



УДК 57.84.1

DOI <https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.9-14>

## Культивування *Sparassis laminosa* на рослинних субстратах

Марія Пасайлюк

Національний природний парк «Гуцульщина», Україна

Адреса для листування: [mariia.pasailiuk@gmail.com](mailto:mariia.pasailiuk@gmail.com)

Отримано: 10.02.21; прийнято до друку: 15.06.21; опубліковано: 02.09.21

**Резюме.** *Sparassis laminosa* – їстівний, цінний у фармацевтичному відношенні, перспективний для культивування вид. Метою роботи було дослідити можливість плодоношення *S. laminosa* на рослинному, багатокомпонентному, модифікованому листям субстраті та перспективи використання модифікованого субстрату для промислового культивування виду. Встановлено, що інкубація оброслого міцелієм гриба субстрату (зерно пшениці, лушпиння соняшника, стружка хвойних, солома пшениці) з опалим листям супроводжується плодоношенням *S. laminosa* на 46-у добу експерименту. Сформовані плодові тіла мають розміри, що не перевищують 15-20 × 10-15 см, вагу не більше 70 г, тому методика потребує доопрацювання. Отримані результати важливі для їх застосування при реалізації методики *re-situ*, адже обростання міцелієм опалого листя до його винесення в природу очевидно скорочуватиме процес адаптації грибниці до природних умов і цим самим підвищуватиме його життєздатність.

**Ключові слова:** плодові тіла, *Sparassis laminosa* 2211, *re-situ*.

## Cultivation of *Sparassis laminosa* on plant substrates

Pasailiuk Mariia

Hutsulshchyna National Nature Park, Ukraine

Correspondence: [mariia.pasailiuk@gmail.com](mailto:mariia.pasailiuk@gmail.com)

**Abstract.** *Sparassis laminosa* is an edible species, has pharmaceutical value and can be used for cultivation. The fungus is rare in Belarus, in some regions of the Russian Federation and in Poland. In Ukraine, this species is proposed to be included in the "List of species that are endangered and subject to protection." Fungus has the large size of the fruiting bodies up to 60 cm in diameter and weighing up to 9 kg. It is easy to detect and remove from nature that increases the risk of extinction of the species.

The aim of the study was to detect conditions of *S. laminosa* fruiting on plant substrates, modified by leaf and the prospects of the modified substrates for industrial cultivation of the species.

The studies were performed with a pure culture of *S. laminosa* 2211 in three stages. In the first stage, the culture was grown for 14 days in the Petri dishes on WA. In the second stage, the mycelium from the Petri dish was transferred in a 0.5 liter glass jars. Jars contained plant substrates such as wheat grains, sunflower husks,

coniferous shavings, wheat straws (in the ratio 8: 2: 1: 1). Mycelium overgrew plant substrate at 15 days. In the third stage, the mycelium together with the plant substrate was placed in the sterilization boxes with sterile fallen leaves.

It was found that complete fouling of the leaves by the mycelium of the fungus takes place on  $40 \pm 2$  days of the experiment, and the first fruiting bodies of *S. laminosa* appear at 46 days after the adding of the plant substrate to the leaves. Fruiting bodies have a typical type of morphology, cream color, are formed in places of light access, in the amount of one fruit body per box. Formed fruiting bodies not exceeding  $15-20 \times 10-15$  cm, weight not more than 70 g, so the technique needs refinement. We should change the container where fruiting is recorded. Need a container that would maintain a stable humidity of the substrate during cultivation and improving the light regime. These changes will allow adjusting the conditions for fruiting of *S. laminosa* and reach acceptable for industry parameters.

The obtained results are important for their application in the implementation of the *re-situ* technique. Using fallen leaves and overgrowth them by mycelium before its removal into nature will obviously reduce the process of adaptation of the mycelium to natural conditions and thus increase its viability.

**Keywords:** fruiting bodies, *Sparassis laminosa* 2211, *re-situ*.

## ВСТУП

Уведення в культуру грибів з метою промислового вирощування їх плодових тіл – один із основних, актуальних аспектів розвитку прикладної мікології та біотехнології. На сьогодні пропонується асортимент грибів, який реалізується в комерційних масштабах у світі, налічує десятки видів, специфіка та обсяги продажу яких визначаються особливостями ринку. В нашій країні у промислових масштабах вирощують декілька видів. Пошук нових видів, невибагливих для культивування і при цьому з високими смаковими властивостями та/чи цінних з точки зору як джерел біологічно активних речовин, триває. При цьому культивування видів, які, окрім харчових та фармацевтичних якостей, є рідкісними в природі, дозволило б знизити загрозу їх знищення та вивести на новий рівень механізми протидії зменшення видового біорізноманіття загалом.

*Sparassis laminosa* Fr. – дереворуйнівний, їстівний, цінний у фармацевтичному (антибіотичні, антиоксидантні властивості) відношенні, і перспективний для культивування вид [1, 2]. Гриб рідкісний у Білорусі [3], в деяких регіонах Російської Федерації [4] та в Польщі [5].

В Україні цей вид пропонують внести до «Переліку видів, які перебувають у загрозливому стані та підлягають охороні» [6]. Відомо про місцезростання виду на Правобережному Поліссі та в Розтоцько-Опільських Лісах [7], а також на Сході України [6]. Через великі розміри плодових тіл гриба (поодинокі карпофори досягають до 60 см у діаметрі і маси до 9 кг [8], а також інтерес до виду як їстівного, його легко виявити та вилучити з природи, що збільшує ризик зникнення виду

загалом. Комерційне вирощування гриба могло б усунути цю проблему.

В Україні відомий штам *Sparassis laminosa* 2211, ізольований з карпофорів, знайдених на території Донеччини [9–12].

Для штаму досліджені біологічні властивості культури [13], фунгіцидні властивості відносно кореневої губки [14], особливості росту міцелію на суміші лікувальних трав, тирсі, лушпинні соняшникового та гарбузового насіння, вівсі тощо [15, 16]. В наших попередніх дослідженнях виявлені умови та субстрати, на яких має місце формування зачатків плодових тіл гриба [17]. Визначено, що штам дещо вибагливий до субстратів – із п'ятнадцяти апробованих вдалося зафіксувати плодоношення тільки на трьох: на лушпинні соняшника, комбінації лушпиння соняшника й тирсі хвойних, на тирсі хвойних. *Sparassis laminosa* формує карпофори на 33–91 день культивування, однак при цьому плодові тіла хоч і зберігають чіткі ознаки біології виду, достатні для видової ідентифікації, однак їхні розміри занадто дрібні, щоб можна було саме ці субстрати та режим культивування обрати для промислового вирощування *S. laminosa*. Тому є потреба пошуку нових субстратів, їх комбінацій та вагових співвідношень компонентів, з акцентом на здешевлюванні плодоносного варіанту.

Виходячи із цих потреб, ми вирішили апробувати модифікацію субстрату додаванням опалого листя та в'яснити результативність плодоношення *S. laminosa* за цих умов. Вибір на користь такого компонента не випадковий, адже в попередніх наших дослідженнях встановлено плодоношення іншого виду – *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. при використанні опалого листя як компонента

[18]. Також виявлено плодоношення *S. laminosa* при відтворенні виду методом *re-situ* через чотири місяці після внесення міцелію в природні умови на території Національного природного парку «Гуцульщина» [17].

Отже, метою цієї роботи було дослідити можливість плодоношення *S. laminosa* на рослинному багатоконпонентному, модифікованому листям субстраті та перспективи використання цього субстрату для промислового вирощування гриба.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкт дослідження – чиста культура *S. laminosa* 2211, внесена до Міжнародної бази даних Всесвітньої федерації колекцій культур – WFCC. Культура отримана з Колекції грибів FCKU кафедри ботаніки ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. *S. laminosa* 2211 також зберігається в Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України, яка є об'єктом національного надбання України [11, 12].

Результативність плодоношення *S. laminosa* досліджували на субстратах з зерном пшениці, стружкою хвойних, лушпинням соняшника, соломою пшениці, додаючи після їх повного обростання опале листя.

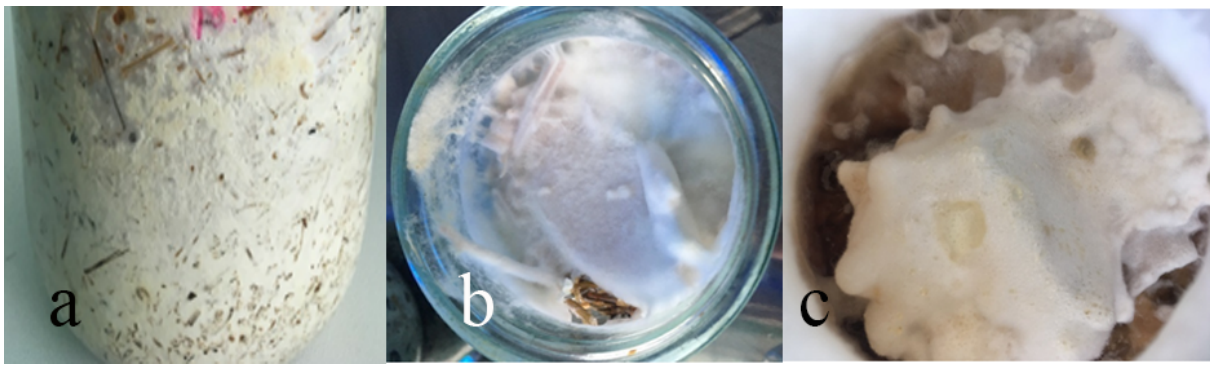
Компоненти субстратів (зерно пшениці, стружка хвойних, лушпиння соняшника та солому пшениці) змішували у співвідношенні 8:2:1:1 (співвідношення вказані по масі). Готували субстрати в такий спосіб: суміш стружки хвойних порід отримували під час стругання здорової деревини ялиці (*Abies alba* Miller) та сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.), розміри дерев'яних частинок склали 10×10–40×1 мм, співвідношення 1:1. Лушпиння соняшника попередньо просушували. Зерна пшениці попередньо проварювали упродовж 25-30 хв із розрахунку 10 кг зерна на 10 л води. Після просушування зерно перемішували з гіпсом (1 кг зерна – 12 г гіпсу) та крейдою (1 кг зерна – 3 г крейди). В експерименті використовували висушену, подрібнену до 2,5 – 5 см солому пшениці.

Субстрати розкладали в 0,5 л скляні ємності по 50 ± 1,5 г змішаного субстрату в кожній та доливали по 30 мл дистильованої води, автоклали 90 хв за двох атмосфер і стерильно інокулювали посівним міцелієм 14-денного віку. Посіви інкубували за температури 26 ± 0,1 °С. Як посівний матеріал використовували вміст 1/2 90 мм чашки Петрі 14-добової культури, вирощеної при 26 ± 0,1 °С на СА (8° по Балінгу), рН 6,0.

Після обростання комбінації субстратів міцелієм в 0,5 л банках їх стерильно переносили в стерилізаційні коробки КСК-18 (d37,2×h19,2 см), що містили стерильне опале листя та культивували при 20 ± 0,1 °С. Отже, оброслі міцелієм субстрати доповнювали опалим листям. Для цього в суху погоду забирали підстилку з-під дуба звичайного (*Quercus robur*), укладали в стерилізаційні коробки КСК-18, заповнюючи на 3/4 їхній об'єм, рівномірно зволожували водою (500 мл) і стерилізували у два підходи по 30 хв при 1,5 атм. Після остигання вносили в центр стерилізаційної коробки міцелій, щоб обріс субстрат 0,5 л банки, та інкубували при 20 °С в напівтемряві (світло потрапляло тільки через стерилізаційні щілини коробки). Раз у три доби стерильно (в боксі біологічної безпеки II класу) перевіряли інтенсивність обростання листя міцелієм та факт плодоношення гриба. Визначали темпи обростання листової підстилки, терміни плодоношення, вагу та розміри сформованих плодівих тіл. Дослід проведено у трьох повторностях. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми Microsoft office Excel.  $x \pm u$  означає стандартне відхилення у всіх випадках.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Повне обростання ємностей культурою *S. laminosa* з випробованою композицією субстратів (зерно пшениці, стружка хвойних, лушпиння соняшника та солома пшениці) відбувається всього за 15 діб (рис. 1 а, б). Однак, незважаючи на це, після повного обростання міцелієм субстратів не вдалося отримати плодіві тіла *S. laminosa*, навіть через 5-6 місяців культивування. Мали місце тільки пожовтіння міцелію та його ексудация (рис. 1 с).



**Рис. 1.** Міцелій *Sparassis laminosa* на комбінованому субстраті (a, b – на 15-у добу культивування, c – через 6 місяців,  $26 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ).

Поясненням такого результату може бути відносно невелика сумарна вага використаного в експерименті субстрату – всього 50 г на проти-вагу в десятки разів вищій вазі плодових тіл, знайдених у природі. Однак у роботах [16, 17] продемонстровано, що на інших субстратах з такими ж ваговими характеристиками можуть формуватися плоді тіла *S. laminosa* та їхні зачатки. Субстрати з відносно невеликою вагою

( $350 \pm 50$  г) потрібні і при культивуванні виду *Sparassis crispa*, стосовно якого розроблені методи вирощування плодових тіл у лабораторних умовах, завдяки чому вид успішно опановує ринок грибів на Сході [19, 20].

Модифікація субстрату опалим листям сприяє поступовому обростанню субстрату та згодом і плодоношенню *S. laminosa* (рис. 2).



**Рис. 2.** Міцелій *Sparassis laminosa* на опалому листі (a – через тиждень після винесення, b – на 40-у добу) та плодоношення гриба (c, d) на 50-ий день культивування,  $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .

Повне обростання листя тяжами міцелію має місце на  $40 \pm 2$  добу експерименту (рис. 2 b), а перші плодові тіла з'являються через  $46 \pm 2$  днів з моменту модифікації субстрату листовим компонентом. Плодові тіла мають типову для виду морфологію, кремового забарвлення, формуються в місцях доступу світла (в місцях перфорації стерилізаційних коробок), в кількості одне плодове тіло на один субстрат. Плодоношення / формування плодових тіл триває  $7 \pm 2$  діб, а наступних 7 діб відбувається інволюція та старіння сформованих плодових тіл. Якщо урожай не зібрати, плодові тіла набувають дерев'янистої консистенції.

Слід зазначити, що розміри ( $15-20 \times 10-15$  см) та вага ( $50-70$  г) сформованих плодових тіл значно менші за такі, що трапляються у природі. Однак важливо, що саме доповнення субстрату листям є визначальним фактором для ініціації плодоношення, причиною чому може бути зниження рівня рН субстрату. Оскільки листя обростає міцелієм гриба, то цей компонент здатен забезпечити трофічні потреби виду. З іншого боку використання опалого листя – практично невичерпного ресурсу як компонента для субстрату – значно здешевлює процес отримання плодових тіл *S. laminosa*. Однак, зважаючи на той факт, що параметри отриманих плодових тіл не достатні для культивування в промислових масштабах, розуміємо, що метод потребує вдосконалення.

Зважаючи на світовий досвід отримання плодових тіл грибів інших видів, доцільно в рамках наступних експериментів змінити тару для культивування міцелію *S. Laminosa*, щоб покращити доступ світла, що необхідне для повноцінного розвитку плодових тіл гриба. Окрім цього, обрана нами тара (стерилізаційна коробка) не сприяє підтримці стабільної вологості субстрату впродовж культивування (практично два місяці), тому використання з цією метою поліетиленових пакетів, удосконалення їх перфорації, покращений світловий режим дозволять відкоригувати умови для плодоношення *S. laminosa* та вийти на прийнятні для промисловості параметри.

Однак обрості міцелієм субстрату можуть бути корисними з погляду їх застосування при реалізації методики *re-situ*, адже обростання міцелієм опалого листя до його винесення в природу очевидно скорочуватиме процес адаптації грибниці до природних умов і цим самим

підвищуватиме його життєздатність та приживлюваність.

## ВИСНОВКИ

Інкубація оброслого міцелієм субстрату (зерно пшениці, лушпиння соняшника, стружка хвойних, солома пшениці) з опалим листям супроводжується плодоношенням *S. laminosa* на 46-у добу експерименту. Сформовані плодові тіла мають розміри, що не перевищують  $15-20 \times 10-15$  см, вагу не більше 70 г.

Використання опалого листя – практично невичерпного ресурсу як компонента для субстрату – значно здешевлює процес отримання плодових тіл *S. laminosa*. Однак методика потребує доопрацювання з метою збільшення ваги та розмірів плодових тіл гриба, зокрема слід змінити тару для культивування, світловий режим інкубації та забезпечити субстрати від висихання тощо.

Отримані результати важливі для їх застосування при реалізації методики *re-situ*, адже обростання міцелієм опалого листя до його винесення в природу очевидно скорочуватиме процес адаптації грибниці до природних умов і цим самим підвищуватиме його життєздатність.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Кривко, Н. Н.; Бондаренко, Е. Н. Подбор сред и температурного режима для выращивания гриба *Sparassis laminosa* в культуре. *Микология и альгология: Материалы юбилейной конференции, посвященной 85-летию кафедры микологии и альгологии МГУ им. М. В. Ломоносова*. Москва, 2004; с 79–80.
2. Мудрык, Е. А.; Новикова, В. В.; Сухомлин, М. Н. Поиск новых видов грибов для культивирования. *Sparassis laminosa* (Fr.) Fr. Тези Міжнародної конференції «Проблеми сучасної екології», Запоріжжя, 20-22 вересня, 2000 р., с. 107.
3. Красная книга Республики Беларусь. URL: <http://redbook.minpriroda.gov.by> від 2006.
4. Список растений, животных, грибов и лишайников, занесенных в Красную книгу Липецкой области. 2021. URL: [http://ekolip.ru/oopt/spisok-kk/?SECTION\\_ID=247&ELEMENT\\_ID=1078](http://ekolip.ru/oopt/spisok-kk/?SECTION_ID=247&ELEMENT_ID=1078).
5. Wojewoda, W., Ławynowicz, M. 2006. Czerwona lista grzybów wielkoowocnikowych w

Polsce. URL: <https://grzyby.pl/czerwona-lista-grzybow.htm>.

6. Лешан, Т. А.; Пахомов, О. Є. Раритетний фонд базидіоміцетів сходу України. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія* 2009, 17(1), с 115–120.

7. Зерова, М. Я.; Радзівський, Г. Г.; Шевченко, С. В. *Визначник грибів України*. Том 5. Книга 1. *Базидіоміцети: екзобазидіальні, афілофоральні, кантарелальні*. Наукова думка: Київ, 1972; 240 с.

8. Вынаев, Г. В.; Гапиенко, О. С. *Спарассис пластинчатый (Sparassis laminosa Fr.) – новый вид афиллофоровых грибов (Aphyllorhales) для микобиоты Беларуси. Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира: Тезисы докладов Международной научной конференции*. Минск, 30-31 мая 2002, с 48–49.

9. Сухомлин, М. М. Проблема сумісності у вищих базидіоміцетів (фізіологічні, екологічні, морфологічні аспекти). Дисертація д-ра біол. наук. Київ, 2003; 269 с.

10. Березовська, М.; Павловська, М.; Карбовська, В.; Карпенко, Н.; Абдулоева, О.; Кондратюк, Т.; Сухомлин, М.; Костіков, І. Значення колекцій у збереженні біорізноманіття у сучасній науковій діяльності. *Вісник Київського національного університету. Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2012, 15, с 44–47.

11. Bisko, N. A.; Sukhomlyn, M. M.; Mykchaylova, O. V.; Lomborg, M. L.; Tsvyd, N. V.; Petrichuk, Yu. V.; Al-Maali, G. A.; Mytropolska, N. Yu. Ex situ conservation of rare and endangered species in mushroom culture collections of Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal* 2018, 75(4), с 338–347.

12. Bisko, N. A.; Lomborg, M. L.; Mytropolska, N. Y.; Mykchaylova, O. V. *The IBK mushroom culture collection*. Alterpres: Kyiv, 2016; 120 с.

13. Сухомлин, М. М. Накопичення металів вищими базидіальними грибами. *Питання біодикації та екології* 2000, 5(3), с 199–205.

14. Сухомлин, М. М. Скринінг грибів-антагоністів кореневої губки. *Науковий вісник Національного аграрного університету. Лісівництво* 2000, 27, с 296–299.

15. Ярош, Р. М.; Ломберг, М. Л.; Красінько, В. О. *Вирощування грибів з лікувальними властивостями на різних субстратах*. Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія: звернення та надії», присвяченої 120-річчю НУБіП України. Київ, 14-16 листопада, 2017 р., с 251–253.

16. Цвид, Н.В.; Петричук, Ю. В.; Сухомлин, М. М. *Рідкісні види афілофороїдних грибів (Sparassis laminosa та Hericium cirrhatum) в умовах чистої культури*. Матеріали IV Міжнародної конференції «Рідкісні рослини і гриби України та прилеглих територій: реалізація природоохоронних стратегій». Паливода: Київ, 16-20 травня, 2016 р., с 199–201.

17. Pasailiuk, M.; Sukhomlyn, M.; Gryganskyi, A. Biological features of *Sparassis laminosa* Fr. (*Sparassidaceae, Polyporales*) and the main aspects of its reproduction in the territory of Hutsulshchyna National Natural Park, Ukraine. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, 2019, 9(1), pp. 194–207.

18. Pasailiuk, M. Growing of *Polyporus umbellatus*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, 2020, 10(1), pp 457–465.

19. Sung-Ryul, R.; Kang-Hyeon, K.; Hyun P.; Won-Chull B.; Bong-Hun, L. Cultivation Characteristics of *Sparassis crispa* Strains Using Sawdust Medium of *Larix kaempferi*. *The Korean Journal of Mycology*. 2009, 37(1), pp. 49–54.

20. Dezhi, L.; Jong-Soo, K. *Sparassis crispa* cultivation method. Patent CN103650913A. China2013.