

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

© 2014 Е.Е. Шубина, О.А. Розенцвет, В.Г. Козлов

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

Поступила 11.04.2014

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.

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

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

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 отмыывания 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 - исчерпание 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 отсутствии 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].

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 мицелиаль-

ной 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.

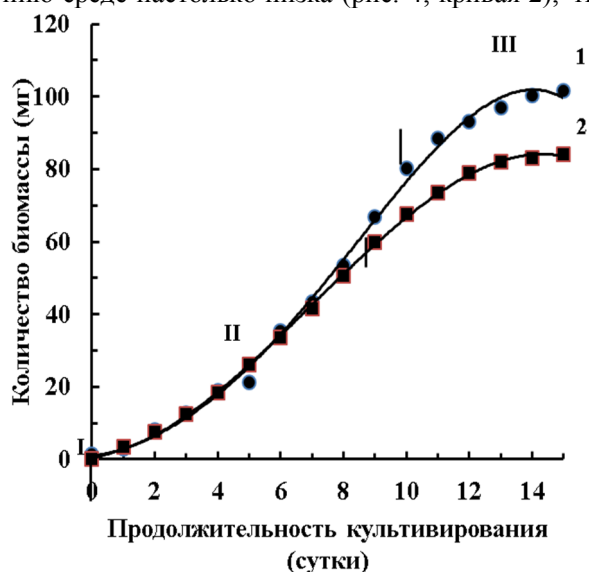


Рис. 1. Изменение биомассы мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования. 1 – среда 1, 2 – среда 2; I-, II-, III- фазы роста.

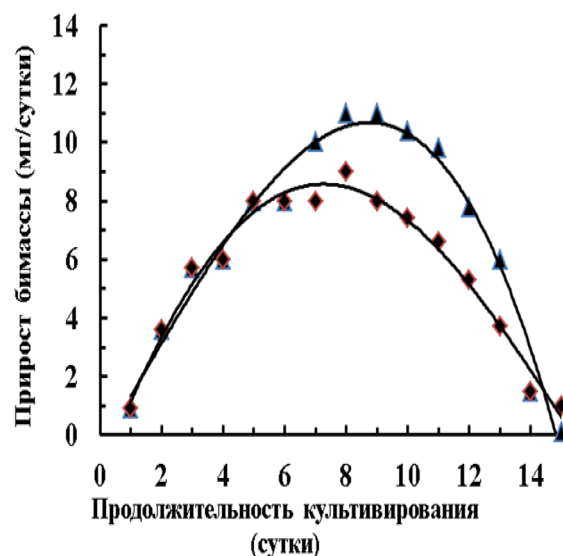


Рис. 2. Изменение прироста мицелия *Pl. ostreatus* от продолжительности культивирования. 1- среда 1, 2- среда 2.

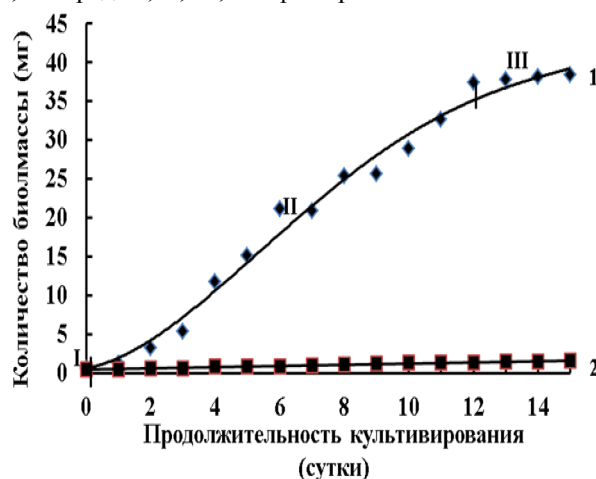


Рис. 3. Изменение биомассы мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования в присутствии 0,1 мкМоль/л ионов кадмия. 1 – среда 1, 2 – среда 2; I-, II-, III- фазы роста.

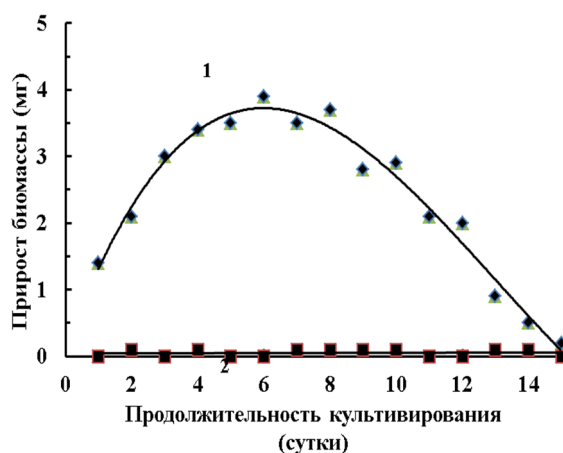


Рис. 4. Изменение прироста мицелия *P. ostreatus* от продолжительности культивирования в присутствии 0,1 мкМоль/л ионов кадмия. 1- среда 1, 2- среда 2.

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

ной среды или в более общем виде уровнем благоприятности внешних факторов [6]. Чем в более благоприятных условиях происходит развитие мицелиальной культуры *P. ostreatus*, тем меньшее 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 време-

ни, 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.: Изд-во Московского университета, 1976. 306 с.
6. Серегин 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. Ghangir 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.

© 2014 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 (Cd^{2+}). 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.