



УДК 57.041:582.28:632.42

Вплив температури на ріст і життєздатність міцелію штамів мікофільного гриба *Cladobotryum dendroides*

Дмитрій Медведєв, Ніна Бісько

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна
Адреса для листування: gribovod.tehnolog@gmail.com

Отримано: 11.04.18; прийнято до друку: 14.06.18; опубліковано: 25.06.18

Резюме. У статті представлені результати досліджень впливу різних значень температур (від $18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ до $45\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) на швидкість росту, морфологію колоній та життєздатність міцелію 5 штамів *Cladobotryum dendroides*, що виділені з уражених павутинною цвільлю плодів гриба *Agaricus bisporus*. Установлено, що оптимальною температурою для всіх штамів на картопляно-глюкозному агаризованому середовищі була $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Збільшення температури на 6°C (с $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ до $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) спричинило значне зменшення швидкості росту – для різних штамів – у 65–120 разів. Зниження температури на 7°C (с $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ до $18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) не настільки негативно вплинуло на швидкість росту досліджених штамів – цей показник знизився в 3–5 разів, порівняно зі швидкістю росту при оптимальній температурі. Установлено, що температура $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ була критичною для росту міцелію трьох із 5 досліджених штамів, а для двох інших штамів значення критичної температури було на 1°C нижче й становило $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Продемонстровано, що міцелій жодного з досліджених штамів *C. dendroides* не ріс при температурах $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ і $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Однак при перенесенні культур в умови оптимальної температури ріст відновився. Швидкість росту при цьому незначно відрізнялася від відповідних ростових показників штамів, культивованих при оптимальній температурі. Отже, показники температур $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ спричиняють фунгістатичну дію на ріст міцелію досліджених штамів *C. dendroides*. У результаті дослідження впливу температури на морфологічні особливості росту міцелію штамів *C. dendroides* установлено, що при підвищенні температури інкубації ($30\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) колонії всіх штамів набувають характерних морфологічних ознак: край колонії стає нерівним, колір колонії змінюється з блідо-жовтого або жовтого на рожевий, темно-бурий чи темно-вишневий, реверзум змінює колір із жовтого на темно-бурий або темно-вишневий.

Ключові слова: умови, фунгістатичний вплив, колір колоній, морфологія колоній.

The Influence of Temperature on Growth and Vitality of Mycelia of Fungicolous Fungus *Cladobotryum Dendroides* Strains

Dmitrii Medvedev, Nina Bisko

M. G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine.
Correspondence: gribovod.tehnolog@gmail.com

Resume. The influence of temperature in interval $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ – $45\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ on growth rate, colony morphology and mycelia vitality of 5 strains *Cladobotryum dendroides* is considered. The strains were isolated from *Agaricus bisporus* carpophores which were affected by cobweb disease. It was demonstrated that the temperature $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ was optimal for growth of all strains on potato glucose agar medium. The growth rate was decreased in 65-120 times under conditions of temperature increase from $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ to $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. The

growth rate was decreased in 3-5 times under conditions of temperature decrease from $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ to $18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. The temperature $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ was critical for the growth of 3 from 5 investigated strains, and the temperature $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ was critical for the growth of others. It was found, that the temperatures $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ and $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ have fungistasis action for all *C. dendroides* strains. It was shown that temperature increase ($30\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) results in changes of morphological characteristics of mycelia: edge of colony becomes irregular, the colony color changes from yellow or light yellow to rose, dark brown or dark cherry, the riversum color – from yellow on dark brown or dark cherry.

Key words: conditions, fungistasis action, colony color, colony morphology.

Вступ

Одним із перспективних напрямів біотехнології у ХХІ ст. є розвиток промислового культивування їстівних грибів як джерела повноцінного білку, вітамінів, мікроелементів та біологічно активних речовин, необхідних для харчування й здоров'я людини [5]. У багатьох країнах Європи, у тому числі й в Україні; печериця двоспорова *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach займає перше місце за об'ємом виробництва. Гриб *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Nooz. є одним із найбільш розповсюджених мікофільних паразитів печериці двоспорової, який призводить до значних утрат урожаю цінного їстівного гриба. Установлення біологічних характеристик штамів *C. dendroides* україно важливе для розробки екологічно чистих методів боротьби з павутинною цвіллю печериці. Проте особливості росту та культурально-морфологічні ознаки штамів *C. dendroides* при різних температурах, визначення параметрів критичних температур у науковій літературі досі мало вивчено. Сам цей факт, а також величезне значення цього гриба як паразита культивованої в промислових масштабах печериці двоспорової зумовлюють нагальну потребу такого дослідження.

Вивчення впливу різних абіотичних факторів, у тому числі температури, на розвиток міцелію штамів *C. dendroides* дає змогу встановити варіабельність швидкості росту та морфології колоній, критичні параметри для росту цього паразита печериці двоспорової. Відомо, що критичні температури – максимальні й мінімальні – мають штамову специфіку та харак-

теризують умови існування виду. Досліджень життєздатності міцелію *C. dendroides* за умов критичних показників температури в науковій літературі немає.

Мета статті – установити вплив різних значень температури на ріст, культурально-морфологічні особливості та життєздатність міцелію 5 штамів *C. dendroides*.

Матеріали й методи досліджень

Об'єктом дослідження були чисті культури 5 різних штамів *C. dendroides*, виділені з уражених павутинною цвіллю карпофорів печериці двоспорової, зібраних у різних промислових грибних господарствах України згідно з методиками М. А. Наумова [3] та В. І. Білай [1]. Для діагностики виду використовували визначник [4].

Вплив температури на ріст і морфологію культур вивчали на стерильному живильному середовищі – картопляно-глюкозному агарі в чашках Петрі за різних температур. Склад картопляно-глюкозного середовища (КГА), г/л: картопля – 200; глюкоза – 20; агар-агар – 20, вода – 1 л. У кожен стерильну чашку Петрі залито по 10 мл живильного середовища. Як інокулюм використовували диски з міцелієм (діаметром 5 мм) 7-добової колонії кожного штаму, що вирощені на КГА [2]. Дослідження росту та життєздатності міцелію штамів здійснювали при інкубуванні в холодильнику ($-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) та термостаті при таких значеннях температури: $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $30\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$,

36±0,3°C, 37±0,3°C, 38±0,3°C, 39±0,3°C, 40±0,3°C і 45±0,3°C. Після третьої доби інкубації за зазначеними температурами, крім -18±0,3°C, враховували наявність чи відсутність росту міцелію. При -18±0,3°C штами культивували 1 або 4 доби. Культури, що не росли за досліджуваної температури, надалі інкубували за оптимальної температури для перевірки їхньої життєздатності. Поновлення або відсутність росту міцелію штамів фіксували після 3-х та 5-ти діб інкубації за оптимальної температури. У процесі росту штамів щодоби вимірювали радіус колоній у двох взаємно перпендикулярних напрямках із метою встановлення швидкості радіального росту (V , мм/добу) за формулою: $V = a-b/t$, де a – радіус колонії в кінці лінійного росту, мм, b – радіус колонії на початку лінійного росту, мм, t – тривалість (кількість діб) лінійного росту [1].

Морфолого-культуральні особливості колоній штамів описували на 3-тю, 7-му та 10-ту добу й після повного заростання міцелієм гриба живильного середовища в чашці Петрі. Повторність проведених дослідів п'ятикратна. Статистично достовірні дані представлені при 95 % імовірності.

Результати

Аналіз швидкості росту штамів *C. dendroides* за різної температури дає підстави говорити про те, що оптимальною температурою для всіх досліджених штамів була 25±0,3°C (табл. 1). Дані табл. 1 свідчать про значний негативний вплив підвищення та зниження температури на швидкість росту всіх штамів. Зокрема, швидкість росту штаму 1 при підвищенні на 6°C (із 25±0,3°C до 31±0,3°C) зменшилась у 65 разів, а штаму 5 – у 120 разів (табл.1). Водночас зниження температури інкубації на 7°C (із 25±0,3°C до 18±0,3°C) призвело до зменшення швидкості росту штаму 1 у 5 разів, а штаму 5 – у 3 рази. Потрібно відзначити різке зниження швидкості росту всіх штамів в умовах підвищення температури лише на 1°C в інтервалі від 30±0,3°C до 31±0,3°C. Зазначимо, що при цьому ростовий показник штаму 5 став меншим у 36 разів (табл.1).

Отримані результати свідчать про те, що штам 2 *C. dendroides* характеризується найбільш високими показниками швидкості росту за вивченими температурами серед досліджених штамів цього мікофільного виду.

Таблиця 1

Радіальна швидкість росту міцелію штамів *Cladobotryum dendroides* на картофельно-глюкозному агаризованому живильному середовищі за різних температур

Штам, №	Швидкість росту, мм/добу				
	температура інкубації, °C				
	18 ± 0,3*	25 ± 0,3	30 ± 0,3	31 ± 0,3	34 ± 0,3
1	2,6 ± 0,13	13,2 ± 0,21	6,6 ± 0,33	0,2±0,01	0,07±0,01
2	4,3 ± 0,21	15,6 ± 0,34	10,5±0,53	0,6±0,03	-
3	3,8 ± 0,19	13,5 ± 0,25	6,7 ± 0,34	0,5±0,03	0,15±0,01
4	3,9 ± 0,19	12,4 ± 0,12	2,3 ± 0,11	0,5±0,02	-
5	4,1 ± 0,20	12,1 ± 0,15	3,6 ± 0,18	0,1±0,01	0,12±0,01

Примітка. Ріст відсутній, * – за даними [2], для показників швидкості росту наведено значення стандартної похибки, відхилення якої становило 5 %.

Результати й обговорення

За даними проведених експериментів, встановлено, що міцелій усіх досліджених штамів *C. dendroides* не ріс за температурами $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та вище. Однак міцелій штамів 2 та 4 *C. dendroides* був не здатен рости й за температури $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Відсутність росту міцелію при переносі досліджених штамів, які інкубували при $34\text{--}45\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, в умовах оптимальної температури свідчить про те, що температура $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ була критичною для росту міцелію штамів 1, 3 та 5, а для штамів 2 та 4 – значення критичної температури було $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$.

Водночас виявлено, що міцелій усіх штамів *C. dendroides* не ріс при температурах $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Однак після переносу в умови культивування при $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ усі досліджені штами на 4-ту добу відновили ріст. Показники швидкості росту міцелію при цьому незначною мірою відрізнялися від швидкості росту культур, що постійно утримували в умовах оптимальної температури ($25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$). Потрібно зазначити, що різниця в терміні утримування міцелію всіх досліджених штамів при $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ – одна або чотири доби, не впливала на швидкість росту їхнього міцелію після переносу в умови культивування при $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Отже, температури $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ мають фунгістатичну дію на ріст міцелію досліджених штамів *C. dendroides*.

У результаті дослідження впливу температури на морфологічні особливості росту міцелію штамів *C. dendroides* встановлено, що при підвищенні температури інкубації ($30\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $31\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) колонії всіх штамів набувають характерних морфологічних ознак: край колонії стає нерівним, забарвлення її

змінюється з блідно-жовтого та жовтого на рожевий, брудно-бурий, темно-вишневий, реверзум змінює колір із жовтого на темно-бурий або темно-вишневий.

Висновки

З'ясовано, що оптимальною температурою для росту міцелію 5 штамів мікофільного гриба *C. dendroides* на картопляно-глюкозному агаризованому живильному середовищі є $25\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Виявлено, що температури $-18\pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $5\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та $15\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ мають фунгістатичну дію на ріст міцелію досліджених штамів *C. dendroides*. Значення критичних температур дещо відрізнялися для різних досліджених штамів – температура $35\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ була критичною для росту міцелію штамів 1, 3 та 5, а для штамів 2 та 4 – значення критичної температури було $34\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. Отримані результати свідчать про перспективність продовження досліджень біологічних особливостей росту мікофільного гриба *C. dendroides*

Література

1. Wasser, S. P. Current findings, future trends and unsolved problems in studied of medicinal mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011, 89, 12. pp. 1323–1332.
2. Наумов, Н. А. Методы микологических и фитопатологических исследований. Сельхозгиз: Москва; Ленинград: 1937; с. 272
3. Билай, В. И. Методы экспериментальной микологии: Справочник, 1982, Наук. думка: Київ, 552 с.
4. Рудаков, О. Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение; Наука: Москва, 1981, 160 с.
5. Медведев, Д. Г. Вплив складу живильних середовищ на швидкість росту та культурально-морфологічні особливості штамів *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams. Hooz. *Вісник Харківського національного університету. Серія біологічна.* 2017, 28, с 87–94.