

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА ЖИЗНЕННУЮ АКТИВНОСТЬ МИЦЕЛИЯ *PLEUROTUS OSTREATUS* В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

©2013 Е.Е. Шубина, О.А. Розенцвет, В.Г. Козлов

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

Поступила 21.10.2013

Исследован характер роста мицелиальной культуры *Pleurotus ostreatus* в полусинтетических средах с минеральными добавками и без них. Определены максимально достижимые количества биомассы (мг), зависимости прироста мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования. Выявлены изменения в характере роста мицелия *P. ostreatus* в присутствии ионов кадмия (Cd^{2+}). Зафиксировано снижение максимума биомассы и посуточного прироста мицелия *P. ostreatus*. Определена значимость полноценности питания в ответных реакциях исследуемого организма на стрессовый фактор.

Ключевые слова: *Pleurotus ostreatus* в мицелиальной культуре, полусинтетические среды, ионы кадмия, активность жизнедеятельности, посуточный прирост биомассы, максимальное накопление биомассы, полноценность питания.

ВВЕДЕНИЕ

Грибы всегда входили в пищевой рацион человека. Потребление грибов носило сезонный характер, хотя и делались различные виды заготовок, позволявшие увеличить общее потребление этого вида продуктов. В настоящее время благодаря искусственному разведению грибы представлены в рационе человека практически круглогодично и входят в состав разнообразных продуктов питания. Для культивирования грибов используются различные отходы сельскохозяйственного производства пищевых или технических культур. Используемые субстраты, особенно отходы технических культур, могут содержать вредные вещества. Эти соединения способны накапливаться в плодовых телах до концентраций, превышающих допустимые, препятствовать нормальному развитию мицелия в субстрате, оказывать влияние на технологические показатели производства, товарный вид и пищевую ценность грибов. Для создания обоснованных требований к качеству используемого субстрата необходимо исследовать и выявить связи между качеством культивируемых грибов, жизненной активностью мицелия, биохимическим составом плодовых тел и содержанием вредных веществ в субстратах, присутствие которых наиболее вероятно. К таким веществам относятся, прежде всего, соединения металлов.

Кроме того, грибы – часть живого покрова Земли. Они занимают особый экогоризонт и выполняют в качестве редуцентов роль посредников

между живым и косным веществом. В условиях техногенного загрязнения окружающей среды существует необходимость изучения адаптивных возможностей грибов на действие реципиентов. Изучение ответных реакций грибов в природных условиях требует учета разнообразных внешних факторов, которые многочисленны и тесно переплетаются между собой. Выделить конкретную роль или определить количественное значение какого-либо одного фактора влияния весьма сложно. При культивировании высших базидиомицетов возможно варьирование и строгий контроль каждого из параметров эксперимента, что позволяет установить связь между природой и уровнем внешнего воздействия и ответной реакцией организма.

Принадлежность *Pleurotus ostreatus* к тем же таксономическим группам, что и большинство съедобных грибов, позволяет применить результаты, полученные в данном исследовании, на объекты наблюдаемые в естественных условиях обитания.

В настоящей работе изучено влияние ионов кадмия на жизненную активность мицелия *P. ostreatus* в питательных средах различного состава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали *Pleurotus ostreatus* (Jacq) P.Kumm (1871), штамм-НК-35 в мицелиальной культуре. Мицелий выращивали в погруженной культуре в жидких полусинтетических средах в замкнутой системе. Состав сред: среда 1- сахароза, пептон, KH_2PO_4 , KCl , $MgSO_4$; среда 2- сахароза, пептон [3].

Соотношение объемов питательной среды и воздушной фазы соответствовало 1:12.

Шубина Елена Евгеньевна, младший научный сотрудник, Sheeln1611@gmail.com; Розенцвет Ольга Анатольевна, главный научный сотрудник, доктор биологических наук, olgarozen55@mail.ru; Козлов Валерий Григорьевич – заведующий лабораторией, доктор химических наук, tomi63@mail.ru

Подготовка сред, методы и условия инокуляции соответствовали нормам микробиологических посевов [5].

Количество инокулята контролировалось гравиметрическим методом [4].

Глубинное культивирование мицелия *P. ostreatus* проводили в температурном интервале 24,3-25,1°C.

Кадмий вносили в питательную среду в виде $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 100 мкМоль/л.

Влияние ионов кадмия оценивали по активности жизнедеятельности мицелия *P. ostreatus* [1]. Количественным параметром активности жизнедеятельности являлись посуточный прирост биомассы (скорость роста) мицелия и максимальное накопление биомассы за время культивирования. Количество биомассы определялось гравиметрически [4] после отмывания от питательной среды десятикратным объемом дистиллированной воды и высушивания мицелия до постоянного веса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из литературы известен ряд составов полусинтетических питательных сред, используемых для культивирования *Pleurotus ostreatus* [3]. Использование питательных сред различных составов позволяет выявить насколько отлично влияние одного и того токсиканта на мицелии *P. ostreatus* в условиях варьирования качества среды обитания. На рис. 1 показана динамика роста мицелия *P. ostreatus* на двух полусинтетических средах. Как для среды 1, так и для среды 2 увеличение биомассы от продолжительности культивирования отображается S-образными кривыми, что характерно для роста мицелиальных форм грибов [8]. Анализ полученных зависимостей позволяет выделить три фазы роста. Фаза I (стационарная фаза) характеризуется самым низким приростом биомассы. Считается, что в этот период развития происходит настройка ферментной системы организма на компоненты питательной среды [7, 8]. Различий в продолжительности фазы I и скорости нарастания биомассы от состава питательной среды практически не наблюдается. Ко вторым суткам культивирования скорость роста мицелия возрастает и наступает вторая фаза роста (фаза II). В фазе II наблюдаются явные различия в скорости нарастания биомассы в средах 1 и 2. После шестых суток культивирования в среде 1 жизненная активность мицелия становится заметно выше, чем в среде 2. Кроме того, фаза II в среде 1 продолжается до 12-х суток, что на сутки превосходит продолжительность этой фазы в среде 2. Отмеченные различия в жизненной активности мицелия наиболее вероятно связаны с присутствием ионов K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , H_2PO_4^- , Cl^- в среде 1 [2, 3]. После истечения 12 суток культивирования *P. ostreatus* в среде 1 и одиннадцати в среде 2 рост

переходит в более медленную фазу III. Уменьшение скорости роста мицелия скорее всего, связано с действием, так называемых, лимитирующих факторов среды - истощение питательных веществ и накопление метаболитов в замкнутой системе.

На 15 сутки культивирования нарастание биомассы как в среде 1, так и в среде 2 практически прекращается. Максимальное количество биомассы *Pleurotus ostreatus* при культивировании в среде 1 составило 101 мг. Использование среды 2 снизило максимальное количество биомассы мицелия *P. ostreatus* до 84 мг. Видимо снижение биомассы *P. ostreatus* на 16,8% в среде 2 по сравнению со средой 1 свидетельствует о недостаточном количестве важнейших биогенных ионов K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , H_2PO_4^- в среде 2.

Влияние продолжительности культивирования и состава питательной среды наглядно отображается и на изменении суточного прироста биомассы мицелия *Pleurotus ostreatus*. Из рис. 2 можно видеть, что в первые пять суток скорость развития мицелия достаточно равномерно возрастает и практически не зависит от состава питательной среды. Интервал с 5 по 11 сутки характеризуется наиболее высокими показателями скорости роста мицелия на обеих средах. Но присутствие ионов биогенных элементов (кривая 1) обеспечивает более быстрое увеличение биомассы. На 8 сутки культивирования отмечен максимальный прирост биомассы (V_{max}), составивший 11,0 мг/сутки. В среде 2 максимальный прирост тоже приходится на 8 сутки, но составляет только 9,0 мг/сутки.

Таким образом, среда 2, менее сбалансирована по составу, но все же обеспечивает приемлемый в эксперименте рост и развитие мицелия *Pleurotus ostreatus*.

Наблюдения за ростом мицелиальной культуры *P. ostreatus* в присутствии ионов кадмия позволили получить следующие результаты (рис.3). В среде 1, с минеральными солями, добавление ионов кадмия привело к удлинению фазы II до 12-х суток (рис. 3, кривая 1). Максимальное количество биомассы в данном опыте составляет 38,4 мг, что в 2,6 раза меньше аналогичного показателя в данной среде свободной от ионов кадмия. Кривая изменения суточного прироста мицелия имеет вид сходный с аналогичной зависимостью в отсутствие ионов кадмия (рис. 2,4, кривые 1). Максимальное значение прироста мицелия *P. ostreatus* приходится на шестые – седьмые сутки культивирования, но составляет только 3,9 мг/сутки, что в 2,8 раза меньше аналогичного показателя в этой же среде, но без ионов кадмия. Подобные результаты были получены при культивировании мицелия *P. sajor -caji* [9].

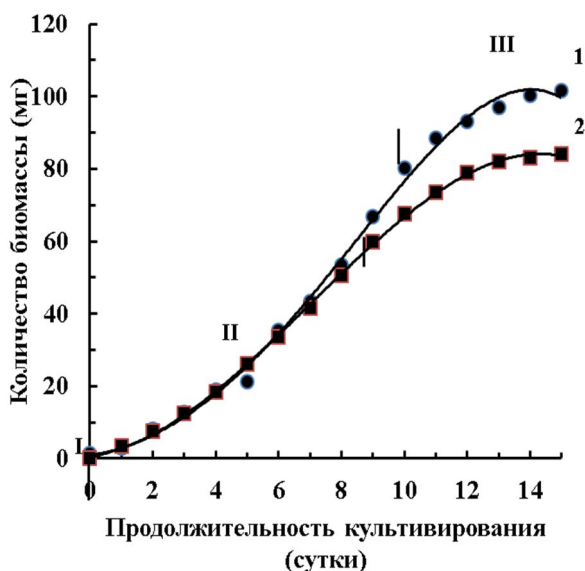


Рис. 1. Изменение биомассы мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования. 1 – среда 1, 2 – среда 2; I-, II-, III- фазы роста.

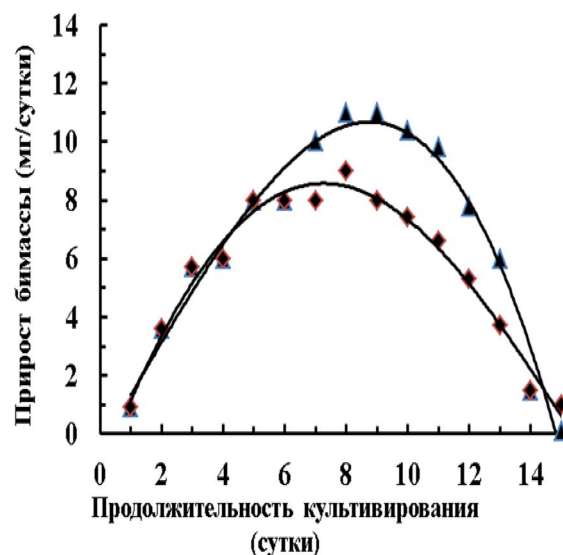


Рис. 2. Изменение прироста мицелия *Pl. ostreatus* от продолжительности культивирования. 1- среда 1, 2- среда 2.

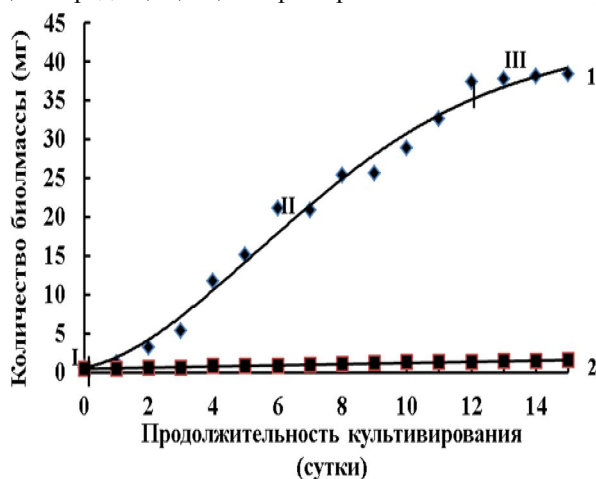


Рис. 3. Изменение биомассы мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования в присутствии 0,1 мкМоль/л ионов кадмия. 1 – среда 1, 2 – среда 2; I-, II-, III- фазы роста.

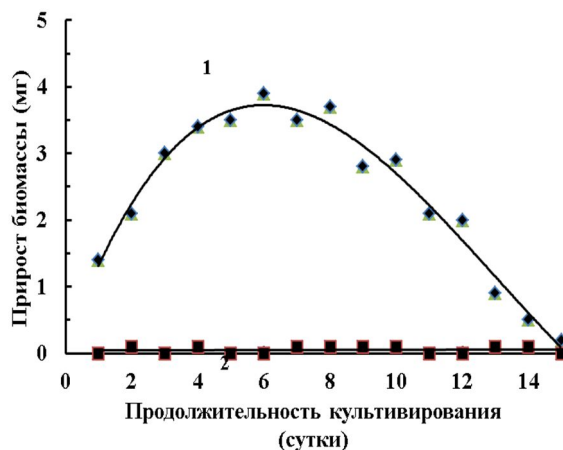


Рис. 4. Изменение прироста мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования в присутствии 0,1 мкМоль/л ионов кадмия. 1- среда 1, 2- среда 2.

Особенно сильно влияние ионов кадмия оказалось в случае использования для культивирования среды 2. Присутствие ионов кадмия при недостаточном минеральном питании привело к практически полному подавлению роста мицелиальной культуры (рис. 3, кривая 2). Количество биомассы за время культивирования достигло только 1,6 мг. Жизненная активность мицелиальной культуры *P. ostreatus* в присутствии ионов кадмия в неполноценной по минеральному питанию среде настолько низка (рис. 4, кривая 2), что определить реальное время соответствующее максимуму прироста биомассы весьма затруднительно.

Однако, гибели культуры за период наблюдения (15 суток) при данной концентрации ионов кадмия не произошло. Об этом свидетельствует успешное постстрессовое культивирование мице-

лиальной культуры *Pleurotus ostreatus* в среде 2, но свободной от ионов кадмия. Характер роста в постстрессовом культивировании отличался от контрольного только удлинением стационарной фазы роста (фаза I) до трех суток и смещением максимума прироста биомассы на десятые сутки культивирования. Максимальное же количество биомассы в этом опыте близко к безстрессовому и составило 81 мг.

Таким образом, влияние присутствующего в системе вредного вещества на живой организм во многом определяется полноценностью питательной среды или в более общем виде уровнем благоприятности внешних факторов [6]. Чем в более благоприятных условиях происходит развитие мицелиальной культуры *P. ostreatus*, тем меньше влияние оказывает присутствие ионов кадмия при прочих равных условиях. Видимо, справедливо

будет и обратное предположение, что в благоприятных условиях организм способен противостоять более сильным воздействиям неблагоприятных факторов, например, более высоким концентрациям ионов металлов в питательных субстратах. Кроме того, следует отметить очень важное наблюдение. Даже при практически полном подавлении жизнедеятельности мицелиальной культуры *Pleurotus ostreatus* в присутствии ионов кадмия в течение пятнадцати суток, периода времени, достаточного для достижения максимальной биомассы, не происходит гибели мицелия. При попадании в благоприятные условия жизнедеятельность организма восстанавливается.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимова Т.Н., Хаскин В.В. Экология М.: Юнити, 2000. 566с.

2. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. М.: Издательство Московского университета, 1988. 228 с.
3. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. К.: Наукова думка, 1988. 143 с.
4. Воскресенский П.И. Техника лабораторных работ. Л.: Химия, 1970. 717 с.
5. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. М.: Издательство Московского университета, 1976. 306 с.
6. Серезин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиол. Растений. 2001. Т. 48. Вып. 4. С. 606-630.
7. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1972. 476 с.
8. Лилли В., Барнетт Г. Физиология грибов. М., ИЛ. 1953. 12-16 с.
9. Gihangir N., Saglam N. Removal of cadmium by *Pleurotus sajor –caji* basidiomycetes // Acta biotechnol. 1999. Vol. 19. № 2. P.171-177.

EFFECT OF CADMIUM IONS ON THE VITALITY OF THE MYCELIUM *PLEUROTUS OSTREATUS* IN THE CULTURE MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITION

© 2013 E.E. Shubina, O.A. Rozenzvet, V.G. Kozlov

Institute of Ecology of the Volga Basin Russian Academy of Science, Togliatti

Nature of growth of mycelium culture of *Pleurotus ostreatus* has been investigated in semi-synthetic environments with and without mineral additives. There have been defined the most achievable quantities of a biomass (mg), dependences of a gain of a mycelium of *P. ostreatus* on cultivation duration. There have been revealed changes in nature of growth of a mycelium of *P. ostreatus* in the presence of cadmium ions (Cd²⁺). Decrease in a maximum of a biomass and daily gain of a mycelium of *P. ostreatus* has been recorded. There has been defined the importance of full value of nutrition of a studied organism in responses to a stressful factor.

Key words: *Pleurotus ostreatus* in mycelium culture, semi-synthetic environments, ions of cadmium, activity of vital functions, a daily gain of a biomass, the maximum accumulation of a biomass, full value of nutrition.