці. Водночас беруть наважку повітряно сухих суцвіть конюшини, рівну 20г. і вносять в киплячу воду з топінамбуrowм. Після охолодження: до 70°C відвар суміші - бульб топінамбура і повітряно сухих суцвіть конюшини фільтрують на скляній лійці повз ватно-марлевий фільтр, до прозорого фільтрату і додають 20г/л агар-агару, і водопровідну воду до об'єму 1000мл. Створене живильне середовище ТКА (топінамбуrowo конюшиновий агар) розливають, в мікологічні пробірки 20×200 для визначення швидкості лінійного росту і в чашки Петрі для визначення ростових коефіцієнтів середовища ТКА в пробірках і чашках Петрі стерилізують в автоклаві при тиску 1атм. протягом однієї години. Агарове середовище в пробірках застуджують на косяки на похилому штативі. Мікробіологічний контроль стерильності ТКА проводять протягом 3 діб. Повторність дослідів по кожному виду і штаму їстівних лікарських базидіоміцетів трикратна, (таблиця).

В окремих пробірках одержують міцеліальні культури зі шматочками природних (дикорослих) плодів тіл.

Після виділення культур зі шматочків, плодів тіл природних і гібридних штамів в роботу включають чисті культури колекційних штамів гливи, опенька зимового, строфарії (кільцевика), шії-таке, трутовика лускатого і трутовика лакованого.

Приклад 2

Створити здешевлений і загального доступний склад топінамбуrowo - конюшиновий агар для роботи з природними та гібридними штамами їстівних і лікарських базидіоміцетів: бульби топінамбура 100г. очищають від шкірки, нарізають і поміщають в термостійку колбу місткістю 1,5-2л. додають води 500мл. і варять протягом 25 хвилин на електроплитці. Водночас беруть наважку повітряно сухих суцвіть конюшини, рівну 120г. і вносять в киплячу воду з топінамбуrowм. Після охолодження до 80°C відвар суміші бульб топінамбура і повітряно сухих суцвіть конюшини фільтрують на скляній лійці повз ватно-марлевий фільтр до прозорого фільтрату, і додають 20г/л агар-агару і водопровідну воду до об'єму 1000мл. Створене живильне середовище ТКА розливають в мікологічні пробірки 20×200 для визначення швидкості лінійного росту і в чашки Петрі для визначення ростових коефіцієнтів середовища ТКА (топінамбуrowo конюшиновий агар) в пробірках і чашках

Петрі стерилізують в автоклаві при тиску 1атм. протягом однієї години. Агарове середовище в пробірках застуджують на косяки на спеціальному похилі штативи. Мікробіологічний контроль стерильності ТКА проводять протягом 3 діб. Повторність дослідів по кожному виду і штаму їстівних лікарських базидіоміцетів трикратна.

В окремих пробірках одержують міцеліаньні культури зі шматочками природних (дикорослих) плодкових тіл.

Після виділення: культур зі шматочків плодкових тіл природних і гібридних штамів в роботу включають чисті культури колекційних штамів гливи, опенька зимового, строфарії (кільцевика), шіі-таке, трутовика.

Приклад 3

Створити здешевлений і загально доступний склад топінамбурово конюшинний агар для роботи з природними та гібридними штамми їстівних і лікарських базидіоміцетів: бульби топінамбура 500г. очищають від шкірки, нарізають шматочками і поміщають в термостійку колбу місткістю 1,5-2л., додають 750мл. води і варять протягом 25 хвилин на електроплитці. Водночас беруть наважку повітряно сухих суцвіть конюшини, рівну 150г. і вносять в киплячу воду з топінамбуром. Після охолодження до 60°C відвар суміші бульб топінамбура і повітряно сухих суцвіть конюшини фільтрують на скляній лійці повз ватно-марлевий фільтр, до прозорого фільтрату, додають 20г/л агар-агару і водопровідну воду до об'єму 1000мл. Створене живильне середовище ТКА (топінамбурово конюшинний агар) розливають в мікологічні пробірки 20×200 для визначення швидкості лінійного росту и в чашки Петрі для визначення ростових коефіцієнтів середовище ТКА в пробірках і чашках Петрі стерилізують в автоклаві при тиску 1атм. протягом однієї години. Агарове середовище в пробірках застуджують на косяки на похилому штативі. Мікробіологічний контроль, стерильності ТКА проводять протягом 3 діб. Повторність дослідів по кожному виду і штаму їстівних лікарських базидіоміцетів трикратна.

В окремих пробірках одержують мцеліальні культури зі шматочками природних (дикорослих) плодкових тіл.

Після виділення культур зі шматочків плодкових тіл природних і гібридних штамів в роботу включають чисті культури колекційних штамів гливи, опенька зимового, строфарії (кільцевика), шіі-таке, трутовика лускатого і трутовика лакованого.

Відвару топінамбура та відвару повітряно сухих суцвіть конюшини, які вказані в прикладі 1 достатньо для виділення і росту штамів гливи, шіі-таке, опенька зимового, трутовика лускатого, строфарії. Менша кількість вмісту тапінамбуру не забезпечує достатню кількість, необхідних для

росту міцелію речовин. Більша кількість сировини недоцільна.

Таким чином, отримане живильне середовище на основі бульб топінамбура та повітряно сухих суцвіть конюшини забезпечує, порівняно з прототипом, заміну дорогих компонентів живильного середовища картоплі і глюкози.

Одержані дані свідчать про оптимальну придатність ТКА (приклад 1) для робіт з природними і гібридними штамми їстівних та лікарських базидіоміцетів. Розробка живильного середовища на основі відвару конюшини значно полегшує пересів та скорочує час отримання чистих культур вищих базидіоміцетів.

Джерела інформації, використовувані при складанні заявки:

1. Белова И.И., Ефремова И.Я. Препараты из высших грибов - объект патентной правовой охраны //Микология и фитопатология - 1992, Т.26 вып.4 С.321-324.

2. Бойко О.А., Дудка І.А. Биология и культивирование грибов рода вешенка. - К: наук думка, 1987 - 148.

3. Бухало А.С., Соломко Е.Ф., Митрольска Н.Ю. Базидіальні макроміцети з лікарськими властивостями // Український ботанічний журнал 1996, Т.53 №3, С.192-201.

4. Даниляк М.І. Решетник С.В. Лікарські гриби. Методичне застосування та проблеми біотехнологій. К: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України 1996 - 65с.

5. Дудка І.А., Вассер С.П. Элланская И.А. Методы экспериментальной микологии Справочник. - К. Наукова думка, 1982 - 550с.

6. Патент 29744 Живильне середовище для роботи з чистими культурами вищих базидіоміцетів - об'єктів промислового вирощування / Сичов П.А., Негруцький С.Ф., Ткаченко Н.П., Тимофеев О.А., Каліберда Г.В. Заявка №97020763 від 21.02.97.6 A01G1/04.

7. Патент України. Поживне середовище для оновлення колекції штамів роду глива / Сичов П.А., Тимофеев О.А., Каліберда Г.В., Гарджала Л.І., Загуменний Р.А. Заявка 97041764 від 15.04.97.6 A01G1/04, C12N1/14.

8. Штам Дон 21.3 соматичних структур їстівного базидіоміцета *Pleurotus ostratus* (Ff.) Kummer - продуцент плодкових тіл харчового призначення та основа одержання посівного міцелію / Ткаченко Н.П., Сичов П.А., Тимофеев О.А., Бандура І.І. (корисна модель) Бюл. № 8, 2006 р.

9. Сычев П.А., Ткаченко Н.П. Грибы и грибоводство. - Донецк: Стакер, 2003 - 512с.

10. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов Справочник М: Агропромиздат, 1999 - 240с. (прототип).