

РОЗДІЛ II

Біологія

УДК 582.28:577.158

О. В. Ветрова – кандидат біологічних наук, доцент
Донецького національного університету;
С. І. Демченко – кандидат біологічних наук, доцент
Донецького національного університету;
Г. О. Жук – аспірант НДІ Молекулярної біології
та генетики

Гібриди *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. – перспективні продуценти білкових речовин

Роботу виконано на кафедрі фізіології рослин ДНУ

Отримання нових перспективних штамів їстівних грибів – актуальна проблема для промислового грибівництва. Завданням цього дослідження було визначення біохімічного складу нових гібридів *Pleurotus ostreatus*, отриманих шляхом аутбридінгу.

Абсолютно суху масу міцелію визначали гравіметричним методом, вміст білків у міцелії гібридів – методом Лоури, альбуміни і глобуліни – спектрофотометричним методом, вміст вільних амінокислот у міцелії – методом хроматографії на папері.

Вивчено нові гібриди гливи звичайної, які продукують більшу кількість амінокислот (Д.22-41), білків, альбумінів та глобулінів (Д.30-41), ніж контрольний штам НК-35 угорської селекції. При цьому штам Д.30-41 характеризується високим рівнем продуктивності за білковими речовинами, а штам Д.22-41 є перспективним продуцентом амінокислот, у тому числі й незамінних.

Нові гібриди придатні для використання в харчовій промисловості, у сільському господарстві як біодобавка для харчування тварин.

Ключові слова: гібриди *Pleurotus ostreatus*, білки, амінокислоти, альбуміни, глобуліни, продуценти.

Ветрова Е. В., Демченко С. И., Жук А. А. Гибриды *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. – перспективные продуценты белковых веществ. Получение новых перспективных штаммов съедобных грибов – актуальная проблема для промышленного грибоводства. Задачей данной работы было выявление биохимического состава новых гибридов *Pleurotus ostreatus*, полученных путем аутбридинга.

Абсолютно сухую массу мицелия определяли гравиметрическим методом. Содержание белков в мицелии узнавали методом Лоури, альбуминов и глобулинов – спектрофотометрическим методом, содержание свободных аминокислот в мицелии – методом хроматографии на бумаге.

Изучены новые гибриды вешенки обыкновенной, продуцирующие большее количество аминокислот (Д.22-41), белков, альбуминов и глобулинов (Д.30-41), чем контрольный штам НК-35 венгерской селекции. При этом штам Д.30-41 характеризуется высоким уровнем продуктивности по белковым веществам, а штам Д.22-41 является перспективным продуцентом аминокислот, в том числе и незаменимых.

Новые гибриды возможно использовать в пищевой промышленности, в сельском хозяйстве как биодобавку в корм для животных.

Ключевые слова: гибриды *Pleurotus ostreatus*, белки, аминокислоты, альбумины, глобулины, продуценты.

Vetrova E. V., Demchenko S. I., Zchuk A. A. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. Hybrids-Promising Producers of Proteins. Producing of new potential stamps of edible fungi is a pressing issue for industrial mushroom production. The present investigation was aimed at the identification of biochemical composition of new hybrids of *Pleurotus ostreatus*, received by outbreeding.

Absolutely dry mycelium weight was defined by gravimetric method. Protein content in mycelium was found by Lowry method, content of albumins and globulins – by spectrophotometric method, content of free amino acids – by paper chromatography method.

© Ветрова О. В., Демченко С. И., Жук Г. О., 2013

The new hybrids of *Pleurotus ostreatus*, that produce a greater number of amino acids (D.22-41), proteins, albumins and globulins (D.30-41) than the control stamp НК-35 of the Hungary selection, were investigated. Herewith the D.30-41 stamp is characterized by a high level of productivity of protein substances and the D.22-41 stamp is a potential producer of amino acids, including indispensable ones.

The new hybrids may be used in food industry and in agriculture as biological additives for animal feeding.

Key words: hybrids of *Pleurotus ostreatus*, proteins, amino acids, albumin, globulin, producers.

Постановка наукової проблеми та її значення. Вищі гриби широко використовують в сучасній біотехнології завдяки здатності синтезувати різні біологічно активні речовини та швидкому росту на бідних субстратах. Важливе значення мають їстівні базидіоміцети, які залучають у наукові дослідження для розв'язання продовольчої проблеми. Ці гриби синтезують цінні білкові речовини, які потрібні для повноцінного харчування [1; 4; 5; 8].

Аналіз останніх досліджень із цієї проблеми. У промисловому грибовництві в Україні найчастіше використовують штам *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. НК-35 угорської селекції [2; 3; 7]. Для створення вітчизняних штамів *P. ostreatus*, що мають господарські цінні ознаки, на кафедрі фізіології рослин Донецького національного університету здійснюється селекційна робота [6].

Одним із етапів у схемі селекції вищих грибів, особливо перспективних для гетероталічних видів, до яких належить *P. ostreatus*, є гібридизація. Цей процес передбачає схрещування культур, що відрізняються за своїми ознаками. Гібридизація дає змогу поєднати генетичний матеріал батьківських культур і отримати оновлений набір генів, які доповнюють один одного. Цей сприяє тому, що гібриди набувають нових якостей і адаптуються в широких межах зміни умов навколишнього середовища [9].

Формулювання мети та завдань статті. Мета статті – порівняти фізіолого-біохімічні показники нових гібридів гливи звичайної і виявити культури, які перевершують промисловий штам НК-35 за вмістом білкових речовин.

Перед нами стояли такі завдання: порівняти отримані на кафедрі гібриди Д.22-41 та Д.30-41 гливи звичайної з контрольним штамом НК-35 за накопиченням біомаси в глибинній культурі, вмісту загального білку в міцелії, легкорозчинних фракцій белка, амінокислот.

У цій роботі об'єктами дослідження були три гібриди *P. ostreatus*: НК-35; Д.22-41; Д.30-41. Штам НК-35 широко використовується у виробництві [3]. Штами Д.22-41, Д.30-41 були отримані на кафедрі фізіології рослин ДонНУ С. І. Демченко за допомогою аутбридингу [6].

Матеріали і методи. Для дослідження накопичення біомаси в глибинній культурі міцелій гібридів гливи звичайної вирощували в 250 мл колбах Ерленмейера, що містили 50 мл рідкого глюкозо-картопляного або сахарозо-картопляного живильного середовища [10]. Колби інкубували при температурі 24 °С на качалці при швидкості 120 об/хв упродовж 14 діб. Після закінчення терміну культивування міцелій відокремлювали від культуральної рідини фільтруванням на скляному чи капроновому фільтрі, біомасу промивали та переносили з фільтра в тарований флакон. Абсолютно суху масу міцелію визначали гравіметричним методом [10].

Вміст білків у міцелії гібридів визначали методом Лоурі, альбуміни та глобуліни – спектрофотометричним методом, вміст вільних амінокислот в міцелії – методом хроматографії на папері за К. В. Гарі і Ф. Бодє в модифікації Г. М. Зайцевої і Н. П. Тюленової [10].

Усі досліди проводили в триразовій повторності. Статистична обробка даних проведена за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу і множинного порівняння середніх за критерієм Даннета [11].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. При промисловому виробництві їстівних грибів задля отримання харчового або кормового білка великий інтерес представляє метод глибинного культивування, оскільки він є найбільш економічним [3; 8]. Для вищих грибів у глибинній культурі характерне зростання у вигляді обривків нитчастих гіф або кулястих агломератів залежно від умов аерації і перемішування. Велике значення має і склад живильного середовища, особливо джерело вуглецю [2; 4; 8].

У наших дослідженнях при культивуванні на живильному середовищі з сахарозою міцелій усіх досліджених гібридів *P. ostreatus* виріс у формі нитчастих, обірваних гіф. Істотно відрізнявся міцелій культур після культивування в живильному середовищі з додаванням глюкози, де він виріс у формі нещільних кулястих агломератів. Міцелій нових гібридів гливи після глибинного культивування мав яскраво виражений грибовий аромат, що свідчить про перспективність упровадження цих культур у промислове виробництво, оскільки вони відповідають одному з найбільш важливих критеріїв [7].

Важливим фізіологічним показником для культивованих грибів є накопичена біомаса – маса абсолютно сухого міцелію, що виріс на живильному середовищі за певний час до об'єму живильного середовища [8].

Результати вимірювання накопичення біомаси штамми *P. ostreatus* НК-35, Д.22-41 і Д.30-41 у глибинній культурі представлено на рис. 1.

Усі досліджені гібриди мали майже вдвічі рази більший вихід біомаси вегетативного міцелію на живильному середовищі з сахарозою порівняно з глюкозою. При цьому штам Д.22-41 не поступався за показниками росту контрольному штаму НК-35 на досліджених середовищах. У штама Д.30-41 кількість біомаси була на 21,7 і 20,3 % нижчою на середовищах із сахарозою і глюкозою відповідно, ніж у комерційного штама.

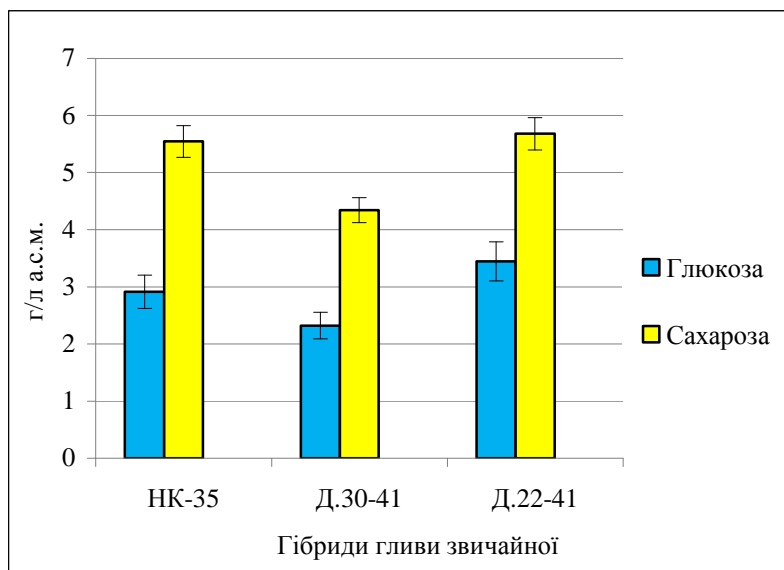


Рис. 1. Накопичення біомаси гібридами *P. ostreatus* у глибинній культурі

Білки – найбільш важливий компонент, що визначає поживну цінність їжі. Вміст протеїнів у продуктах харчування часто розраховують за вмістом загального або білкового азоту [8]. Ми вивчили вміст білкових речовин у міцелії гібридів *P. ostreatus* (табл. 1). Вимірювання проведено в клітинах двотижневого міцелію, оскільки, згідно з літературними даними, концентрація білкових речовин максимальна в період активного росту міцелію, в інші фази росту накопичення білка істотно знижується [7].

Таблиця 1

Вміст білкових речовин у вегетативному міцелії гібридів *P. ostreatus* (у % відносно комерційного штаму НК-35)

Штам <i>P. ostreatus</i>	Вміст загального білка	Вміст альбумінів	Вміст глобулінів
Д.30-41	99,3	145,5	174,3
Д.22-41	89,7	71,8	82,3

За результатами дослідження, наведених у табл. 1, виявлено, що штам Д.30-41 мав достовірно однакову концентрацію загального білка в міцелії порівняно з контрольним штамом НК-35. Проте цей гібрид перевершував еталонний штам за вмістом водорозчинної і солерозчинної фракцій білка в 1,5 і 1,7 раза – відповідно.

Гібридний штам Д.22-41 поступався комерційному штаму і за вмістом загального білка, і за вмістом альбумінів і глобулінів, що легко засвоюються.

Міцеліальні гриби мають велике значення як джерело білків харчового й кормового призначення, збагачених незамінними амінокислотами. Згідно з літературними даними, у грибному білку виявлено всі амінокислоти. Кількість деяких перевищує їх вміст у м'ясному білку [5].

Результати досліджень за вмістом вільних амінокислот у гібридах *P. ostreatus* представлено в табл. 2. У міцелії досліджених штамів виявлено 16 амінокислот, зокрема 9 незамінних. Загальний вміст вільних амінокислот у гібрида Д.30-41 склав 9,56 мг на 1 г абсолютно сухої маси міцелію, що вище в 1,3 раза, ніж у контролі. У міцелії культури Д.22-41 – 12,62 мг на 1 г абсолютно сухої маси, що також було більше відносно контролю в 1,7 раза. При цьому в міцелії гібрида Д.22-41 кількість незамінних амінокислот була вищою, ніж в контролі в 1,2 раза.

Таблиця 2

Вміст амінокислот в міцелії гібридів *P. ostreatus*

Амінокислота	НК-35		Д.30-41		Д.22-41	
	мкг/г а.с.м.	% суми амінокислот	мкг/г а.с.м.	% суми амінокислот	мкг/г а.с.м.	% суми амінокислот
цис	140,0	1,9	620,0	6,5	800,0	6,3
ліз	96,0	1,3	265,0	2,8	1087,5	8,6
арг	350,0	4,8	233,0	2,4	1341,6	10,6
гіс	568,0	7,9	582,0	6,1	2247,5	17,8
асп	652,0	9,0	1260,0	13,2	787,5	6,2
сер	350,0	4,8	644,0	6,7	402,5	3,2
глі	287,0	4,0	570,0	6,0	сліди	-
глу	1450,0	20,1	2610,0	27,3	2900,0	23,0
тре	660,0	9,1	1150,0	12,0	1340,0	10,6
ала	135,0	1,9	75,0	6,8	255,0	2,0
про	187,0	2,6	82,5	0,9	262,5	2,1
вал	402,0	5,6	260,6	2,7	сліди	-
мет	50,0	0,7	400,0	4,2	сліди	-
три	1605,0	22,2	68,3	0,7	410,0	3,2
фен	220,0	3,0	522,5	5,5	550,0	4,4
лей	65,0	0,9	216,0	2,3	238,0	1,9
Сума амінокислот	7217,0	100	9558,9	100	12622,1	100
Сума незамінних амінокислот	3098,0	42,9	2882,4	30,2	3625,5	28,7

Гібрид Д.30-41 гливи звичайною перевершував контрольний штам НК-35 за вмістом десять амінокислот (цистеїн, лізин, аспарагінова й глютамінова кислоти, серин, гліцин, треонін, метіонін, фенілаланін і лейцин), а поступався контролю за кількістю чотирьох (аргінін, пролін, валін, триптофан). За кількістю аланіну й гістидину досліджені культури достовірно не відрізнялися один від одного. Гібрид Д.22-41 мав більший, ніж у контрольного штама, вміст восьми амінокислот (цистеїну, лізину, аргініну, гістидину, глютамінової кислоти, треоніну, фенілаланіну й лейцину), проте поступався штаму НК-35 за вмістом трьох амінокислот: гліцину, валіну і триптофану. За вмістом серину, метіоніну, проліну і аланіну цей гібрид достовірно не відрізнявся від контролю.

Домінуючою амінокислотою у всіх досліджених гібридах була глютамінова кислота. Вміст її в міцелії НК-35 склав 20,1 % від усієї суми амінокислот, а в міцелії селекційних гібридів Д.22-41 і Д.30-41 – 19,8 і 27,3 % – відповідно. Щодо незамінних амінокислот культура НК-35 характеризувалася найвищим вмістом триптофану (22,2 %) і валіну (5,6 %), міцелій гібриду Д.22-41 – лізину (8,6 %) і гістидину (17,7 %), а міцелій гібриду Д.30-41 – фенілаланіну (5,4 %).

Висновки і перспективи подальших досліджень. Отже, біомаса досліджених гібридів *P. ostreatus*, отримана в глибинній культурі, однаково придатна і для використання в харчовій промисловості, і в сільському господарстві як біодобавка для харчування тварин. При цьому штам Д.30-41 характеризується високим рівнем продуктивності за білковими речовинами, а штам Д.22-41 є перспективним продуцентом амінокислот, у тому числі й незамінних.

Список використаної літератури

1. Беккер З. Э. Физиология грибов и их практическое исследование / З. Э. Беккер. – М. : Изд-во МГУ, 1987. – 146 с.
2. Бисько Н. А. Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка / Н. А. Бисько, И. А. Дудка. – Киев : Наук. думка, 1987. – 148 с.

3. Бухало А. С. Актуальные проблемы глубинного культивирования съедобных грибов / А. С. Бухало // Производство высших съедобных грибов в СССР. – Киев : [б. и.], 1978. – С. 24–29.
4. Вассер С. П. Промышленное культивирование съедобных грибов / С. П. Вассер. – Киев : Наук. думка, 1989. – 321 с.
5. Горленко М. В. Грибы как источник пищевых белков // Микол. и фитопатол. – 1983. – Т. 17, № 3. – С. 177–180.
6. Демченко С. И. Плодоношение моноспоровых культур и гибридных дикарионов *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. в лабораторных условиях / С. И. Демченко, Г. И. Мелихова // Межвед. сб. науч. работ «Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона». – Донецк : [б. и.], 2008. – Вып. 8. – С. 199–208.
7. Дорошкевич Н. В. Критерії відбору культур *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. для вирощування в штучних умовах // Вісн. Донец. ун-ту. Природничі науки. – 2009. – Сер. А, Вип. 1. – С. 290–293.
8. Дудка И. А. Культивирование съедобных грибов / И. А. Дудка, Н. А. Бисько, В. Т. Билай. – Киев : Урожай, 1992. – 103 с.
9. Дьяков Ю. Т. Проблемы генетики и селекции съедобных грибов (обзор) / Ю. Т. Дьяков, О. В. Камзолкина, Е. Т. Грубе // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32, № 4. – С. 382–385.
10. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская и др. – Киев : Наук. думка, 1982. – 550 с.
11. Приседський Ю. Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів : навч. посіб. / Ю. Г. Приседський. – Донецьк : Кассиопея, 1999. – 210 с.

Стаття надійшла до редколегії
23.01.2013 р.