



УДК 635.8

DOI: 10.31388/2220-8674-2018-2-52

**ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ІНТРОДУКЦІЇ
ПРОДУКТИВНИХ ШТАМІВ ЕКЗОТИЧНИХ ГРИБІВ *Cyclocybe
aegerita* (V. Brig.) Vizzini та *Pleurotus eryngii* (DC.) Qué!**

Бандура І. І., к. с.-г. н.,

Кулик А. С., к. т. н.,

Макогон С. В.,

Синяговський С. С.

Таврійський державний агротехнологічний університет

e-mail: irabandura@gmail.com, +380677209304

e-mail: akkulichka@gmail.com, +380978860043

Анотація - дослідження виявило особливості культивування нових для українського ринку видів екзотичних їстівних грибів: гливи степової та опенька тополиного, котрі є джерелом функціональних елементів, здатних підвищити цінність харчових продуктів з їхнім використанням. Доведено, що біологічна ефективність опенька на 10 % вища на субстратах, які виготовлені стерилізацією сировини. З'ясовано, що загальний технологічний цикл культивування опенька на стерильних субстратах суттєво не залежить від їхнього складу і становить у середньому 43 доби для першої хвилі. Для ферментованих субстратів цей показник у 1,5 рази вищий (приблизно 61 доба).

Визначено оптимальну формулу субстрату для промислового культивування гливи степової та вплив складу субстрату і методу його обробки на біологічну ефективність та тривалість технологічного циклу. У різних варіантах він коливався від 37 до 57 діб для першої хвилі плодоношення.

Доведено можливість одночасного культивування означених видів, що дає перспективу для прискорення процесу розширення асортименту їстівних та лікарських грибів в Україні та за її межами.

Ключові слова: глива степова, опеньок тополиний, стерилізація, ферментація у високому шарі, біологічна ефективність, технологічний цикл

Постановка проблеми. В основі функціонального харчування, що набуває широкого поширення у розвинутих країнах світу, лежить використання нутрієнтів, які здатні позитивно впливати на фізіологічні процеси організму людини, підсилювати резистентність до несприятливих факторів зовнішнього середовища.

В українському товарознавстві за харчовою цінністю їстівні гриби поділяють на чотири категорії:



- *перша категорія* – це найбільш цінні гриби: білі, рижики, грузді справжні.
- *друга* – маслюки, опеньки, грузді, підосичники, шампіньйони, вовнянки, дубовики, трюфеля.
- *третья* – моховики, сиріжки, зморшки, грузді чорні, лисички.
- *четверта* – сиріжки чорна і рожева, свинушки, їжовики, гливочки, зеленушки, вешенки та ін. [5].

На жаль, ця класифікація складена на основі органолептичних ознак і не враховує фізико-хімічних показників, наявність есенціальних елементів та біологічно-активних речовин, які, на думку Соломона Павловича Вассера, є найбільшою цінністю і здатні підтримати здоров'я та значно подовжити життєву функціональність людського організму [6].

Аналіз останніх досліджень. На думку Соломко Е.Ф., полісахаридні, хітиноглюканові структури дереворуйнівних грибів здатні до абсорбції радіонуклідів та важких металів [1]. За результатами досліджень армянських та українських вчених доведено, що β -глюкани гливи, а саме плеуран, проявляє противовірусні властивості, а лентінан, виділений з грибів шіітаке має виражену цитокінетичу активність [2, 3]. У своїй дисертаційній роботі, молодий вчений Ломберг М.Л. підкреслює, що полісахариди гериція шипуватого можуть з успіхом використовуватися для профілактики та лікування захворювань, пов'язаних з функціонуванням нервової системи [4].

З іншої сторони, сучасні мікологи, зокрема Гродзинська Г.А., попереджають про суттєву небезпечність вживання лісових грибів. Вони підкреслюють, що гриби, як природні сорбенти, акумулюють в плодових тілах шкідливі речовини з активно забрудненого оточуючого середовища [7]. Споживання лісових грибів, що вирости поблизу транспортних шляхів, у зонах з підвищеною радіацією, біля сміттєзвалищ, може стати причиною отруєнь та харчових інтоксикацій.

Саме тому, цікавість до дереворуйнівних грибів, вирощених у штучних умовах, зростає з кожним роком. Але, на відміну від азіатського та європейського ринку, асортимент грибів на українських прилавках обмежений: звичайно 80-90 % грибів, що наявні в мережах, складає печериця, 9-19 % глива, і лише 1 % екзотичні гриби, до яких відносяться глива степова (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél), шіітаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), опеньки зимовий (*Flammulina velutipes* (Curtis) Singer) та тополиний (*Cyclocybe aegerita* (V. Brig.) Vizzini), їжовик (герицій) гребінчастий *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. та інші. Насамперед, це пов'язано з відсутністю адаптованих до локальних умов технологій



вирощування цих грибів, високоефективних промислових штамів та практичного досвіду їхньої переробки та зберігання. Якщо, технологічні особливості штучного вирощування печериці двоспорової та гливи звичайної мають достатнє наукове обґрунтування, то аспекти промислового культивування вказаних грибів недостатньо досліджені не тільки в Україні, а й в усьому світі.

Формулювання цілей статті. Обмеженість даних літератури про особливості промислового вирощування екзотичних грибів обумовило мету нашого дослідження як оцінку можливості та вивчення особливостей інтродукції штамів гливи степової та опенька тополиного в умови українського промислового виробництва їстівних та лікарських грибів.

Базою дослідів стала лабораторія біотехнологій і промислової мікології Таврійського державного агротехнологічного університету та виробничі потужності науково-виробничих підприємств «ГРИБНИЙ ЛІКАР» (м. Мелітополь), «ЕСМАШ»(м. Київ) та СФГ Чернобаєв Віктор Дмитрович (с. Тернівка Вільнянського району Запорізької обл.).

Основними завданнями дослідів стали наступні питання:

- 1) Визначити переважний метод підготовки субстрату для вирощування екзотичних грибів за порівнянням біологічної ефективності штамів;
- 2) Підібрати оптимальний склад субстратної композиції на основі місцевої сировини;
- 3) Визначити особливості та середню тривалість технологічного циклу.

Основні матеріали дослідження. Чисті культури грибів *Pleurotus eryngii*, штам 2032 ІВК та *Cyclocybe aegerita*, штам 2230 ІВК отримали з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. Холодного (м. Київ) [8]. Культивували та зберігали за температури 4°C на стерильному середовищі наступного складу: мальт-декстроза 20 г, дріжджовий екстракт 2 г, КОН (0,1 н) 2 мл, агар-агар 20 г, вода 1 літр.

Чашки Петрі з культурами грибів та залишками поживного середовища перед інокуляцією подрібнювали в асептичних умовах за допомогою авторського устаткування. Отримували суспензію шматочків поживного середовища з міцелієм грибів розміром від 1 до 5 мм у стерильній воді. Цією суспензією інокулювали стерильну зернову суміш наступного складу: ячмінь – 50 %, пшениця – 40 %, ріпак, попередньо зволожений, - 5 %, насіння льону – 3 %, карбонат кальцію технічний – 2 %. На кожну упаковку зернової суміші масою 6 кг додавали 80 мл суспензії, запаювали пакет у ламінарному потоці повітря (очищення



НЕРА 14) та ретельно перемішували.

Інкубацію посівного зернового міцелію проводили за температури 24 °С у чистій зоні (клас очищення НЕРА 13) протягом 9 діб до появи колоній діаметром 5-10 см. Після цього пакети з культурою гриба перетрушували для активації росту та виявлення сторонньої мікробіоти. Ця процедура дозволяє подрібнити гіфи гриба, рівномірно розподілити їх по об'єму пакета та прискорити, таким чином, повну колонізацію зернового субстрату. З іншого боку, перетрушування дає змогу виявити бактеріальну та плісєневу контамінацію, бо конкурентні мікроорганізми отримують функціональні переваги розвитку у порівнянні зі зруйнованою та ослабленою культурою гриба.

На 5 добу після перетрушування посівний міцелій формували у брикети видаленням залишків повітря із пакета та охолоджували. Загальний цикл підготовки посівного зернового міцелію становив 14 діб з моменту інокуляції.

Зберігали посівний зерновий міцелій за температури 0-2 °С не довше 1 тижня. Треба зазначити, що за такої температури на поверхні брикету зернового міцелію опенька тополиного за 2-3 доби утворювався прозорий ексудат світло-бурого кольору, що не впливало на швидкість подальшого вегетативного розвитку міцелію у субстраті.

Посівний міцелій використовували для інокуляції партій стерильного та пастеризованого субстрату у кількості 5 % від маси субстрату (або 150 г на пакет субстрату масою 3000 г) [9].

Субстрати готували методом ферментації у високому шарі (далі - ФВШ) [10] та стерилізацією протягом 2 годин за температури 125 °С. У якості сировини використовували суміш соломи ячмінної та сіна люцерни у співвідношенні 20 : 1 та різну кількість гранул із подрібненого лушпиння соняшнику. Маса, яку отримували при зволоженні цих гранул, являла собою достатньо щільну і подрібнену субстанцію, що додавалась до субстратної композиції у якості ущільнювача. Для балансу карбон : нітроген додавали кукурудзяні та пшеничні висівки (табл. 1). Вологість доводили до показника 75 %, баланс рН підтримували на рівні $6,7 \pm 0,3$ за допомогою додавання карбонату кальцію (крейди) у кількості 1%.

Інокуляцію субстратів проводили у асептичних умовах. Технологічна схема інокуляції та інкубації стерильного субстрату повторювала метод виготовлення посівного міцелію, за виключенням етапу перетрушування. Іншою особливістю було ущільнення субстратної маси до показника 0,4 г/мл. Згідно з даними літератури цей показник мав становити 0,5 г/мл, але ручним способом такої щільності досягти не вдалося [11].

Таблиця 1. **Варіанти субстратних сумішей**

Варіант	Складові субстрату, %							
	Солома	Люцерна	Гранули	Рапс	Висівки кукурудзяні	Висівки пшеничні	Вода	Крейда
1	15	1	4	2	1	1	75	1
2	10,5	0,5	9					
3	8,7	0,3	11					

Інкубування субстрату проводили за температури 23 ± 2 °C протягом 20 ± 3 діб. Відносну вологість повітря у приміщенні підтримували на рівні 65 ± 5 %. Кількість вуглекислого газу не перевищувала 2000 ppm.

Особливістю вирощування гливи степової є підтримання режиму освітлення, який згідно з практичними рекомендаціями компанії Zhengzhou Satrise Industry Co., Ltd. має змінюватися на різних етапах морфогенезу плодових тіл. Так, технологи компанії рекомендують вимикати освітлення на 10-11 добу плодоутворення для стимуляції розвитку ніжки, яка у гливи степової має надзвичайно ніжну структуру.

Опеньки, навпаки, потребують стимуляції морфогенезу додатковим освітленням, тривалість якого, на думку Alain Kerbirigou (Франція), має становити не менше 8 годин на рівні 300 люксів.

Отже, в теорії промислове культивування означених видів потребує створення окремих площ (камер вирощування) для цих видів.

Нашою метою було визначення можливості одночасного вирощування, яке дає змогу значно зменшити витрати на виготовлення стерильних субстратів і, в той же час, розширити асортимент грибів для реалізації. Саме тому плодоношення штамів відбувалося за умов освітлення 150 люкс протягом 8 годин.

Результати дослідження. За описаних умов культивування на стерильних субстратах плодові тіла грибів у стадії технологічної зрілості почали отримувати з 37 доби від моменту інокуляції (рис. 1).



Рис.1. Плодові тіла гливи степової штам 2032 (А) та опенька тополиного штам 2230 (Б) на стадії технологічної зрілості

На жаль, на субстратах, виготовлених методом ФВШ, вдалої колонізації культурою гливи степової не відбулося. Під час інкубації на субстраті почали розвиватися колонії плісневих грибів родів *Trichoderma* та *Aspergillus*, що спричинило пригнічення вегетативного розвитку міцелію гливи степової та відсутність плодоношення. Колонізація ферментованого субстрату культурою опенька тополиного відбувалася повільно, але без проявів контамінації сторонніми мікроорганізмами. Плодові тіла опенька на пастеризованих субстратах досягали технологічної зрілості з 57 до 65 доби з моменту інокуляції в залежності від складу субстрату, тоді як на стерильних - з 38 по 46 добу. Отже, за результатами статистичного аналізу достовірно доведено перевагу використання стерильних субстратів для отримання плодкових тіл штамів, що досліджувалися (табл. 2).

Таблиця 2. Стадії морфогенезу плодкових тіл гливи степової та опенька тополиного за варіантами дослідів

Варіант	Дата настання технологічної зрілості, доба			
	Метод ФМШ		Стерилізація	
	глива	опеньок	глива	опеньок
1	-	65±3	43±1	46±3
2	-	61±1	37±0	46±1
3	-	57±1	57±5	38±1
НСР ₀₅		5	5	2



За результатами дослідження доведено, що технологічний цикл опенька тополиного (з урахуванням тільки першої хвили плодоношення) був найкоротшим у варіанті 3, а для гливи степової - у варіанті 2. Варто зазначити, що на субстратній композиції другого варіанту (стерильний метод) плодове тіла гливи степової досягли технологічної зрілості одночасно. Отримані дані підтверджують дані літератури, згідно з якими середній час настання технологічної зрілості становить від 37 до 54 діб для гливи степової [12, 13] та від 45 до 76 діб для опенька тополиного [14]. Отже, штами з колекції шапинкових культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. Холодного можуть бути успішно впроваджені у промислове виробництво.

Найважливішим показником придатності штаму до інтродукції в промислове виробництво є біологічна ефективність. Його визначають відношенням загальної маси свіжих плодових тіл до маси сухої речовини у субстраті. У результаті статистичного аналізу отриманих даних для першої хвили плодоношення виявилось, що субстратна композиція №2 є найбільш вдалою для культивування гливи степової (табл. 3). Достовірної різниці між варіантами для опенька тополиного у досліді не визначено, але порівняння середніх за U-критерієм Манна-Уїтні довело, що більш вагомий урожай було отримано у варіанті 3.

Необхідно зазначити, що субстрати, виготовлені методом ФВШ, виявилися неефективним для культивування вищевказаних штамів. Можливо, складові субстратних композицій для такого метода температурної обробки треба змінити, бо сучасна література має підтвердження продуктивного вирощування гливи степової на ферментованих субстратах [15]. Тому це питання потребує подальшого вивчення.

Таблиця 3. Біологічна ефективність гливи степової штаму 2032 та опенька тополиного штаму 2230 за варіантами дослідження

Варіант	Біологічна ефективність, %			
	Метод ФМШ		Стерилізація	
	глива	опеньок	глива	опеньок
1	-	25,3±4,34	30,1±3,83	31,9±5,81
2	-	29,4±1,29	67,1±9,44	35,0±6,70
3	-	27,3±1,97	34,2±7,47	39,9±4,48
НСР ₀₅		3,45	16,7	5,7



Біологічна ефективність (БЕ) гливи степової на субстраті варіанту 2 виявилася у 2 рази вищою порівняно з іншими варіантами досліду та даними з літературних джерел. Тому ми рекомендуємо цю формулу для впровадження у промислове виробництво.

Показник БЕ опенька на ферментованих субстратах у середньому на 10 % був нижчим порівняно зі стерильними. Відомо, що стерилізація є більш витратним методом. Отже, з оглядом на незначну різницю в урожаї для обох методів, використання методу ФВШ для культивування опенька тополиного може бути доцільним. Порівняння собівартості субстратів та загальних витрат на підтримання умов мікроклімату впродовж технологічного циклу дасть відповідь про переваги їхнього застосування.

Висновки. За результатами досліду доведено, що культивування гливи і опенька в одній камері вирощування є можливим. Тому грибовиробники України мають змогу швидко розширити асортимент видів, що культивуються і збагатити ринок грибами, що дають змогу значно покращити функціональність української кухні.

Для промислового вирощування гливи степової штаму 2032 рекомендується формула субстратної суміші №2: 10,5 % соломи ячмінної, 0,5 % сіна люцерни, 9 % гранул лушпиння соняшнику, 2 % ріпаку, 1 % висівок кукурудзяних та 1 % висівок пшеничних, 1 % крейди на 75 % води.

Визначено, що стерилізація субстратів дозволяє підвищити ефективність вирощування на 10 % для опенька зимового, та запобігти контамінації субстратів для вирощування гливи степової конкурентними мікроорганізмами.

З'ясовано, що загальний технологічний цикл культивування опенька на стерильних субстратах суттєво не залежить від їхнього складу і становить у середньому 43 доби для першої хвилі. Для ферментованих субстратів цей показник у 1,5 рази вищий і складає приблизно 61 добу.

Для гливи степової склад субстрату та метод його обробки є важливими факторами ефективності, тому варіативність тривалості технологічного циклу становить 20 діб від 37 до 57.

З оглядом на відсутність вітчизняних наукових даних про особливості вирощування екзотичних грибів, вважаємо за необхідне продовження досліджень у цьому напрямку та вдячні за всебічну підтримку колективу відділу мікології Інституту ботаніки ім. Холодного, та персонально Бісько Н. А.



Література:

1. Экстракты мицелия Вешенки (*Pleurotus ostreatus*): медико–биологические эффекты и возможные механизмы действия / под ред. В. П. Герасимени, В. Ю. Полякова. Москва: Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, ООО Инбиофарм, 2013. 224 с.
2. Противовоспалительная активность экстракта культуры гриба *Pleurotus ostreatus* / И. А. Авагян, С. Г. Нанагюлян, М. Г. Баласанян, А. Г. Жамгарян // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2010. № 1. С. 236.
3. Лекарственные препараты и пищевые добавки из макромицетов / А. С. Бухало, Э. Ф. Соломко, С. П. Вассер, О. Б. Михайлова // Успехи медицинской микологии: материалы 3-го Всероссийского конгресса по медицинской микологии. Москва: Национальная академия микологии, 2005. Т. 5. С. 254–256.
4. *Ломберг М. Л.* Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі: автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.21. Київ, 2005. 20 с.
5. *Орлова Н. Я., Пономарьов П. Х.* Фрукти, ягоди, овочі, гриби та продукти їхньої переробки: підручник. 2–е вид., переробл. та допов. Київ: КНТЕУ, 2008. 416 с.
6. Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре / А. С. Бухало и др.; под ред. С. П. Вассера. 2–е изд. Киев: Альтерпрес, 2011. 212 с.
7. *Гродзинська Г. А.* Радіонуклідне забруднення макроміцетів // Вісник Національної Академії Наук України. 2017. № 6. Р. 61–76.
8. Колекція культур шапинкових грибів (ІВК) як обект національного надбання України. URL: https://www.researchgate.net/publication/292604841_Kolekcia_kultur_sapinkovih_gribiv_IVK_ak_obekt_nacionalnogo_nadbanna_Ukraini (дата звернення: 20.04.2018).
9. *Мироничева О. С., Бандура І. І.* Порівняльна оцінка способів термічної обробки субстратів при виробництві ксилотрофних грибів // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2011. № 1 (23). URL: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_7/11mospx (дата звернення: 12.01.2019).
10. *Бандура І. І.* Удосконалення елементів технології промислового виробництва їстівних грибів роду *pleurotus* (Fr.) P. Kumm. А.: дис. ... к. с.-г. н.: 06.01.06. Київ: НУБіП, 2014. 227 с.



11. *Stamets P.* Growing gourmet and medicinal mushrooms. third edition. Berkeley, California: Ten Speed Press, 2000. 574 p.
12. *Kirbag S., Akyüz M.* Effect of various agro-residues on growing periods, yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii* // Journal of Food, Agriculture & Environment. 2008. Vol. 66. P. 402–405.
13. Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh / M. Moonmoon [et al.] // Saudi Journal of Biological Sciences. 2010. Vol. 17, № 4. P. 341–345. DOI: 10.1016/j.sjbs.2010.05.004.
14. *Philippoussis A., Zervakis G., Diamantopoulou P.* Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. // World Journal of Microbiology & Biotechnology. 2001. Vol. 17. P. 191–200.
15. *Rodriguez Estrada A. E., Jimenez-Gasco M. del M., Royse D. J.* Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* by substrate supplementation and use of a casing overlay // Bioresour. Technol. 2009. Vol. 100, № 21. P. 5270–5276. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.02.073.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ИНТРОДУКЦИИ
ПРОДУКТИВНЫХ ШТАММОВ ЭКЗОТИЧЕСКИХ ГРИБОВ
Cyclocybe aegerita (V. Brig.) Vizzini и *Pleurotus eryngii* (DC.) QuéL**

Бандура И. И., Кулик А. С., Макогон С. В., Синяговский С. С.

Аннотация. Исследование выявило особенности культивирования новых для украинского рынка видов экзотических съедобных грибов: вешенки степной и опенка тополиного. Эти виды грибов могут стать надежным источником эссенциальных элементов, способных повысить ценность пищевых продуктов с их использованием. В ходе исследования определено, что биологическая эффективность опенка тополиного на 10% выше на стерильных субстратах. Установлено, что общий технологический цикл культивирования опенка существенно не зависит от состава субстратов и составляет в среднем 43 дня для получения первой волны плодовых тел. В случае использования ферментированных субстратов этот показатель возрастает в 1,5 раза и составляет примерно 61 день.

Определена оптимальная формула субстрата для промышленного культивирования вешенки степной и доказано влияние состава субстрата и метода его обработки на биологическую эффективность и продолжительность технологического цикла этого гриба.

Доказана возможность одновременного культивирования указанных видов, это определяет перспективы для быстрого процесса расширения ассортимента съедобных и лекарственных грибов в Украине и за ее пределами.



Ключевые слова: вешенка степная, опенок тополинный, стерилизация, ферментация в высоком слое, биологическая эффективность, технологический цикл

EXPLORING OF PECULIARITIES OF INTRODUCTION EXOTIC MUSHROOMS PRODUCTION STRAINS

Cyclocybe aegerita (V. Brig.) Vizzini та *Pleurotus eryngii* (DC.) Quéf

I. Bandura, A. Kulyk, S. Makohon, S. Synyagovskiy

Summary

In the current time, wood exotic mushrooms such as *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*, *Hericium erinaceus*, *Pleurotus eryngii* and *Cyclocybe aegerita* become most popular among world mushroom growers. This interest has increased because new scientific data have obtained which has discovered their nutrition value and medicinal properties. Unfortunately, Ukrainian people don't have enough information about the growth of these exotic wood mushrooms. The exploration has determined features of production growing of *Pleurotus eryngii* and *Cyclocybe aegerita* which are a new perspective species for the Ukrainian market.

The different methods of substrate preparation were tested for growing *eryngii* and poplar mushroom: 1) fermentation of row materials in the high lay; 2) sterilization into autoclave. As a result, biological efficiency of *Cyclocybe aegerita* was on 10% more with using sterile substrate compare to fermentative one. In addition, the technological cycle for the first flush was in 1,5 times shorter. On the other hand, these characteristics did not depend from substrate composition.

On the contrary, for *eryngii* growing the significant difference was obtained between variants of this research. The second variant of substrate recipe was more effectivity for fast technological cycle and BE of *Pleurotus eryngii* strain 2032.

In conclusion, the production growth of exotic mushrooms can occur in one place and similar conditions. This fact allows increasing the possibility of extending the range of wood edible and medicinal mushrooms in the nearest future.

Keywords: *pleurotus eryngii*, poplar mushroom, sterilization, fermentation in the high lay, biological efficiency, technological cycle.