

УДК 582.284:581.14.142

Е. Н. Алексеенко, Т. М. Полишко, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара

ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ *PLEAROTUS OSTREATUS*

Приведены сравнительные данные различных вариантов получения посевного материала вешенки обыкновенной: классического, тканевого, с использованием «зернового», активного и ферментативного мицелия. Показаны преимущества и недостатки каждого из методов, что дает возможность подбора оптимального варианта для уже сложившихся условий выращивания. Способы получения мицелия на зерновом субстрате, а также с использованием активного материала требуют значительных затрат на оборудование, абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь. Улучшенные технологические возможности получения мицелия новым ферментативным способом способствуют рационализации и повышению рентабельности, что обуславливает удешевление продукта.

О. М. Алексеенко, Т. М. Полішко, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ МІЦЕЛІЮ ГРИБІВ *PLEAROTUS OSTREATUS*

Наведено порівняльні дані різних варіантів отримання посівного матеріалу гриби звичайної: класичного, тканинного, із використанням «зернового», активного та ферментативного міцелію. Показано переваги та недоліки кожного з методів, що дає змогу підібрати оптимальний варіант для вже сформованих умов вирощування. Способи отримання міцелію на зерновому субстраті, а також із використанням активного матеріалу вимагають значних витрат на обладнання, абсолютно стерильних умов роботи, чого дуже важко досягти. Поліпшені технологічні можливості отримання міцелію новим ферментативним способом сприяють раціоналізації та зростанню рентабельності, що зумовлює зниження вартості продукту.

O. M. Alekseenko, T. M. Polishko, A. I. Vinnikov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

PECULIARITIES OF MYCELIUM CULTIVATION OF MUSHROOMS *PLEAROTUS OSTREATUS*

The direct comparative facts of different options of inoculum production of *Pleurotus ostreatus*: classical, tissue, with the use of «grain», active and fermentative mycelium are presented. The advantages and shortcomings of each method have been shown, that gives the possibility of choosing the most optimum variant for already formed grow conditions. The methods of mycelium production on the grain substrate and also with the use of the active material demand considerable expenditure for the equipment and absolutely sterile conditions that is very difficult to achieve. The improved technological possibilities of mycelium production by a new fermentation way promotes rationalisation and profitability, that cause reduction of product price.

Введение

С каждым годом количество дикорастущих грибов уменьшается, особенно вблизи больших городов. Употреблять эти грибы в пищу становится опасно в связи с накоплением в них вредных для человека веществ [13; 22]. Поэтому в последнее время возник интерес к грибоводству. Культивируемые съедобные грибы, выращенные на чистых субстратах, не содержащие вредных веществ, могут использоваться в пищу без риска получить нежелательные компоненты [12; 19].

Искусственное разведение древоразрушающих грибов для пищевых целей используется с давних времен. Среди объектов промышленного культивирования широкое распространение получила культура вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) или устричного гриба [17]. Вешенка – широко используемый во всем мире гриб. Культивируется, проявляет устойчивость к комплексу вредителей и болезней. Вешенка – высокоурожайный гриб с отличными вкусовыми качествами. Для его выращивания не требуется больших площадей, материальные затраты минимальны при высокой рентабельности круглый год [28].

Грибы распространены повсеместно, они развиваются на естественных субстратах растительного и животного происхождения, а также на искусственных материалах, созданных человеком [5]. Сейчас возникла необходимость введения в культуру грибов как наиболее ценных белоксодержащих организмов [9]. При соблюдении современных технологий их производства выход сухого белка составляет 63,5 кг/га в год.

Искусственное выращивание грибов ведется давно, однако значительное увеличение их производства произошло в последние два десятилетия. Этому способствовали следующие факторы: появление высокопродуктивных штаммов грибов, повышение потребительского спроса, разработка новых интенсивных технологий производства, научное изучение питательных и целебных свойств данного продукта, а также обострение проблемы загрязнения окружающей среды [1; 8].

Цель настоящей работы – проанализировать данные литературы, описывающей биологические свойства и питательную ценность *P. ostreatus*, различные методы выращивания грибного мицелия.

Общая характеристика *P. ostreatus*

Плеврот черепичатый (вешенка обыкновенная, *Pleurotus ostreatus*) имеет шляпку 5–20 см в диаметре, мясистую, ухо-, ракушко- или лейкообразную, выпукло-распростертую, часто в центре вогнутую до лейкоподобной, эксцентричную, с тонким, позднее опущенным гладким краем, серо-коричневая, серо-желтая, темно-пепельно-серая, синевато-черноватая, беловатая, голая, влажная, с возрастом сухая [18]. Пластинки низко опускаются по ножке, с анастомозами, узкие, редкие, с ровным краем, белые, беловато-серые. Ножка 2–4×1,3 см, плотная, эксцентричная, изредка центральная или отсутствующая, в верхней части гладкая, внизу волосисто-щетинистая, белая, со временем коричневатая [11]. Мякоть белая, при разрезании на воздухе не изменяется, с приятным запахом и вкусом. Споровая масса белая. Споры 8–12×3–4 мкм, цилиндрические, удлинненно-яйцеобразные, гладкие, бесцветные. Растет в мае–январе в листовых, изредка хвойных лесах на пеньках и стволах деревьев большими группами. Хороший съедобный гриб лишь в молодом возрасте [15].

Характеристика методов производства мицелия

Большое значение для выращивания вешенки обыкновенной имеет производство мицелия. Урожай грибов зависит прежде всего от качества посадочного материала.

Поэтому заготовке и выращиванию доброкачественного мицелия придается большое значение [2]. Основные требования к мицелию (как и к посадочному материалу) следующие: высокая жизнеспособность, хорошие наследственные свойства – высокая урожайность и хорошие качества плодовых тел, устойчивость к заболеваниям, мицелий не должен быть заражен различными болезнями и поражен вредителями [14].

Классический способ получения мицелия начинается с прорастания спор грибной культуры или образования мицелия из стерильных «кусочков ткани» плодовых тел [16]. Для получения спор примерно через месяц после начала плодоношения собирают плодовые тела лучших сортов вешенки обыкновенной. Отобранные плодовые тела очищают кисточкой, а затем быстро обтирают ватой, смоченной 70 % раствором спирта. Конец ножки обрезают, плодовое тело укрепляют на подставках или держателях и помещают на дно стерильной чашки Петри, покрывая плодовое тело стерильным стеклянным колпаком. Можно обойтись и без стеклянного колпака, используя только чашки Петри [10]. Для этого ножку надо срезать почти до шляпки, шляпку положить на дно чашки и слегка накрыть крышечкой, предварительно обложив края чашки стерильной ватой, чтобы при прохождении воздуха через большие щели задерживалась пыль. В лаборатории при температуре сухого воздуха около +20 °С споры высыпаются на второй–третий день. В закрытых чашках Петри их можно хранить несколько месяцев [17]. Посев спор и последующее размножение мицелия производится на такие питательные среды как биосолод, дрожжевая мука, вытяжки из пшеничных зерен, картофелно-декстрозный агар, 2 и 8 % суслоагар, агар Лэмберта [3]. Среды разливают в стерильные чашки Петри или пробирки, которые закрывают стерильным ватным тампоном и автоклавируют. На остывшую питательную среду переносят споры из чашек Петри платиновой петлей. Пробирки или чашки Петри с посеянными спорами помещают в термостат с температурой +25...+27 °С.

Тканевой способ получения мицелия. Вегетативное размножение или так называемый тканевой способ выращивания мицелия в чистой культуре основан на способности гиф отдельной части мицелия разрастаться в благоприятных условиях среды. Способностью регенерировать обладают не только гифы мицелия, но и уплотненные гифы, образующие «ткани» плодовых тел. Вырезанные кусочки ложной ткани плодовых тел помещают на такие же агаризованные питательные среды, как и споры [20]. Прорастание спор или кусочков «ткани» визуально заметно на 8–10-й день инкубации в виде образования белого паутинистого мицелия. После появления мицелия температуру постепенно снижают до +20...+22 °С. Через 20–25 дней после посева на питательной среде мицелий хорошо разрастается [25]. На этом завершается первая стадия производства мицелия. Описанный выше процесс получения стерильного мицелия в пробирках обеспечивает грибоводческие хозяйства материалом для инокуляции больших емкостей, в которых на различных субстратах выращивают мицелий, непосредственно используемый для посадки в ящики или мешки с субстратом.

Получение «зернового» мицелия. Производство мицелия вешенки обыкновенной начинается с подготовки субстрата. Традиционной питательной средой для выращивания мицелия является зерно различных хлебных злаков [23]. Способ получения «зернового» мицелия заключается в следующем: к 10 кг зерна пшеницы или овса, ржи, проса добавляют 15 л воды; смесь варят в течение 15–20 минут на слабом огне. Воду после варки сливают через решето, зерно высушивают «поверхностно», затем добавляют 120 г гипса и 30 г мела. Эти добавки регулируют значение *pH* среды, выполняя роль буфера. Кроме того гипс предотвращает склеивание зерна, способствуя лучшей аэрации субстрата. Зерно засыпают в сосуды (банки, колбы). Субстрат должен зани-

мать не более 2/3 сосуда. Сосуды закрывают ватными пробками и автоклавируют. Стерилизацию субстрата проводят при температуре +121 °С и давлении 1 атм. в течение 1,5 ч. После автоклавирования значение *pH* среды должно быть 6,5–6,7. Субстрат охлаждают до температуры засева (ниже +30 °С). Засев производят «стерильным» основным мицелием, выращенным в пробирках на агаризованной среде [30]. Перед пересадкой пробирки слегка нагревают над пламенем газовой горелки. При подогревании среда отстает от стекла и соскальзывает к повернутому вниз отверстию пробирки в сосуд с субстратом. После посева мицелий, прорастая, пронизывает питательный субстрат в инкубационной камере при соответствующей контролируемой температуре и влажности. Оптимальной для роста мицелия является температура +22...+25 °С, повышение температуры до +35 °С уничтожает мицелий. Относительная влажность воздуха должна составлять 60 %.

Через 7–10 дней после посева мицелия на зерновой субстрат содержимое сосудов необходимо встряхивать. Это предотвращает склеивание зерна и ускоряет рост мицелия. Через 3–4 дня после посева или же после встряхивания может появиться инфекция, которая попадает при нарушении стерильности во время посева или при встряхивании (может произойти всасывание воздуха с болезнетворными микроорганизмами). Поэтому питательный субстрат следует систематически проверять на наличие инфекции. Через 3–4 недели после посева мицелий готов к употреблению.

До высева полностью проросший мицелий хранят в холодильнике или в холодильной камере при температуре +2 °С [27]. Метод получения мицелия на зерновом субстрате требует значительных затрат на оборудование и на квалифицированный персонал. Не всегда качество мицелия отвечает предъявляемым требованиям, то есть он не всегда стерильен, в некоторых случаях поражен плесневыми грибами.

Получение активного мицелия. В некоторых странах проводятся опыты по улучшению способов промышленных методов получения мицелия. На основании полученных данных создан способ с использованием активного мицелия. Он нашел применение при производстве грибницы различных видов рода *Pleurotus* [24]. Применение способа активного мицелия особенно рентабельно для небольших предприятий, которым приходится платить высокие цены за мицелий. Для производства активного мицелия используется субстрат Тилля [6]. Рекомендуется использовать в качестве субстрата солому пшеницы, смесь мелкой соломенной сечки и соломенного шрота в соотношении 1 : 1. Перед посадкой на эти субстраты мицелий измельчается с помощью обычной мельницы – дробилки. Для сокращения сроков проращивания мицелия часть пророщенного субстрата рекомендуется использовать как «грибницу» для последующей культуры [31]. Этот способ применен на специализированных предприятиях, где культивирование ведется в полиэтиленовых мешках, наполненных субстратом. После окончания фазы проращивания около 10 % содержимого с высококачественным мицелием вынимают и помещают в мешки для следующей культуры. Потом содержимое этих мешков смешивается с новым субстратом. Таким образом достигается соотношение мицелия и субстрата 1 : 9, что позволяет сократить сроки проращивания мицелия на 30 % [33]. Благодаря этому способу удается делать до пяти культурооборотов, используя часть пророщенного субстрата для последующей культуры, без снижения урожайности и поражения субстрата болезнями и вредителями. Описанный метод получения активного мицелия имеет такие преимущества:

– снижаются производственные расходы при замене относительно дорогого «зернового» мицелия активным мицелием; расход мицелия на одном производстве

уменьшается в 10 раз; кроме того, активный мицелий можно получить из активного мицелия, что также уменьшает затраты;

- сокращается первая стадия выращивания грибов за счет быстрого пронизывания субстрата активным мицелием;

- урожай созревает на неделю раньше, чем при использовании мицелия на зерновой основе; в качественном отношении он остается неизменным.

Активный мицелий можно хранить в закрытых мешках, как мицелий на зерне. Способ, разработанный О. Тиллем, способствовал значительному повышению урожайности. Согласно этому способу, субстрат приготавливают стерильно, посев и прорастание мицелия происходит в абсолютно стерильных условиях. Урожай грибов составляет более 40 % веса субстрата [4; 7]. Но для практики этот способ оказался очень дорогостоящим, так как он требует абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь.

Ферментативный способ выращивания мицелия. Существует также ферментативный способ выращивания грибов. Субстрат Тилля при этом нагревают до +100 °С (частичная стерилизация), после чего высеваются особые термофильные микроорганизмы и благодаря дальнейшему контролируемому процессу ферментации в субстрате создается антибиотическое действие на микроорганизмы, конкурирующие с культивируемыми грибами [21]. В дальнейшем такой ферментативный субстрат можно обрабатывать в открытых нестерильных резервуарах. В ферментативном субстрате рост мицелия гриба ускоряется. Урожай составляет 25–30 % веса субстрата. Время созревания урожая меньше, чем при других способах. Ферментативный способ положен в основу нового метода получения мицелия [26]. При исследовании влияния ферментации на субстрат для мицелия было установлено следующее:

- после стерилизации последующая анаэробная ферментация с термофильными микроорганизмами исключает конкурирующую флору грибов в субстрате для мицелия, что дает возможность получать в больших количествах ферментированный мицелий;

- на автоклавированном субстрате наряду с мицелием культивируемого гриба могут расти споры и мицелий конкурирующих грибов, то есть до применения автоклавированного мицелия необходимо исследовать, не содержит ли он конкурирующих примесей;

- при посеве мицелия на автоклавированный и ферментативный субстрат он растет в обоих случаях, причем для увеличения скорости роста мицелия на ферментативном субстрате необходима интенсивная аэрация; быстрый рост мицелия способствует прекращению размножения грибов.

На основании этих опытов создан новый способ получения мицелия на зерновом, в некоторых случаях – и на других субстратах. Зерно хлебных злаков или другие субстраты после добавления гипса, извести и воды автоклавируют, нагревают или нагревают и варят при температуре +100 °С. Затем к субстрату добавляют измельченную солому или сено как естественные носители микроорганизмов, которые уничтожаются в процессе ферментации. После посева проводят полуанаэробную ферментацию в закрытых резервуарах при температуре +55...+60 °С в течение нескольких дней. Затем ферментативный субстрат охлаждают до температуры ниже +30 °С и засевают мицелием культуры гриба, который можно приготовить стерильным – классическим способом и «чистым» – по новому ферментативному способу [32]. Для дальнейшего роста мицелия необходима незначительная аэрация. Следует производить встряхивание субстрата для ускорения роста и разрыхления структуры. Быстрое прорастание мицелия на ферментативном субстрате позволяет повторять аналогичный процесс размножения

в течение небольшого периода времени и благодаря этому быстрее получать большее количество мицелия, чем известным классическим способом.

Улучшенные технологические возможности получения мицелия новым ферментативным способом способствуют рационализации и рентабельности, что обуславливает удешевление мицелия [34].

Выводы

Оптимальным является ферментативный способ, он и положен в основу нового метода получения мицелия. По сравнению с другими способами в этом случае время созревания урожая меньше. Интенсивное прорастание мицелия на ферментативном субстрате позволяет повторять аналогичный процесс размножения в течение небольшого периода времени и благодаря этому быстрее получать большее количество мицелия, чем известным классическим способом.

При выращивании посадочного материала метод получения активного мицелия имеет ряд преимуществ: снижаются производственные расходы при замене относительно дорогого «зернового» мицелия активным мицелием; расход мицелия на одном производстве уменьшается в 10 раз; кроме того, активный мицелий можно получить из активного мицелия, что также уменьшает затраты. Но для практики этот способ оказался очень дорогостоящим, так как он требует абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь.

Библиографические ссылки

1. **Бисько Н. А.** Атлас возбудителей болезней и вредителей съедобных грибов при культивировании / Н. А. Бисько, В. Т. Билай. – Чернигов : Центр поддержки грибоводства, 2005. – 27 с.
2. **Бисько Н. А.** Выращивание съедобных грибов (рекомендации по выращиванию шампиньонов, вешенки) / Н. А. Бисько, В. Т. Билай, Н. Ю. Митропольская. – К. : Знание, 2000. – 42 с.
3. **Бисько Н. А.** Лекарственные грибы – для здоровья и красоты / Н. Ю. Митропольская, Э. Ф. Соломко. – К. : Наукова думка, 2003. – 40 с.
4. **Ботаника.** Водоросли и грибы / И. Ю. Костиков, В. В. Джаган, Е. М. Демченко и др. – К. : Аристей, 2006. – С. 225–442.
5. **Бухало А. С.** Каталог колекції культур шапинкових грибів / А. С. Бухало, Н. Ю. Митропольська, О. Б. Михайлова. – К. : Славутич-Дельфін, 2006. – 36 с.
6. **Бухало А. С.** Культивирование съедобных и лекарственных грибов / А. С. Бухало, Н. А. Бисько, Э. Ф. Соломко. – К. : Урожай, 2004. – 128 с.
7. **Вассер С. П.** Флора грибов Украины. Базидиомицеты. Аманитальные грибы. – К. : Наукова думка, 1992. – 167 с.
8. **Гарибова Л. В.** Выращивание грибов. – К. : Вече, 2005. – 96 с.
9. **Дудка І. О.** Гриби природних зон Криму / І. О. Дудка, В. П. Гелюта, Ю. Я. Тихоненко. – К. : Фітосоціоцентр, 2004. – 454 с.
10. **Ендодітна** мікрофлора зерна пшениці та її взаємодія з фітопатогенними бактеріями / Р. І. Гвоздяк, Л. В. Кабашна, А. А. Пасічник, Е. А. Макарчук // Доповіді НАН України. – 2001. – № 1. – С. 173–177.
11. **Карпов Ф. Ф.** Выращиваем грибы на садовом участке. – М. : Фитон+, 2008. – 64 с.
12. **Коваль Е. З.** Флора грибів України. Зигоміцети. Ентомофторальні гриби / Е. З. Коваль, І. А. Дудка. – К. : Фітосоціоцентр, 2007. – 370 с.
13. **Морозов А. И.** Грибы: руководство по разведению. – Донецк : Сталкер, 2000. – 304 с.
14. **Морозов А. И.** Выращивание вешенки. – Донецк : Сталкер, 2001. – 48 с.
15. **Морозов А. И.** Разведение грибов. Мицелий / А. И. Морозов, А. А. Тимофеев. – М. : АСТ, 2001. – 43 с.
16. **Морозов А. И.** Лекарственные грибы. – Донецк : Сталкер, 2003. – 207 с.

17. **Раптунович Е. С.** Искусственное выращивание съедобных грибов / Е. С. Раптунович, И. И. Федоров. – Минск : Вышэйшая школа, 1994. – 206 с.
18. **Сафрай А. И.** Производство мицелия в России // Школа грибоводства. – 2000. – № 1. – С. 2–5.
19. **Сафрай А. И.** Производство мицелия в России // Школа грибоводства. – 2000. – № 3. – С. 20–24.
20. **Сычев П. А.** Экзофизиология высших грибов. – Донецк : Кассиопа, 2000. – 276 с.
21. **Тищенко А. Д.** Выращивание вешенки в агрокомбинате Пуща-Водица // Школа грибоводства. – 2003. – № 6. – С. 7–11.
22. **Тищенко А. Д.** Краткий обзор производства вешенки в России / Школа грибоводства. – 2003. – № 5. – С. 15–18.
23. **A higher level phylogenetic classification of the fungi** / D. S. Hibbett, J. H. Bischoff, M. Binder et al. // *Mycological Research*. – 2007. – Vol. 111, N 5. – P. 509–547.
24. **Ainsworth and Bisbys Dictionary of the Fungi** / P. M. Kirk, P. F. Cannon, J. C. David et al. – 9th ed. – Egham : CABI Bioscience, 2005. – 624 p.
25. **Buchalo A. S.** Catalogue of the Culture Collection of Mushrooms / A. S. Buchalo, N. Y. Mitropol'skaya. – K. : Osнова, 2001. – 32 p.
26. **Carlile M. J.** The Fungi / M. J. Carlile, S. C. Watkinson, G. W. Gooday. – 2th ed. – New York : Acad. Press, 2001. – 588 p.
27. **Deacon J. W.** Fungal Biology. – 4th ed. – Edinburgh : Blackwell Publishing Ltd., 2006. – 380 p.
28. **Fungi of Ukraine. A Preliminary Checklist** / T. V. Andrianova, I. O. Dudka, V. P. Hayova et al. – K. : Egham International Mycological Institute, 1996. – 361 p.
29. **Introduction to Fungi** / J. Webster, R. Weber. – 3rd ed. – Edinburgh : Cambridge University Press, 2007. – 863 p.
30. **Minter D. W.** Mycology in Ukraine / D. W. Minter, I. O. Dudka, T. V. Andrianova et al. – CD : PDMS Publishing, 2003. – 826 p.
31. **The Deuteromycetes (Mitosporic Fungi): Classification and Generic Keys** / E. Kiffer, M. Morelet. – New York : Science Publishers Inc, 2000. – 300 p.
32. **The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Dasis and Applied Research)**. – New York : Acad. Press, 2001. – Vol. 7, part A, B. – P. 258–365.
33. **The new higher level classification of Eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists** / S. M. Ald, A. B. Simpson et al. // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2005. – Vol. 52, N 5. – P. 399–451.
34. **Wasser S. P.** Shiitake (*Lentinus edodes*) // *Encyclopedia of Dietary Supplemnts*. – New York : Marcel Dekker, 2005. – P. 653–664.

Надійшла до редколегії 18.03.2010