



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 53880

(13) A

(51) 7 A01G1/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ РОСТУ, РОЗВИТКУ І ПЛОДОНОШЕННЯ ВИЩОГО БАЗИДІАЛЬНОГО ІСТІВНОГО ГРИБА LENTINUS EDODES (BERK.) SING.

1

2

(21) 2002010279

(22) 10 01 2002

(24) 17 02 2003

(46) 17 02 2003, Бюл. № 2, 2003 р.

(72) Поединок Наталя Леонідівна, Бухало Ася Сергіївна, Потьомкіна Жанна В'ячеславівна, Негрійко Анатолій Михайлович

(73) ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ІМ. М. Г. ХОЛОДНОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, ІНСТИТУТ ФІЗИКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК

УКРАЇНИ

(57) Спосіб стимуляції росту, розвитку і плодоношення вищого базидіального істівного гриба *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. полягає у ефекті впливу лазерного випромінювання на дикаріотичний міцелій, який відрізняється тим, що опромінення дикаріотичного міцелію здійснюють неперервним випромінюванням в червоній області спектра при дозі 230 мДж/см^2 .

Винахід належить до біотехнології і зокрема, до способу стимуляції росту, розвитку та плодоношення гриба з метою підвищення його продуктивності, урожайності та скорочення термінів культивування.

Відомий вплив різноманітних джерел світла на зростання плодоношення і спороношення в окремих видів грибів. Одним видом для спороношення необхідне світло, у інших світло інгібує спороношення, треті нормально спороносять як у темряві, так і при світлі. Різні спектри та різні довжини хвилі стимулюють або пригнічують ту чи іншу фазу розвитку (вегетативний ріст, плодоношення ін.) або впливає на будь-які фізіолого-біохімічні показники (пігментування, біосинтетична активність і т.і.) (Н.І. Жданова, А.І. Василевська. Екстремальна екологія грибів у природі і експерименті. Наукова Думка, 1982). Відомі факти, що свідчать про стимулюючу дію УФ-променів (джерело — лазер ЛГІ-21) на урожайність штамів печериці двоспорової (Н.А. Бисько, А.С. Бухало, С.Н. Вассер і ін.). Вищі істівні базидіоміцети в поверхневій та глибинній культурі. Наукова Думка, 1983). Міцелій гриба инокулювали на живильне середовище (сусло-агар) у кварцові пробірки і поміщали на 3 доби в термостат, де підтримувалася температура на рівні $24 - 25^\circ\text{C}$. На 4-у добу колонії гриба, які досягали 1 - 2 мм в діаметрі, опромінювали, використовуючи експозиції 10 сек, 1 і 5 хв. Стимулююча дія лазерного опромінювання зростала зі збільшенням щільності енергії випромінювання в межах від 0,16 до $4,80 \text{ Дж/см}^2$. При опроміненні міцелію гливи звичайної у променях (5 - 10 крад) спостерігали

деяке збільшення урожайності плодів тіл (*Ry-gava et al. Vliv ozareni mycelia ni vynosi hlivy us-tricne Pest Zamh* [975 - 13 № 1 - s 85 - 88]).

Недоліком цього способу маємо вважати таке. УФ-випромінювання є одним із видів електромагнітних випромінювань по довжині хвилі, що розташоване між видимим світлом і рентгеновськими променями. Збудження атомів в макромолекулах при УФ-випромінюванні робить їх високореакційноздатними і викликає різноманітні фотохімічні реакції. Найважливішою з них є димеризація піримідинів. Це супроводжується розриванням водневих зв'язків між ланками ДНК та локальною денатурацією дволанкової молекули ДНК, що призводить до зміни її конфігурації. Іонізація атомів, що входять до складу макромолекули ДНК, під впливом у променів лаг поштовх до проходження різноманітних радіаційно-хімічних реакцій, що ведуть до змін їх макромолекул. Як наслідок цих процесів — виникнення небажаних мутацій, зникнення корисних ознак та поява небажаних (І.А. Захаров, С.В. Ковальцова, Т.Н. Кожина та ін.). Мутаційний процес у грибів. Наука, 1980).

Відомі способи стимулювання росту дріжджів і *E. coli* шляхом впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання у видимій частині спектру (Не-Не лазер $632,8 \text{ нм}$). Величина ефекту стимуляції залежить також і від інтенсивності світла даної довжини хвилі (Г.І. Кару. Про молекулярний механізм терапевтичної дії випромінювання низькоінтенсивного лазерного світла. Докл. Акад. Наук 1986 Т. 291, № 5, стор. 1245 - 49).

Відомий спосіб активації проростання базидіо-

(13) A

(11) 53880

(19) UA

спор *Neurospora crassa* і росту, отриманих з цих базидіоспор моноспорових культур, який оснований на впливі на базидіоспори лазерного випромінювання (He-Ne лазер) у червоній області спектру в дозах від 45 до 230 мДж/см². В результаті проведених маніпуляцій збільшується кількість пророслих спор у 10 – 10⁵ разів у різних штамів, зменшується час їх проростання, збільшується швидкість росту моноспорових культур (Деклараційний Патент України А 01 G1/04 Спосіб активації проростання спор вищого базидіального гриба *Neurospora crassa* 16 04 2001р.)

Однак, до теперішнього часу не вивчена дія випромінювання низькоінтенсивного лазерного світла на ріст і розвиток базидіоміцетів, їх урожайність і продуктивність.

В основу винаходу способу стимуляції росту, розвитку і плодоношення вищого базидіального гриба *Lentinus edodes* поставлена задача активації росту дикаріотичного (вегетативного) міцелію під дією лазерного випромінювання (He-Ne лазер) у червоній області спектру при дозі 230 мДж/см². У результаті цього збільшується швидкість росту міцелію, зменшується час обростання субстрату, значно раніше починається плодоношення, збільшується врожайність. Це, без сумніву, має важливе практичне значення при культивуванні їстівних грибів.

Поставлена задача вирішується шляхом впливу лазерного випромінювання на дикаріотичний міцелій гриба при дозі 230 мДж/см². Міцелій отримували двома способами. У першому випадку посів гриба здійснювали, поміщали шматочок дикаріотичного міцелію у центр чашки Петрі із суспензією агаром у якості поживного середовища. Інкубували у темряві при температурі 26°C. Опромінювання вищезазначеним способом проводили через дві до-

би після посіву. Дослід та контроль (міцелій, що не підлягав лазерному впливу), повторювали десять разів (по 10 чашок відповідно). Дали періодично вимірювали діаметр колоній, висоту міцелію і контролювали його щільність. По цих показникам визначали середньодобовий приріст і ростові коефіцієнти. Ростовий коефіцієнт визначали по формулі $PK = \frac{hdg}{t}$ (d - діаметр колонії і h - висота в мм, g – щільність, t - вік (доба)). (А.С. Бухало. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев. Наукова думка. 1988. 143с.). У другому варіанті дикаріотичний міцелій вирощували протягом 14 діб на стерильному зерні пшениці, яке пройшло термічну обробку (варити при 100°C 40 хв). Отриманий міцелій поміщали в стерильні чашки Петрі тонким шаром і опромінювали вищевказаним способом. Відразу після лазерної обробки міцелій використовували для засіву стерильних субстратних блоків (букове трачіння 80%, кукурудзяне борошно 20%, вологість 60%). До початку плодоношення інкубація блоків проводилась у повній темряві при температурі 26°C, потім на світлі при 18°C. Дали вивчали та порівнювали показники росту, розвитку і процесу плодоношення гриба на цих і контрольних блоках. Отримані результати обробляти, використовуючи методи дисперсійної аналізу.

Суть винаходу, який заявляється, пояснюється прикладами.

Приклади використання лазерного випромінювання для збільшення швидкості росту дикаріотичного міцелію. Лазерним випромінюванням у червоній частині спектру при дозі 230 мДж/см² впливали, як описано вище, на дикаріотичний міцелій, який виріс на суспензії агару за дві доби. Показники росту вимірювали через 3, 5, 7, 9, 11 і 13 діб після посіву.

Таблиця 1

Вплив лазерного опромінювання на ріст дикаріотичного міцелію *Lentinus edodes* на суспензії агару

Вік колонії (доба)	Діаметр колонії (мм)		Висота колонії (мм)		Щільність колонії (ба-ли)		Коефіцієнт росту	
	Контроль	Опромінений	Контроль	Опромінений	Контроль	Опромінений	Контроль	Опромінений
3	5	6	2	5	1	2	3,3	20,0
5	10	10	3	5	1	2	6,0	20,0
7	23	30	5	10	2	3	35,7	128,5
9	48	50	5	10	2	3	53,3	167,0
11	62	65	5	10	2	3	56,0	177,0
13	75	75	5	10	2	3	58,0	173,0
Середньодобовий приріст	5,7	5,7						

Представлені результати (табл 1) показують, що лазерне випромінювання здатне стимулювати процес росту міцелію. При однаковому лінійному рості колоній у дослідних варіантах відмінні велика висота і щільність колоній у результаті коефіцієнт росту збільшується майже в 3,3 рази.

Приклади застосування лазерного випромінювання для прискорення процесу обростання субстрату. Посівний міцелій на зерні отримували і опромінювали вищевказаними способами. Посів

проводили відразу після опромінювання на стерильний субстрат, який поміщали, в термостійкі поліпропіленові мішки по 2кг. Кількість посівного матеріалу вносились однакова (5%), як у досліді, так і контролі.

Отримані результати (Табл 2) дозволяють стверджувати, що опромінювання лазерним світлом у вказаному режимі посівного міцелію дозволило зменшити час обростання субстрату в порівнянні з контролем на 20діб.

Таблиця 2

Швидкість обростання субстрату (%) міцелієм *Lentinus edodes*, опроміненим низькоінтенсивним червоним лазерним світлом

Доба	Контроль	Опромінений
10	20	25
20	42	50
30	70	75
40	90	100
60	100	

Приклади використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання для стимулювання процесу плодоношення і збільшення врожайності

Отримання посівного міцелію, його опромінювання, посів на субстратні блоки і інкубування проводили, як описано у попередніх прикладах

Таблиця 3

Плодоношення й урожайність контрольного й опроміненого штамів *Lentinus edodes*

Штам	Середня к-сть Плодових тіл на блок, штук	Середня маса плодового тіла, г	Питома вага г/см ²	Период до початку плодоношення, доба	Урожайність, г/кг
Контроль	16	20	3,0	180	160
Опромінений	22	22	3,2	150	242

Примітка: урожайність - маса свіжих плодових тіл на масу вологого субстрату

Порівняння процесів плодоношення у досліді і контролі (табл 1) дозволило встановити, що лазерне опромінювання посівного матеріалу у вказаному режимі дозволяє на місяць скоротити період від посіву до початку плодоношення, середня кількість плодових тіл на блок збільшується на 39% і, як наслідок, урожайність збільшується на 43%

Представлені в прикладах показники застосу-

вання лазерного випромінювання для стимуляції росту, розвитку і плодоношення вищого базидіального істівного гриба *Lentinus edodes*, показує, що лазерне опромінювання у червоному спектрі при дозі 230мДж/см² дозволяє збільшити коефіцієнт росту в 3,5 рази, зменшити час культивування на місяць, збільшити урожайність на 45%