

ANETA SŁAWIŃSKA, JANUSZ KALBARCZYK

Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

WPLYW SKŁADU PODŁOŻA NA WZROST GRZYBNI SZCZEPU PB6 BOCZNIAKA OSTRYGOWATEGO (*PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQUIN EX FR.) KUMMER)

Streszczenie. Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu różnych materiałów organicznych o charakterze ligninocelulozowym na szybkość przerastania grzybni szczepu PB6 *Pleurotus ostreatus*. Sporządzono 21 kombinacji podłoża z różnym udziałem substratów ligninocelulozowych. Komponenty, z których przygotowano podłoża, stanowiły odpady przemysłu drzewnego, rolniczego i spożywczego. Najlepsze dla wzrostu grzybni *P. ostreatus* PB6 okazały się podłoża wieloskładnikowe z grupy D: D5 i D6. Po 14 dniach inkubacji grubość podłoża D5 przerosnięta przez grzybnię bocznika wynosiła 91,6 mm, podłoża zaś D6 87,6 mm. Najwolniejsze tempo wzrostu grzybni stwierdzono na podłożu B1 (39,1 mm), składającym się w 80% z wytlóków z jabłek i w 20% ze słomy pszennej.

Słowa kluczowe: *Pleurotus ostreatus*, odpady ligninocelulozowe, wzrost grzybni

Wstęp

Jednym z najbardziej znanych i lubianych przez europejskich konsumentów gatunków grzybów jest bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*). Owocniki bocznika są cenione nie tylko za walory smakowo-zapachowe. Podnosi się również poziom wiedzy konsumentów, którzy świadomie wybierają owocniki grzybów jadalnych, w tym bocznika, ze względu na ich wartość odżywczą i zdrowotną. Owocniki bocznika mają wartość odżywczą zbliżoną do mleka i mięsa (GHOSH i CHAKRAVARTY 1990). Są źródłem wysokiej jakości białka, węglowodanów, związków mineralnych i witamin (niacyny, ryboflawiny i tiaminy) (BONATTI i IN. 2004).

Naturalnym środowiskiem *Pleurotus* spp. są tropikalne i subtropikalne lasy (BONATTI i IN. 2004). Gatunki bocznika cechują się dużą zdolnością kolonizacji i rozkładu szerokiej gamy odpadów ligninocelulozowych w stosunkowo krótkim czasie w porównaniu z innymi uprawianymi przez człowieka grzybami jadalnymi. Ponadto owocniki

bocznika są rzadko atakowane przez choroby i szkodniki, a ich uprawa jest tania i łatwą metodą pozyskiwania żywności (BONATTI i IN. 2004). Grzyby wyższe białej zgnilizny, których przedstawicielem jest bocznik ostrygowaty, są zdolne do rozkładu materiałów ligninocelulozowych dzięki możliwości syntezy wielu enzymów, takich jak celulazy i hemicelulozy, oraz dzięki kompleksowi enzymów oksydacyjnych: peroksydazie ligniny (EC 1.11.1.14), manganozależnej peroksydazie (EC 1.11.1.13) i fenoloksydazie zawierającej miedź – lakazie (EC 1.10.3.2). Enzymy te są odpowiedzialne za degradację takich substratów, jak celuloza, hemiceluloza i lignina, do niskocząsteczkowych składników, które są łatwo przyswajalne przez grzyby (CARROLL i WICKLOW 1992, ELISASHVILI i IN. 2001, GALHAUP i IN. 2002, HOFF i IN. 2004, MIKIASHVILI i IN. 2004, VIKINESWARY i IN. 2006).

Wśród materiałów najczęściej używanych do sporządzania podłoża do uprawy grzybów jadalnych są: trociny drzew liściastych, słoma pszenna i otręby pszenne jako dodatek. Stosuje się te materiały głównie z powodu łatwości ich pozyskania (STAMES 2000), jednakże na polskim rynku są dostępne inne odpady przemysłu drzewnego, rolniczego oraz spożywczo-przemysłowego, takie jak: słoma rzepakowa, wytloki jabłkowe, wysłodki buraczane czy osadki z kukurydzy. Odpady te mogą posłużyć jako nowe źródło składników wykorzystywanych do sporządzania podłoża do uprawy grzybów jadalnych, takich jak *P. ostreatus*.

Szybkość wzrostu grzybni w podłożu jest bardzo częstym wskaźnikiem przydatności danego substratu do uprawy grzybów (SIWULSKI i IN. 2010). Celem przeprowadzonych doświadczeń było określenie wpływu wybranych materiałów ligninocelulozowych stanowiących odpady rodzimego przemysłu drzewnego, rolniczego i spożywczego na szybkość wzrostu grzybni *Pleurotus ostreatus* PB6.

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono w Katedrze Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w 2009 roku. Materiał biologiczny stanowił szczep *Pleurotus ostreatus* PB6 znajdujący się w katedralnej Kolekcji Czystych Kultur Grzybów Wyższych. Grzybnię ze skosów pasażowano na płytce Petriego z podłożem cebulowym zestalonym agarem. Wzrost grzybni na płytkach odbywał się w temperaturze 25°C przez 7 dni. Tak otrzymana grzybnia posłużyła do inokulacji podłoża ligninocelulozowych.

Surowce takie, jak trociny dębowe, słoma pszenna i rzepakowa, wytloki z jabłek, wysłodki buraczane i osadki z kukurydzy, posłużyły do sporządzenia podłoża uprawowych. Z wymienionych składników przygotowano 21 wariantów podłoża o różnym składzie i różnym udziale poszczególnych surowców. Każde podłoże przygotowano w pięciu powtórzeniach. Wilgotność podłoża wynosiła 65-67%. 11-centymetrowe warstwy podłoża umieszczano w szklanych probówkach o średnicy 2,5 cm i długości 15 cm. Podłoża w probówkach poddano sterylizacji w autoklawie w temperaturze 121°C pod ciśnieniem 1 atm przez 30 min. Proces sterylizacji powtórzono po 12 h. Jałowe podłoża ligninocelulozowe zaszczepiano 7-dniową grzybnią *P. ostreatus* PB6 w postaci krążka o średnicy 8 mm z inokulum otrzymanego na podłożu cebulowym zestalonym agarem. Zaszczepione podłoża inkubowano w temperaturze 27°C bez do-

stępu światła przy wilgotności około 85%. Wzrost grzybni *P. ostreatus* PB6 we wszystkich wariantach podłoża odbywał się przez 14 dni. Po tym czasie dokonano pomiaru grubości warstwy podłoża przerośniętego przez grzybnię.

Poniżej podano warianty zastosowanych podłoży z procentowym udziałem poszczególnych składników ligninocelulozowych:

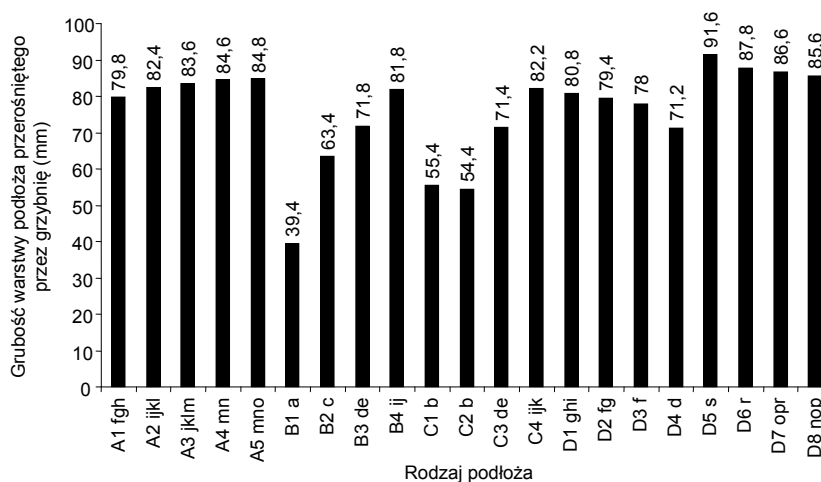
- 1) A1 – 100% słomy rzepakowej (sł. rz.),
- 2) A2 – 70% sł. rz. + 30% słomy pszennej (sł. psz.),
- 3) A3 – 50% sł. rz. + 50% sł. psz.,
- 4) A4 – 30% sł. rz. + 70% sł. psz.,
- 5) A5 – 100% sł. psz.,
- 6) B1 – 80% suchych wytlóków jabłkowych (swj) + 20% sł. psz.,
- 7) B2 – 70% swj + 30% sł. psz.,
- 8) B3 – 50% swj + 50% sł. psz.,
- 9) B4 – 30% swj + 70% sł. psz.,
- 10) C1 – 80% trocin dębowych (tr. db.) i 20% sł. psz.,
- 11) C2 – 70% tr. db. + 30% sł. psz.,
- 12) C3 – 50% tr. db. + 50% sł. psz.,
- 13) C4 – 30% tr. db. + 70% sł. psz.,
- 14) D1 – 70% sł. rz. + 20% tr. db. + 10% osadków z kukurydzy (ozk),
- 15) D2 – 50% sł. rz. + 20% sł. psz. + 10% wysłódków suszonych z buraków (wsb) + 10% swj + 10% ozk,
- 16) D3 – 70% sł. psz. + 20% sł. rz. + 10% swj,
- 17) D4 – 70% sł. psz. + 20% swj + 5% ozk + 5% tr. db.,
- 18) D5 – 50% sł. psz. + 20% sł. rz. + 10% swj + 10% wsb + 5% tr. db. + 5% ozk,
- 19) D6 – 30% sł. psz. + 30% sł. rz. + 20% wsb + 5% swj + 5% tr. db. + 10% ozk,
- 20) D7 – 50% sł. psz. + 30% swj + 15% tr. db. + 5% ozk,
- 21) D8 – 30% sł. psz. + 40% swj + 25% tr. db. + 5% ozk.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica metodą analizy wariancji przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki wzrostu grzybni szczepu *P. ostreatus* PB6 na badanych podłożach zamieszczono na rysunku 1.

Podłoża w grupie A były oparte na dwóch składnikach: słomie pszennej i rzepakowej. Najlepszy wzrost szczepu *P. ostreatus* PB6 odnotowano na podłożu A5 (84,8 mm), które składało się w 100% ze słomy pszennej. Również na podłożu oznaczonym symbolem A4, składającym się w 70% ze słomy pszennej i w 30% ze słomy rzepakowej, oraz na podłożu A3, które w 50% było złożone ze słomy pszennej i w 50% ze słomy rzepakowej, *P. ostreatus* PB6 wykazał szybki wzrost: odpowiednio 84,6 mm i 83,6 mm. Podłoża A5, A4 i A3 nie różniły się między sobą statystycznie przy $p > 0,05$. Najslabiej w tej grupie podłoży zostało zasiedlone podłoże A1, składające się w 100% ze słomy rzepakowej. Grubość podłoża przerośniętego grzybnią bocznika po 14 dniach inkubacji wynosiła 79,8 mm.



Rys. 1. Porównanie wzrostu grzybni *Pleurotus ostreatus* PB6 w zależności od rodzaju podłoża (dane oznaczone tymi samymi małymi literami nie różnią się między sobą statystycznie przy $p = 0,05$)

Fig. 1. Comparison of mycelium growth of *Pleurotus ostreatus* PB6 in relation to substrate type (data denoted with the same small letters do not differ statistically at $p = 0.05$)

Podłoża z grupy B składały się z dwóch komponentów: słomy pszennej i wysuszonych wytlóków z jabłek, zmieszanych ze sobą w różnym stosunku. W tej grupie stwierdzono najniższy wzrost szczepu *P. ostreatus* PB6 (39,4 mm) na podłożu B1, składającym się w 80% z wytlóków jabłkowych i w 20% ze słomy pszennej (jednocześnie na tym podłożu badany szczep rósł najłagodniej w porównaniu z wszystkimi wariantami podłoża zastosowanymi w doświadczeniu). W miarę wzrostu udziału słomy pszennej w stosunku do wytlóków z jabłek grzybnia bocznika wykazywała szybszy wzrost. Najlepszym podłożem z grupy B okazało się podłoże oznaczone symbolem B4, w którego skład wchodziła słoma pszenna w ilości 70% i wytloki z jabłek w ilości 30%. Podłoże B4 zostało przerośnięte warstwą o grubości 81,8 mm przez szczep *P. ostreatus* PB6 po 14 dniach inkubacji.

Podłoża grupy C to również podłoża dwuskładnikowe o różnym udziale trocin dębowych i słomy pszennej. Szczep *P. ostreatus* PB6 wykazywał najszybszy wzrost na podłożu C4 (82,2 mm). Podłoże to składało się w 70% ze słomy pszennej i w 30% z trocin dębowych. Nieco słabszy wzrost grzybni zaobserwowano na podłożu C3, które składało się z takiej samej ilości słomy pszennej i trocin dębowych. Szczep *P. ostreatus* PB6 przerósł podłoże C3 na grubość 71,8 mm po 14 dniach inkubacji. Najniższy wzrost grzybni odnotowano na podłożu C2, złożonym w 70% z trocin dębowych i w 30% ze słomy pszennej. Podobne wyniki uzyskano na podłożu C1, składającym się w 80% z trocin dębowych i w 20% ze słomy pszennej. Po 14 dniach inkubacji szczep *P. ostreatus* PB6 przerósł podłoże C2 na grubość 54,4 mm, a podłoże C1 – na grubość 55,4 mm.

Grupa D to podłoża wieloskładnikowe o zróżnicowanym udziale słomy pszennej i rzepakowej, trocin dębowych, suszonych wytlóków buraczanych i wytlóków z jabłek

oraz osadków z kukurydzy. Najszybszy wzrost grzybni *P. ostreatus* PB6 w tej grupie (jak również wśród wszystkich zastosowanych wariantów podłoży) zaobserwowano na podłożu oznaczonym symbolem D5 (91,6 mm). Intensywny wzrost grzybni stwierdzono także na podłożu D6 (87,8 mm) oraz na podłożach D7 (86,6 mm) i D8 (85,6 mm). Podłoża, które okazały się najlepsze dla wzrostu grzybni szczepu *P. ostreatus* PB6: D5 i D6 to podłoża sześciokładnikowe zawierające wszystkie zastosowane w doświadczeniu materiały. Najmniej odpowiednie wśród podłoży grupy D okazało się podłoże D4, składające się w 70% ze słomy pszennej, w 20% – z suchych wytlóków jabłkowych, w 5% – z osadków z kukurydzy i w 5% – z trocin dębowych. Po 14 dniach inkubacji na tym podłożu grzybnia szczepu *P. ostreatus* PB6 przerosła na głębokość 71,2 mm.

W uprawie dąży się do uzyskania jak największej biomasy grzybni i owocników z jednostki masy użytego substratu. Najwięcej trudności w osiągnięciu tego celu sprawia zapewnienie optymalnych parametrów podłoża, wpływających na wzrost grzybni i jej aktywność enzymatyczną (CEBRAT 1987, KALBARCZYK i JAMROZ 1989). Badania własne wykazały różnice w szybkości wzrostu grzybni w zależności od rodzaju i składu podłoża. KALBARCZYK (1989) podaje, że szybkość wzrostu grzybni i ilość nagromadzonej biomasy są uwarunkowane aktywnością enzymów rozkładających substancje ligninocelulozowe, a rozwój grzybni zależy też od zasobności podłoża w składniki pokarmowe oraz od stopnia ich przyswajalności, co się przekłada na czas przerastania podłoża strzępkami grzybni.

W miarę zwiększania udziału trocin dębowych w stosunku do słomy pszennej w podłożach grupy C zaobserwowano, że szybkość wzrostu grzybni ulegała spowolnieniu. Zjawisko to potwierdzają BRODZIAK i WAŻNY (1980), wyjaśniając, że jest to spowodowane składem chemicznym trocin oraz ich właściwościami fizyczno-chemicznymi, które utrudniają strzępkom grzybni penetrację. Wolniejsze tempo wzrostu *P. ostreatus* PB6 na podłożu z większym udziałem trocin dębowych może być spowodowane większym w porównaniu z innymi komponentami stopniem krystalizacji celulozy. KALBARCZYK i JAMROZ (1989) stwierdzili, że większy stopień krystalizacji celulozy w podłożu powoduje wolniejsze tempo enzymatycznej hydrolizy materiałów ligninocelulozowych. BRODZIAK i WAŻNY (1980) donoszą, że koncentracja celulozy i ligniny w drewnie znacznie utrudnia penetrację podłoża przez strzępki grzybni. Jest ona trudniejsza niż w podłożu ze słomy. SARKER i IN. (2007) zaobserwowali, że tempo wzrostu grzybni bocznika w podłożu ze słomy pszennej jest blisko dwa razy szybsze niż w podłożu trocinowym. Autorzy ci sugerują, że może to być związane z obecnością właściwej proporcji celulozy, hemicelulozy i ligniny w słomie pszennej. ZERVAKIS i IN. (2001) w swojej pracy oceniali tempo wzrostu grzybni różnych gatunków *Basidiomycetes* na podłożach jednoskładnikowych. W tym przypadku gatunki *Pleurotus* spp. najszybciej kolonizowały podłoża trocinowe i podłoża składające się z kolb kukurydzianych, a wolniej rosły na podłożu ze słomy pszennej. Ci sami autorzy podkreślają jednak, że podłoże trocinowe dawało najlepsze wyniki wzrostu grzybni, natomiast jakość i ilość plonu owocników były na tym podłożu gorsze w porównaniu z podłożem ze słomy pszennej.

Szybkość wzrostu grzybni jest bardzo dobrym wskaźnikiem identyfikacji i wyboru komponentów podłoża o odpowiednim dla danego gatunku składzie odżywczym. Wskaźnik ten nie zawsze jest równoznaczny z uzyskaniem największego plonu owocników, jednakże duża szybkość przerostu podłoża grzybnią ma związek ze zmniejszonym

ryzykiem zasiedlenia go przez organizmy konkurujące (SIWULSKI i IN. 2010, STAMES 2000). W związku z tym konieczne jest przeprowadzenie badań mających na celu sprawdzenie wpływu zastosowanych w niniejszym doświadczeniu wariantów podłoży na jakość i wielkość plonu szczepu *Pleurotus ostreatus* PB6.

Wnioski

1. Na wszystkich zastosowanych rodzajach położy zaobserwowano wzrost grzybni bocznika ostrygowatego.

2. Najszybszy rozwój grzybni stwierdzono na podłożach wieloskładnikowych (D5 i D6) z przewagą słomy pszennej.

3. Spośród wszystkich zastosowanych wariantów podłoży najmniej odpowiednie dla wzrostu grzybni *P. ostreatus* PB6 okazało się podłoże, które składało się w 80% z wytlóków jabłkowych i w 20% ze słomy pszennej.

Literatura

- BONATTI M., KARNOPP P., SOARES H.M., FURLAN S.A., 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chem.* 88: 425-428.
- BRODZIAK Ł., WAŻNY J., 1980. Metody hodowli owocników twardziaka jadalnego (*L. edodes*). Hodowla na odpadach drewna i korze. *Sylwan* 124, 9: 9-16.
- CEBRAT S., 1987. Wykorzystanie organizmów celulolitycznych do utylizacji materiałów bogatych w celulozę. *Kosmos* 36, 2: 227-247.
- CARROLL G.C., WICKLOW D.T., 1992. The fungal community. Its organization and role in the ecosystem. Dekker, New York.
- ELISASHVILI V., PARLAR H., KACHLISHVILI E., CHICHUA D., BAKRADZE M., KOHREIDZE N., 2001. Lignolytic activity of basidiomycetes grown under submerged and solid-state fermentation on plant raw material (sawdust of grapevine cuttings). *Adv. Food Sci.* 23: 117-123.
- GALHAUP C., WAGNER H., HINTERSTOISSER B., HALTRICH D., 2002. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. *Enzyme Microb. Technol.* 30: 529-536.
- GHOSH N., CHAKRAVARTY D.K., 1990. Predictive analysis of the protein quality of *Pleurotus citrinopileatus*. *J. Food Sci. Technol.* 27: 236-238.
- HOFF J.A., KLOPFENSTEIN N.B., McDONALD G.I., TONN J.R., KIM M.S., ZAMBINO P.J., HESSBURG P.F., ROGERS J.D., PEEVER T.L., CARRIS L.M., 2004. Fungal endophytes in woody roots of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). *For. Pathol.* 34: 255-271.
- KALBARCZYK J., 1989. Wpływ kwasów huminowych dodawanych do pożywki agarowej na rozwój grzybni wybranych gatunków grzybów jadalnych. *Rozpr. Nauk. AR Lubl.* 115.
- KALBARCZYK J., JAMROZ J., 1989. Możliwości wykorzystania grzybów wyższych do produkcji białka z surowców odpadowych. *Przem. Spoż.* 6: 151-153.
- MIKIASHVILI N., WASSER S., NEVO E., CHICHUA D., ELISASHVILI V., 2004. Lignocellulolytic enzyme activities of medicinally important basidiomycetes from different ecological niches. *Int. J. Med. Mushrooms* 6: 63-71.
- ROYSE D.J., 1995. Specialty mushrooms. *Mushroom News* 43: 4-19.

Sławińska A., Kalbarczyk J., 2011. Wpływ składu podłoża na wzrost grzybni szczepu PB6 bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacquin ex Fr.) Kummer). *Nauka Przyr. Technol.* 5, 3, #16.

- SARKER N.C., HOSSAIN M.M., SULTANA N., MIAN I.H., SIRAJUL KARIM A.J.M., RUHUL AMIN S.M., 2007. Performance of different substrates on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* (Jacquin ex Fr.) Kummer. *Bangladesh J. Mushroom* 1, 2: 9-20.
- SIWULSKI M., SOBIERALSKI K., MAŃKOWSKI J., 2010. Comparison of mycelium growth of selected species of cultivated mushrooms on textile industry wastes. *Acta Sci. Pol. Hort. Cult.* 9, 3: 37-43.
- STAMES P., 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley.
- VIKINESWARAY S., ABDULLAH N., RENUVATHANI M., SEKARAN M., PANDEY A., JONES E.B.G., 2006. Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresour. Technol.* 97: 171-177.
- ZERVAKIS G., PHILIPPOUSSIS A., IOANNIDOU S., DIAMANTOPOULOU P., 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiol.* 46, 3: 231-234.

EFFECT OF SUBSTRATE COMPOSITION ON THE MYCELIUM GROWTH OF PB6 *PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQUIN EX FR.) KUMMER)

Summary. The research carried out aimed to determine the influence of various component substrates of lignocellulosic nature on the rate mycelium growth *Pleurotus ostreatus* PB6. Twenty one combinations of substrates were prepared for cultivation with different share of lignocellulosic components. These components were timber, agriculture and food industry wastes. For the best mycelium growth from among all substrates turned out to be the best multi-components substrates with majority of straw wheat. After 14 days of incubation the best growth was recorded in the case of D5 (91.6 mm) and D6 (87.6 mm) substrates. The worst mycelium growth was observed in B1 substrate (39.1 mm) which was made from apple pomace (80%) and straw wheat (20%).

Key words: *Pleurotus ostreatus*, lignocellulosic wastes, mycelium growth

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Aneta Sławińska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-750 Lublin, Poland, e-mail: aneta.slawinska@up.lublin.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

22.02.2011

Do cytowania – For citation:

Sławińska A., Kalbarczyk J., 2011. Wpływ składu podłoża na wzrost grzybni szczepu PB6 bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacquin ex Fr.) Kummer). *Nauka Przyr. Technol.* 5, 3, #16.