

WPLYW WYBRANYCH DODATKÓW DO PODŁOŻA NA JAKOŚĆ OWOCNIKÓW *Lentinula edodes* (Berg.) Sing.

Janusz Kalbarczyk

Akademia Rolnicza w Lublinie

Streszczenie. Rosnący w lesie liściastym *Lentinula edodes* (Berg.) Sing. jest drugim w świecie pod względem znaczenia ekonomicznego uprawianym gatunkiem. Powszechnie nazywany shii-take jest grzybem białej zgnilizny drewna, rośnie na obumarłym drewnie gatunków liściastych w Azji. Wykonane w trzech terminach doświadczenie miało określić wpływ wybranych dodatków do podłoża na plon i wielkość owocników tego gatunku. Przeprowadzone badania z wykorzystaniem następujących odmian *Lentinula edodes*: BRZ, M6, 567 wykazały, że dodatek do standardowego podłoża śruty: sojowej, lnia-nej i rzepakowej miały istotny wpływ na przerastanie grzybni w podłożu. Skrócenie czasu przerastania grzybni w podłożu miało wpływ na cechy zewnętrzne otrzymywanych owocników, jak i wielkość oraz kształt. Cechy biologiczne poszczególnych odmian miały również istotny wpływ na jakość i wysokość otrzymanego plonu.

Słowa kluczowe: *Lentinula edodes*, podłoża, plon, wielkość owocników

WSTĘP

Twardziak jadalny (*Lentinula edodes* (Berg.) Sing.) jest grzybem uprawianym od wielu stuleci w Japonii i Chinach. Jest najpopularniejszym gatunkiem grzybów uprawianym w krajach Dalekiego Wschodu [Flegm i Maw 1977, Chang i Milles 1991].

Lentinula edodes jest saprofitem żyjącym na drewnie martwych drzew buka i dębu, wykorzystującym celulozę, ligninę, hemicelulozę oraz cukry. Drewno drzew żywych nie jest wykorzystywane przez grzybnię *Lentinula edodes*. Zawazywanie owocników, ich rozwój są uzależnione od zawartości cukrów w podłożu. *Lentinula edodes* tworzy owocniki o średnicy kapelusza od 3–20 cm, najczęściej wynosi ono od 5–12 cm. Barwa kapelusza jest zmienna i uzależniona jest od wieku owocnika, a także od warunków świetlnych i waha się od jasnobrązowej do ciemnoczerwono brunatnej. Miąższ grzyba jest jędrny i delikatny. Posiada charakterystyczny grzybowy zapach [Brodziak 1980, Chang 1988, Chang i Milles 1991, Buswell 1994].

Adres do korespondencji – Corresponding author: Janusz Kalbarczyk, Katedra Przetwórstwa Owoców i Warzyw Akademii Rolniczej w Lublinie, ul. Doświadczalna 50a, 20-280 Lublin, e-mail: ekstrakt@faunus.ar.lublin.pl

Z popularnością tego gatunku wiąże się, zarówno jego walory kulinarne, jak i przydatność w medycynie z uwagi na substancje wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym stosowane do obniżania poziomu cholesterolu we krwi i wzmacniania naturalnej odporności organizmów ludzi i zwierząt [Flegm i Maw 1977, Sarwar i in. 1984, Chang i Milles 1991].

Owocniki *Lentinula edodes* charakteryzują się bardzo cennymi właściwościami odżywczymi i leczniczymi, a znajdujący się w owocnikach glukan, zwany lentinianem, okazał się substancją o wybitnym korzystnym działaniu na układ immunologiczny, gdyż wyraźnie wpływa na hamowanie rozwoju niektórych tkanek nowotworowych. Ponadto w owocnikach występuje związek purynowy – eritedenina, który wpływa na obniżenie zawartości cholesterolu i lipidów we krwi. Świeże owocniki *Lentinula edodes* wyróżniają się także znaczną zawartością witamin B₁, B₂, B₁₂, PP, D₂ oraz soli mineralnych [Tokia 1972, Suzuki i Oshima 1976, Lasota i Sylwestrzak 1982, Vetter 1995].

Przeprowadzone badania wykazały, że uprawa *Lentinula edodes* w warunkach klimatu środkowoeuropejskiego jest możliwa, wymaga to jednak stworzenia warunków uprawy zbliżonych do środowiska, w którym występuje on w stanie naturalnym. Obecnie prace badawcze są skierowane na opracowanie optymalnego składu podłoża, jak również wyselekcjonowania odmian hodowlanych *Lentinula edodes* tak, aby produkcja jego była bardziej opłacalna, a wartości odżywcze i lecznicze były wyższe od owocników zbieranych z siedlisk naturalnych [Sentore i in. 1988, Kalbarczyk i Jamroz 1989, Senatore 1990].

Intensywna uprawa realizowana jest na skalę przemysłową w pomieszczeniach w kontrolowanych warunkach. Materiałem wyjściowym do produkcji podłoży są trociny bukowe i dębowe, które są następnie wzbogacane przez uzupełnianie w odpowiednie dodatki. Otrzymaną mieszankę doprowadza się do 60–70% wilgotności, pH mieszaniny powinno wynosić 6,0. Tak przygotowany substrat przenosi się do toreb polipropylenowych, w ilości 900–3000 g świeżej masy, zamknięte korkami torebki należy wyjałowić. Torebki z substratem umieszczane są w autoklawie w temperaturze 121°C przez 2–3 godziny. Wysterylizowane torebki są schłodzone do temperatury pokojowej. Następnie szczepione czystą kulturą wybranego gatunku w ilości do 5% masy podłoża. Zaszczepione torebki z substratem przenoszone są do pomieszczenia inkubacyjnego, gdzie w temperaturze około 24°C i wilgotności 70% następuje rozrost grzybni [Mahler 1986, Brodziak 1980, Rayse i in. 1990].

Grzybnia w trakcie swojego wzrostu potrzebuje dużo tlenu, sama też wydziela CO₂, którego zbyt duże stężenie hamuje jej rozwój. Dlatego konieczne stało się zastosowanie filtrów biologicznych, które są wbudowane w zamknięcia torebek, dzięki nim następuje wymiana gazowa podczas przerastania podłoża przez grzybnię.

Po około 28–40 dniach inkubacji, w zależności od cech biologicznych odmiany, której substrat w torebkach przerasta całkowicie grzybnią *Lentinula edodes*. Temperatura pomieszczenia powinna wynosić 16–20°C, a wilgotność 85–95%. Zalecane jest doświetlanie pomieszczenia do tworzenia owocników przez 12 godzin na dobę, a intensywność jego powinna wynosić 100 luksów [Smith 1972, Royse i May 1987, Kalbarczyk i Jamroz 1989, Buswell 1994].

Obecnie prace badawcze prowadzone nad *Lentinula edodes* zmierzają w kierunku zwiększenia biologicznej efektywności owocowania i poprawy jakości otrzymanych

owocników. Ma to na celu wyeliminowanie odmian *Lentinula edodes*, które dają niskie plony, a ich jakość jest słaba [Smith 1972, Royse i May 1987].

Warunki uprawy nawet optymalnie dobrane, nie wystarczą jednak aby uzyskać wysokie plony, gdyż podłoża ze słomy i trocin są zbyt ubogie w łatwo przyswajalne składniki odżywcze potrzebne do rozwoju grzybni i owocowania *Lentinula edodes*, dlatego konieczna jest stosowanie dodatków do podłoży.

Dodatek serwatki, jako źródła cennych białek i mikroelementów do podłoża dla dwóch grzybów z rodziny *Basidiomycetes* (*Lentinula edodes* i *Pleurotus ostreatus*), podtrzymywały wzrost ich grzybni i indukował produkcję enzymów egzogennych. Dodatek oleju roślinnego ma wpływ na wzrost grzybni i wysokość plonu. Inhibicja lub stymulowanie wzrostu grzybni oraz jakość plonu zależne są od stopnia nasycenia podłoża w kwasy tłuszczowe. Udowodniono, że dodatek cukrów do podłoża w ilości 0,6 do 1,2% ss. powodował wzrost wydajności owocników od 11 do 20%, a czasem więcej. Wśród trzech dodawanych cukrów (sacharozy, glukozy, fruktozy) *Lentinula edodes* najłatwiej wykorzystywał glukozę [Smith 1972, Sarwar i in. 1984, Mahler 1986, Kalbarczyk i Jamroz 1989, Rayse i in. 1990, Senatore 1990].

Stwierdzono, że dodatek kory do podłoża z trocin wpływał na plonowanie *Lentinula edodes*. Najwyższe plony uzyskano na podłożu, w którym udział kory w stosunku do masy trocin wynosił 20 i 30% objętości. Rohrbam [1986] i Schunemann [1988] podali, że skład podłoża, w tym także udział kory drzew liściastych, głównie buka i dębu miał wpływ na wysokość plonu *Lentinula edodes*.

W badaniach nad znalezieniem optymalnych źródeł azotu dla *Lentinula edodes* stwierdzono, że jedynie związki azotu zawarte w substancjach organicznych, tj. ekstrakt mięsny, ekstrakt drożdżowy, pepton i mączka kukurydziana spowodowały zwiększenie przyrostu grzybni. Natomiast obecność w podłożu związków zawierających amonowe bądź azotanowe formy nie stymuluje wzrostu grzybni, a często proces ten hamuje [Bahler 1986, Rayse i in. 1990, Buswell 1994].

Celem doświadczenia była ocena wpływu zróżnicowanego składu podłoża na wielkość świeżej masy owocników i ich cechy zewnętrzne.

MATERIAŁY I METODY

Doświadczenie założono w laboratorium mikologicznym Katedry Przetwórstwa Owoców i Warzyw, Akademii Rolniczej w Lublinie. Doświadczenie rozpoczęto 23.08.2000, a ostatnie owocniki zebrano 28.04.2004. Do badań użyto odmian handlowych gatunku *Lentinula edodes* pochodzących z kolekcji własnej, czystych kultur grzybów jadalnych oznaczonych symbolami: BRZ, M6, 567. Odmiana BRZ znajduje się w uprawie na skalę handlową w Europie i była uznana w tych badaniach za odmianę kontrolną. Doświadczenie było fragmentem dużego eksperymentu z udziałem kilku różnych jednostek badawczych, m.in. Akademii Medycznej i Instytutu Chemii Organicznej w Warszawie.

Przydatność do uprawy pod względem jakości i wielkości plonu pozostałych odmian oceniono w zależności od składu substratu użytego do uprawy. Jakość uzyskanych

owocników na podstawie masy pojedynczego owocnika znajdującego się w fazie dojrzałości zbiorczej i szybkości dorastania owocników do dojrzałości zbiorczej.

Podłożem kontrolnym w uprawie była mieszanina trocin bukowych i dębowych użytych w ilości 60%, trocin bukowych i dębowych w ilości 20% oraz i otrąb pszennych także w ilości 20%. Zawartość składników substratu ustalano objętościowo. Jako dodatki do standardowego podłoża w ilości 10% objętościowo, suchego podłoża stosowano śruty: lnianą, rzepakową i sojową oraz dodatkowo zmieloną korę dębową. Poszczególne składniki mieszano i nawilżano do zawartości 70% pełnej pojemności wodnej podłoża i umieszczano w pojemniku polipropylenowym w ilości 2 kg. Skład mieszanin użytych w doświadczeniu był następujący: 60% trociny bukowe, 20% trociny dębowe, 20% otręby pszenne (standard – A). Kolejne kombinacje doświadczenia zawierały dodatek po 10% różnych objętościowo: śruty lnianej (B), mączki sojowej (C), śruty rzepakowej (D) i kory dębowej (E). Doświadczenie wykonano w 7 powtórzeniach i trzech terminach.

Opisywane doświadczenie jest fragmentem szeroko ujętych badań nad nowym gatunkiem grzybów jadalnych, mających na celu optymalizację warunków uprawy w celu standaryzacji składu chemicznego owocników nowych gatunków grzybów jadalnych, przeznaczonych dla przemysłu farmaceutycznego.

WYNIKI I DYSKUSJA

Najtrudniejszym problemem w uprawie w pomieszczeniu nowych gatunków grzybów jadalnych jest ich bardzo silna reakcja na sposób uprawy, głównie w odniesieniu do składu substratu, w którym rozwija się grzybnia. Nowe gatunki użyte w tych doświadczeniach zostały przeniesione do Europy z innego regionu geograficznego. Cechy odmianowe miały bardzo duży wpływ na rozwój i plonowanie *Lentinula edodes*. Z odmiany BRZ, która znajduje się w Europie w uprawie towarowej, średni plon owocników wyniósł 738 g z jednego pojemnika, w którym znajdowało się podłoże uznane za kontrolne, najniższy plon uzyskano z odmiany oznaczonej numerem 567, rosnącej na podłożu z dodatkiem kory dębowej w ilości około 369 g z jednego pojemnika. Najwyższa uzyskana świeżą masę owocników notowano z uprawy na podłożu z dodatkiem śruty rzepakowej u odmiany BRZ i wyniósł 1977 g z pojemnika. Średni najwyższy plon z trzech terminów uprawy dla badanych podłoży uzyskano z odmiany 567 (tab. 1). Dwa substraty kontrolny i z dodatkiem śruty sojowej w takich samych warunków temperatury, wilgotności i dla trzech terminów uprawy pozwalał uzyskać podobny wynik. Również dwa podłoża w skład, którego wchodziła śruta lniana i rzepakowa (B i D) dały wyższy o około 35% i podobny pod względem wielkości plonu wynik. Substrat z dodatkiem kory dawał plony znacznie gorsze od kontroli i pozostałych kombinacji doświadczenia (tab. 1). Podobne wyniki uzyskiwano w innych badaniach.

Ważnym elementem jakości grzybów jako surowca jest wielkość owocnika. Ma to wpływ na praktyczną stronę uprawy nowych gatunków, szybkość zbioru, czas dorastania do dojrzałości zbiorczej, czas zajmowania hali uprawnej, możliwość jednolitego pakowania do małych pojemników jednostkowych. Zarówno z tych badań, jak i wielu innych prac [Smith 1972, Brodziak 1980, Bahler 1986, Rayse i in. 1990] widać, że obok

Tabela 1. Wpływ rodzaju podłoża na plon *Lentinula edodes*, g
 Table 1. Influence of kind of substrate on harvest *Lentinula edodes*, g

Podłoża Substrate	Odmiana – Variety			Plon Harvest	Średnia Mean	% kontroli % of control
	M6	BRZ	567			
A-k	770,2	737,9	1560,4	3068,5	1022,8	100,0
B	499,9	1770,0	1857,5	4127,4	1375	134,5
C	991,5	806,4	1293,2	3091,1	1030,3	100,7
D	448,0	1976,6	1744,6	4169,0	1389,6	135,8
E	420,6	385,5	368,5	1174,6	391,5	38,2
Plon Harvest	3130,1	5676,2	6824,3	15630,6	-	-
Średnia Mean	626,1	1135,2	1364,9	-	1042,0	-

A-k – kontrola (opis składu mieszanek stanowiących podłoża w rozdziale materiały i metody);
 control (description of composition of substrates in chapter materials and methods)

B – standard + śruta lniana; control + ground linan

C – standard + śruta rzepakowa; control + ground rape

D – standard + śruta sojowa; control + ground soybean

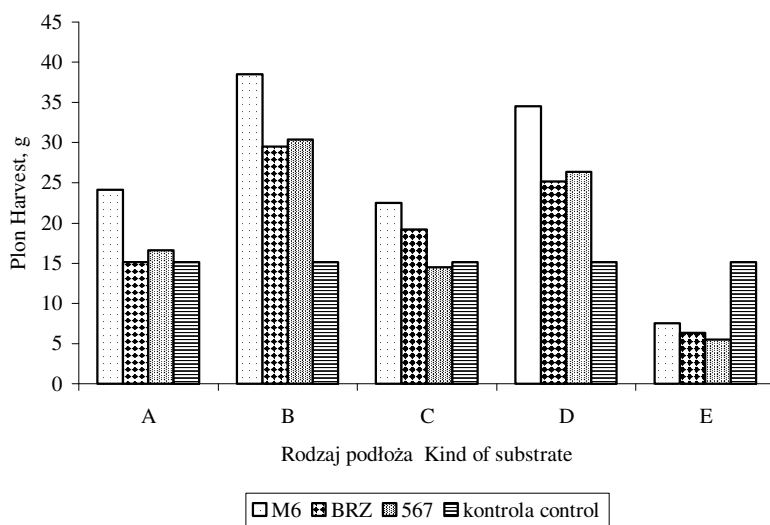
E – standard + kora dębowa; control + ground oak bark

Tabela 2. Wpływ rodzaju podłoża na wielkość owocników odmian *Lentinula edodes*
 Table 2. Effect of selcted substrate on muschroom field and basidiome size of *Lentinula edodes*

Odmiana Variety	Podłoże Substrate	Masa owocników		Liczba owocni- ków Numbers of muschrooms	Średnia masa owocnika	
		Fresh weight muschrooms g	% kontroli % of control		Means fresh weight muschrooms	% kontroli % of control
M6	A-k	770,2	100,0	32	24,06	100,0
	B	499,9	64,9	13	38,45	159,8
	C	991,5	128,7	44	22,53	93,6
	D	448,0	58,16	13	34,46	143,2
	E	420,6	54,6	56	7,50	31,17
Średnio Mean		626,04	-	31,6	25,4	-
BRZ	A-k	737,94	100,0	49	15,06	100,0
	B	1770,0	239,85	60	29,50	195,88
	C	806,40	109,27	42	19,20	127,49
	D	1976,58	267,85	79	25,20	167,33
	E	385,52	52,24	61	6,32	41,96
Średnio Mean		1135,28	-	58,2	19,06	-
567	A-k	1560,40	100,0	94	16,60	100,0
	B	1857,45	119,03	61	30,45	183,40
	C	1293,17	82,87	89	14,53	87,53
	D	1744,40	111,66	66	26,40	159,03
	E	368,65	23,62	73	5,50	33,13
Średnio Mean		1364,8	-	76,6	18,7	-

Objaśnienie: patrz tabela 1; Notice: see table 1

cech odmianowych i gatunkowych, podłoże ma bardzo silny wpływ na wielkość owocników (tab. 2, rys. 1). Wszystkie trzy odmiany porównywane w uprawie na pięciu podłożach reagowały silnie na rodzaj substratu, na którym były uprawiane. Otrzymywano istotne różnice w świeżej masie i ilości tworzonych owocników (tab. 2). Uzyskane wyniki potwierdzają tendencję do tworzenia podobnej wielkości owocników rosnących



Rys. 1. Średnia świeża masa owocników grzybów otrzymana z trzech terminów uprawy *Lentinula edodes*

Fig. 1. Average fresh mass of mushrooms *Lentinula edodes* from three of dates cultivation

Tabela 3. Charakterystyka odmian *Lentinula edodes* ze względu na plonowanie

Table 3. Characteristic of varieties *Lentinula edodes* from the point of view harvest

Odmiana Variety	Podłoże Substrate	Inkubacja dni Day inoculation period	Plonowanie dni Day production period	
			I rzut crop	I rzut crop
567	A-k	28	21	7
	B	29	10	6
	C	22	18	7
	D	26	22	8
	E	35	20	6
Średnia Mean		28,0	18,2	6,8
BRZ	A-k	38	5	16
	B	30	6	14
	C	28	7	12
	D	32	7	6
	E	44	7	4
Średnia Mean		34,4	6,4	10,4
M6	A-k	43	-	12
	B	41	-	10
	C	36	-	8
	D	44	-	6
	E	52	-	6
Średnia Mean		43,2	-	8,4

Charakterystyka podłoży jak w tabeli 1; Description of substrates in table 1

na podłożach o zbliżonym składzie mieszaniny tworzącej substrat zawierający obok trocin otręby i śrutę rzepakową (A i C) oraz na podłożu z dodatkiem śruty lnianej i sojowej (B i D). Różnice między odmianami i rodzajami podłoża są jednak tak duże, że nie można uznać uzyskane wyniki za ustaloną prawidłowość i przekazać je natychmiast do praktyki produkcyjnej.

Do najbardziej stabilnych czynników w uprawie ocenianych odmian bez względu na rodzaj substratu okazało się dorastanie do okresu przejścia w stan generatywny ocenianych odmian (tab. 3) różnice pomiędzy odmianami są duże, powyżej 5%. Ważny jest także rozkład plonowania w czasie. Odmiana BRZ, zgodnie z metodyką przyjętą w tych badaniach uznana za wzorzec plonowania równomiernie w I i II rzucie. Odmiana 567 wytworzyła większość owocników na początku plonowania czyli w I rzucie, a odmiana M6 wydaje większość owocników w późniejszym terminie, w II rzucie.

WNIOSKI

W wyniku przeprowadzonych badań dotyczących wpływu różnego rodzaju podłoży stosowanych do uprawy gatunku *Lentinula edodes* opracowano następujące wnioski:

1. Skład mieszaniny tworzącej substrat przeznaczony do uprawy *Lentinula edodes* miał największy wpływ na wielkość plonu i wygląd owocników.
2. Cechą odmianową najmniej ulegającą zmianom pod wpływem czynników zewnętrznych jest czas dorastania grzybni do tworzenia owocników.
3. Najwyższy plon owocników uzyskano na podłożu z dodatkiem śruty rzepakowej (1976,58 g) i lnianej (1857,45 g).
4. Najniższy plon otrzymany z podłoża z dodatkiem zmielonej kory dębowej (368,65 g).
5. Konieczne są dalsze badania dotyczące wpływu różnych dodatków do podłoża na skład chemiczny owocników nowych gatunków grzybów jadalnych.

PIŚMIENNICTWO

- Bahler C. C., 1986. Effects of genotype, spawn run time, and substrate formulation on biological efficiency of Shiitake. *Appl. Environ. Microbiol.* 52(6), 1425–1427.
- Brodziak Ł., 1980. Wybrane aspekty biologii *Lentinus edodes* w warunkach polskich. *Acta Mycol.* 16, 43–53.
- Buswell J., 1994. Biomass and extracellular hydrolytic enzyme production by six mushroom species grown on soybean waste. *Biotechnol. Lett.* 12, 1317–1322.
- Chang S. C., 1988. Medical effects of edible mushrooms the biology cultivation of edible mushrooms. Academic Press, New York.
- Chang S. T., Milles P. G., 1991. Recent trends in World production of cultivated edible mushrooms. *Mushroom J.* 504, 15–18.
- Flegg P. B. and Maw G., 1977. Mushrooms and their possible contribution to world protein needs. *Mushroom J.* 48, 395–403.
- Kalbarczyk J., Jamroz J., 1989. Możliwości wykorzystania grzybów wyższych do produkcji białka z surowców odpadowych. *Przem. Spoż.* 6, 151–153.
- Lasota W., Sylwestrzak J., 1982. Skład chemiczny grzybów uprawowych. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 15, 1–2, 1–10.

- Royse D. J., Bahler B. D., Bahler B. C., 1990. Enhanced Yield of Shiitake by saccharide Amendment of the synthetic substrate. *Microbiology* 56(2), 479–482.
- Royse D. J., May B., 1987. Identyfycatyon of Shiitake genotypes by multilocus enzyme electrophoresis, catalog of lines. *Biochem. Genet.* 25, 705–716.
- Rohrbach M. C., 1986. Biotechnologische Untersuchungen uber Shii-take zur Fruchkopere-neugung Dissertation aus der Versuchsanstelt fur Pilzanban der Landwirtschaftska Rheinland in Krefeld-Groshuttenhof. 20, 293–302.
- Sarwar G., Blair R., Friedman M., Gumbman M. R., Hackler L. R., Pellet P. L., Smith T. K., 1984. Inter and intra laboratory variability in rat growth assays for estimating protein quality of foods. *J. Assoc. Off Anal Chem.* 67, 976–981.
- Schummemann G., 1998. Biotechnologische Untetsuchungen uger Molichkeiten des lutensivanbanes vo sii-take Disseration aus der Versuchsansatalt fur Pilzanban der Landwirtschaftskammer Rheinland in Krefeld-Groshuktenhof. 16, 456–508.
- Senatore F., 1990. Fatty acid and free amino acid content of some mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* 51, 91–93.
- Senatore F., Dini A., Marino A., 1988. Chemical constituents of some Basidiomycetes. *J. Sci. Food Agric.* 45, 337–345.
- Smith J., 1972. Commercial mushroom production. *Process Biochemistry* 7, 24–26.
- Suzuki S., Oshima S., 1976. Influence of Shii-te-ke (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *MushroomSci.* 1, 463–467.
- Tokita F., 1972. Isolation and chemical structure of the planne cholesterol reducing substance from Shii-take mushrooms. *MushroomSci.* 7, 783–788.
- Vetter J., 1995. Mineral and amino acid contents of edible cultivated shii-take mushrooms (*Lentinus edodes*). *Lebensmittel Unter Forsch (Germany)*, 201, 17–19.

EFFECT OF SOME SUPPLEMENTS ADDED TO CULTIVATION MEDIUM ON FRUIT BODIES QUALITY OF *Lentinula edodes*

Abstract. The forest muschroom *Lentinula edodes* (Berg.) Sing. is the second most important cultivated muschroom worldwide. *Lentinus edodes* commonly known as the shii-take muschroom, is a white rot wood decay fungus that naturally inhabitas the dead wood of many hardwood tree species in Asia. The researches carried out on the following *Lentinus edodes* varieties: BRZ, M6, 567 have shown that the addition of ground: soybean, flax or rape to a standard basis had a considerable influence on the outgrowing of mycelium in the basis. Shortening of the mycelium's outgrowth time had an influence on the external features of obtained fruiting bodies, as well as on their size and shape. Biological features of each variety also had a considerable influence on the quality and height of the obtained yield. Three experiments were performed to determine the effect of selected substrated on muschroom yield and basidiome size of shii-take when grown on a syntehtetic substrate.

Key words: *Lentinus edodes*, substrate, yield, size of basidiome

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 27.10.2004