

**ВПЛИВ LED ЛАЗЕРІВ НА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ МАКРОМІЦЕТА
FLAMMULINA VELUTIPES (CURT.: FR.) SING.****К. С. РЕШЕТНИК,*** старший викладач кафедри ботаніки та екології*Донецький національний університет імені Василя Стуса*

E-mail: k.reshetnyk@donnu.edu.ua

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2019.05.001>

Анотація. У статті представлені результати дослідження впливу лазерного опромінення на розвиток вегетативного міцелію та терміну появи зачатків плодових тіл *F. velutipes*. Опромінення міцелію здійснювали за допомогою світлодіодних лазерів: BRP-3010-5, з випромінюванням червоного спектру з довжиною хвилі 635 нм, BBP-3010-5 з випромінюванням синього спектру з довжиною хвилі 405 нм та BGP-3010-5 з випромінюванням зеленого спектру з довжиною хвилі 532 нм. Енергія опромінення у всіх варіантах досліджу була у межах 25 – 102,5 мДж/см².

Встановлено, що лазерне опромінення впливає на ростові процеси *F. velutipes*. Так, найкраща реакція у відповідь спостерігалась на дію синього спектру світла протягом 5 сек. За цього режиму опромінення швидкість радіального росту міцелію зросла на 55,5%. За дії лазерного опромінення міцелію зеленим світлом протягом 10 сек швидкість росту міцелію зросла на 53,7%. Формування зачатків плодових тіл починалось на 4–5 діб раніше за використання для стимуляції ростових процесів синього світла, на 3 доби – червоного та на 2 доби – зеленого. Найбільша кількість зачатків плодових тіл утворилося за дії лазерного опромінення міцелію синім світлом протягом 5 сек, цей показник на 93,4% перевищував контроль.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що лазерне опромінення впливає на ростові процеси *F. velutipes*. Стимулювання ростових процесів базидієвих грибів має важливе значення під час культивування, оскільки значне зростання швидкість росту вегетативного міцелію дозволяє скоротити термін обростання субстрату міцелієм, прискорити утворення зачатків плодових тіл та плодоношення. Крім того, кращий ріст міцелію знижує ймовірність зараження його патогенною мікрофлорою та покращує адаптаційні властивості, що робить перспективним використання LED лазерів під час культивування базидієвих грибів.

Ключові слова: базидієві гриби, лазерне опромінення, фотоактивація

Актуальність. Станом на базидієвих грибів. Це пов'язано з сьогодні у світі спостерігається унікальністю ресурсного потенціалу підвищена цікавість до вивчення цих грибів та можливістю їхнього

*Науковий керівник – професор, доктор біологічних наук Ю. Г. Приседський

Решетник К. С.

використання в медичній, харчовій, фармацевтичній та інших галузях промисловості. Одним з таких видів макроміцетів є *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing [1]. Він займає четверте місце у категорії їстівних грибів, культивованих для медичного застосування та харчового споживання [4]. Встановлено, що хімічний склад зимового опенька є оптимальним для забезпечення фізіологічних функцій організму речовинами та енергією [3]. Тому одним із перспективних напрямків біотехнології є штучне культивування *F. velutipes*, як джерела біологічно активних речовин для створення лікарських та лікувально-профілактичних засобів, харчових та дієтичних добавок [2].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Опираючись на стандартні методики вирощування грибів, дослідники додають нові технологічні складові цього процесу, які дозволяють скоротити терміни культивування, підвищити врожайність та якість плодових тіл. Проте, вирішення цих питань неможливе без використання знань з фізіології грибів у поєднанні з інформацією щодо чинників навколишнього середовища, які впливають на ріст та розвиток макроміцетів. Одним із таких чинників є світло, яке регулює морфогенетичні процеси у багатьох видів грибів. Макроміцети можуть сприймати майже ультрафіолетове,

синє, зелене, червоне і дальнє червоне світло, використовуючи до 11 фоторецепторів і сигнальних каскадів, щоб контролювати більшу частину геному та адаптуватися до умов навколишнього середовища [6]. У грибів описано декілька видів фоторецепторів [7]. Так, у базидіоміцетів *Coprinus cinereus*, *Pleurotus ostreatus* і *Lentinula edodes* знайдені гени, які кодують рецептори, відповідальні за сприйняття синього світла. Дослідження геному грибів дозволило виявити фоторецепторні гени, які кодують білки, чутливі до червоного світла [8]. Зелене світло сприймається опсиновими системами на основі ретиналю, біологічні функції яких ще потребують з'ясування [6]. Досліджено позитивний вплив УФ– і γ – опромінення на урожайність гриба *P. ostreatus*, також було встановлено, що лазерне опромінення в дозах 45–230 мДж/см² стимулює проростання спор та ріст міцелію у *Hericium erinaceus*. Відомий вплив низькоінтенсивного світла на лінійний ріст та накопичення біомаси різними видами макроміцетів (*Lentinula edodes*, *Hericium erinaceus*, *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus*, *Agaricus bisporus*) [9]. Аналіз результатів досліджень з вивчення механізмів фоторецепції у грибів, отриманих вітчизняними та іноземними вченими доводить можливість використання LED лазерів для стимуляції їх росту та інтенсифікації технологічних

Решетник К. С.

етапів культивування. Проте, вищезгадані способи інтенсифікації ростових процесів є складними, з точки зору практичного використання. Значно ефективнішим для інтенсифікації метаболічних процесів макроміцетів є використання світлодіодних лазерів, які мають великий ККД (до 50%), швидкодію (до 10–11 сек), зручність збудження; можливість генерації випромінювання з необхідною довжиною хвилі, малі габарити та технологічну сумісність з елементами оптичних інтегральних схем [10]. Крім того вони мають невелику вартість та потребують незначних енерговитрат під час застосування. Однак, літературні дані про вплив LED лазерів на параметри росту грибів обмежені, тому це питання потребує подальшого вивчення. Відповідно **метою роботи** було дослідити вплив лазерного опромінення на розвиток вегетативного міцелію та термін появи зачатків плодових тіл макроміцета *F. velutipes*.

Матеріали і методи дослідження. Досліджувався штам F–03 гриба *F. velutipes* із колекції культур шапинкових грибів кафедри ботаніки та екології Донецького національного університету імені Василя Стуса. Для вивчення впливу лазерного опромінення на розвиток вегетативного міцелію гриба

F. velutipes культивували протягом 7 днів на стандартному сусло-агаровому середовищі (4° за Балінгом) у стандартних чашках Петрі (діаметром 9 см), перед інокуляцією міцелій у чашках Петрі розділяли стерильною сталевією трубкою на шматки розміром 5×5 мм, потім кожний інокулюм опромінювали за допомогою світлодіодних лазерів: BRP-3010-5, з випромінюванням червоного спектру з довжиною хвилі 635 нм, BBR-3010-5 з випромінюванням синього спектру з довжиною хвилі 405 нм та BGP-3010-5 з випромінюванням зеленого спектру з довжиною хвилі 532 нм (виробник BOB LASER Co., Китай). Потужність кожного лазера становила 100 мВт. Щільність енергії лазерного опромінення розраховували за І. О. Вакарчук [11]. Енергетична доза опромінення (енергія світла, яка потрапляє на одиницю площі) визначалася як добуток щільності енергії та часу опромінення. Енергія опромінення у всіх варіантах дослідів була у межах 25 – 102,5 мДж/см². Це значення вибрано на основі результатів наших попередніх досліджень [12] з урахуванням літературних даних [9]. Опромінення міцелію проводилося за наступною схемою (табл.1). Для контрольного посіву використовували неопромінений міцелій.

1. Схема опромінення міцелію гриба *P. ostreatus*

Варіант досліджу	Тривалість опромінення, сек			Енергія опромінення, мДж/см ²
	Червоний спектр	Синій спектр	Зелений спектр	
1	0	0	0	0
2	5	0	0	25,05
3	0	5	0	25,05
4	0	0	5	25,05
5	10	0	0	51,1
6	0	10	0	51,1
7	0	0	10	51,1
8	15	0	0	77,3
9	0	15	0	77,3
10	0	0	15	77,3
11	20	0	0	102,5
12	0	20	0	102,5
13	0	0	20	102,5

Поверхнєве культивування міцелію *F. velutipes* проводили у термостаті за температури 26 °С на стандартному суцільно-агаровому середовищі (4° за Балингом). Протягом періоду культивування кожного дня вимірювали радіус колоній на середовищах у чашках Петрі у чотирьох перпендикулярних напрямках. За допомогою мікроскопічного контролю визначали наявність «пряжок» – специфічних морфологічних утворень на гіфах *F. velutipes*. Після повного заростання чашок Петрі міцелієм їх переносили в ростову камеру з температурою 12-16 °С з метою перевірки на здатність утворювати зачатки плодових тіл (примордії). За отриманими даними визначали середньодобовий приріст міцелію, середню швидкість радіального росту (мм/добу), проміжок часу до початку утворення

примордіїв (кількість діб) та середню кількість примордіїв на чашку Петрі. Для оцінки росту культур використовували метод, що ґрунтуються на дослідженні та аналізі динаміки збільшення радіусу колоній від часу культивування [13].

Усі досліди проводили у трикратній повторюваності. Для визначення вірогідності впливу лазерного опромінення застосовували метод дисперсійного аналізу. Порівняння середніх значень вели за методом Даннета. Обробку проводили за допомогою пакета статистичних програм, створених на кафедрі фізіології та біохімії рослин Донецького національного університету імені Василя Стуса [14].

Результати дослідження та їх обговорення. Оскільки відомо, що фоторецепторна система грибів адаптована до світла в діапазоні

Решетник К. С.

довжин хвиль від 350 до 730 нм [15], саме цей спектральний ряд представлений обраними нами довжинами хвиль (червоний, синій і зелений спектр). Встановлено, що лазерне опромінення впливає на ростові процеси *F. velutipes*. Так, найкраща реакція у відповідь спостерігалась на дію синього спектру світла протягом 5 сек. За цього режиму опромінення швидкість радіального росту міцелію зросла на 55,5%. За дії опромінення червоним та зеленим світлом протягом 5 сек

швидкість росту зросла на 29,6 та 20,4% відповідно. За дії лазерного опромінення міцелію зеленим світлом протягом 10 сек швидкість росту міцелію зросла на 53,7%. Лазерне опромінення червоним та синім світлом протягом 10 сек не викликало зміни значної швидкості росту міцелію. Опромінення тривалістю 15 сек та 20 сек червоним, синім та зеленим світлом не чинило суттєвого впливу на процеси росту *F. velutipes* (рис.1).

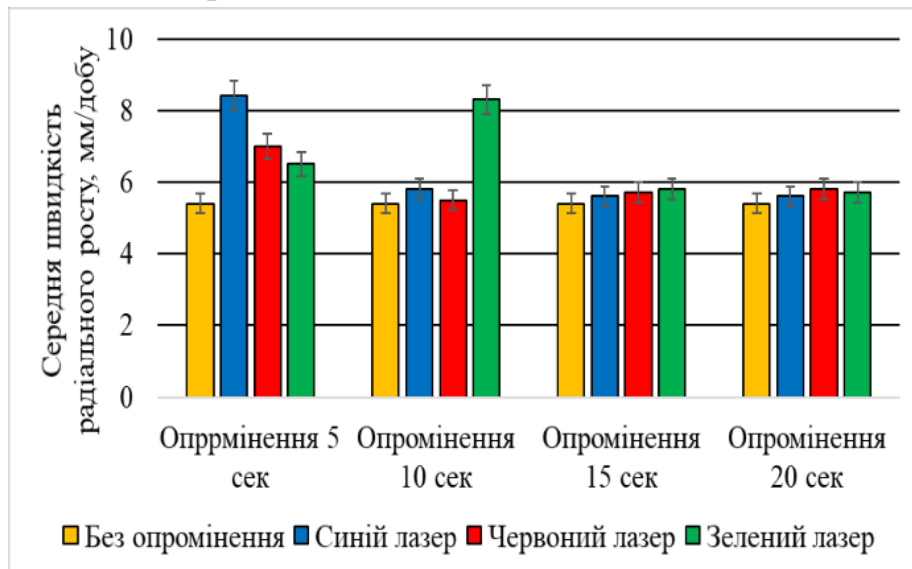


Рис.1. Вплив лазерного опромінення на середню швидкість радіального росту міцелію *F. velutipes*.

Наступним етапом наших досліджень було вивчення впливу лазерного опромінення міцелію на процес формування зачатків плодових тіл (примордіїв). У ході вивчення цього процесу встановлено більш ранній початок формування примордіїв у варіантах дослідів, міцелій яких був опромінений за різних режимів. Для макроміцета *F. velutipes* результати впливу

лазерного опромінення міцелію на формування зачатків плодових тіл (примордіїв) були наступними. Формування зачатків плодових тіл починалось на 4–5 діб раніше за використання для стимуляції ростових процесів синього світла, на 3 доби – червоного та на 2 доби – зеленого. Найбільша кількість зачатків плодових тіл утворилося за дії лазерного опромінення міцелію

Решетник К. С.

синім світлом протягом 5 сек, цей показник на 93,4% перевищував контроль. Опромінення міцелію зеленим та червоним світлом

протягом 5 сек збільшило кількість примордіїв на 50,0 та 33,3% відповідно (рис. 2).

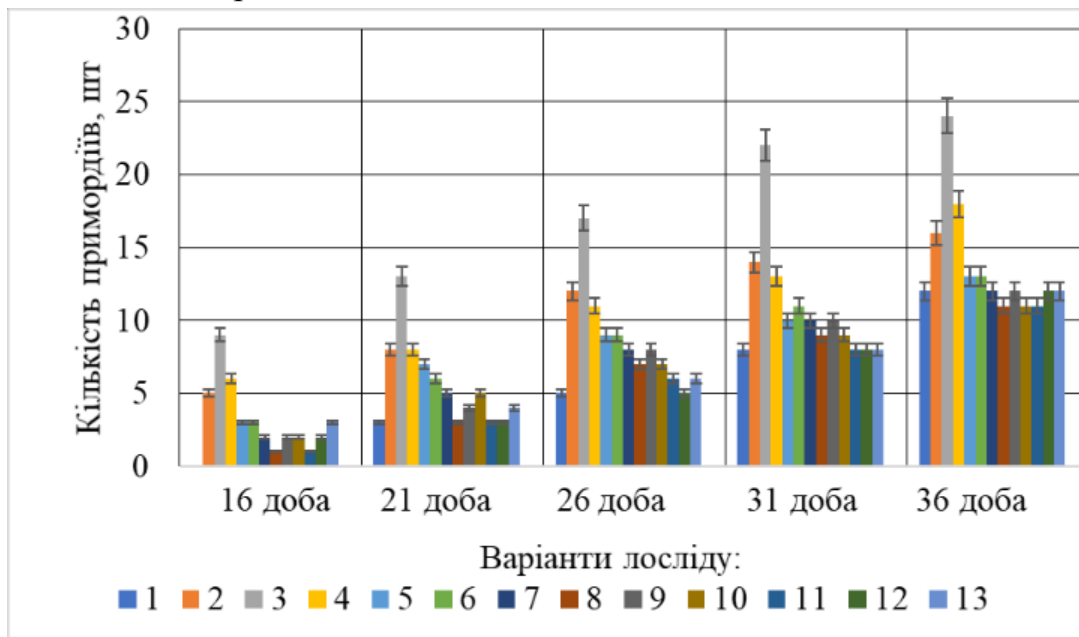


Рис. 2. Вплив лазерного опромінення на термін появи та кількість зачатків плодових тіл *F. velutipes* (варіанти дослідження згідно із табл. 1).

За дії опромінення червоним, зеленим та синім світлом протягом 10 сек кількість зачатків плодових тіл збільшилася від 15,6 до 26,4% відповідно. Аналіз результатів опромінення міцелію червоним, зеленим та синім світлом протягом 15 та 20 сек показав незначну різницю кількості зачатків плодових тіл порівняно з контролем.

Висновки і перспективи. У результаті проведених досліджень було встановлено, що лазерне опромінення впливає на ростові процеси *F. velutipes*. Так, найкраща реакція у відповідь спостерігалась на дію синього (протягом 5 сек), червоного (протягом 5 сек) та зеленого (протягом 10 сек) спектрів світла. За цих режимів опромінення

спостерігалось значне зростання швидкості росту вегетативного міцелію та прискорене формування зачатків плодових тіл (на 4–5 діб раніше за використання синього світла, на 3 доби – червоного та на 2 доби – зеленого). Крім того, найбільша кількість примордіїв утворилося за дії лазерного опромінення міцелію синім світлом протягом 5 сек. Стимулювання ростових процесів базидієвих грибів має важливе значення під час культивування, оскільки значне зростання швидкості росту вегетативного міцелію дозволяє скоротити термін обростання субстрату міцелієм, прискорити утворення зачатків плодових тіл та плодоношення. Крім того, кращий

Решетник К. С.

ріст міцелію знижує ймовірність зараження його патогенною мікрофлорою та покращує адаптаційні властивості, що робить

Список використаних джерел

1. Chang S. T., Miles P. G. Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. London, etc.: CRC Press, 2004. 451 p.

2. Yang X. M. Cultivation of Edible Mushroom in China. *Agriculture Printing House, Beijing: PR China*. 1986. P. 489–510.

3. Tisch D., Schmoll M. Light regulation of metabolic pathways in fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. Vol.85, No.5. P.1259-1277.

4. Leifa F., Pandey A., Socco C. R. Production of Flammulina velutipes on coffee husk and coffee spentground. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 2001.Vol.44, No.2. P. 205-212.

5. Singh M., Vijay B., Kamal S. et al. Mushrooms. Cultivation, Marketing and Consumption. *Directorate of Mushroom Research (ICAR)*. 2011. P.53

6. Zhenzhong Yu., Reinhard F. Light sensing and responses in fungi. *Nature Reviews Microbiology*. 2018. Vol.17, No.1. P. 25 – 36

7. Herrera–Estrella A., Horwitz B. A. Looking through the eyes of fungi: molecular genetics of photoreception. *Molecular Microbiology*. 2007. Vol. 64, No.1. P. 5-15.

8. Kamada T., Sano H., Nakazawa T., Nakahori K. Regulation of fruiting body photomorphogenesis in *Coprinopsis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*. 2010. Vol. 11, P. 917-921.

9. Поєдинок Н. Л. Енергоефективні системи штучного освітлення у технологіях вирощування їстівних та лікарських грибів. *Наука та інновації*. 2013. Т.9, № 3. С. 46-59.

10. Васюра А.С. Елементи та пристрої систем управління автоматики, 1998. 420 с.

11. Вакарчук І. О. Квантова механіка : підручник. –4–те вид.–Львів:ЛНУ імені Івана Франка, 2012. 872 с.

12. Reshetnyk K. S. Investigation the effect of laser irradiation on the growth characteristics of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *2ND International Conference «Smart Bio»*. 2018. P. 344.

перспективним використанням LED лазерів під час культивування базидієвих грибів.

13. Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П., Дудка И.А., Кулеш М.Д., Соломко Э.Ф., Шевченко С.В. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. К.: Наук. думка, 1983.312 с.

14. Приседський Ю.Г. Пакет програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів. Донецьк: ДонНУ, 2005. 84 с

15. Corrochano LM. Fungal photoreceptors sensory molecules for fungal development and behavior. *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2007. Vol.6, P. 725-736.

References

1. Chang S. T., Miles P. G. (2004) Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. London, etc.: CRC Press. 451 p.

2. Yang X. M. (1986) Cultivation of Edible Mushroom in China. Agriculture Printing House, Beijing: PR China. P. 489-510.

3. Tisch D., Schmoll M. (2010) Light regulation of metabolic pathways in fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 85(5). P.1259-1277.

4. Leifa F., Pandey A., Socco C. R. (2001) Production of Flammulina velutipes on coffee husk and coffee spentground. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* V. 44(2). P. 205-212.

5. Singh M., Vijay B., Kamal S. et al. (2011) Mushrooms. Cultivation, Marketing and Consumption. *Directorate of Mushroom Research (ICAR)*. P.53.

6. Zhenzhong Yu., Reinhard F. (2018) Light sensing and responses in fungi. *Nature Reviews Microbiology*. V.17 (1). P. 25-36.

7. Herrera–Estrella A., Horwitz B. A. (2007) Looking through the eyes of fungi: molecular genetics of photoreception. *Molecular Microbiology*. V. 64(1). P. 5-15.

8. Kamada T., Sano H., Nakazawa T., Nakahori K. (2010) Regulation of fruiting body photomorphogenesis in *Coprinopsis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*. V.11. P. 917-921.

Решетник К. С.

9. Poyedynok N. L. (2013) Enerhoefektyvni systemy shtuchnoho osvillennia u tekhnolohiiakh vyroshchuvannia yistivnykh ta likarskykh hrybiv [Energy-efficient artificial lighting systems in edible and medicinal mushroom cultivation technologies] Nauka ta innovatsii 9(3), P. 46-59.

10. Vasiura A.S. (1998) Elementy ta prystroi system upravlinnia avtomatyky [Elements and devices of automation control systems] 420 p.

11. Vakarchuk I.O. (2012) Kvantova mekhanika : pidruchnyk. – 4-te vyd [Quantum mechanics: a textbook Lviv–4th ed] LNU imeni Ivana Franka. 872c.

12. Reshetnyk K. S. (2018) Investigation the effect of laser irradiation on the growth characteristics of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. 2ND International Conference

«Smart Bio». P. 344.

14. Bysko N.A., Bukhalo A.S., Vasser S.P., Dudka I.A., Kulesh M.D., Solomko E.F., Shevchenko S.V. (1983) Vysshye s'edobnye bazydyomytsety v poverkhnostnoi y hlubynnoi kulture [Higher edible basidiomycetes in superficial and deep culture]. K.: Naukova Dumka. 312.

15. Prysedskyy Y.G. (2005) Paket prohram dlia provedennia statystychnoi obrobky rezultativ biolohichnykh eksperymentiv [Software package for statistical processing of the results of the biological experiments] Donetsk: DonNU. 84.

16. Corrochano LM. (2007) Fungal photoreceptors sensory molecules for fungal development and behavior. *Photochemical and Photobiological Sciences*. V.6. P. 725-736.

ВЛИЯНИЕ LED ЛАЗЕРОВ НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ МАКРОМИЦЕТА *FLAMMULINA VELUTIPES* (CURT.:FR.) SING.

К. С. Решетник

Аннотация. В статье представлены результаты исследования влияния лазерного облучения на развитие вегетативного мицелия и сроков появления зачатков плодовых тел *F. velutipes*. Облучения мицелия осуществляли с помощью светодиодных лазеров: BRP-3010-5, с излучением красного спектра с длиной волны 635 нм, BVP-3010-5 с излучением синего спектра с длиной волны 405 нм и BGP-3010-5 с излучением зеленого спектра с длиной волны 532 нм. Энергия излучения во всех вариантах опыта была в пределах 25 - 102,5 МДж/см². Установлено, что лазерное облучение влияет на ростовые процессы *F. velutipes*. Так, самая сильная световая реакция в ответ наблюдалась на действие синего спектра света в течение 5 сек. При этом режиме облучения скорость радиального роста мицелия выросла на 55,5%. За действия лазерного облучения мицелия зеленым светом в течение 10 сек скорость роста мицелия выросла на 53,7%. Формирование зачатков плодовых тел начиналось на 4-5 суток раньше при использовании для стимуляции ростовых процессов синего света, на 3 суток - красного и на 2 суток - зеленого. Наибольшее количество зачатков плодовых тел образовалось за действия лазерного облучения мицелия синим светом в течение 5 сек, этот показатель на 93,4% превышал контроль.

В результате проведенных исследований было установлено, что лазерное облучение влияет на ростовые процессы *F. velutipes*. Стимулирование ростовых процессов базидиальных грибов имеет важное значение при культивировании, поскольку значительный рост скорости роста вегетативного мицелия позволяет сократить сроки обрастания субстрата мицелием, ускорить образование зачатков плодовых тел и плодоношения. Кроме того, лучший рост

Решетник К. С.

мицелия снижает вероятность заражения его патогенной микрофлорой и улучшает адаптационные свойства, что делает перспективным использование LED лазеров при культивировании базидиевых грибов.

Ключевые слова: базидиевые грибы, лазерное облучение, фотоактивация

INFLUENCE OF LED LASERS ON GROWTH PROCESSES OF THE MACROMICETE *FLAMMULINA VELUTIPES* (CURT.:FR.) SING.

K. S. Reshetnyk

Abstract. The article presents the results of the study of the influence of laser irradiation on the development of vegetative mycelium and the period of occurrence of the corcules of the fruit bodies of *F. velutipes*. Irradiation of the micellium was carried out using LED lasers: BRP–3010–5 with a radiation of a red spectrum with a wavelength of 635 nm, BBP–3010–5 with a radiation of a blue spectrum with a wavelength of 405 nm and BGP–3010–5 with a radiation of a green spectrum with length waves of 532 nm. The irradiation energy in all variants of the experiment was within the range of 25 – 102,5 mJ/cm².

It was established that laser irradiation affects the growth processes of *F. velutipes*. So, the strongest light reaction in response was observed on the action of the blue light spectrum for 5 seconds. Under this irradiation regime, the radial growth rate of mycelium increased by 55,5%. During the action of laser irradiation of the mycelium with green light for 10 sec, the growth rate of the mycelium increased by 53,7%. The formation of the embryos of fruiting bodies began 4-5 days earlier when blue light was used to stimulate growth processes, 3 days red and 2 days green. The largest number of primordia of fruiting bodies was formed due to the action of laser irradiation of the mycelium with blue light for 5 seconds, this figure was 93,4% higher than the control.

As a result of the studies, it was found that laser irradiation affects the growth processes of *F. velutipes*. Stimulating the growth processes of basidiomycetes is important during cultivation, since a significant increase in the growth rate of vegetative mycelium can reduce the time of substrate fouling with mycelium, accelerate the formation of primordia of fruiting bodies and fruiting. In addition, the best growth of mycelium reduces the likelihood of infection with its pathogenic microflora and improves adaptive properties, which makes the use of LED lasers promising for the cultivation of basidium fungi.

Key words: basidicum mushrooms, laser irradiation, photoactivation