

УДК 579.6

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФИЗИОЛОГИИ ДЫХАНИЯ МИЦЕЛИЯ *PLEUROTUS OSTREATUS* ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С ФУНКЦИЕЙ ЕГО ПРОДУКТИВНОСТИ

© 2009 В.Р. Киреев, О.Н. Макурина, С.В. Киреева

Самарский государственный университет, г. Самара

Поступила 12.02.2009

На биологическом факультете Самарского государственного университета проведены исследования физиологического механизма дыхания у мицелия *Pleurotus ostreatus*. Исследуемый мицелий в процессе наращивания биомассы подвергался направленному биологическому воздействию с целью оптимизации в общей биомассе, относительного количества клеток мицелия особой физиологической специализации. Это в свою очередь сформировало в посевной культуре мицелия предельно высокие показатели плодово-генеративной функциональности, а также интенсифицировало газообмен и выявило необычные функции механизма дыхания.

Ключевые слова: физиология дыхания, мицелий, *Pleurotus ostreatus*.

Культивирование широкого видового ряда шляпочных грибов могло бы значительно расширить перечень источников разнообразных белков, биологически активных веществ и витаминов в рационе питания современного человека. С точки зрения экологической, биологической и фармакологической ценностей, товарная биомасса шляпочных грибов значительно превосходит аналогичные показатели пищевой продукции растительного происхождения. Искусственно культивируемые грибы можно выращивать круглогодично независимо от продолжительности светового дня и климатических условий. К тому же производство грибов практически любого рода и вида по показателям прироста товарной биомассы за единицу времени и по показателю минимальной себестоимости единицы массы продукта, многократно превосходит любое другое сельскохозяйственное производство, включая производство мяса рыбы и молока.

Выращивание съедобных грибов в настоящее время выделилось в перспективную отрасль сельского хозяйства [1]. Однако рентабельность грибного производства остаётся на чрезмерно низком уровне. Как правило, это объясняется недостаточным знанием (в рамках фундаментальных микологических основ) физиологии культивируемого мицелия, что уже на методологическом уровне не позволяет обеспечить высокую продуктивность культивируемых субстратов грибов.

Для снятия означенной проблемы универсальным инструментом может стать изучение механизма дыхания грибов. Дело в том, что у аэробных организмов, коим является и мицелий всех культивируемых грибов, именно дыхательные процессы

лежат в основе интенсивного развития мицелия, а значит, и интенсификации ферментативных процессов в субстрате, что в свою очередь не может не влиять на конечные показатели получаемой биомассы плодовых тел грибов [2].

Работа по изучению механизма дыхания у мицелия отдельных разновидностей высших грибов уже ведётся некоторыми авторитетными микологами России. Такая работа, применительно к культуре *Pleurotus ostreatus*, проводится и в лаборатории «Прикладная микология и грибоводство» биологического факультета Самарского государственного университета (СамГУ), коллектив которой и подготовил материалы для данной статьи.

В рамках этой работы решались следующие задачи:

1. Определение основных функций механизма дыхания в субстратном мицелии *Pleurotus ostreatus*.
2. Определение ключевых условий функционирования механизма дыхания.
3. Определение роли дыхания в общей продуктивности субстратного мицелия.

ОБЪЕКТ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служил физиологический механизм дыхания у мицелия *Pleurotus ostreatus*. Исследуемый мицелий в процессе наращивания биомассы подвергался направленному биологическому воздействию [3] с целью оптимизации в общей биомассе относительного количества клеток мицелия особой физиологической специализации, что в свою очередь сформировало в посевной культуре предельно высокие показатели плодово-генеративной функциональности (рис. 1 и 2), а также интенсифицировало газообмен и выявило необычные функции механизма дыхания.

Киреев Владимир Реанальдович, заведующий лабораторией прикладной микологии. E-mail: Griboved@bk.ru. Макурина Ольга Николаевна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии E-mail: biochemistry.ssu@rambler.ru. Киреева Светлана Владимировна, студентка.

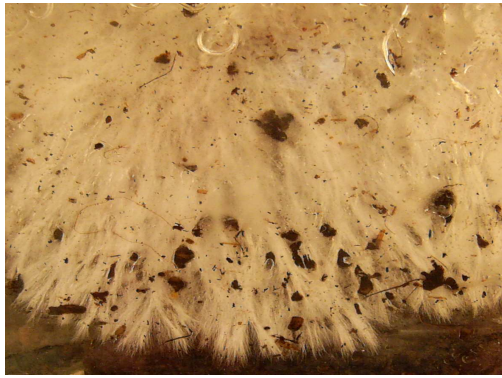


Рис. 1 Особенности морфологии зоны роста мицелия *Pleurotus ostreatus*, отличающегося высокими показателями плодово-генеративной функциональности (потенциальной продуктивности)

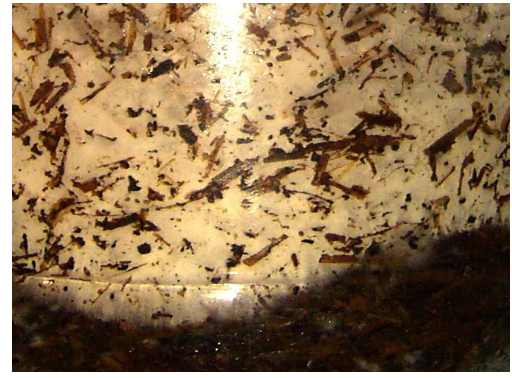


Рис. 2 Особенности морфологии зоны роста мицелия *Pleurotus ostreatus*, имеющего обычную форму физиологического состояния и традиционно низкие показатели плодово-генеративной функциональности (потенциальной продуктивности)

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ОЗНАЧЕННОЙ ТЕМАТИКИ

В журнале «Доклады Академии Наук» некоторые авторы – В.А.Мухин с соавторами – опубликовали статью «Феномен аэробного дыхания кооперативного типа у дереворазрушающего гриба *Formitopsis pinicola*» [4]. По мнению этих авторов, окислительная часть углеродного цикла в отношении древесины контролируется дереворазрушающими базидиальными грибами – уникальной группой организмов, способных к ферментативному расщеплению биополимеров древесины, включая клетчатку и лигнин. Древесина для этих грибов не только трофический ресурс, но и среда обитания, характеризующаяся рядом специфических черт, в частности, высокой плотностью и низкой газопроницаемостью. В силу этого, развитие аэробных организмов в древесине сопряжено с физиологически индуцируемой глубокой гипоксией – метаболическое потребление кислорода не компенсируется его пассивной диффузией в толщу одревесневших тканей.

В этой работе впервые описан феномен аэробного дыхания кооперативного типа, являющийся основополагающей адаптацией грибов к их развитию в древесине при гипоксии и аноксии. Данный физиологический механизм позволяет грибу поддерживать метаболическую активность мицелия в древесине на уровне, как если бы он находился в аэрируемой среде [4].

Биологи из Института экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук и Института физиологии растений для подтверждения этих данных провели интересную экспериментальную работу.

Чтобы выяснить, каким образом *Formitopsis pinicola* умудряется активно дышать под непроницаемой броней березовой коры, исследователи помещали в экспериментальную камеру по очереди: фрагмент ствола с плодовым телом-копытцем, фрагмент ствола без него и отделенное от дерева

плодовое тело. Чтобы понять, какой из объектов дышит, биологи регистрировали в камере содержание углекислого газа. Оказалось, что фрагмент ствола без плодового тела, но с мицелием внутри, практически не выделяет углекислого газа.

В результате эти исследователи сделали вывод, что *Formitopsis pinicola* дышит исключительно через плодовое тело, а точнее – через губчатую его часть — гименофор, который поглощает кислород, окисляет углеводы, выделяет углекислый газ и синтезирует макроэргические молекулы АТФ и НАДФ, которые и уходят в мицелий.

Взгляд специалистов лаборатории «Прикладная микология и грибоводство» биологического факультета СамГУ на описанный феномен аэробного дыхания кооперативного типа. Мы должны учитывать то, что означенные исследования велись в области физиологии гриба *Fomitopsis pinicola*, который является многолетним паразитом и сапрофитом, а это объясняет следующие особенности его физиологии:

1. Плодовое тело этого гриба долгое время находится в жизнеспособном состоянии и поэтому может, активно участвовать в дыхательных процессах всего грибного организма (включая мицелий);

2. Мицелий этого гриба имеет низкую скорость роста и поэтому не требователен к значительной концентрации кислорода в питательной среде (стволе дерева);

3. Колонизируемая живая древесина имеет дополнительный резерв для дыхания мицелия, это насыщенный кислородом древесный сок.

Для придания исследованиям практического значения, следует говорить об аналогичных по типу питания грибах, но относящихся к культивируемым промышленным сортам, например об *Pleurotus ostreatus*. Особенностью данного гриба является краткосрочное нахождение его плодовых тел в жизнеспособном состоянии, и поэтому мицелий данного гриба основную часть жизненного цикла не может рассчитывать на дыхательные

функции, связанные с плодовым телом. Тем не менее, все изложенные процессы в *Fomitopsis pinicola*, хоть и в меньшей степени, но присутствуют и в плодовом теле *Pleurotus ostriatus*.

Однако специалисты нашей лаборатории не склонны рассматривать данный вопрос упрощённо – не согласны с выводами о малом потреблении кислорода мицелием гриба, в случае отсутствия плодового тела. В целом ряде экспериментов мы обнаруживали, что конкретная физиологическая организации клеток мицелия зависит от конкретных условий существования этого мицелия, и поэтому в каждой конкретной ситуации потребность в кислороде, как и механизм его потребления, будет значительно различаться. Например, на участке древесины, граничащем с живыми древесными волокнами, могут формироваться специализированные гифы, способные потреблять кислород, в частности, из древесного сока. В другом случае, если мицелий развивается в полностью погибшем стволе дерева, то он пытается сформировать, либо на поверхности, либо под рыхлой корой погибшего дерева воздушный мицелий, для более активного дыхания. В случае промышленного культивирования мицелия, первое время после его посева в питательную среду (зерно, или солоmistый субстрат) дыхание осуществляется физическим механизмом перераспределения разности парциального давления газов (углекислого газа и кислорода). В процессе колонизации питательной среды, мицелий, срастаясь, постепенно становится целостным организмом с присущей этому клеточной избирательно-функциональной специализацией. Если вопрос рас-

сматривать применительно к образцам мицелия с различными показателями генеративной функциональности, то например, зерновой мицелий, у которого преобладает вегетативная клеточная специализация, для обеспечения дыхательных процессов в толще своей биомассы активно наращивает на свободной поверхности воздушный мицелий. Зерновой же мицелий, обладающий выраженными генеративными свойствами, для обеспечения тех же процессов, генерирует на свободной поверхности уже не воздушный мицелий, а зачатки плодовых тел грибов.

Таким образом, получается, что хоть плодовые тела грибов - ксилотрофов и способны участвовать в дыхательных и других физиологических процессах, но при этом и изолированный от плодовых тел мицелий, достаточно приспособлен к полноценному существованию в различных условиях.

Материалы последних исследований научного коллектива лаборатории «Прикладная микология и грибоводство» биологического факультета СамГУ. Исследования проводились с мицелием *Pleurotus ostriatus*, который был предварительно культивирован с использованием методики биологического воздействия [3]. Такой мицелий отличается относительно высоким соотношением клеток особой физиологической специализации (некий аналог стволовых клеток животных [5]), что в свою очередь формирует в посевной культуре предельно высокие показатели плодово-генеративной функциональности (рис. 3 и 4), а также интенсифицирует газообмен и выявляет необычные функции механизма дыхания.



Рис. 3. Плодово-генеративная специализация мицелия не только интенсифицирует дыхательный метаболизм, но и позволяет кардинально повысить продуктивность субстрата (на снимке урожайность первой волны плодоношения составляет 45% от веса субстрата)



Рис. 4. Вид сверху – урожайность первой волны 45%, против лучших мировых аналогичных достижений, которые в среднем составляют около 18%



Рис. 5. Третий день инкубации



Рис. 6. Шестой день инкубации



Рис. 7. Десятый день инкубации (на поверхности субстрата виден воздушный мицелий, высотой около 1 см.)



Рис. 8. Степень колонизации субстрата мицелием на третий день инкубации (вид сверху)



Рис. 9. На шестой день инкубации началось формирование воздушного мицелия



Рис. 10. На десятый день инкубации сформировалась объемная структура воздушного мицелия



Рис. 11. Четвертый день инкубации, начало формирования границы колонизации



Рис. 12. Шестой день - граница колонизации сформировалась, изолированные колонии почти не развиваются



Рис. 13. Шестой день - воздушный мицелий приобрел густую объемную форму

Стерилизованный субстрат на основе соломы пшеницы засеивался этим мицелием (норма засева 7% от веса субстрата) и закладывался в стеклянные банки, отличающиеся между собой по расстоянию от горлышка, до дна (условно, мелкие и глубокие банки). Глубина закладки субстрата в «мелкие» банки составляла 11 см, а глубина закладки в «глубокие» банки составляла 16 см. Плотность закладки субстрата 470 г/л. Влажность субстрата 75%. Питательная ценность субстрата по растительному белку в пересчете на общий азот составляла 1,5%. После этого субстрат инкубировался 14 дней при

температуре воздуха инкубации 24°C, и помещался в зону микроклимата, для культивации грибов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В мелких банках мицелий развивался равномерно во всем объеме, постепенно увеличивая плотность гиф и насыщенность белого цвета (рис. 5, 6, 7). Воздушный мицелий в мелких банках начинал активно формироваться на 6-й день инкубации (рис. 8, 9, 10). В глубоких же банках колонизация всего объема субстрата в режиме равномерности оказа-

лась невозможной. Первые 4 дня единой сетью гиф колонизировалась лишь та часть субстрата, которая находилась до 10 см от поверхности, при этом формировалась отчётливая граница между верхней частью единой колонии мицелия и нижней частью субстрата с крайне низкой скоростью его освоения мицелием (рис. 11, 12). В остальных 6-ти сантиметрах толщи субстрата, точки посева (роста) развивались крайне медленно, обособившись в изолированные колонии. Особенностью развития культуры в таких условиях явилось то, что воздушный мицелий начинал развиваться уже на 4-й день инкубации и к шестому дню приобретал густую объемную форму (рис. 13). В последующие дни инкубации основная биомасса развивающегося мицелия имела дымчатую расцветку, а мицелий, определяющий границу этой колонии, быстро набирал насыщенность белого цвета. Эта ярко белая граница мицелия, постепенно двигалась к низу, по очереди касаясь изолированных очагов мицелия. После этого происходило объединение общей биомассы мицелия с изолированными колониями, которые в свою очередь переходили из фазы некоего анабиоза к фазе активного развития и колонизации оставшегося объема субстрата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Физиологически активный мицелий, развиваясь даже в рыхлых субстратах, от высокой динамики своего дыхательного метаболизма в ряде случаев сам индуцирует условия глубокой гипоксии, в которых метаболическое потребление кислорода перестает компенсироваться пассивной диффузией в

толщу субстрата. В результате этого мы начинаем наблюдать тот самый феномен аэробного дыхания кооперативного типа, который был впервые отмечен в вышеупомянутой статье В.А.Мухина «Феномен аэробного дыхания кооперативного типа у дереворазрушающего гриба *Formitopsis pinicola*». Но, в отличие от данных упомянутой статьи, в нашем случае мы наблюдаем, во-первых, то, что означенные процессы способны совершаться не только в плотной древесине, но и в сравнительно рыхлом субстрате, а во-вторых, наблюдаем наличие аэробного дыхания кооперативного типа самим мицелием – без всякого участия плодовых тел грибов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Выращивание грибов в домашних условиях // Сборник статей. Донецк, 2000. С. 25-28,65,67.
2. Сычев П.А. Экофизиология высших грибов. Донецк: Каспиопея, 2000. С. 276.
3. Киреев В.Р., Макурина О.Н., Киреева С.В. Некоторые аспекты направленного биологического воздействия на мицелий *Pleurotus ostreatus* и *Agaricus bisporus*, а также на ряд сельскохозяйственных растений // Известия Самарского научного центра РАН, 2009. Т. 11. № 1 С. 217-222.
4. Мухин В.А. «Феномен аэробного дыхания кооперативного типа у дереворазрушающего гриба *Formitopsis pinicola*» // Доклады Академии Наук, 2006. Т. 407. № 2, стр. 280.
5. Киреев В.Р., Макурина О.Н. Заявка в РФФИ № 09-04-01184-а «Отрицательная динамика показателей функциональности плодовой генерации в процессе вегетативного развития грибницы *Pleurotus ostreatus*, её причины и способы обеспечения обратимости данных изменений».

SOME ASPECTS OF THE MYCELIUM *PLEUROTUS OSTREATUS* BREATH PHYSIOLOGY IN INTERRELATION WITH ITS EFFICIENCY FUNCTION

© 2009 V.R. Kireev, O.N. Makurina, S.V. Kireeva

Samara State University

On the biological faculty of the Samara state university researches of the physiological mechanism of breath at mycelium *Pleurotus ostreatus* were carried out. Researched mycelium during escalating a biomass was exposed to the directed biological influence with the purpose of optimization in the common biomass, relative amount of cells mycelium special physiological specialization. It has in turn generated in sowing culture mycelium extremely high parameters of functionality of fruit generation, and also intensified gas exchange and has revealed unusual functions of the breathing mechanism.

Key words: physiology of breath, mycelium, *Pleurotus ostreatus*.

Kireev Vladimir Reanal'dovich, Manager of objective mycology's laboratory. E-mail: Griboved@bk.ru. Makurina Olga Nikolaevna, Doctor of Biology, professor, manager of department biochemistry. E-mail: biochemistry.ssu@rambler.ru. Kireeva Svetlana Vladimirovna, student.