

УДК 633.88

Код UPOV: LENTI_EDO

Методика

проведення експертизи штамів шіїтаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler)
на відмінність, однорідність і стабільність

Загальні рекомендації

1. Предмет Методики

Методика стосується всіх штамів виду *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.

2. Необхідний вихідний матеріал

2.1 Компетентний орган визначає скільки, якої якості, коли й куди постачається матеріал для експертизи штаму.

2.2 Матеріал постачається у вигляді міцелію і в чистій культурі на відповідному поживному середовищі.

(а) Міцелій повинен бути такої якості, що забезпечує виявлення відповідних ознак сорту. Частково зернистість міцелію має бути видно неозброєним оком, зернистість не повинна бути колонізованою до такої міри, щоб зерна склеювалися. Міцелій має бути не старіше 3 місяців і збереженим у належних умовах.

(б) Чисті культури вирощують на картопляно-декстрозному агарі (КДА) або солодово-пептонному агарі. Пробірки мають бути закорковані ватними корками або в пластикових чашках без доступу повітря. Культури мають бути свіжими, тобто зберігатись за низьких температур не більше двох тижнів.

Мінімальна кількість вихідного матеріалу має становити:

- а) 2 літри міцелію;
- б) 3 пробірки з чистою культурою.

2.3 Матеріал нічим не обробляють.

3. Метод експертизи

3.1 **Тривалість експертизи.** Експертиза має тривати щонайменше два незалежні вегетаційні цикли. Вегетаційним циклом вважається час від інокуляції субстрату міцелієм до кінця першої хвилі плодоношення.

3.2 **Місце експертизи** Експертизу проводять в одному закладі експертизи.

3.3 **Умови для проведення експертизи.** Експертизу виконують за умов, що забезпечують задовільний ріст і розвиток гриба, і достатнє виявлення характерних ознак штаму. Для створення оптимальних умов росту і розвитку культивуєний вид штаму вирощують на тонкошаровій деревній плиті або тирсових блоках. Стадії розвитку гриба позначено номерами в другій колонці Таблиці ознак і описано в поясненні до неї та подано схематично етапи його розвитку.

3.4 План експертизи. Планують такий розмір ділянок, щоб вилучення плодових тіл або їхніх частин для вимірювань і підрахунків не шкодило б обстеженням, які тривають до кінця циклу вирощування.

Дослід закладають на щонайменше 60 шматочках деревини або на 60 тирсових блоках, які попередньо розділені на три повторення.

3.5 Метод дослідження. Опис морфологічних ідентифікаційних ознак штаму здійснюють методом візуальної оцінки та за допомогою вимірювань чи підрахунків залежно від типу виявлення ознак (якісні – QL, кількісні – QN, псевдоякісні – PQ). Тип виявлення ознаки проставлено в першій колонці Таблиці ознак.

Рекомендований метод спостереження за ознаками вказано в другій колонці Таблиці ознак:

- MG: разове вимірювання групи рослин або частин рослин (наприклад, висота);
- MS: вимірювання групи попередньо визначених рослин або частин рослин, на яких протягом вегетації здійснюють усі вимірювання кількісних ознак (наприклад, довжина);
- VG: візуальна разова оцінка групи рослин;
- VS: візуальна оцінка окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин.

3.6 Кількість плодових тіл / або їхніх частин. Експертизі підлягає щонайменше 60 плодових тіл. Усі вимірювання варто здійснювати на вказаній кількості плодових тіл.

4. Оцінка відмінності, однорідності та стабільності

Для оцінки виявлення відмінності й однорідності використовують ознаки, наведені в Таблиці ознак, і коди (1–9), необхідні для електронного опрацювання даних. Сукупність цих кодів складає кодову формулу штаму і використовується для формування групи подібних штамів.

4.1 Експертиза на відмінність

Штам відповідає умові відмінності, якщо за виявленням його ознак він чітко відрізняється від будь-якого іншого штаму, загальновідомого до дати, на яку заявка вважається поданою. Експертизу на відмінність проводять після отримання результатів морфологічного опису першого циклу. Якщо штам-кандидат може бути вирізненим з-поміж загальновідомих штамів методом порівняння їхніх описів, то він є відмітним. Коли неможливо чітко вирізнити штам-кандидат серед загальновідомих за морфологічною кодовою формулою, його необхідно порівняти в промисловому досліді.

4.2 Експертиза на однорідність

Штам вважається однорідним, якщо з урахуванням особливостей розмноження, він залишається достатньо подібними за своїми основними ознаками, визначеними під час морфологічного опису.

Для оцінки однорідності приймається популяційний стандарт 1% за рівня ймовірності 95%. У вибірці з 60 плодових тіл допускаються два нетипові.

4.2.1 Нетипові гриби позначають стрічками, етикетками тощо. За відсотком нетиповості встановлюють однорідність штаму.

4.3 Експертиза на стабільність

Штам вважається стабільним, якщо його основні ознаки, відзначені в Описі, залишаються незмінними після неодноразового розмноження чи, у разі особливого циклу розмноження, наприкінці кожного такого циклу.

Якщо штам є однорідним, його слід вважати стабільним.

5. Групування штамів для експертизи на відмінність

Штами групують за найвідмітнішими морфологічними ознаками для кожного сорту. Для групування сортів використовують ознаки, які, як відомо з практики, не варіюють або дуже слабо варіюють у межах штаму. Ці ознаки можуть бути використані окремо або в комбінаціях з іншими.

Рекомендовано для групування такі ознаки:

- Шапинка: форма поздовжнього розрізу (ознака 9);
- Шапинка: основне забарвлення верхівки (ознака 11);
- Шапинка: гіменіальні пластинки (ознака 17);
- Ніжка: форма поздовжнього розрізу (ознака 23).

5.1 Для чіткої реєстрації виявлення ознак поряд із штамами-кандидатами необхідно висівати штами-еталони.

6. Умовні позначення

(*) – ознаки, позначені зірочкою, завжди залучаються до Методик з експертизи на ВОС усіма країнами-членами UPOV, за винятком випадків, коли виявлення попередньої ознаки або регіональні умови довкілля це унеможливають;

(+) – вказує на те, що до цієї ознаки надано пояснення або ілюстрації після Таблиці ознак.

(a)–(c) – пояснення до Таблиці ознак у розділі 8.

(B) – тип вирощування на тонкошаровій деревній плиті;

(S) – тип вирощування на тирсових блоках.

7. Таблиця ознак штамів шіітаке

Ознаки		Ступені виявлення ознак	Коди	Штами-еталони
1	2	3	4	5
1. (+) QN	Щільність розташування гіф на субстраті VG, (a)	нещільна	3	HS607, Mori XR1
		середньої щільності	5	Morino Natsumi
		щільна	7	KX-S005
2. (+) QL	Колонія: відтінювання поверхні субстрату VG (a)	відсутнє	1	Kinko 115, Mori XR1, Morino Natsumi
		наявне	9	HS607, KX-S005
3. (+) QN	Мицелій: оптимальна температура для росту MS (b)	23°C	3	Kinko 243
		25°C	5	HS607, Kinko 115
		27°C	7	Morino Natsumi
4. (+) QN	Мицелій: ріст за температури 10°C MS (b)	дуже повільний	1	Kinko 115
		повільний	2	Kinoh1
		помірний	3	HS607, Morino Natsumi
		швидкий	4	KX-S005
		дуже швидкий	5	Yujiro
5. (+) QN	Мицелій: ріст за температури 15°C MS (b)	дуже повільний	1	
		повільний	2	Kinko 115
		помірний	3	HS607, Susono 360
		швидкий	4	Yujiro
		дуже швидкий	5	KX-S005
6. (*) (+) QN	Мицелій: ріст за температури 20°C MS (b)	дуже повільний	1	Bridge 32, Kinno 1
		повільний	2	Kinko 115
		помірний	3	ML8, Morino Natsumi
		швидкий	4	Morino Harumitsu
		дуже швидкий	5	Akiyama A-950, Hokken 600, JMS 237
7. (*) (+) QN	Мицелій: ріст за температури 25°C MS (b)	дуже повільний	1	
		повільний	2	Kinko 115
		помірний	3	HS73, Susono 360
		швидкий	4	Hokken600, Yujiro
		дуже швидкий	5	
8. (*) (+) QN	Мицелій: ріст за температури 30°C MS (b)	дуже повільний	1	Akiyama A-526
		повільний	2	HS73, Morino Harumitsu
		помірний	3	Kinko 115
		швидкий	4	Mori XR1, Susono 360
		дуже швидкий	5	Morino Natsumi, Yujiro

1	2	3	4	5
9. (*) (+) PQ	Шاپинка: форма поздовжнього розрізу VG (c)	увігнута	1	JMS 7H-1
		плеската	2	Morino Harumitsu
		округла	3	Kinko 115, Yujiro
		випукла	4	KX-S005
10. (*) (+) QN	Шاپинка: діаметр VG/MS (c)	малий	3	Morino Harumitsu
		середній	5	HS73, Kinko 115, Mori XR1
		великий	7	Kinko 117, Mori 505
11. (*) PQ	Шاپинка: основне забарвлення верхівки VG (c)	біле	1	Kinko 989
		жовтувато-коричневе	2	Mori XR-1
		коричневе	3	Kinko 115, Susono 360
		червонувато- коричневе	4	Akiyama A-526
12. (+) QN	Шاپинка: за висотою MS (c)	низька	3	Morino Harumitsu
		середня	5	Mori XR1, Morino Natsumi, Susono 360
		висока	7	Akiyama A-526
13. (+) QN	Шاپинка: за твердістю VS (c)	м'яка	1	Kinko 650
		середня	2	HS607, Kinko 115, KX-S055, Susono 360
		тверда	3	Morino Natsumi
14. (+) QN	Шاپинка: розміщення лусок VG (c)	по всій поверхні	1	Kinko 115, Mori XR1
		по периферії	2	Morino Natsumi, Susono 360, Yujiro
15. (+) QN	Шاپинка: розмір лусок VG (c)	малий	3	HS73, Mori XR1
		середній	5	Morino Natsumi, Susono 360, Yujiro
		великий	7	Kinko 169
16. (+) QL	Шاپинка: забарвлення лусок VG (c)	відсутнє	1	JMS5K16, ML8, Morino Natsumi
		наявне	9	HS73, Yujiro
17. (*) (+) QL	Шاپинка: гіменіальні пластинки VG (c)	відсутні	1	FERM P-14310
		наявні	9	Kinko 115, Mori XR1
18. (+) QL	Гіменіальна пластинка: форма VG (c)	відділена від ніжки	1	Kinko 115, Yujiro
		прикріплена до ніжки	2	Hokken 600, Mori 505

1	2	3	4	5
19. (*) (+) QL	Гіменіальна пластинка: характер рядів VG (c)	прямі	1	Kinko 115, KX-S055, Morino Natsumi
		хвилясті або зморшкуваті	2	Akiyama A-526, Mori XR1
20. (+) QN	Гіменіальна пластинка: за шириною VG (c)	дуже вузька	1	Mori XR1
		вузька	3	Yujiro
		середня	5	Susono 360
		широка	7	KX-S034
		дуже широка	9	
21. (+) QN	Гіменіальна пластинка: щільність розташування рядів VG (c)	нещільна	3	Kinko 169, Mori 476
		середньої щільності	5	Yujiro
		щільна	7	Kinko 115, Mori XR1, Morino Natsumi
22. PQ	Гіменіальна пластинка: забарвлення VG (c)	біле	1	Kinko 115, Mori XR1, Morino Natsumi
		світло-жовте	2	HS607, KX-S055
		світло-жовто- оранжеве	4	HS73
23. (*) (+) PQ	Ніжка: форма поздовжнього розрізу VG (c)	потовщена у верхній частині	1	JMS 7H-1
		циліндрична	2	JMS5K16, Kinko 115, Mori XR1, Morino Natsumi
		потовщена в нижній частині	3	Susono 360
24. (*) (+) QN	Ніжка: за довжиною VG / MS (c)	коротка	3	Mori XR1, Morino Natsumi, Susono 360
		середня	5	HS702, Kinko 117
		довга	7	Akiyama A-526
25. (+) QN	Ніжка: діаметр VG / MS (c)	малий	3	Morino Natsumi
		середній	5	HS73, Susono 360
		великий	7	Kinko 115
26. (*) (+) QL	Ніжка: забарвлення VG (c)	відсутнє	1	Mori XR1
		наявне	9	Kinko 115, KX-S055 Morino Natsumi
27. (+) QN	Ніжка: щільність опушення VG (c)	відсутня або нещільна	1	Kinko 989
		середньої щільності	2	Kinko 115, KX-S055, Morino Natsumi
		щільна	3	KB-2010
28. (+) QL	Ніжка: забарвлення опушення VG, (c)	відсутнє	1	KX-S055, Mori XR1
		наявне	9	Kinko 115, Morino Natsumi

1	2	3	4	5
29. (+) QN	Ніжка: за твердістю VG (c)	м'яка	1	HS802, Kinno 7
		середня	2	HS607, Mori XR1, Susono 360
		тверда	3	Kinko 115
30. QN	Плодове тіло: відношення діаметра шапинки до довжини ніжки VG / MS (c)	шапинка значно коротша за довжину ніжки	1	Kinko 610
		шапинка коротша за довжину ніжки	3	Mori 252
		шапинка майже рівна довжині ніжки	5	Akiyama A-526,
		шапинка довша за довжину ніжки	7	Susono 360 Morino Natsumi
		шапинка значно довша за довжину ніжки	9	Morino Harumitsu
31. (+) QN	Плодове тіло: суха маса за збиральної стиглості MG (c)	мала	3	HS73
		середня	5	Akiyama A-526, Susono 360, Yujiro
		велика	7	
32. (*) (+) QN	Плодове тіло: період від інокуляції до індукції розвитку плодового тіла VG	короткий	3	A-555(B), HS73(S), Kinko 702(B)
		середній	5	HS608(B), Kinko 697(B), S-035(B)
		довгий	7	HS705(S), Kinko 169(B), ML8(S) Mori-yujiro(B), S-035(S)
33. (*) (+) QN	Плодове тіло: період від індукції розвитку плодового тіла до збиранняурожаю VG	короткий	3	A-555(B), HS-73(S), KX-S055(B), S- 005(S)
		середній	5	A-526(B), HS72(S), HS705(S)
		довгий	7	ML8(B), ML8(S), S-035(S)

8. Пояснення до Таблиці ознак штамів шіітаке

8.1 Ознаки, навпроти яких у другій колонці присутня одна з наступних позначок, обстежують таким чином:

(а) Гіфи і колонії: гіфи і колонії слід обстежувати в чистій культурі.

Тип поживного середовища: КДА (картопляно-декстрозний агар)

Чашка Петрі: 9 см внутрішній діаметр і 2 см заввишки

Умови: у темряві за температури $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Кількість чашок Петрі: понад три.

(б) Міцелій: слід обстежувати в чистій культурі.

Тип поживного середовища: КДА

Пробірка/чашка Петрі: 9 см внутрішній діаметр і 2 см заввишки

Умови: у темряві за відповідної температури

Обстеження: через 14 діб.

Кількість пробірок/чашок Петрі: більше п'яти.

(с) Ніжка, шапинка і гіменіальні пластинки: якщо не вказано іншого, усі ознаки плодового тіла (шапинка, ніжка і гіменіальні пластинки) обстежують під час досягання, коли покривало розкрито на 80–90%, видно гіменіальні пластинки (стадія 4 [див. додаткову інформацію] збирання грибів уручну; свіжозібраний врожай).

(d) Загальні ілюстрації:



A: шапинка, B: гіменіальна пластинка, C: ніжка, D: лусочки.

8.2 Пояснення або ілюстрації до окремих ознак

До 1. Щільність розташування гіф на субстраті.

Щільність гіф обстежують, коли вони розвинулися на 70% діаметра чашки Петрі.



1
Нещільна

2
середньої щільності

3
щільна

До 2. Колонія: відтінювання поверхні субстрату.

Наявність відтінювання колонії обстежують після 14 днів вирощування.

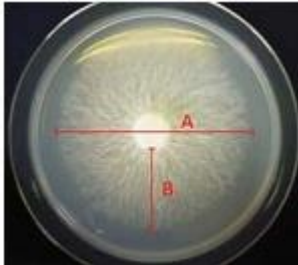


A: 1 – відсутнє B: 9 – наявне

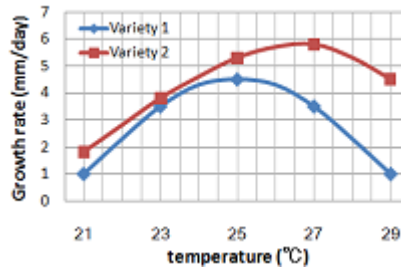
До 3. Міцелій: оптимальна температура для росту.

До 4, 5, 6, 7, 8. Міцелій: ріст за температури 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C.

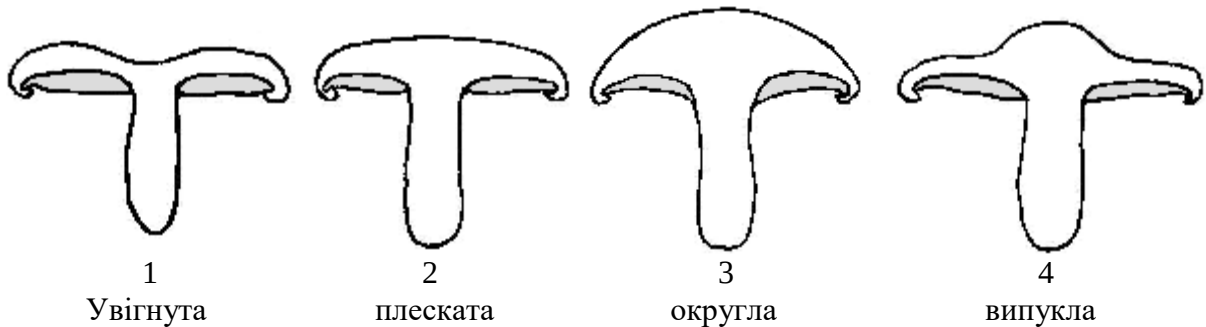
Вимірюють довжину або діаметр міцелію в пробірці / чашки Петрі, щоросло з 4-го по 14-й день культивування міцелію за відповідної температури. Температуру інокуляції, за якої міцелій зростає найбільше, вважають оптимальною. Кількість міцелію, що наростає кожного дня за відповідної температури розглядаються як ступінь зростання. Ці характеристики повинні бути оцінені за діаграмою кривої зростання міцелію (див. графік нижче).



A: діаметр міцелію
B: довжина колонії



До 9. Шапинка: форма поздовжнього розрізу.

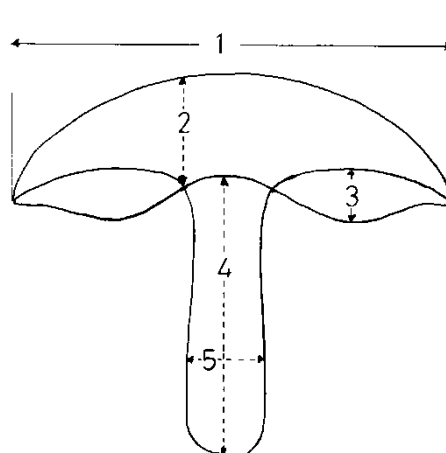


До 10, 12. Шапинка: діаметр, за висотою.

До 20. Гіменіальна пластинка: за шириною.

До 24, 25 Ніжка: за довжиною, діаметр.

До 30. Плодове тіло: відношення діаметра шапинки до довжини ніжки.



1. Шапинка: діаметр
2. Шапинка: товщина
3. Гіменіальна пластинка: ширина
4. Ніжка: довжина
5. Ніжка: товщина

До 13. Шапинка: за твердістю.

Визначається вручну. Твердість шапинки порівнюють із сортами-еталонами.

До 14. Шапинка: розміщення лусок.



1

По всій поверхні



2

по периферії

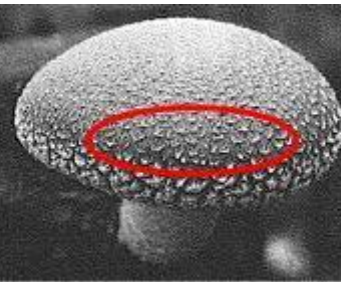
До 15. Шапинка: розмір лусок.

Розмір лусок визначають на плечі шапинки.



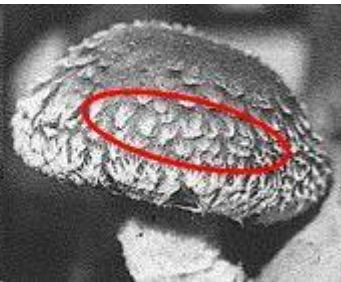
3

Малий



5

середній



7

великий

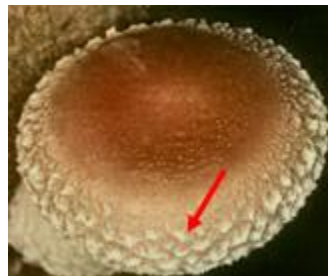
До 16. Шапинка: забарвлення лусок.

Забарвлення лусок «відсутнє» – тільки білого забарвлення, «наявне» – від жовто-оранжевого до темно-коричневого.



1

Відсутнє



9

наявне

До 17. Шапинка: гіменіальні пластинки.



1

Відсутні

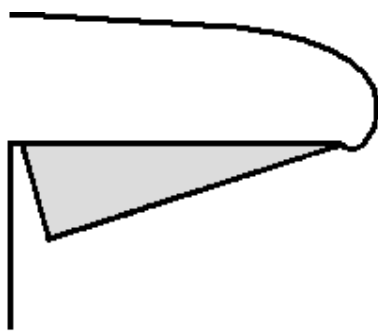


9

наявні

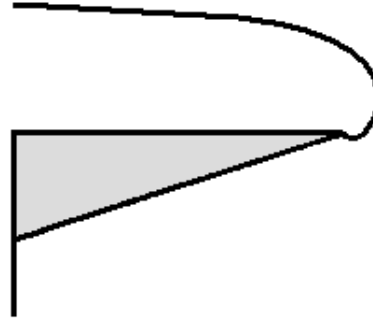
До 18. Гіменіальна пластинка: форма.

Обстежують зовнішнє положення вигину гіменіальної пластинки відносно ніжки.



1

Відділена від ніжки



2

прикріплена до ніжки

До 19. Гіменіальна пластинка: характер рядів.



1

Прямі



2

хвилясті або зморшкуваті

До 21. Гіменіальна пластинка: щільність розташування рядів.



3

Нещільна



5

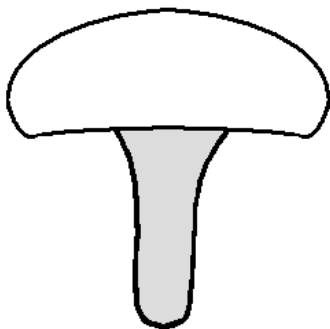
середньої щільності



7

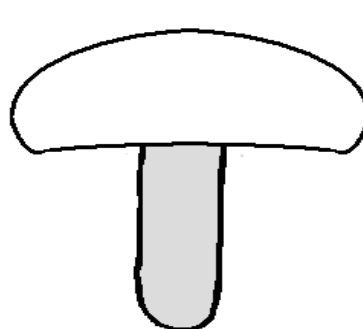
щільна

До 23. Ніжка: форма позовжнього розрізу.



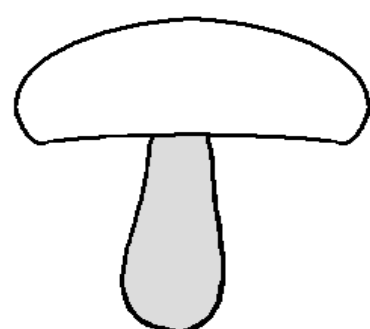
1

Потовщена у верхній частині



2

циліндрична

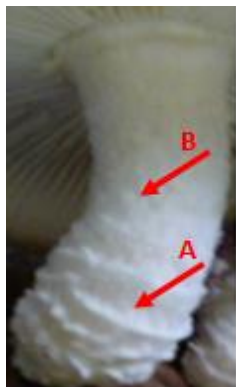


3

Потовщена в нижній частині

До 26. Ніжка: забарвлення.До 28. Ніжка: забарвлення опушення.

Забарвлення ніжки і опушення ніжки «відсутнє» – тільки білого забарвлення, «наявне» – від жовто-оранжевого до темно-коричневого. визначають, коли на ніжці з'являється опушення. Вивчення опушення проводять видаляючи його з ніжки. Забарвлення ніжки та опушення з'являються незалежно одне від одного.



1

Відсутнє



9

наявне

А – поверхня ніжки; В – опушення ніжки.

До 27. Ніжка: щільність опушення.

1

Відсутня або нещільна



2

середньої щільності



3

щільна

До 29. Ніжка: за твердістю.

Визначається вручну. Твердість ніжки порівнюють із сортами-еталонами.

До 31. Плодове тіло: суха маса за збиральної стиглості.

Плодове тіло гриба висушують за температури 60°C до стабільної ваги.

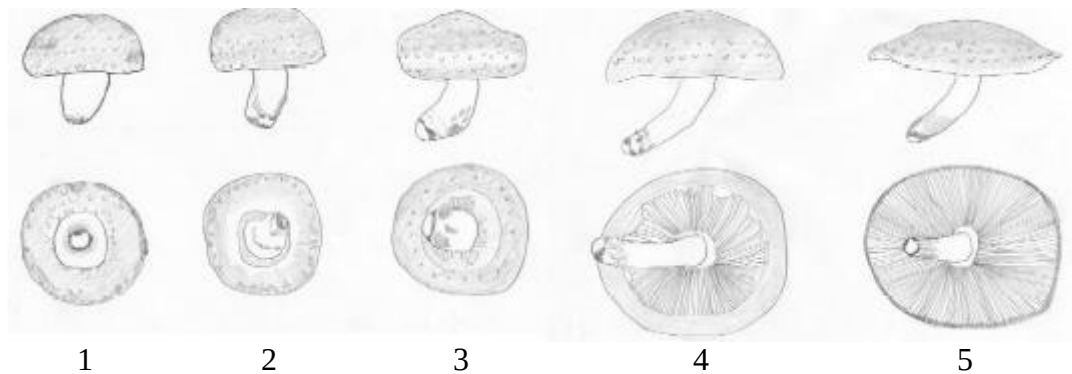
До 32. Плодове тіло: період від інокуляції до індукції розвитку плодового тіла.До 33. Плодове тіло: період від індукції розвитку плодового тіла до збирання урожаю.

Необхідні етапи розвитку для формування плодового тіла гриба. Синхронізація фаз розвитку плодового тіла відрізняється в залежності від сорту. Індукують розвиток плодового тіла замочуванням у відстояній воді, зрошуванням, проводять низькотемпературну та механічну обробку. Будь-який метод є стимулюванням формування плодового тіла. У кожному типі культивування (на тонкошаровій деревній плиті або на тирсових блоках) використовують індукцію розвитку плодового тіла в той час коли спостерігаються вказані ознаки формування плодового тіла (вирощування на субстраті,

плодове тіло гриба повністю вкрите покривалом спостерігається на поверхні середовища, яке було вкрите гіфами коричневого забарвлення). У разі культивування на тонкошаровій деревній плиті гранули міцелію (кожна 3–5 мм) постерігаються на деревних частинах плити з вертикальними отворами, де була знята кора. Час настання піка плодоношення вважають, коли збирають найбільший урожай плодових тіл.

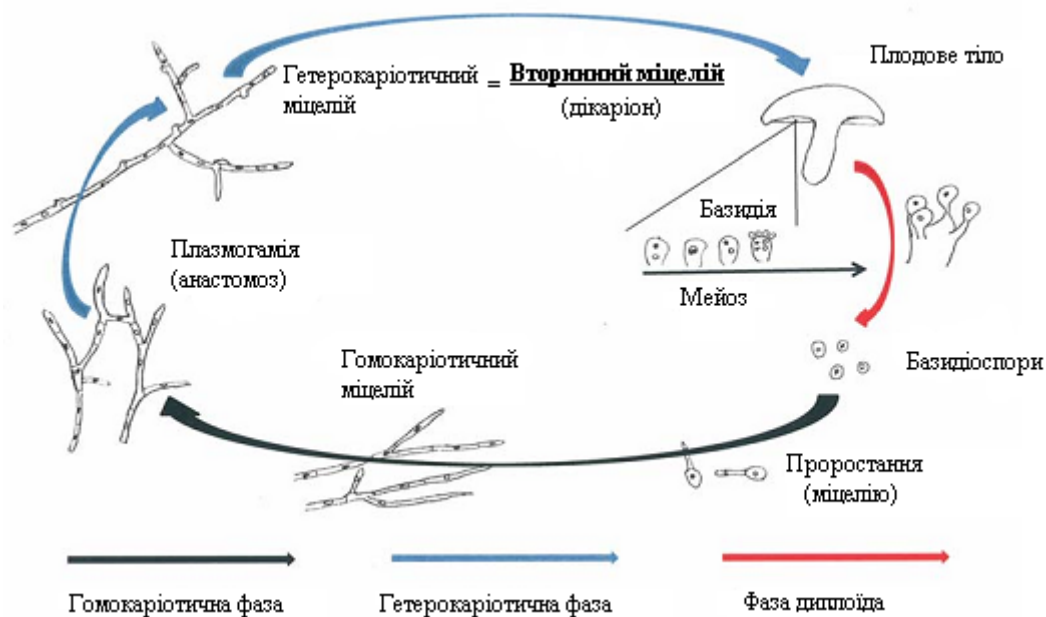


Коди стадій росту й розвитку гриба, в які слід проводити обстеження:



1, 2 – покривало закрите; 3 – покривало розкрите; 4 – покривало розкрите на 80–90%, видно гемініальні пластинки; 5 – повністю видно гемініальні пластинки.

Життєвий цикл *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler



Тип вирощування на тонкошаровій деревній плиті.

- Проведення вирощування за даним типом більш розповсюджене, ніж вирощування на тирсових блоках. Загалом цей тип вирощування має наступні характерні особливості:

- деякі штами не розвивають плодових тіл в умовах вирощування на тирсових блоках;

- в основному використовуються висушені плодові тіла грибу шіїтаке, що вирощують в умовах відкритого ґрунту;

- період культивування довший, ніж вирощування на тирсових блоках;

- сформовані шапинки більш тверді.

Тип вирощування на тирсових блоках.

Вирощування за даним типом дуже обмежене. Загалом цей тип вирощування має наступні характерні особливості:

- деякі штами не розвивають плодових тіл в умовах вирощування на тонкошаровій деревній плиті;

- толерантні до високих температур у цілому;

- в основному використовуються свіжі плодові тіла грибу шіїтаке;

- стосується тільки штамів, що вирощують в умовах закритого ґрунту;

- період культивування порівняно короткий;

- сформовані шапинки порівняно м'які.

9. Література

1. Test Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability of Shiitak (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) (TG/282/1, UPOV) // Geneva. 2012-03-28. – 37 P. // URL: www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg282.pdf