Н. А. БИСЬКО
И. А. ДУДКА

БИОЛОГИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ съедобных ГРИБОВ рода ВЕШЕНКА

УДК 582 (284 + 287.23) : 635.8 + 581.5 581.14

Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка / Бисько Н.А., Дудка И.А. — Киев : Наук. думка, 1987. — 148 с.

Монография посвящена систематике, экологии и физиологии ценных съедобных грибов рода вешенка. Изложены результаты селекции высокоурожайных штаммов вешенки обыкновенной, особенности роста мицелия и плодоношения на различных целлюлозо- и лигнинсодержащих отходах сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности. Обобщены данные по технологии интенсивного культивирования съедобных грибов рода вешенка. Рассматриваются химический состав и питательная ценность плодовых тел селектированных штаммов вешенки обыкновенной.

Для микологов, специалистов сельского и лесного хозяйства.

Ил.25. Табл.42. Библиогр.: с.131—146.

Ответственный редактор Н.Н.Жданова

Рецензенты **В.И.Билай, В.Д.Семичаевский**

Редакция общей биологии

Б $\frac{2004000000\text{-}176}{\text{М } 221 \ (04)\text{-}87}$ 338-87

ВВЕДЕНИЕ

Промышленное производство высших съедобных грибов во многих странах мира выделилось в самостоятельную высокопроизводительную отрасль — грибоводство. Объем производства грибов в мире в 1984 г. достиг 1,2 млн. т. Большую часть (до 72 % продукции культивируемых грибов) составляют виды рода Agaricus: шампиньон двуспоровый — Agaricus bisporus (J.Lge) Imbach. и шампиньон двукольцовый — Agaricus bitorquis (Quel) Sacc. (Schaper, 1983). Перечень наиболее ширококультивируемых в мире видов включает также сиитаке — Lentinus edodes (Berk.) Sing., зимний гриб — Flammulina velutipes (Fr.) Sing., вольвариелла вольвовая — Volvariella volvacea (Fr.) Sing. и виды рода Pleurotus (Chang, Miles, 1984). В последнее десятилетие проблемы выращивания видов рода вешенка (Pleurotus) привлекают внимание ученых-микологов многих стран (Hayes, Wright, 1979; Farr, 1983; Santiego, 1983). Результатом определенных успехов, достигнутых в селекции новых штаммов и совершенствовании технологии культивирования этих видов явилось то, что в 1983 г. по объему производства виды рода вешенка заняли второе место в Европе после шампиньонов (Chang, Miles, 1984).

Род вешенка, по данным Р.Зингера (Singer, 1975), представлен 39 видами, 9 из которых являются объектами культивирования в различных странах Европы, Азии и Америки: P.ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm., P.cornucopiae (Paul: Pers.) Roll., P.pulmonarius (Fr.) Quel., P.cytrinopileatus (Sing.) Sing., P.eryngii (DC.: Fr.) Quel., P.cystidiosus O.K. Miller., P.sajor-caju (Fr.) Sing., P.flabellatus (Berk.: Br.). Sacc., P.eous (Berk.) Sacc. Все культивируемые виды, кроме P.eryngii, являются сапротрофами и растут на отмерших частях лиственных и хвойных пород деревьев. P.eryngii — представитель флоры степей, он растет на корнях растений семейства Apiaceae. Характерной особенностью этого вида является способность переходить от сапротрофного типа питания к паразитизму (Hilber, 1982).

Преимуществами видов рода Pleurotus перед другими культивируемыми грибами являются: высокая скорость роста мицелия и значительная конкурентоспособность по отношению к посторонней микрофлоре; способность утилизировать из разнообразных растительных отходов сельского хозяйства и лесоперерабатывающей промышленности различные углеродсодержащие соединения, в том числе такие труднодоступные, как целлюлоза и лигнин; относительная простота технологии выращивания, исключающая длительный процесс подготовки субстрата и необходимость покровной почвы для культивирования всех видов рода вешенка, кроме P.cystidiosus; возможность использования субстрата после сбора грибов в качестве удобрения или корма для сельскохозяйственных животных; устойчивость к бактериальным, грибным и вирусным болезням; способность без ухудшения внешнего вида и качества переносить длительное хранение и транспортировку; высокие вкусовые и питательные свойства плодовых тел, приятный запах, простота кулинарной обработки.

Виды рода Pleurotus представляют собой почти идеальную модель для проведения селекционной работы: имеют гетероталличный тип несовместимости; сравнительно короткий жизненный цикл (3–6 недель), который можно легко воспроизвести в лаборатории в контролируемых условиях; 100%-ную всхожесть и высокую скорость прорастания спор; размер спор составляет 6–12 мкм, что обеспечивает возможность их выделения без применения сложных приспособлений; сравнительно простые требования к питанию и внешним условиям; отличимые половые взаимодействия, в результате которых образуется фертильный мицелий, легко определяемый по наличию пряжек и образующий плодовые тела. Кроме того, виды рода вешенка широко распространены в различных географических зонах и имеют широкий спектр генетической вариабельности.

В процессе культивирования видов рода Pleurotus может быть решен вопрос не только получения пищевого продукта — плодовых тел, но также такие актуальные проблемы XX в., как интенсификация производства путем наиболее полного использования сырья, а также удаление целлюлозолигнинсодержащих отходов сельского хозяйства и промышленности. Несмотря на успехи, достигнутые в результате изучения в научно-исследовательких институтах и научных центрах СССР (Ботанический институт им.В.Л.Комарова АН СССР, Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Институт ботаники им.Н.Г.Холодного АН УССР, Белорусский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, Кавказский филиал Всесоюзного научно-исследовательского института лесоводства и механизации и др.) вопросов технологии культивирования P.ostreatus, селекции продуктивных штаммов, химического состава плодовых тел и биосинтетической активности, остаются нерешенные проблемы, тормозящие внедрение эффективной технологии выращивания плодовых тел различных видов рода вешенка в нашей стране. Эти проблемы, в частности, касаются разработки методов селекции для получения новых высокопродуктивных штаммов; принципов подбора субстратов, перспективных для культивирования; совершенствования технологии экстенсивного выращивания; научных основ технологии интенсивного культивирования; изучения питательной ценности плодовых тел и субстрата после сбора грибов.

В настоящей монографии обобщены литературные данные и результаты собственных исследований авторов о механизмах роста и плодоношения видов рода Pleurotus, принципах отбора штаммов с ценными признаками; технологии экстенсивного и интенсивного культивирования, а также химическом составе плодовых тел и субстрата после плодоношения вешенки обыкновенной. Большинство фотографий и рисунков, приведенных в монографии, оригинальные, часть заимствована из литературных источников, на что имеются соответствующие указания.

ГЛАВА 1

ПОЛОЖЕНИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ В СИСТЕМЕ РОДА ВЕШЕНКА

Виды рода Pleurotus входят в семейство Pleurotaceae порядок Agaricales класс Basidiomycetes отдел Mycophyta.

Плодовые тела единичные или собраны в группы от нескольких до десятков экземпляров. Шляпка 1,5—30 см в диаметре, в молодом возрасте от шлемовидной до выпуклой, затем — от устрице- до тарелкоподобной. Цвет белый, серый, желтый, коричневый до черного, фиолетовый, голубой, зеленый. Край часто изрезан, иногда просвечивающийся. Покровный слой от радиально-волокнистого до чешуйчато-волокнистого или ячеисто-потрескавшегося. Мякоть от плотной до ломкой, часто желтеющая или оранжево-грязная при автооксидации. Пластинки веерообразно спускающиеся вниз на ножку или только до верхней части ножки, цвет белый, темно-кремовый, розовый. Споровый порошок белый, кремовый, фиолетовый. Споры от субцилиндрических до широкоэллипсоидальных или каплеобразных, тонкостенные и гладкие с или без жировых вакуолей, неамилоидные, стенки слабо метахроматичны, ацианофильны. Базидии цилиндрические, булавовидные, с четырьмя или двумя стеригмами, механизм размножения тетраполярный. Виды подрода Coremiopleurotus имеют хейло- и пилеоцистиды. Почти у всех видов присутствуют конидии на дикариотическом мицелии, у видов подродов Coremiopleurotus и Lentodiopsis на телеоморфах отмечены коремии или алевроспоры. Ножка от центральной до эксцентрической, от длинной цилиндрической до очень короткой, иногда отсутствует, цвет белый, серо-коричневый, мякоть при автооксидации часто желтеющая. Частное покрывало имеется только у видов подрода Lentodiopsis. Развитие карпофора от метавеолангиокарпного (у P.dryinus) до гимно- или степитокарпного. Запах разнообразный: нейтральный, анисоподобный, муки, редиса, рыбы. Вкус от приятного до слегка горького.

Признаки дикариотического мицелия в культуре: растущий ритмично (с концентрическими кольцами) или аритмично, цвет белый или коричневый, с оранжево-желтыми каплями или без них, образующий примордии, генеративные гифы с многочисленными пряжками, скелетные гифы со вторичными перегородками. Запах анисовый, фруктовый, кислый или нейтральный.

Признаки монокариотического мицелия в культуре: в большинстве случаев скорость роста менее высокая, чем у дикариотического, способен к образованию примордиев.

Экология. Сапротрофы на лиственных и хвойных породах деревьев, вызывают белую гниль древесины, паразиты на травянистых растениях семейств Apiacea, Labiatae. Съедобные, несъедобные и искусственно культивируемые грибы.

Местонахождение. Космополиты. Произрастают на всех континентах, кроме Антарктиды. Родиной видов рода вешенка, вероятно, являются тропики (Hilber, 1982).

В последнее десятилетие предложено несколько систем классификации рода вешенка. Согласно Р.Зингеру (Singer, 1975), этот род включает 5 секций (Lepiotarii, Pleurotus, Calyptrati, Lentodiellum, Tuber-regium) и 39 видов. О.Гилбер (Hilber, 1982) в монографии, посвященной экспериментальному изучению некоторых видов рода Pleurotus, подразделяет его на три подрода (Coremiopleurotus, Pleurotus, Lentodiopsis). Наиболее широко культивируемые виды — P.ostreatus, P.cornucopiae, P.pulmonarius — относятся по его классификации к подроду Pleurotus.

В Европе выделяют 4 вида, тесно связанные между собой: P.cornucopiae, P.pulmonarius, P.columbinus Quel. ap. Bres. и P.ostreatus (Bresinsky et al., 1976). В Северной Америке отмечено бóльшее, чем в Европе, разнообразие видов этого рода (Hilber, 1982). Л.В.Михайловский (1974), проанализировавший родство P.ostreatus в СССР, выделяет следующие виды: P.ostreatus, P.pulmonarius, P.cornucopiae, P.citrinopileatus. Определение ряда видов рода вешенка часто основано на отличии классифицируемого объекта от известного вида по одному-двум признакам. Так, вид P.sapidus Kalchbr. был выделен на основании лилово-серого цвета спорового порошка, в то время как споровый порошок у P.ostreatus белый или кремовый (Anderson et al., 1973). Такие виды, как P.salignus (Fr.) Kumm., P.pulmonarius и P.columbinus, отличались от P.ostreatus только цветом споровых пластинок и приуроченностью к росту на различных породах древесины (Eger, 1978a).

При изучении таксономической важности отдельных критериев для разделения видов рода Pleurotus показано (Bresinsky et al., 1976; Eger et al., 1979), что такие макроскопические признаки, как цвет и форма шляпки, длина и расположение ножки, во многом определяются условиями произрастания данного плодового тела: породой древесины, освещенностью, температурой, влажностью. Аналогичным образом Г.Эгер с соавт. (Eger et al., 1979) доказали, что микроскопические признаки, используемые при определении видов (наличие скелетных гиф, величина и цвет спор), также зависят от условий культивирования и хранения. Одним из важнейших признаков принадлежности двух штамов к одному виду является их способность скрещиваться (Bresinsky et al., 1976). При этом ожидается, что конъюгированное ядерное деление будет наблюдаться только тогда, когда геномы скрещиваемых штаммов хорошо сбалансированы, что возможно только при их тесной связи. Однако экспериментальные данные свидетельствуют о том, что, например, у дикарионов P.ostreatus образование пряжек зависит не только от совместимости штаммов, но и от условий культивирования (Eger et al., 1979). Более того, гены вне факторов совместимости могут влиять на процесс скрещивания. Многочисленные опыты показали, что отдельные изоляты совместимых штаммов не скрещивались. Возможное объяснение этого процесса — проявление мутаций. Таким образом, несовместимость исследуемых штаммов не может быть использована как единственный критерий принадлежности их к разным видам.

В целях уточнения объема вида P.eryngii сделана попытка использовать такие показатели, как количество хромосом и белковый состав ферментов. О.Гилбер (Hilber, 1982) P.eryngii разделяет на три географические расы: P.eryngii, P.ferulae, P.nebrodensis на основании приуроченности к растениям-хозяевам — видам родов Eryngium, Ferula и Laserpitium соответственно. У представителей каждой исследуемой расы в связи с географическим происхождением изолята количество хромосом варьировало (Siézec, 1984). В то же время анализ состава белков эстераз, лактаз, аминопептидаз и фосфатаз, который был изучен методом электрофореза в полиакриламидном геле, показал четкое отличие между этими расами (Prillinger, Molitoris, 1979; Boisselier-Dubayle, 1983). Изучение механизмов совместимости данных рас также подтверждает их возрастающую генетическую изоляцию, что свидетельствует о возможности в ходе эволюции выделить P.eryngii, P.nebrodensis и P.ferulae в самостоятельные виды (Hilber, 1982).

В связи со сложностью определения видов рода вешенка существуют весьма противоречивые данные об объеме и самостоятельности многих из них. Так, выделенный в самостоятельный вид P.florida Fovose, по мнению одних авторов является географической расой P.ostreatus (Eger et al., 1979), других — синонимом вида P.pulmonarius (Bresinsky et al., 1976). Совместимость штаммов P. ostreatus и P. columbinus, доказанная О.Гилбером (Hilber, 1982), указывает на то, что это один вид — P. ostreatus. С точки зрения Г.Эгер (Eger et al., 1979), P. columbinus — форма P.ostreatus, растущая на хвойных, а P. pulmonarius — температуроустойчивая форма P. ostreatus. Л.Н.Васильева (1971), М.Я.Зерова и С.П.Вассер (1972) считают P. pulmonarius синонимом P. ostreatus. В то же время Л.В.Михайловский (1974) выделяет P. pulmonarius в самостоятельный вид. Существуют также противоречивые мнения относительно самостоятельности вида P. sapidus. Г.Эгер с соавт. (Eger et al., 1979) считают его формой P.ostreatus, а О.Гилбер (Hilber, 1982) — синонимом P.cornucopiae. Нет единого мнения и в понимании вида P. cornucopiae. М.Я.Зерова и С.П.Вассер (1972) полагают, что P.cornucopiae — это синоним P.ostreatus, Г.И.Сержанина (1984) — разновидность P. ostreatus, а Л.В.Михайловский (1974) — самостоятельный вид.

Ниже приведены диагнозы наиболее ширококультивируемых видов рода Pleurotus.

Pleurotus ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm. Гриб образует сростки до 30 и более карпофоров. Шляпки 5—15 (30) см в диаметре, более или менее выпуклая, неправильно округлая, языко-, ухо-, раковинообразная, гладкая, голая, волокнистая, в молодом возрасте темноокрашенная, затем она серая, серобурая, часто с более или менее сизоватым оттенком, иногда при длительном произрастании во влажных условиях с беловатым мицелиальным налетом. Пластинки белые и беловатые, более или менее низбегающие, часто до основания ножки, внизу нередко с анастомозами. Споры (7) 8—11 (14) x x (3) 3,5—5,5 (5) мкм, цилиндрические, удлиненно-яйцевидные. Споровый порошок белый, кремовый. Ножка 2—8 x 2—3 см, эксцентрическая, белая, плотная, в основании часто волосистая. Мякоть белая, при автооксидации не изменяется, у молодых карпофоров сочная, с возрастом волокнистая, с запахом отсыревшей муки.

Сапротроф. Чаще всего произрастает на буке, тополе, осине, реже — на других лиственных и хвойных породах.

Космополит. Встречается на всех континентах, кроме Антарктиды. В СССР: европейская часть, Кавказ, Западная и Восточная Сибирь, Дальний Восток, Средняя Азия.

P. eryngii (DC.: Fr.) Quél. Шляпка 4—13 см в диаметре, выпукло- или вогнуто-распростертая, гладкая или слегка чешуйчатая, от грязно-белой до темно-коричневой, довольно мясистая. Пластинки от белых до цвета охры, иногда с оттенком телесного цвета, низбегающие на ножку, редкие, широкие. Споры 8,5—14 x 4,2—5,8 мкм, широкоэллипсовидные, часто с большими жировыми вакуолями. Споровый порошок белый. Ножка 2 x 4 см, центральная или эксцентрическая, беловатая, плотная, к основанию суженная, у апофизы пластинок часто с желтой кольцеобразной зоной. Мякоть белая, при автооксидации не изменяется, плотная, с анисовым запахом.

Сапротроф. Произрастает на отмерших корнях травянистых растений, паразит корней растений семейства Apiaceae.

Встречается в степях и полупустынях Европы, Азии и Северной Америки. В СССР отмечен на Украине, в Армении, Азербайджане, Таджикистане.

P. cornucopiae (Paul.: Pers.) Roll. Шляпка 4—10(12) см в диаметре, вогнуто-распростертая или лейкообразная, гладкая, охристо-сероватая, выцветающая до белой. Пластинки беловатые, с возрастом грязно-желтоватые, низбегающие, с многочисленными анастомозами, узкие, тесно расположенные. Споры 8—11 x 3,5—5 мкм, цилиндрические, слегка овальные, удлиненно-яйцевидные. Споровый порошок розоватый. Ножка 2—6 x 1,5 см, эксцентрическая, иногда центральная, белая или с желто-охряным оттенком, к основанию часто суженная. Мякоть беловато-серая, при автооксидации не изменяется, плотная, с запахом отсыревшей муки, иногда — аниса.

Сапротроф. Произрастает на ильмовых, дубе, фисташке и других лиственных породах.

Встречается в Европе, Азии, Северной Америке. В СССР — на Украине, в Среднем Поволжье, на Кавказе.

P. pulmonarius (Fr.) Quél. Шляпка 3—10 см в диаметре, более или менее выпуклая, неправильно округлая, гладкая, светлоокрашенная, бледно-охристая, желтоватая или почти белая. Пластинки белые, низбегающие, без анастомозов или же они встречаются очень редко, средней ширины, тонкие, частые. Споры (7) 8–11 (12) x 3,3–4,5 мкм, цилиндрические, удлиненно-яйцевидные. Споровый порошок фиолетовый. Ножка 1–2 x 1,5 см, эксцентрическая или центральная, белая, цилиндрическая, войлочно опушенная. Мякоть белая, при автооксидации не изменяется, с анисоподобным запахом.

Сапротроф. Чаще всего произрастает на березе, реже — на других лиственных и хвойных породах.

Отмечен в Европе, Азии, Северной Америке. В СССР — преимущественно в средней и северной европейской части (до Кольского п-ва), в Сибири и на Дальнем Востоке.

P. cytrinopileatus (Sing.) Sing. Шляпка 4–6 (10) см в диаметре, слегка вогнутая, округлая, гладкая, кремовато-желтая, лимонно-желтая, позднее выцветает. Пластинки розоватые, низбегающие, с анастомозами, частые, узкие. Споры 7–8 x 3,5, цилиндрические. Споровый порошок белый с желтоватым оттенком. Ножка 1–2 x 1,5 см, центральная или эксцентрическая, желтоватая. Мякоть беловато-желтоватая, без особого запаха.

Сапротроф. Как правило, произрастает на ильмовых, реже — на других лиственных породах.

Встречается в Азии. В СССР известен лишь с юга Дальнего Востока.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Получение и хранение чистых мицелиальных культур и посевного мицелия. В опытах использовали штаммы видов рода Pleurotus, хранящиеся в коллекции живых культур высших съедобных грибов отдела микологии Института ботаники им.Н.Г.Холодного АН УССР. Выделение чистых мицелиальных культур проводили из плодовых тел на суслоагаровой среде (пивное сусло 8 °С по Баллингу, агар-агар 20 г, вода – 1 л, pH 7) при 26–28 °С согласно методике, описанной нами в книге "Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре" (1983). Часть культур, имеющихся в коллекции, была получена в порядке обмена из лаборатории биохимии грибов Ботанического института им.В.Л.Комарова АН СССР (Ленинград), отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР (Москва), Белорусского НИИ лесного хозяйства (Гомель), Всесоюзного НИИ лесоводства и мелиорации (Сочи), отдела экспериментальной микологии Микробиологического института Чехословацкой Академии наук (Прага), кафедры ботаники Ветеринарного университета (ВНР, Будапешт). Музейные культуры поддерживались методом пересева на суслоагаровую среду вышеуказанного состава один раз в 10–11 месяцев. Во избежание пересыхания культуры высевали в большие пробирки (20 $см^3$) с достаточным количеством питательной среды и хранили в холодильнике при температуре 4–10 °С. Посевной мицелий исследуемых штаммов готовили на зерне пшеницы по методу Г.Лемке (Lemke, 1972). Подробно методика приготовления посевного зернового мицелия описана нами в упомянутой выше книге. Посевной мицелий после инокуляции маточной культурой инкубировали в термостате при температуре 26–28 °С до полного обрастания субстрата. Готовый посевной мицелий хранили в холодильнике при температуре 4–10 °С.

Список исследованных штаммов видов рода Pleurotus

Вид	Нумерация штамма в коллекции Института ботаники АН УССР	Происхождение штамма
P. ostreatus	415	УССР, окрестности Киева (1984)
" "	476	ЧССР, IMCAS (1979)
" "	477	УССР, Тернопольская обл. (1983)
" "	478	ВКМ (1976)

Вид	Нумерация штамма в коллекции Института ботаники АН УССР	Происхождение штамма
P. ostreatus	481	ВНР, ВТ (1975)
" "	482	УССР, Закарпатская обл. (1975)
" "	483	УССР, окрестности Киева (1975)
" "	500	БССР, Гомельская обл. (1979)
" "	512	УССР, окрестности Киева (1976)
" "	515	То же
" "	516	БССР, Гомельская обл. (1979)
" "	521	УССР, Львовская обл. (1980)
" "	525	УССР, окрестности Киева (1980)
" "	528	БССР, Гомельская обл. (1977)
" "	529	То же
" "	800	Монокарион штамма 525
" "	802	То же
" "	813	" "
" "	837	" "
" "	838	" "
" "	844	Монокарион штамма 525 после УФ-облучения
" "	853	Дикарион, полученный при скрещивании монокарионов 800 и 844
" "	897	Монокарион штамма 525 после УФ-облучения
" "	898	Дикарион, полученный при скрещивании монокарионов 800 и 897
" "	900	Монокарион штамма 525 после УФ-облучения
" "	926	То же
" "	928	Дикарион, полученный при скрещивании монокарионов 800 и 926
" "	934	Монокарион штамма 525 после УФ-облучения
P. ostreatus f. florida	408	ЧССР, IMCAS (1983)
Тот же	475	То же (1977)
" "	487	ВНР, ВТ (1978)
" "	517	УССР, Львовская обл. (1981)
" "	518	РСФСР, Краснодарский край (1980)
" "	531	ЧССР, IMCAS (1980)
P. eryngii	413	ЧССР, IMCAS (1983)
" "	427	УССР, окрестности Киева (1982)
P. flabellatus	412	ЧССР, IMCAS (1983)
P. sajor-caju	410	То же
P. cystidiosus	414	" "
P. pulmonarius	436	ВКМ (1976)
P. cornucopiae	407	РСФСР, Краснодарский край (1980)

При описании происхождения штамма указаны административный район, где выделена культура; сокращенное название коллекции, если культура получена в результате обмена; в скобках приведен год выделения культуры. Сокращенные названия коллекций культур: ВКМ — Всесоюзная коллекция микроорганизмов, Институт микробиологии АН СССР, Москва; IMCAS — Микробиологический институт Чехословацкой Академии наук, Прага; ВТ — Ветеринарный университет ВНР, Будапешт.

Методы определения химического состава плодовых тел и субстрата. Перед проведением химических анализов образцы субстрата и плодовых тел высушивали до воздушно-сухого состояния и измельчали на электрической мельнице. Образцы субстрата просеивали через сито 1 мм. В субстратах определяли содержание золы методом прокаливания в муфельной печи при 600 °С, целлюлозы — по методу М.Кюршнера и Н.Ганека (1974), лигнина в обессмоленных образцах субстратов — по методу Ф.П.Комарова (Практические работы..., 1955). Количество целлюлозы и лигнина вычисляли в процентах абсолютно сухой массы исходной древесины, принимая, что содержание золы в образцах на протяжении культивирования остается постоянным. Индекс микогенного ксилолиза вычисляли как отношение потерь целлюлозы (%) к сумме потерь целлюлозы и лигнина (%) (Соловьев, Малышева, 1980). В образцах древесины, кроме того, определяли содержание водорастворимых веществ путем кипячения 0,5 г образца в 100 мл воды в течение 3 ч с последующим вычислением потери абсолютно сухой массы (Практические работы..., 1955).

В образцах субстрата при интенсивном культивировании, а также в плодовых телах при экстенсивном и интенсивном выращивании определяли количество общего азота по методу Кьельдаля (Сказкин и др., 1958), аминокислоты — методом кислотного гидролиза целого образца с последующим анализом на аминокислотном анализаторе "Biotronic" (Крищенко, 1983). Количество белкового азота вычисляли по сумме аминокислот. В этих же образцах субстратов и плодовых тел устанавливали также концентрацию минеральных элементов: Ca, Mg, K, Na, Fe на атомно-адсорбционных анализаторах; на CHN-анализаторе "Ково" (ЧССР) — углерода; микробиологическим методом — витаминов (биотина, тиамина, рибофлавина, никотиновой кислоты, пиридоксина) (Одинцова, 1959). В плодовых телах при экстенсивном культивировании определяли также содержание аскорбиновой кислоты (Плешков, 1976). Все анализы проводили в четырех — восьмикратной повторности.

Выращивание штаммов вешенки обыкновенной экстенсивным методом. Способы инокуляции. Различные штаммы вешенки обыкновенной выращивали в опытных лесничествах Львовского лесотехнического института на отрубках и пнях (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983). При выращивании гриба на отрубках использовали здоровую и пораженную стволовыми гнилями древесину осины, березы и бука, исследовали также плодоношение P.ostreatus на пнях бука, граба, ясеня и тополя. Урожайность плодовых тел при культивировании на каждой породе древесины устанавливали, вычисляя ее значение как среднюю величину урожайности на 20 отрубках или пнях.

Изучали различные способы инокуляции древесины посевным зерновым мицелием: на всю поверхность сплошным слоем толщиной 1 см; кольцом шириной 3 см, толщиной 1 см на заболонную часть древесины; разорванным на четыре части кольцом шириной 3 см, длиной 3 см, толщиной 1 см на заболонную часть древесины; в два надреза по всей поверхности перпендикулярно друг к другу, сделанные бензопилой на глубину 10 см; в четыре надреза на заболонной части, сделанные перпендикулярно друг другу бензопилой на глубину 10 см. Об эффективности использования того или иного способа судили по средней урожайности плодовых тел, собранных с 20 пней, инокулированных одним методом.

Изучение разложения древесины в процессе роста мицелия и плодоношения штаммов вешенки обыкновенной. Для исследования разложения древесины в процессе роста мицелия заболонную часть отрубков ясеня, ольхи и осины нарезали кубиками размером 0,5 x 0,5 x 0,5 см. Кубики, смоченные водопроводной водой (отношение массы кубиков к объему воды составило 1:5), стерилизовали в колбах емкостью 0,7 л 1 ч при 101,325 кПа (1 атм). Инокуляцию проводили блоками среды с мицелием P.ostreatus (диаметром 0,7 см), выращенным на сусло-агаре (8^{0} по Баллингу). Время инкубации 60 и 120 сут при температуре 26–28 ^{0}С. В процессе культивирования по мере испарения в колбы добавляли стерильную водопроводную воду. Повторность опытов четырехкратная.

Для изучения разложения древесины в процессе плодоношения P.ostreatus использовали инокулированные отрубки осины (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983). Опыты были заложены в Ленинском лесхозе Гомельской обл. В течение четырех лет в мае и в октябре перед началом плодоношения производили отбор образцов древесины из заболонной и сердцевинной частей отрубков, инокулированных мицелием P.ostreatus. Первый отбор образцов был сделан в мае 1977 г. Контролем служили образцы сердцевинной и заболонной частей древесины осины, не инокулированные мицелием. Повторность опытов четырехкратная. Ежегодно измеряли урожайность плодовых тел P.ostreatus.

Исследование сукцессий грибов на пнях, инокулированных вешенкой обыкновенной. Плантации пней бука, граба и березы, инокулированных посевным мицелием P. ostreatus, были заложены в Великопольском и Лелеховском опытных лесничествах Львовского лесотехнического института (Львовская обл.). Наблюдения за появлением плодовых тел грибов на плантациях и контрольных площадях проводили осенью в течение 6 лет. Обилие грибов отмечалось по такому принципу: единичное заселение — 1–2 экз., слабое — до 10 % площади пня, среднее — 11–25, сильное — более 25 и сплошное — 100.

Разложение древесины при совместном культивировании дереворазрушающих грибов и вешенки обыкновенной. Для определения влияния на рост мицелия P. ostreatus видов дереворазрушающих грибов, заселяющих древесину в процессе экстенсивного культивирования, была изучена динамика разложения осины и березы при выращивании монокультуры и совместном культивировании двух видов грибов. Древесина заболонной части березы и осины, подготовленная, как описано нами ранее (изучение разложения древесины в процессе роста мицелия вешенки обыкновенной), была инокулирована блоками сусло-агара (диаметром 0,7 см с мицелием P. ostreatus, Coriolus versicolor (Fr.) Quél., C. hirsutus (Wulf.: Fr.) Quél., Schizophyllum commune Fr., Bjercandera adusta (Fr.) Karst., Stereum hirsutum (Willd.) Pers. Культуры видов дереворазрушающих грибов получены из коллекции лаборатории биохимии грибов Ботанического института им.В.Л.Комарова АН СССР. После культивирования в течение 45, 90 и 120 сут путем взвешивания в образцах определяли потерю сухой массы древесины, а также содержание целлюлозы и лигнина по методикам, описанным выше.

Выращивание штаммов вешенки обыкновенной интенсивным методом. Штаммы выращивали на смеси опилок осины с пшеничной соломой или пшеничными отрубями в соотношении 9:1. Влажность готового субстрата составляла 70 %. Субстрат (500 г) раскладывали в полипропиленовые пакеты (25 x 20 см) и стерилизовали при 101,325 кПа 1,5 ч. Для инокуляции использовали посевной мицелий указанных выше штаммов, приготовленный по общепринятой методике (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983). Посевной мицелий вносили в количестве 5 % массы субстрата. Инокулированные пакеты ставили в термостатированное помещение при температуре воздуха 26—28 °С. После полного обрастания субстрата мицелием пакеты ставили в помещение со следующими условиями: температура воздуха 5—12 °С, влажность 89—90 %, освещение 150 лк. Появлявшиеся плодовые тела срезали, взвешивали и анализировали. В образцах субстрата после стерилизации, в момент полного обрастания субстрата мицелием, после 1-й и 2-й волн плодоношения определяли содержание золы, целлюлозы и лигнина по методикам, описанным выше.

Штаммы культивировали на пшеничной соломе, а также смеси пшеничной соломы и коры хвойных пород в соотношении 1:1. Субстрат ферментировали (подвергали обработке горячим паром при температуре 130 °С в течение 2 сут). Максимальная температура субстрата при этом составила 60 °С. После охлаждения субстрат раскладывали либо по 5 кг в полиэтиленовые кюветы высотой 20 см с перфорацией для выращивания P. ostreatus обычным способом, либо по 20 кг — в металлические контейнеры с перфорацией, выстеленные полиэтиленовой пленкой для культивирования в высоком слое (50 см). Инокуляцию кювет или контейнеров проводили посевным зерновым мицелием в количестве 5 % массы субстрата и закрывали полиэтиленовой пленкой. Кюветы и контейнеры с инокулированным субстратом инкубировали при 24—26 °С до полного обрастания субстрата мицелием. В субстратах до и после ферментации, через 10—14 и 40—47 сут после инокуляции определяли потерю сухой массы, содержание целлюлозы и лигнина по методикам, описанным выше.

Определение динамики разложения лигнина в субстрате в процессе роста мицелия видов рода вешенка. Динамику разложения лигнина в процессе роста видов рода Pleurotus на пшеничной соломе с использованием изотопного метода исследовали в Институте биофизики Сибирского отделения АН СССР (Красноярск).

Субстрат для культивирования грибов состоял из пшеничной соломы (50 %), меченной по углеродному атому с удельной активностью 25 мкКи $\cdot$ г$^{-1}$, измельченных корней пшеницы (20 %) и неактивной измельченной пшеничной соломы (30 %). Добавление неактивной (немеченой) соломы, которую не подвергали предварительной экстракции этанолом и водой, в отличие от активной соломы, с которой эту операцию проводили в процессе введения метки, позволило избежать добавления минеральных солей и таким образом приблизить свойства этого субстрата к естественным. Влажность субстрата доводили до 70 % стерильной водопроводной водой. Субстрат стерилизовали при 101,325 кПа 30 мин. Для культивирования использовали флаконы из-под антибиотиков с пробками из фторопласта с двумя воздуховодами. Во флаконы помещали по 100 мг субстрата. После стерилизации вносили несколько кусочков инокулюма размером 2 x 2 x2 мм. Культивирование проводили при 25—27 ^{0}С до полного пронизывания субстрата мицелием, а затем при 14—16 ^{0}С. Длительность эксперимента составила 56 сут. Отбор проб осуществляли следующим образом: газ из флакона, где происходил рост гриба, подавали по тонкому силиконовому шлангу с помощью перистальтического насоса в другой флакон, содержащий диск фильтровальной бумаги, смоченной 10 % раствором КОН. По другому шлангу газ возвращался в первый флакон. Принудительную циркуляцию газа по замкнутому контуру осуществляли в течение 1 ч со скоростью 10 мл$\cdot$ мин$^{-1}$. Затем контур размыкали и флаконы продували свежим стерильным воздухом, а бумажные диски радиометрировали. Активность определяли по количеству $^{14}CO_2$, выделившегося в процессе роста грибов.

Определение ферментативной активности видов рода вешенка. Для культивирования штаммов использовали жидкую питательную среду, содержащую следующие компоненты: $NH_4H_2PO_4$ — 0,2 г, KH_2PO_4 — 0,06 г, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ — 0,04 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,05 г, измельченной (2 мм) лузги подсолнечника — 1,0 г, воды водопроводной — до 100 мл. Колбы Эрленмейера объемом 50 см^3 с 10 мл указанной среды инокулировали блоками среды диаметром 0,7 см с мицелием семисуточных культур грибов, выращенных на сусло-агаре. Культивирование проводили в стационарных условиях при 28 ^{0}С на протяжении 3 и 7 сут в трехкратной повторности. Активность монофенол-монооксигеназы (класс ферментов (КФ) 1.14.18.1) определяли по скорости окисления бензидина спектрофотометрическим методом (Семичаевский, 1985), используя калибровку по кислороду, проведенную с помощью электрода Кларка (Семичаевский и др., 1984). Единица активности монофенол-монооксигеназы соответствует скорости поглощения кислорода (мкмоль мин$^{-1}$ мл$^{-1}$). Активность эндо-1,4 β-глюканазы (КФ 3.2.1.4) определяли по начальной скорости уменьшения вязкости 0,3 % раствора карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) в ацетатном буфере (pH 4,0) при 40 °C (Родионова и др., 1966), % · мин$^{-1}$ · мл$^{-1}$. Способность комплекса целлюлаз к осахариванию КМЦ (КМЦ-активность) фильтровальной бумаги (ФБ-активность) определяли по выходу глюкозы (Родионова и др., 1966), используя метод Хагедорна-Йенсена (Тодоров, 1968), мкмоль · ч$^{-1}$ · мл$^{-1}$.

Выделение моноспоровых культур, определение факторов несовместимости. Выделение моноспоровых культур проводили на суслоагаровой среде (4° по Баллингу, pH 7). Суспензию спор в дистиллированной воде объемом 0,5 мл (плотность 10^7 спор в 1 мл^3) помещали в центр чашки Петри (диаметр 0,8 см), используя разведение в $10-10^6$ раз. Для равномерного распределения спор по поверхности суспензию растирали шпателем. При выделении моноспоровых культур использовали только те чашки Петри, количество спор в которых не превышало 10–20, что соответствовало разведению 10^5-10^6. Через 2–5 сут инкубирования чашек со спорами при температуре 26–28 °C поверхность питательной среды просматривали под микроскопом, стерильно вырезали кусочки агара с одиночными спорами на стадии появления ростовой трубки и переносили их на свежую суслоагаровую среду. Монокариотичность выделенных культур проверяли под микроскопом (x 400). Монокарионы пересевали и хранили в условиях, которые описаны нами ранее при рассмотрении вопроса получения и хранения чистых мицелиальных культур и посевного мицелия.

Для определения факторов несовместимости полученных монокарионов выделяли тест-культуры, т.е. штаммы, имеющие одно из сочетаний генетических факторов A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2, A_2B_1. Для определения тест-культур десять произвольно взятых моноспоровых изолятов каждого исследуемого штамма были посеяны на чашках Петри с сусло-агаром. После достижения диаметра колонии 5–6 см сверлом по периферии были вырезаны блоки среды (диаметр 0,7 см) с мицелием. Блоки переносили в другие чашки Петри с сусло-агаром и располагали друг напротив друга на расстоянии 3–5 мм во всех возможных сочетаниях. В одну чашку Петри помещали два блока мицелия разных культур. Через 6–8 сут линию соприкосновения колоний диаметром 5–6 см микроскопировали (x 400) для обнаружения пряжек. Результаты наблюдений: присутствие или отсутствие пряжек, наличие валика между колониями записывали в таблицу. Определение тест-культур на примере скрещивания конкретных монокарионов *P. ostreatus* рассмотрено в главе 4.

Тест на образование примордиев моно- и дикарионами вешенки обыкновенной. Определение способности ~~изолята~~ к образованию примордиев на моно- и дикариотической стадиях проводили следующим образом. Штамм выращивали в чашках Петри на специально приготовленной питательной среде по методике Г.Эгер (Eger, 1974): 20 г мальц-экстракта Дифко размешивали в 250 мл дистиллированной воды, доводили до pH 1,5 титрованием с 1 н NaOH, добавляли 1,4 г $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ и автоклавировали 15 мин при 121 °C. После охлаждения экстрат фильтровали, к 75 мл фильтрата добавляли 7,6 г агар-агара и вновь автоклавировали 15 мин при 121 °С. Конечный рН был 4,85–4,95. В чашки Петри (диаметр 8,5 см) наливали по 15 мл среды. Инокулюм, взятый из зоны роста мицелия, адаптированного к полной темноте, помещали в центр чашки Петри. Моно-ли дикарион выращивали в полной темноте при 26–28 °С. В момент, когда до края чашки Петри оставалось 1–2 мм, в центр колонии добавляли 1 мл 0,05 М Na-фосфатного буфера (рН 6,5) с 2 % аспарагина. Все процедуры, связанные с контролем за ростом культуры, проводили при красном свете. После внесения фосфатного буфера и аспарагина культуру освещали круглосуточно лампами дневного света с интенсивностью 1 500 лк. Образование примордиев проверяли при температурах 22–24 и 10–15 °С. Через 10 сут проводили подсчет количества примордиев в чашках Петри для каждого штамма.

Облучение спор вешенки обыкновенной УФ-лучами. Облучение спор УФ-лучами проводили в Институте микробиологии Чехословацкой Академии наук (Прага)[1], используя методику М.Семерджиевой и М.Блумаровой (Semerdžieva, Blumauerová, 1973). Суспензию спор P. ostreatus штамма 525 в дистиллированной воде (плотность 6×10^6 спор в 1 мл) в чашках Петри (диаметром 3 см) помещали под источник УФ-лучей на расстоянии 22 см. При облучении суспензия спор перемешивалась с помощью магнитной мешалки. Время облучения составило 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 8, 12 мин, интенсивность облучения – 6 $Дж \cdot м^{-2} \cdot с^{-1}$, дозы облучения – 360, 540, 720, 900, 1 080, 1 260, 1 440, 1 800, 2 880 и 4 320 $Дж \cdot м^{-2}$ соответственно. Контролем служили необлученные споры.

После облучения суспензию спор разводили в 10–10^6 раз, наносили по 0,5 мл на поверхность сусло-агара в чашки Петри (диаметр 8 см) и растирали шпателем. Чашки со спорами инкубировали при 28 °С. Для каждого варианта разведения использовали по четыре чашки Петри. Контроль за прорастанием спор через 48 и 96 ч проводили под микроскопом (x 400). Монокарионы из каждого варианта облучения выделяли, как описано ранее.

Рост мицелия штаммов вешенки обыкновенной при различных температурах. Штаммы выращивали на суслоагаровой среде в чашках Петри (диаметр 8,5 см). Инокулюмом служил блок среды с мицелием (диаметр 0,7 см), вырезанный из зоны роста пятисуточной культуры. Диаметр колонии измеряли на 3, 5, 7, 10-е сутки при 8, 22, 28 и 37 °С в темноте. Для вычисления удельного ростового коэффициента (РК) измеряли высоту колонии и определяли ее плотность (по трехбалльной шкале) (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983): РК = Диаметр х плотность х высота / количество суток. Повторность опытов пятикратная.

Рост мицелия вешенки обыкновенной на средах с различными источниками углерода и азота. Исходную культуру выращивали в чашках Петри на

---

[1] За большую помощь, оказанную в постановке экспериментов, приносим благодарность сотрудникам отдела экспериментальной микологии Института микробиологии Чехословацкой Академии наук докторам М.Семерджиевой, М.Станеку и В.Шашеку.

глюкозоаспарагиновом агаре (глюкоза — 10 г, аспарагин — 0,4 г, KH_2PO_4 — 1 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,5 г, агар-агар — 20 г, вода — 1 л). По краю колонии пятисуточной культуры сверлом (диаметр 0.7 см) вырезали блок среды с мицелием и инокулировали им одну колбу. В опытах применяли конические колбы объемом 100 $см^3$ с 10 мл среды. Выращивание проводили на жидкой питательной среде в поверхностной культуре в термостате при температуре 26—28 °C в течение 14 сут. Использовали следующие источники углерода: глюкозу, фруктозу, ксилозу, мальтозу, сахарозу, арабинозу, галактозу, лактозу в концентрации 4 г $С \cdot л^{-1}$, а также источники азота: $(NH_4)_2SO_4$, KNO_3, аланин, треонин, глицин, аспарагиновую кислоту, глютаминовую кислоту, глютамин в концентрации 0,2 г $N \cdot л^{-1}$. Повторность опытов четырехкратная. После отфильтрования среды биомассу промывали и сушили при температуре 105 °C до постоянной массы. В таблицах 1 и 6 приведены относительные значения биомассы, вычисленные как разница между величиной биомассы, накапливаемой штаммом P. ostreatus на среде с определенным источником углерода или азота, и биомассой, образуемой этим штаммом на безуглеродистой или безазотистой среде соответственно.

Изучение количественных закономерностей наследования характеристик роста мицелия вешенки обыкновенной. Использовали монокариотические штаммы 802, 813, 837, 838, 844, 900 и 934, выделенные из спор штамма P. ostreatus 525. Монокарионы были разбиты на две группы, отличающиеся по набору факторов несовместимости. Штаммы 802, 837 и 838 имели факторы A_1B_1, штаммы 813, 844, 900 и 934 — A_2B_2. Для образования дикарионов скрещивали пары совместимых монокарионов по общепринятой методике (Eger et al., 1976). Выделение монокарионов и их скрещивание проводили при 28 °C. Полученные дикарионы и составляющие их монокарионы культивировали в темноте на суслоагаровой среде в чашках Петри в холодильнике при 8 °C, в термостате при 28 и 37 °C. Инокулюмом являлся блок суслоагаровой среды (диаметр 0,7 см) с мицелием, вырезанный из зоны роста пятисуточной культуры. Диаметр колоний измеряли на 3, 7 и 10-е сутки роста. Повторность опытов шестикратная.

Анализ микрофлоры субстратов при интенсивном культивировании вешенки обыкновенной. В субстратах (пшеничной соломе, смеси пшеничной соломы и коры) на разных стадиях подготовки и роста мицелия штаммов P. ostreatus при культивировании обычным способом (слоем 20 см) и в высоком слое (50 см) определяли количественный состав различных групп микроорганизмов. Для выделения бактерий использовали среду Торнтон следующего состава: KNO_3 — 0,5 г, K_2HPO_4 — 1 г, $MgSO_4$ — 0,2 г, $CaCl_2$ — 0,1 г, NaCl — 0,1 г, $FeCl_3$ — 0,02 г, аспарагин — 0,5 г, маннит — 1 г, агар-агар — 15 г, вода дистиллированная — до 1 л. Для выделения грибов использовали среду такого состава: глюкоза — 10 г, $NaNO_3$ — 1 г, K_2HPO_4 — 1 г, агар-агар — 15 г, бенгальский красный — 0,07 г, вода дистиллированная — до 1 л. После остывания среды до 36—38 °C в нее добавляли стрептомицин или ауреомицин в концентрации 100 ед $мл^{-1}$. Для выделения лигнинразрушающих микроорганизмов в эти среды вместо источников углерода добавляли препарат Na-лигнина (2 %). Для выделения целлюлозоразрушающих микроорганизмов на поверхность питательных сред указанного выше состава без источников углерода были наложены диски фильтровальной бумаги.

Образцы субстрата размельчали до 0,5—0,7 см, затем готовили 1%-ную суспензию субстрата в стерильной воде, взбалтывая колбы в течение 10 мин на шутель-аппарате. Для выделения грибов и бактерий использовали разведение 10^5-10^6, тщательно встряхивая пробирку с суспензией на гомогенизаторе. На поверхность питательной среды в чашки Петри наносили по 1 мл суспензии. Повторность пятикратная. Чашки Петри с нанесенной суспензией исследуемого образца инкубировали при 25 и 50 °С, учет колоний проводили ежедневно. Количество факультативных анаэробных микроорганизмов определяли при инкубировании чашек Петри при 25 °С в иксикаторе после откачки воздуха и замены его на 90 % азотом.

Для выделения аэробных спорообразующих бактерий использовали метод прогрева с последующим высевом прогретой суспензии на мясопептонный агар и среду Громыко (Смирнов и др., 1982).

Морфологические культуральные и биохимические свойства отобранных культур изучали согласно рекомендациям А.Д.Смирнова с соавт. (1982). Определение видовой принадлежности проводили по схемам, приведенным в соответствующем определителе (Kundrat, 1963).

Для видовой идентификации изучали морфолого-культуральные признаки, такие, как окраска по Граму, форма колоний, наличие пигмента, расположение и форма спор, клеток со спорой, размеры клеток, способность к росту в анаэробных условиях и при различных температурах, наличие глобул в протоплазме, а также биохимические признаки: образование кислоты и газа на средах Омелянского с глюкозой, арабинозой, ксилозой, маннитом, продукция газов из нитратов в анаэробных условиях, редукция нитратов, гидролиз крахмала, казеина, лецитина, мочевины, образование сероводорода, индола, ацетилметил-карбинола.

Математическая обработка результатов. Оценку статистической достоверности полученных данных проводили согласно методам, использующимся при планировании медико-биологических экспериментов (Лакин, 1980). На первом этапе для качественной оценки изменчивости выборки определяли среднее арифметическое (M), среднее квадратическое отклонение (S), квадратическую ошибку среднего арифметического (m), коэффициент вариации (C) и надежность (p). Для оценки существенности влияния различных уровней факторов на исследуемый объект или процесс на втором этапе обработки данных применяли дисперсионный анализ. После проведения дисперсионного анализа определяли, какие именно уровни факторов отличались по средним значениям отклика. Для определения значимости различий M_1 и M_2 двух выборок применяли критерий Стьюдента. Математическая обработка экспериментальных данных программно реализована на диалоговом языке уровня DIASP в операционной системе РАФОС. Расчеты произведены на ЭВМ СМ-3.

ГЛАВА 3

МЕХАНИЗМЫ ПЛОДОНОШЕНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ РОДА ВЕШЕНКА

Современная технология выращивания высших съедобных базидиомицетов должна основываться на знании механизмов плодоношения объекта культивирования и учитывать факторы, влияющие на этот процесс. Генетические основы плодоношения у высших базидиомицетов до конца не ясны, хотя существует ряд работ (Esser et al., 1977; Leslie, Leonard, 1984; Verrinder, Lu, 1984), посвященных этим аспектам дифференциации у отдельных видов.

У высших базидиомицетов существуют две основные фазы формирования плодовых тел: инициация и морфогенез (Reijnders, 1963). Инициация — образование примордиев как проявление изменений в генетическом и морфологическом состоянии мицелия, в значительной степени зависящее от внешних условий. Морфогенез — развитие примордиев в дифференцированные репродуктивные структуры, также зависящее как от генетических факторов, так и от условий окружающей среды. С точки зрения биотехнологии промышленного культивирования необходимо контролировать развитие обеих фаз, первая из которых, в свою очередь, зависит от развития мицелия. Для многих видов базидиомицетов фазе инициации обязательно должна предшествовать плазмогамия двух гаплоидных генетически совместимых мицелиев, согласно схеме биполярной или тетраполярной совместимости (Kühner, 1977). Вместе с тем отмечена возможность образования примордиев не только на ди-, а и на монокариотическом мицелии. Это явление описано у 12 видов порядка Agaricales, в том числе представителей рода Pleurotus (Eger, 1974; Esser, 1978; Chandrashekar et al., 1981).

Монокариотическое плодоношение — это способность выросшего из одноядерной базидиоспоры мицелия образовывать плодовые тела или структуры, подобные плодовым телам (Esser, 1978). Впервые это явление было описано в 1902 г. Майером (Esser, 1978). Схематически процесс монокариотического плодоношения заключается в следующем: гаплоидное ядро делится митотически, дочерние ядра мигрируют в две стеригмы, которые формируются вместо нормальных четырех. Таким образом, двуспоровая базидия монокариотического плодового тела является не продуктом полового цикла, а частью вегетативного цикла и подобна конидии (Stahl, Esser, 1976). К.Эссер (Esser, 1978) предложил схему генетического контроля образования плодовых тел на моно- и дикариотическом мицелии (рис. 1). По его

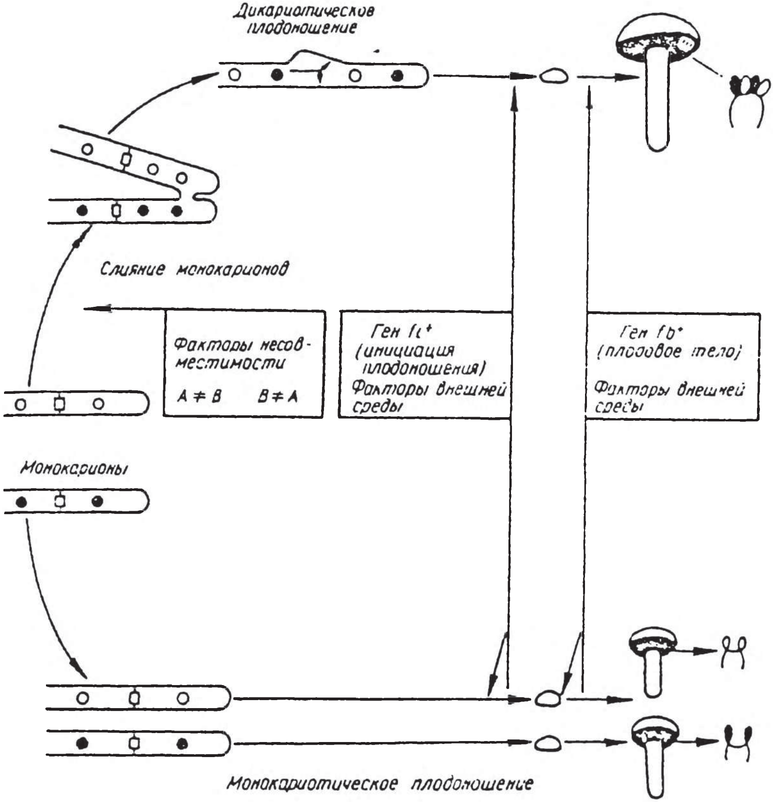


Рис. 1. Схема генетического контроля моно- и дикариотического плодоношения Agrocybe aegerita (по K. Esser, 1978)

мнению, существует ген инициации плодоношения (fi^+), без которого невозможен переход мицелиального роста в рост плектенхимной ткани. Он контролирует образование только деформированных ножек. При подключении второго гена (fb^+) формируется нормальное плодовое тело со шляпкой. Однако есть третий ген (mod^+), который имеет эпистатическое действие на плодоношение. Присутствие этого гена в активной форме, несмотря на наличие первых двух, предопределяет образование только бесформенных комков, не дающих спор. Все перечисленные выше гены полностью независимы от факторов несовместимости, но тесно связаны с внешними условиями. Следовательно, у ряда видов высших базидиомицетов образование плодовых тел или структур, подобных плодовым телам, не зависит от полового цикла.

Наличие обеспечивающих скрещивание факторов несовместимости не является необходимым условием для начала плодоношения, которое может происходить и в вегетативной фазе. Изучение моно- и дикариотического плодоношения Agrocybe aegerita Fr. (Sing.) и Polyporus brumalis (Pers.: Fr.) Fr. показало (Esser, Meinhardt, 1977), что фазу инициации как у моно- так и у дикарионов контролирует единственный ген *fi⁺*. Вместе с тем обнаружено (Leslie, Leonard, 1979), что инициацию плодоношения у монокарионов Schizophyllum commune контролируют по меньшей мере восемь генов. Используя метод дедикариотизации, Дж. Лесли и Т.Леонард (Leslie, Leonard, 1984) доказали, что гены, контролирующие монокариотическое плодоношение этого вида, находятся в ядре, а не в цитоплазме, и не перемещаются при формировании дикариона из одного ядра в другое. Внеклеточный экстракт плодовых тел и дикариотического мицелия Coprinus macrorhizus (Fr.) Real. и других видов высших базидиомицетов индуцирует образование плодовых тел на монокариотическом мицелии (Uno, Ishikawa, 1971). Стимуляция плодоношения этим веществом контролировалась как генетическими факторами, так и факторами окружающей среды. Выделенное соединение состояло из двух фракций белка и аденозин-3′, 5′-монофосфата или аденозин-3′-монофосфата.

Важнейшее значение в инициации плодоношения у моно- и дикарионов имеют освещение, температура и состав питательной среды. Необходимыми условиями индуцирования примордиев P. ostreatus f. florida в культуре на плотной питательной среде являются: синхронизация мицелиального роста путем использования инокулюма, взятого из зоны роста хорошо развитого мицелия; культивирование мицелия в полной темноте; использование индукторов в период наибольшей чувствительности мицелия (Madelin, 1956; Eger, 1970a, b). Существует мнение (Lohwag, 1952; Jablonsky, 1975), что образование примордиев у P. ostreatus не зависит от освещения, которое является важным фактором только при формировании зрелых плодовых тел. Однако большинство исследователей (Badcock, 1943; Koch, 1958; Passecer, 1959; Cailleux et al., 1973; Eger, 1980) считают, что свет необходим для образования не только плодовых тел, но и примордиев P.ostreatus.

По классификации Г.Эгер (Eger, 1980), P. ostreatus относится к Б-типу (рис. 2). Примордии не образуются, если мицелий не был экспонирован на свету с длиной волны короче 600 нм (Eger et al., 1974). В условиях полной темноты в течение 3 сут плодовые тела на любой стадии развития вновь превращаются в мицелий.

Так же как и для других индуцируемых морфогенетических процессов, период наибольшей чувствительности мицелия P.ostreatus к свету очень короткий. Он включает несколько часов до и после момента полного зарастания чашки Петри. У Favolus arcularius (Fr.) Ames. (Kitamoto et al., 1974) увеличение интенсивности освещения вызывало более раннее образование примордиев и развитие плодовых тел. Для штаммов вешенки обыкновенной только увеличение температуры ускоряло процесс индуцирования примордиев (Eger et al., 1974). Если температура сохранялась постоянной, то как при низкой (200 лк), так и при высокой (1 500 лк) интенсивности освещения, как при постоянной освещенности, так и при чередовании света и темноты видимые изменения в культуре после начала освещения происходили синхронно. Вскоре после действия света верхушечный рост гиф замедлялся. Через 24 ч поверхность края колонии начинала уплотняться. Через 3 сут начинали формироваться небольшие уплотненные клубочки, а через 4 сут — первые видимые примордии. Их количество возрастало с увеличением интенсивности освещения вплоть до 7-х суток. При оптимальных условиях (соответствующие состав среды и освещение) количество примордиев составило до 4 000±500 экз. на одну чашку Петри (Eger et al., 1974). Изученные дикарионы, выделенные из спор одного плодового тела, отличались по реакциям на интенсивность освещения в пределах от 100 до 1 500 лк. При интенсивности выше 2 000 лк количество примордиев у всех штаммов уменьшалось, при 10—15 тыс. лк оно равнялось нулю. Использование высокой освещенности приводило к образованию на поверхности колонии пушистых комочков, напоминающих по виду настоящие примордии, которые держали в полной темноте (Eger, et al., 1974).

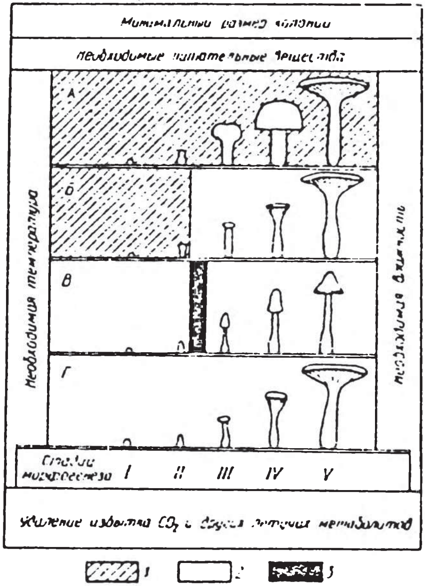


Рис. 2. Потребности в различных факторах для плодоношения высших базидиомицетов (по G.Eger, 1980): *А* — Agaricus bisporus, *Б* — Lentinus tigrinus, *В* — Coprinus congregatus, *Г* — Favolus arcularius:

1 — безразличное отношение к освещению и темноте, *2* — необходимо освещение, *3* — необходима темнота

Можно выделить три этапа в процессе формирования примордиев P. ostreatus, зависящие от света. Первый из них проявляется в ингибировании мицелиального роста, изменении поверхностных структур мицелия, приводящем к появлению первых примордиев, и требует низкой освещенности. На втором этапе с ростом освещенности количество примордиев увеличивается до определенных пределов. Он характеризуется более высокой энергоемкостью. На третьем даже высокие дозы освещенности не ингибируют появление примордиев (Eger et al., 1974). Кроме световых реакций известны по меньшей мере два этапа в морфогенезе примордиев, которые могут происходить в условиях полной темноты: превращение примордиев в мицелий и нейтрализация до определенной степени угнетающего действия предшествовавшей высокой интенсивности освещения.

При изучении образования плодовых тел у различных видов базидиальных грибов показано, что действие света на фазу инициации малоэффективно при наличии обильного воздушного мицелия (Perkins, 1969). Для того чтобы избежать этого, нужно использовать сравнительно бедную питательными веществами среду с небольшим содержанием фосфора. Г.Эгер (Eger, 1970а) показала, что количество примордиев у P. ostreatus f. florida зависит от внесения различных источников азота в момент наибольшей чувствительности мицелия. Этим же автором доказано, что аспарагин индуцирует образование наибольшего числа примордиев по сравнению с пролином, аргинином, аланином, фенилаланином и мочевиной. Аналогичным стимулирующим действием обладает глютамин и аспарагиновая кислота (Von Netzer, 1978). Такие же результаты по индуцированию образования примордиев аспарагином и глютамином были получены для P. cornucopiae (Mamoun, Delmas, 1984). При изучении культуры P. ostreatus в двойном слое оказалось, что увеличение поступления аспарагина в гифы происходит в основном в осаещенных участках, находящихся перед инициацией плодоношения. Механизм влияния аспарагина и других аминокислот — активаторов образования примордиев пока неизвестен. Количество примордиев зависит не только от состава питательной среды, но и от ее количества в чашке Петри. Вместе с тем линейная скорость роста мицелия при различных количествах среды остается постоянной (Eger et al., 1974).

В процессе образования примордиев значительно изменяется ферментативная активность культуры. Сравнение спектров ферментов, продуцируемых в фазах роста мицелия и формирования примордиев, свидетельствует о том, что наибольшая активность протеиназ отмечена у P.ostreatus в фазе инициации. Лакказная и пероксидазная активность в этот период отсутствуют (Jablonsky, 1981). Аналогичные данные были получены А.Вон Нетзер (Von Netzer, 1978). Усиление протеиназной активности при переходе от мицелиального роста к росту плектенхимной ткани описано и у других видов грибов: Lentinus edodes (Berk.) Sing., Agrocybe aegerita (Jablonsky, 1981). В процессе развития плодовых тел P.ostreatus обнаружено значительное увеличение активности α-D-галактозидазы и β-D-глюкозидазы. По-видимому, эти ферменты также участвуют в определенных фазах морфогенеза (Michalski, Beneke, 1969).

Опыты, проведенные Г.Эгер (Eger, 1974), показали, что в результате скрещивания совместимых монокарионов, не образующих примордиев, получаются дикарионы, которые также были либо не способны формировать примордии (78 %), либо образовывали их в очень малом количестве. При скрещивании совместимых монокарионов, для которых характерно образование примордиев, 96 % дикарионов имели примордии, а 18 % из них давали 200 и больше примордиев на одну чашку Петри. Г.Эгер (Eger, 1974) получила результаты, свидетельствующие о том, что, хотя при скрещивании неплодоносящих монокарионов с высоко продуктивным монокарионом соотношение дикарионов, формирующих и не формирующих примордии, остается тем же, что и при скрещивании с менее продуктивным, но знаительно возрастает количество дикарионов, образующих 200 и более примордиев. Анализ дикарионов первого поколения, полученных при разных вариантах скрещивания, показывает (Takemaru, 1961), что процесс образования примордиев у P. ostreatus контролируется не единственным геном, как у Collybia velutipes (Fr.) Sing.

Представленные выше результаты свидетельствуют о том, что наследование признака способности формировать примордии у P. ostreatus носит количественный характер (Eger, 1974).

Так же как и у других высших базидиомицетов — Coprinus macrorhizus, C. domesticus (Fr.) S.F. Gray (Chapman, Fergus, 1973; Morimoto, Oda, 1973), у P. ostreatus условия, оптимальные для образования примордиев и плодовых тел, различны. Существует своего рода конкуренция: растущие плодовые тела подавляют дальнейшее образование примордиев, а массовое формирование примордиев тормозит развитие плодовых тел.

Еще в 1889 г. О.Брефельд (Eger, 1980) доказал, что голубой свет в наибольшей степени стимулирует инициацию и образование плодовых тел грибов родов Coprinus и Sphaerobolus (Eger, 1980). В последние годы получены результаты, свидетельствующие, что не только голубая, но и зеленая, и даже желто-оранжевая часть спектра активирует процесс плодоношения грибов (Eger, 1980). Красный свет спектра был неэффективен. При изучении влияния света на морфогенетическую фазу плодоношения P. ostreatus оказалось, что, как и у других светозависимых грибов — Coprinus macrorhizus и Schizophyllum commune (Chapman, Fergus, 1973; Schwalb, Shanler, 1974), вторая и третья стадии у этого вида имеют положительный фототропизм, а четвертая — отрицательный геотропизм (Terakawa, 1956; Block et al., 1959; Eger, 1980) (рис. 3). Однако P. ostreatus отличается от других исследованных видов наличием второй фототропической фазы. Она характеризуется тем, что края шляпки, на которые падает больше света, растут быстрее и в направлении к источнику света. Это придает плодовым телам P. ostreatus их типичную эксцентрическую форму (Block et al., 1959; Gyurko, 1972). При рассеннном свете образуются круглые шляпки на вертикальных ножках. В то время как первая фототропическая и геотропическая фазы взаимно исключают друг друга, геотропическая и вторая фототропическая фазы частично перекрываются (Eger, 1980). В течение первой фототропической фазы плодовое тело может сделать поворот на 90^0, во время геотропической фазы были отмечены повороты плодовых тел на 180^0.

Фототропизм более выражен при слабом освещении и (или) при недостаточной вентиляции. Проведенные нами опыты показали, что фототропизм P. ostreatus f. florida штамма 518 проявлялся в повороте плодового тела к источнику света со скоростью 5–6^0 в сутки, хотя зависимость эта имела нелинейный характер (Бисько, Посудин, 1985). Фототропические реакции требуют меньше световой энергии и времени, чем инициация плодоношения. Развитие плодового тела также активируется синим светом (Eger, 1980; Бисько, Посудин, 1985). Изучение мутантов с нарушением фото- и геотропических реакций, полученных при обработке спор P. ostreatus 1-метилostreatus, выделенных в Испании и ФРГ. Оказалось, что плодоношение гибридных дикарионов было стабильным при температурах 22 и 30 °С. Эта устойчивость всегда носила доминантный характер. Автором отмечено, что все дикарионы независимо от составляющих их монокарионов давали при повышенных температурах более светлые плодовые тела. При 30 °С все плодовые тела всех штаммов были кремовыми или белыми. Другие морфологические характеристики плодовых тел, такие, как форма и размер, имели значительный разброс как при низких, так и при высоких температурах. Кроме того, плодовые тела, формирующиеся при низкой температуре, имели более плотную и компактную текстуру, чем плодовые тела, развивающиеся при повышенной температуре.)

В процессе проведения экспериментов было обнаружено два дикариона, полученных при скрещивании монокарионов P. ostreatus f. florida, которые обладали способностью образовывать плодовые тела при 32,5 °С – наибольшей температуре, отмеченной для плодоношения штаммов видов рода Pleurotus (Li, 1980). Эта высокая температурная устойчивость связана со специфическим взаимодействием конкретных монокарионов в каждом отдельном случае. Скрещивание с другими монокарионами, полученными из того же штамма, дали дикарионы, устойчивые к плодоношению только при 30 °С (Li, 1980). Способность плодоносить при высоких температурах носит доминантный характер и контролируется единственным геном (F_t/f_t) как у моно-, так и у дикарионов (Li, 1980). Не было найдено какой-либо корреляции между распределением доминантной аллели у F_t и факторами несовместимости. Доминантная аллель этого гена отвечает за устойчивость к повышенным температурам при инициации плодоношения и при развитии плодовых тел. Можно предположить, что этот ген осуществляет регуляторный контроль над всеми генами, контролирующими плодоношение, подобно модели механизма регуляции ферментов у бактерий (Jacob, Monod, 1961). Основным положением этой модели является то, что имеется регуляторный ген, который осуществляет подавление генов, контролирующих структуру ферментов. В индуцируемых и в подавляемых ферментных системах определенные факторы могут либо активировать, либо инактивировать репрессор. У P. ostreatus гены, контролирующие плодоношение, неактивны в темноте и активны на свету. Таким образом, свет можно рассматривать как инактивирующий репрессор, действующий на ген F_t/f_t. Вероятно, доминантная аллель F_t кодирует пептид, который функционирует как при низкой, так и при высокой температуре, в то время как продукт рецессивной аллели f_t термоустойчив. Поэтому при повышенных температурах у штаммов "зимнего" типа гены, контролирующие плодоношение, подавлены и плодовые тела не образуются (Li, 1980). Поскольку доказано, что ген F_t/f_t контролирует все стадии плодоношения, можно предположить, что кодируемый им фермент связан с фоторецепцией, а также с процессами образования или переноса энергии.

Для морфогенетической фазы P. ostreatus характерна наивысшая актив ность лакказы (Jablonsky, 1975). Подобная корреляция между активностью этого фермента и образованием плодовых тел обнаружена и для другого дереворазрушающего гриба — Schizophylum commune (Leonard, 19..

В связи с явлением аллергии, вызываемой спорами грибов, в том числе и спорами P.ostreatus (Zadražil, 1973, 1974a; Schuz et al., 1974), ценным признаком рекомендуемых в промышленную культуру штаммов является бесспоровость. Бесспоровые штаммы Coprinus macrorhizus были получены при обработке мутагенами (Takemaru, Kamada, 1971). В этом случае признак бесспоровости мог быть передан при моно- и дискрещиваниях, т.е. ген, отвечающий за него, был локализован в мигрирующем ядре. Изолированы также бесспоровые штаммы Coprinus congregatus (St. Amans) Fr. (Ross et al., 1976), для которых этот признак был связан с вирусоподобными частицами, найденными у монокариотического мицелия в протоплазме, а у дикариотического — в ядре (Ross et al., 1976). Бесспоровый дикарион P. ostreatus f. florida получен случайно при скрещивании монокарионов (Eger, 1970a). Однако низкая урожайность этого штамма не позволила рекомендовать его для промышленного культивирования. Попытка вести селекцию путем применения моно- и дискрещиваний привели Г.Эгер с соавт. (Eger et al., 1974) к заключению о том, что наследование признака бесспоровости происходит только в том случае, если в качестве монокариона используется изолят того же штамма P. ostreatus f. florida и то нерегулярно. Признак бесспоровости у P. ostreatus f. florida не связан с вирусной инфекцией, как у Coprinus congregatus (Leal-Lara, 1978). Использование метода дедикариотизации (Leal-Lara, Eger, 1982) позволило доказать, что ген (гены) бесспоровости несет ядро штамма P. ostreatus f. florida F 42, как в моно-, так и в дикариотической стадии, т.е. ген доминантен (Leal-Lara, 1978). В процессе дедикариотизации признак бесспоровости не исчезает.

Таким образом, на процесс образования примордиев, являющийся наиболее важным этапом в селекции высокопродуктивных штаммов видов рода Pleurotus, влияют следующие факторы: интенсивность освещения, температура, состояние культуры, содержание в среде питательных веществ. В свою очередь, при разработке технологии промышленного культивирования видов рода Pleurotus следует учитывать, что образование плодовых тел соответствующего габитуса в основном зависит от интенсивности освещения и спектрального состава света, температуры и количества углекислого газа в воздухе.

ГЛАВА 4
ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ ШТАММОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ РОДА ВЕШЕНКА

К культивируемым штаммам интенсификации производства предъявляет ряд требований: высокую урожайность за максимально короткий период; способность расти на различных целлюлозо-и лигнинсодержащих отходах сельского хозяйства и промышленности; высокую конкурентоспособность по отношению к бактериям и несовершенным грибам; способность образовывать плодовые тела при температуре, незначительно отличающейся от температуры роста мицелия; отсутствие спор; приятный вкус, запах и высокую питательность плодовых тел; возможность хранить и транспортировать грибы без потери их качества.

Несмотря на значительную природную вариабельность генофонда видов рода Pleurotus, для получения штаммов, обладающих перечисленными выше ценными свойствами, необходима целенаправленная селекционная работа. Наиболее интенсивно селекция видов рода вешенка ведется в лабораториях ФРГ (Eger, 1974, 1978a, b; Eger et al., 1976), ВНР (Gyurkó, 1979, 1982, 1984), Франции (Imbernon, 1981; Imbernon et al., 1984).

Все виды рода Pleurotus имеют тетраполярный тип несовместимости (Vandendries, 1933; Terakawa, 1956, 1960; Roxon, Jong, 1977; Eger, 1978b; Chandrashekar et al., 1981; Hilber, 1982).

Генетическая разнокачественность мицелия этих видов обусловлена наличием факторов А и В. В противоположность +/— генам они имеют сложную генетическую структуру, которая объясняет существование многочисленных типов скрещивания (Eugenio, Anderson, 1968). Такой тип генетического контроля систем скрещивания называется "гомогенной несовместимостью" (Esser, Kühner, 1965).

Для некоторых гетероталличных видов базидиомицетов характерно образование плодовых тел как на ди-, так и на монокариотическом мицелии (Esser, Meinhardt, 1977; Leslie, Leonard, 1979a). Моноспоровые изоляты видов рода Pleurotus способны формировать лишь примордии (Eger, 1974; Chandrashekar et al., 1981), поэтому для промышленного культивирования этих видов грибов можно использовать только дикариотические штаммы.

До последнего времени в селекции P. ostreatus наиболее широко использовались два способа получения дикарионов с новыми свойствами: многоспоровая селекция — совместное культивирование большого количества спор и моноспоровая – выделение монокарионов с последующим скрещиванием совместимых изолятов между собой (Dickhardt, 1982). Каждому способу присущи достоинства и недостатки.

Метод многоспоровой селекции заключается в следующем: несколько капель суспензии с высокой степенью плотности спор (10^6-10^8 спор в 1 мл) в воде помещают в центр чашки Петри на твердую питательную среду. После прорастания спор образуется генетически гетерогенный мицелий, который начинает расти радиально от точки инокуляции. При этом формируются дикарионы, отделенные друг от друга в местах соприкосновения валиками либо незаполненным пространством. В результате каждый дикарион растет в ограниченном секторе и может быть легко перенесен на свежую питательную среду для отбора по определенным характеристикам (Gyurko, 1982). Этот метод селекции можно использовать для обновления культивируемого штамма, проявляющего признаки вырождения, но представляющего ценность для производства по ряду свойств.

Метод многоспоровой селекции основан на существовании значительного разнообразия в физиологии и морфологии мицелиев, выросших из спор одного плодового тела. Так, 73 дикариона P. ostreatus, полученные этим способом, отличались по форме шляпки и гимениальных пластинок, динамике урожая и другим характеристикам (Gyurkó, 1979, 1982). Еще большее разнообразие свойств новых дикарионов можно получить, если смешивать споры разных плодовых тел одного или различных штаммов, резко отличающихся друг от друга по ряду признаков. Проведенное таким образом смешивание спор P. ostreatus и P. ostreatus f. florida позволило получить десять штаммов с интересной комбинацией свойств: образовавшиеся дикарионы имели плотные мясистые серые плодовые тела, формирующиеся без стадии охлаждения (Gyurkó, 1979, 1982). Преимуществом способа многоспоровой селекции является простота, он занимает мало времени. Его недостаток – чисто случайная комбинация свойств у образующихся дикарионов. Кроме того, при этом способе возможные интересные мутации могут перекрываться доминантными генами (Gyurkó, 1982).

Метод моноспоровой селекции с использованием монокарионов лишен этих недостатков, но трудоемок и требует много времени. Вместе с тем для получения штаммов, обладающих определенными признаками, например стабильными ростом и плодоношением при повышенных температурах, он незаменим (Li, 1980). Метод моноспоровой селекции заключается в следующем: суспензию спор в воде помещают на твердую среду в чашки Петри и мицелии, выросшие из отдельных спор, пересевают на свежую среду в чашки Петри или пробирки еще до того, как они сольются друг с другом.

Основным критерием отбора перспективных для селекции моноспоровых изолятов является их способность к образованию примордиев. Основываясь на генетических механизмах контроля плодоношения (см. гл. 3), Г.Эгер (Eger, 1974) подобрала условия, необходимые для образования примордиев P. ostreatus на монокариотическом мицелии в чистой культуре. Конечно, способность монокарионов образовывать примордии не является полной гарантией образования плодовых тел полученным дикарионом. Однако данные экспериментов, проведенных Г.Эгер (Eger, 1974) и обсужденные нами в главе 3, свидетельствуют о том, что наследование признака образования примордиев P. ostreatus носит количественный характер, т.е. для получения дикариона, обладающего повышенной способностью формировать плодовые тела, необходимо провести скрещивание монокарионов, для которых также характерна высокая степень дифференциации мицелиальной ткани. Таким образом, предложенный Г.Эгер (Eger, 1974) метод отбора монокарионов, способных образовывать наибольшее количество примордиев, значительно ускоряет селекцию, уменьшая количество дикарионов, которые необходимо проверить в тестах на плодоношение, и позволяет, подобно направленному скрещиванию, получать при гибридизации штаммы с улучшенными показателями урожайности.

Известно, что межштаммовые скрещивания монокарионов P.ostreatus более результативны, чем внутриштаммовые (Eugenio, Anderson, 1968; Wang, Anderson, 1972). Подтверждением этого служат опыты М.Имбернона (Imbernon, 1981) по скрещиванию одного монокариона, выделенного из штамма, культивируемого в Италии, с различными партнерами, полученными из спор дикорастущего плодового тела, собранного во Франции. При этом произошло ускорение сроков начала (на 15 сут) и увеличение урожайности в 1-ю волну плодоношения в 2 раза (42–45 % общего урожая), а также укорочение периода плодоношения (70 % урожая было собрано за 40 сут). В то же время средняя масса плодовых тел гибридных штаммов была в 1,5–2 раза меньше, чем у родительских. Полученные гибриды перспективно использовать для ускорения оборотов культуры при наличии достаточной площади производственных помещений (Imbernon, 1981). Аналогичные данные получены Л.Киссом (Kiss, 1980), который подобрал межштаммовые гибриды P. ostreatus, дающие урожай до 50 % сухой массы субстрата.

Кроме описанных выше методов многоспоровой и моноспоровой селекции для получения новых штаммов видов рода Pleurotus используется еще несколько способов. Один из них – скрещивание монокариона с дикарионом, так называемое ди-моноскрещивание, основанное на явлении Буллера (Raper, 1966). Миграция ядра из дикариона в монокарион обычно протекает быстро и регулярно, если хотя бы одно из двух ядер дикариона совместимо с ядром монокариона. В этом случае гифы монокариона содержат свое постоянное ядро и совместимое мигрирующее ядро дикариона. В полностью совместимых скрещиваниях, когда оба компонента дикариона совместимы с монокарионом, ядра дикариона могут вместе мигрировать в гифы монокариона (Eger, 1978b). При несовместимости ядер моно- и дикариона ядерная миграция и дикариотизация могут произойти в значительно поздние сроки и иметь локальный характер. Это явление объясняется соматической рекомбинацией факторов несовместимости, мутацией или точечной миграцией ядер (Raper, 1966). Для скрещивания этим способом монокарион выращивают в чашке Петри на питательной среде в течение 5 сут. Затем вблизи края выросшей колонии помещают кусочек мицелия дикариона. Считается, что скрещивание произошло, если пряжки обнаруживают в гифах, находящихся на краю колонии, противоположном тому, где был помещен дикарион. Миграция ядер в монокарионы позволяет получать дикарионы с новыми комбинациями свойств (Eger et al., 1976). При этом необходимо учитывать, что явление перехода ядер в значительной мере зависит от условий культивирования и состояния мицелия (Snider, Raper, 1958).

В ФРГ был запатентован способ дедикариотизации базидиомицетов (Leal-Lara, Eger, 1982), позволяющий изолировать оба типа ядер дикариона. Особенно ценен он при проведении селекции для получения бесспоровых штаммов. Метод основан на том, что у видов рода Pleurotus родительские ядра не сливаются после скрещивания двух совместимых монокарионов, а остаются в паре, по одной на каждую клетку, делясь синхронно. Зиготы образуются в плодовых телах на короткое время перед формированием спор. Мицелий дикариона выращивают на среде, предложенной Г.Эгер для определения способности штамма к плодоношению (Eger et al., 1976). После достижения диаметра 4 см колонию снимают с агара и смешивают в гомогенизаторе при температуре 4 °C с 50 мл стерильной дистиллированной воды в течение 2,5 мин при скорости вращения мешалки 20 500 об $\cdot$ мин$^{-1}$. При этом образуются фрагменты гиф одной или нескольких живых клеток. 20 мл этого гомогената вносят в колбы Эрленмейера объемом 50 мл, содержащие 25 мл дистиллированной воды с 1 % "Pepton P" либо 0,5 % глицина и 2 % глюкозы. Раствор предварительно стерилизуют 15 мин при 121 °C. Культивирование проводят при температуре 22±2 °C. Живые фрагменты мицелия вырастают в видимые шарики. Через 6—7 сут культивирования в этом растворе наблюдается 100%-ная дедикариотизация (Leal-Lara, Eger, 1982). Затем суспензию шариков вновь размельчают в гомогенизаторе, как описано выше. Для получения изолированных колоний монокарионов (неогаплонтов) фрагменты переносят на питательную среду в чашки Петри, используя метод разведений.

Механизм, посредством которого происходит дедикариотизация, неизвестен. Возможно, здесь играет роль глубинное культивирование на бедной питательной среде и малое количество инокулюма. Этот метод позволил получить полную монокариотизацию дикарионов P. ostreatus f. florida, P. cornucopiae и P. eryngii в течение 6—7 сут (Leal-Lara, Eger, 1982). Исследование факторов скрещивания и характеристик роста полученных неогаплонтов показало, что оба типа мицелия соответствовали исходным монокарионам. Два типа неогаплонтов образовывались в соотношении 1:1. Таким же образом могут быть изолированы ядра, несущие доминантные или рецессивные гены, представляющие интерес для селекционной работы.

Одним из способов отбора генетически различных штаммов, который с успехом может быть применен в селекции видов съедобных грибов, является использование антибиотиков. Изучение действия гризеофульвина, стрептомицина, неомицина и хлорамфеникола на рост мицелия P. ostreatus позволило определить порог их токсичности (Imbernon, 1978). Полученные результаты свидетельствуют о том, что дикарионы P. ostreatus более устойчивы к хлорамфениколу, чем монокарионы. При воздействии стрептомицина такой зависимости не обнаружено. Получение штаммов вешенки обыкновенной, устойчивых к антибиотикам, представляет практический интерес при культивировании интенсивным способом на пастеризованных субстратах, населенных различными микроорганизмами, в том числе и продуцентами антибиотиков (Imbernon, 1978).

Метод изолированных протопластов, который широко применяется в селекции высших растений (Anne, Peberdy, 1976; Глеба, Сытник, 1982), перспективен в селекции съедобных грибов. Он позволяет сливать протопласты разных видов грибов и, соответственно, получать разнообразные сочетания свойств в одном дикарионе. Однако пока такие работы проводят только с протопластами Schizophyllum commune (de Vries, Wessels, 1972; Wessels et al., 1976).

В наших опытах для получения высокопродуктивных штаммов P. ostreatus применен метод моноспоровой селекции, позволяющий отобрать культуры с ценными для промышленного производства, а также стабильными признаками. Использованная нами схема моноспоровой селекции включала следующие этапы: подбор исходных штаммов, выделенных из плодовых тел или споровых отпечатков; обработку спор штамма УФ-лучами; выделение моноспоровых культур; отбор монокарионов, способных образовывать примордии в широких температурных пределах; скрещивание совместимых монокарионов для получения дикарионов, а также дикарионов, способных образовывать примордии в широких температурных пределах; проверку метаболической активности в отношении широкого спектра источников углерода и азота, устойчивости роста мицелия дикарионов к повышенной температуре; проверку урожайности дикарионов на субстратах различного состава, отбор наиболее урожайных.

Первым этапом в селекции высших съедобных базидиомицетов является подбор исходных перспективных для дальнейшей работы штаммов, выделенных из плодовых тел или споровых отпечатков, собранных в различных условиях местообитания на разных субстратах. Для основного объекта наших исследований — P. ostreatus этот отбор мы осуществляли, руководствуясь данными урожайности штаммов при экстенсивном культивировании, полученными нами ранее (Бисько и др., 1982; Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983). Кроме того, были привлечены результаты исследований, характеризующие метаболическую активность: способность подобранных штаммов утилизировать различные источники углерода и азота. Выбор последнего критерия был обусловлен положительными результатами, полученными с его применением при селекции Agaricus bisporus. И.Ришавой и соавт. (Rysava, et al., 1979) доказано, что штаммы A. bisporus, наиболее активно-растущие на широком спектре углерод- и азотсодержащих соединений, имеют достоверно большую урожайность, чем культуры с пониженной способностью к утилизации этих веществ. Основываясь на данных урожайности при экстенсивном культивировании, урожайности при экстенсивном культивировании, нами были отобраны штаммы P. ostreatus 482, 483, 521 и 525, выделенные в разных областях Украины из плодовых тел, собранных на американском клене, тополе, буке и грабе. Штамм P. ostreatus 476, полученный из коллекции Института микробиологии Чехословацкой Академии наук (Прага), отличался высокой урожайностью на соломе при интенсивном культивировании (Ryšava et al., 1975).

Соединения, содержащие углерод, играют основную роль в питании, поскольку участвуют как в конструктивном, так и в энергетическом процессах этих гетеротрофных организмов. К наиболее богатым кислородом органическим веществам принадлежат углеводы, которые при слабом окислении способны расщепляться на более простые соединения с освобождением энергии. Утилизация источников углерода высшими базидиомицетами в основном зависит от следующих факторов: физической доступности; условий культивирования — присутствие в среде других питательных веществ, аэрации, температуры; концентрации питательных веществ; времени культивирования; адаптации штамма к субстрату (Perlman, 1965).

Глюкоза считается биологически самой важной из гексоз, она используется практически всеми видами грибов (Шиврина и др., 1969). Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что глюкоза является наилучшим из исследованных источников углерода только для одного из испытанных штаммов P. ostreatus (табл. 1). Литературные данные (Junková, Staněk, 1971; Hashimoto, Takashi, 1974; Quimio, Surdsud, 1981) также подтверждают наши наблюдения; при поверхностном выращивании глюкоза как единственный источник углерода редко является наилучшей для накопления биомассы P. ostreatus. Фруктоза эквивалентна глюкозе для роста большинства высших съедобных базидиомицетов (Шиврина и др., 1969). В наших опытах только для вешенки штаммов 482 и 525 среды с глюкозой и фруктозой были идентичны (между значениями биомассы не было достоверных отличий). В то же время штамм 476 наиболее активно утилизирует фруктозу, образуя на этой среде биомассу на 32 % большую, чем на среде с глюкозой (табл. 1).

Вопреки существующему в литературе мнению (Koch, 1958; Tsao, 1963) о предпочтительном использовании видами рода вешенка моносахаридов по сравнению с дисахаридами; в наших опытах биомасса, накапливаемая P. ostreatus штаммами 483 и 521 на лактозе и сахарозе, а также штаммом 482 — на сахарозе с достоверностью ($p = 0,99-1,0$) превышала значения биомассы этих штаммов на моносахаридах. Вместе с тем на среде с лактозой штамм 476 накапливал наименьшую биомассу по сравнению с другими используемыми источниками углерода (табл. 1). Для двух штаммов P. ostreatus, исследованных в аналогичных условиях, мальтоза и сахароза явились наилучшими источниками углерода (Junková, Staněk, 1971; Hashimoto, Takashi, 1974). Изучаемые нами штаммы наименьшим образом отличались по накоплению биомассы при росте на арабинозе и галактозе (разница между максимальным и минимальным значениями био

ц а 1. Относительные значения биомассы (г·л$^{-1}$) мицелия штаммов P. ostreatus на среде с различными исто
и азота (M ±m)

Глюкоза	Фруктоза	Ксилоза	Мальтоза	Сахароза	Лактоза	Арабиноза	Гала
2,63*±0,04	2,31 ±0,03	1,24*±0,05	1,41*±0,01	2,07*±0,03	1,10*±0,01	1,14*±0,01	1,95*
,87 ±0,01	1,03*±0,02	1,85 ±0,09	0,76*±0,04	3,29*±0,06	3,67*±0,09	1,70 ±0,15	0,87*
,25 ±0,05	1,99*±0,01	1,49 ±0,01	1,71 ±0,08	2,83*±0,02	2,59*±0,01	1,90*±0,01	1,38
,37 ±0,07	1,15 ±0,03	0,63*±0,06	0,31*±0,03	2,04*±0,01	0,28*±0,05	1,34 ±0,08	1,78
2,27 ±0,02	3,34*±0,02	2,12 ±0,01	2,62 ±0,04	2,25 ±0,01	1,00*±0,02	1,19*±0,01	1,96

$(NH_4)_2SO_4$	KNO_3	Аланин	Треонин	Глицин	Аспарагиновая кислота	Глютаминовая кислота	Гли
,34±0,08	4,01**±0,03	2,11**±0,05	1,99 ±0,05	1,62 ±0,01	1,35 ±0,01	1,58 ±0,03	2,28
5,83±0,04	3,17**±0,01	2,72**±0,01	3,08**±0,01	2,08**±0,01	0,17**±0,01	1,29**±0,02	3,08
2,03±0,09	3,01**±0,09	2,48 ±0,02	2,48 ±0,02	2,85 ±0,10	0,17**±0,01	1,59 ±0,02	2,79
1,73±0,09	1,78 ±0,14	1,67 ±0,06	0,83**±0,04	3,63**±0,07	0,28**±0,01	2,18 ±0,03	3,1
1,18±0,05	1,74 ±0,01	4,62**±0,01	1,56 ±0,06	2,58**±0,01	0,17**±0,02	0,71 ±0,01	2,37

Величина достоверно отличается (p = 0,99) от биомассы на среде с глюкозой. ** Величина достоверно от
99) от биомассы на среде с $(NH_4)_2SO_4$.

массы составила 0,76 г). Наибольший разброс биомассы был среди исследованных штаммов P. ostreatus на среде с лактозой (разница между максимальным и минимальным значениями биомассы достигла 3,38 г).

Азотистые соединения являются основой белков — важнейшей составной части протоплазмы, они играют большую роль в обмене веществ у грибов. Основными источниками неорганического азота для грибов являются нитратные и аммонийные соли (Шиврина и др., 1969). Штаммы вешенки обыкновенной 483, 521 и 525 на неорганических источниках азота накапливали наибольшую биомассу (табл. 1). Необходимо отметить, что штамм 521 образовывал на среде с сульфатом аммония максимальную биомассу по сравнению с биомассой всех изученных нами штаммов P. ostreatus на 16 средах. В.Лилли и Х.Барнет (Lilly, Barnett, 1951) также отметили, что аммонийные соли обеспечивают лучший рост грибов, чем нитраты и аминокислоты. Вместе с тем в литературе представлены данные о слабом использовании штаммами вешенки обыкновенной неорганических источников азота (Leonian, Lilly, 1938; Steinberg, 1939; Koch, 1958; Tsao, 1963; Kovach, 1978).

Питательная ценность различных аминокислот неодинакова и зависит как от состава, так и от конфигурации молекул (Jennison et al., 1955). Предполагают (Шиврина и др., 1969), что только естественные (L-) изомеры аминокислот могут быть использованы высшими базидиомицетами. Утилизация аминокислот, по мнению П.Волца и Е.Бенеке (Volz, Beneke, 1972), является специфической особенностью штамма. Из алифатических моноамино-монокарбоксильных кислот, не содержащих дополнительных функциональных групп, соединения с более короткой (три-четыре атома углерода) цепью: глицин, валин, аланин в среднем дают более интенсивный рост, чем кислоты с бóльшим количеством атомов (Шиврина и др., 1969). Это положение подтверждается полученными нами данными для большинства изученных штаммов P. ostreatus (табл. 1). Для четырех из девяти исследованных штаммов P. ostreatus глицин является оптимальным источником азота (Junková, Staněk, 1971; Kovach, 1978). Наименьшую биомассу все изученные штаммы P. ostreatus, кроме 525, накапливали на среде с аспарагиновой кислотой. Только два штамма — 476 и 482 образуют большую биомассу на средах с аминокислотами, чем на средах с неорганическими источниками азота. Наиболее близки изучаемые штаммы вешенки обыкновенной при росте на среде с глютамином (разница между минимальным и максимальным значениями биомассы составляет 0,83 г). Наиболее различны они по способности использовать сульфат аммония (табл. 1).

Полученные нами результаты свидетельствуют о большом разнообразии физиологических особенностей штаммов P. ostreatus, что является, по нашему мнению, следствием значительной вариабельности генофонда этого вида, распространенного по всему земному шару (Eugenio, Anderson, 1968).

Приведенные выше данные по утилизации различных источников углерода и азота подобранными ранее штаммами P. ostreatus позволяют с достоверностью ($p = 0{,}95$) сделать вывод о наиболее высокой метаболической активности штамма 525 по отношению к широкому спектру исследованных соединений (Бисько, Косман, 1985, 1987). Учитывая, что высокая метаболическая активность мицелия, как показано для Agaricus bisporus (Ryšava et al., 1979), коррелирует с достоверно бо́льшей урожайностью штамма по сравнению с штаммами, менее интенсивно утилизирующими углерод- и азотсодержащие соединения, мы сочли возможным отобрать P. ostreatus штамм 525 для дальнейшей селекционной работы.

С целью повышения частоты разнообразия признаков была применена обработка спор штамма 525 различными дозами УФ-лучей. Механизм действия УФ-излучения состоит в повышении энергетического уровня молекул, что приводит к образованию димеров пиримидинов, разрыву водородных связей, сшивкам полинуклеотидной цепи и белка (Дубинин, 1978). Литературные данные о применении мутагенов в селекции видов рода Pleurotus немногочисленны и ограничены использованием 1-метил-3-нитро-1-нитрозогуанидина и γ-облучения. При действии химического мутагена получены плодовые тела P. ostreatus с нарушенными трофическими реакциями (Eger, 1979). При облучении мицелия вешенки обыкновенной γ-лучами (5—10 крад) наблюдали некоторое увеличение урожайности плодовых тел (Ryšava et al., 1975).

Споры видов рода вешенка хорошо прорастают в течение 1—2 сут в воде и на твердых питательных средах. Процент проросших спор (98—99 %) не снижается и после хранения споровых отпечатков в холодильнике (4 °C) в течение года (Eger, 1978b). Полученные нами данные свидетельствуют о значительном торможении процесса прорастания спор P. ostreatus штамма 525 при облучении УФ-лучами дозами выше 720 Дж · м^2 (табл. 2). При облучении дозами выше 1 440 Дж · м^2 все споры погибали.

Выживаемость спор P. ostreatus штамма 525 при действии УФ-лучей значительно ниже, чем спор гриба Oudemansiella mucida (Fr.) Hoehn. (летальная доза 432 000 эрг · мм^2) (Semerdžieva, Blumaerová, 1973) и мицелия Agaricus bisporus (летальная доза 70 000 Дж · м^2) (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983).

Таблица 2. Действие различных доз УФ-лучей на прорастание спор P. ostreatus штамма 525

Время облучения, мин	Доза облучения, Дж · м$^{-2}$	Количество проросших спор, %	
		Через 48 ч	Через 96 ч
1,0	360	87,5	92,2
1,5	540	75,0	80,0
2,0	720	67,5	45,5
2,5	900	0	0,66
3,0	1 080	0	0,16
4,0	1 260	0	0
5,0	1 440	0	0,16
8,0	1 800	0	0
10,0	2 800	0	0
12,0	4 320	0	0

Полученные нами данные показали, что дозы облучения 900, 1 080 и 1 440 Дж · м$^{-2}$ позволяют получить 0,16—0,66 % проросших спор, что является необходимым условием для образования мутантов (Бисько, 1985). Однако мицелий штаммов, облученных дозами 1 080 и 1 440 Дж · м$^{-2}$, проявлял признаки значительного угнетения роста на суслоагаровой среде (рис. 4). Поэтому на этом этапе селекции были отобраны монокарионы, полученные при облучении дозой 900 $Дж \cdot м^{-2}$. В то же время с целью выяснения целесообразности использования в селекции вешенки обыкновенной более низких доз УФ-лучей были отобраны также штаммы, полученные при облучении дозами 360 и 720 $Дж \cdot м^{-2}$.

На четвертом этапе селекции, используя метод Г.Эгер (Eger, 1974), все отобранные монокарионы были проверены на образование примордиев. Для одновременного отбора штаммов, способных формировать примордии в широком диапазоне температур, тестирование монокарионов проводили при 15 и 24 °С. Ниже приведено образование примордиев монокарионами P. ostreatus штамма 525:

Общее количество монокарионов — 111
Из них:

не образуют примордиев	28
образуют примордии при температуре 15 °С	49
24 °С	34
образуют больше 200 примордиев при температуре 15 °С	12
24 °С	8

Для получения высокопродуктивных дикарионов нами были отобраны те моноспоровые штаммы, которые формировали более 200 примордиев при 15 и 24 °С. Характеристика отобранных монокарионов P. ostreatus штамма 525 следующая:

Номер в коллекции	Источник выделения монокарионов
800	Из необлученных спор
802	Из необлученных спор
844	Из спор, облученных дозой 360 $Дж \cdot м^{-2}$
846	Из спор, облученных дозой 360 $Дж \cdot м^{-2}$
897	Из спор, облученных дозой 720 $Дж \cdot м^{-2}$
900	Из спор, облученных дозой 720 $Дж \cdot м^{-2}$
906	Из спор, облученных дозой 720 $Дж \cdot м^{-2}$
926	Из спор, облученных дозой 900 $Дж \cdot м^{-2}$

Для скрещивания отобранных монокарионов необходимо определить факторы их несовместимости. С этой целью были подобраны тест-культуры P. ostreatus штамма 525, соответствующие каждому варианту сочетания факторов несовместимости: A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2, A_2B_1. Подробно методика определения тест-культуры описана в главе 2. Единственным достоверным доказательством произошедшей дикариотизации у штаммов P. ostreatus является образование пряжек (рис. 5), причем они должны быть обнаружены в нескольких местах соприкосновения двух скрещиваемых колоний. Эксперименты по скрещиванию требуют большой тщательности, так как загрязнение (попадание в чашку Петри, где проводится скрещивание, даже

Рисунки 4–8, 11–15, 24 см. на вклейке.

одной базидиоспоры, оидии или фрагмента мицелия) может внести новый фактор несовместимости. Для подбора тест-культур были скрещены во всех возможных сочетаниях десять произвольно взятых монокарионов вешенки обыкновенной штамма 525 (табл. 3; рис. 6, 7).

После перегруппировки культур по признаку одинакового взаимодействия получаем следующую картину (табл. 4). Первоначальное обозначение A и B факторов произвольное. Если мы принимаем, что монокарионы 4, 14 и 35 будут иметь факторы A_2B_2, то монокарионы 1, 39 и 40, совместимые с ними (образующие пряжки), должны отличаться по обоим локусам, т.е. иметь факторы A_1B_1. Результаты скрещивания свидетельствуют о том, что монокарионы 4, 14 и 35 имеют факторы A_2B_2, 1, 39 и 40 – A_1B_1, 2, 10, 21 – A_1B_2, а 34 – A_2B_1.

Таблица 3. Результаты наблюдений в зоне соприкосновения мицелиев двух монокарионов *P. ostreatus* штамма 525

Монокарион	1	2	4	14	10	21	34	35	39	40
1	–	–	+	+	–	–	=	+	–	–
2	–	–	=	=	–	–	+	=	–	–
4	+	=	–	–	=	=	–	–	+	+
14	+	=	–	–	=	=	–	–	+	+
10	–	–	=	=	–	–	+	=	–	–
21	–	–	=	=	–	–	+	=	–	–
34	=	+	–	–	+	+	–	–	=	=
35	+	–	–	–	=	=	–	–	+	+
39	–	–	+	+	–	–	=	+	–	–
40	–	–	+	+	–	–	=	+	–	–

Примечание. Здесь и в табл. 4, 5 (+) – пряжки, (–) – пряжки отсутствуют, (=) – валик.

Таблица 4. Типы скрещивания монокарионов *P. ostreatus* штамма 525

Фактор	Монокарион	A_2B_2			A_1B_1			A_1B_2			A_2B_1
		4	14	35	1	39	40	2	10	21	34
	4	–	–	–	+	+	+	=	=	=	–
A_2B_2	14	–	–	–	+	+	+	=	=	=	–
	35	–	–	–	+	+	+	=	=	=	–
	1	+	+	+	–	–	–	–	–	–	=
A_1B_1	39	+	+	+	–	–	–	–	–	–	=
	40	+	+	+	–	–	–	–	–	–	=
	2	=	=	=	–	–	–	–	–	–	+
A_1B_2	10	=	=	=	–	–	–	–	–	–	+
	21	=	=	=	–	–	–	–	–	–	+
A_2B_1	34	–	–	–	=	=	=	+	+	+	–

Для определения факторов несовместимости отобранных монокарионов штамма 525 монокарион с неизвестным генотипом скрещивали с тест-культурами всех генотипов A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2, A_2B_1. Полученные результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5. Результаты скрещивания отобранных монокарионов с тест-культурами P. ostreatus штамма 525

Тест-культура		Монокарион с неизвестным генотипом							
		800	844	897	926	802	846	900	906
4	$(A\ B_2)$	+	–	=	–	–	–	–	=
1	(A_1B_1)	–	+	+	+	–	–	=	=
2	(A_1B_2)	–	=	–	–	+	+	+	+
34	(A_2B_1)	–	–	–	–	–	–	–	–

Таким образом, анализ образования пряжек при скрещивании монокариона с неизвестным генотипом и тест-культур с определенным набором факторов несовместимости позволил определить, что монокарион 800, совместимый с тест-культурой 4, имеет факторы несовместимости A_1B_1, 844, 897 и 926 совместимые с тест-культурой 1 – A_2B_2, а 802, 900 и 906, совместимые с тест-культурой – A_2B_1 (табл. 5).

Поскольку, как было отмечено ранее, основным критерием отбора перспективных для культивирования штаммов P. ostreatus является способность к плодоношению, для получения высокопродуктивных дикарионов на следующем этапе селекции были скрещены совместимые монокарионы, способные образовывать большое количество примордиев (более 200). В результате получены дикариотические штаммы 853 (800 x 844), 898 (800 x 897) и 928 (800 x 926).

Проверка дикарионов 853, 898 и 928 на образование примордиев при 15 и 24 °С показала, что они сохранили этот ценный признак составляющих их монокарионов. Образование примордиев в чашках Петри на среде Эгер (Eger, 1974) начиналось через 4–6 сут с момента воздействия светом (рис. 8).

На следующем этапе селекции была исследована метаболическая активность полученных дикарионов P. ostreatus в отношении к различным источникам углерода и азота, а также их температурная устойчивость.

Данные табл. 6 свидетельствуют, что с достоверностью (p = 0,95) мицелий штаммов 926 и 928 образует значительно большую биомассу на всех изученных источниках углерода, чем исходный штамм 525. Сравнение выборок данных по накоплению биомассы исходным моно- и производными дикарионами P. ostreatus штамма 525 показало, что дикариотические штаммы превосходят исходный штамм 525 также по утилизации неорганических источников азота и фенилаланина (табл. 6). Таким образом, дикарионы 853, 898 и 928 обладают равной или достоверно бо́льшей метаболической активностью, чем исходный штамм 525 в отношении всех исследованных источ-

Таблица 6. Относительные значения биомассы ($г \cdot л^{-1}$) мицелия моно- и дикарионов *P. ostreatus* штамма 525 на среде с различными источниками углерода и азота ($M \pm m$)

Штамм	Глюкоза	Фруктоза	Ксилоза	Мальтоза	Сахароза	Лактоза	Арабиноза
525	2,62 ±0,16	1,17 ±0,06	1,27 ±0,07	1,98 ±0,09	1,13 ±0,04	2,10 ±0,09	1,45 ±0,04
800	2,20 ±0,05	2,07* ±0,11	2,51* ±0,17	2,19 ±0,09	1,41 ±0,13	2,40 ±0,10	1,44 ±0,06
844	2,56 ±0,03	2,64* ±0,10	1,77 ±0,07	3,17* ±0,05	2,07* ±0,08	3,00* ±0,04	0,96 ±0,06
853	3,66* ±0,14	1,34 ±0,09	1,67 ±0,06	2,01 ±0,02	1,49 ±0,09	2,41 ±0,07	1,47 ±0,06
897	0,96 ±0,04	1,17 ±0,09	1,61 ±0,05	0,11 ±0,02	0,93 ±0,02	1,77 ±0,06	1,26 ±0,07
898	2,82 ±0,02	1,13 ±0,09	1,53 ±0,11	2,11 ±0,07	2,60 ±0,05	2,21 ±0,08	2,35* ±0,08
926	3,53* ±0,11	1,62* ±0,18	3,29* ±0,11	2,03* ±0,05	1,77* ±0,04	3,22* ±0,08	2,87* ±0,04
928	5,37* ±0,06	2,28* ±0,05	5,47* ±0,08	3,33* ±0,14	3,31* ±0,07	5,05* ±0,09	3,60* ±0,11

Штамм	$(NH_4)_2SO_4$	KNO_3	Аланин	Треонин	Фенилаланин	Цистеин	Метионин
525	1,34 ±0,10	1,01 ±0,09	2,11 ±0,09	1,99 ±0,05	1,16 ±0,12	4,81 ±0,13	3,38 ±0,17
800	4,85* ±0,07	2,06* ±0,12	3,82* ±0,08	1,52 ±0,06	1,62 ±0,10	1,50 ±0,04	2,22 ±0,14
844	2,35* ±0,11	2,35* ±0,16	1,86 ±0,15	3,46* ±0,27	2,37* ±0,24	2,58 ±0,19	2,40 ±0,08
853	4,78* ±0,18	1,85* ±0,14	2,93* ±0,03	1,05 ±0,06	4,60* ±0,18	1,30 ±0,11	0,95 ±0,13
897	1,73 ±0,03	4,11* ±0,21	1,82 ±0,18	0,96 ±0,06	2,51 ±0,04	1,01 ±0,03	0,65 ±0,05
898	2,46* ±0,12	2,51* ±0,08	3,65* ±0,02	2,34 ±0,11	2,84* ±0,07	2,35 ±0,17	1,19 ±0,07
926	2,62* ±0,09	1,93* ±0,05	1,12 ±0,02	0,92 ±0,01	2,31* ±0,08	1,09 ±0,03	1,26 ±0,02
928	4,71* ±0,44	3,56* ±0,07	1,40 ±0,09	1,07 ±0,07	3,13* ±0,04	1,31 ±0,18	1,58 ±0,05

* Величина биомассы, накапливаемой штаммом, достоверно больше ($p = 0,95$) величины биомассы мицелия штамма 525.

ников углерода, а также неорганических источников азота и фенилаланина. Наиболее высокой метаболической активностью в отношении этих источников питания обладает штамм 928.

Одним из важных признаков, которыми должны обладать перспективные для промышленного культивирования штаммы P. ostreatus, является высокая скорость и устойчивость роста мицелия к колебаниям температур, перепад ее в субстрате при интенсивном выращивании может составить 22–37 °С. Проведение направленной селекции по этому признаку невозможно без знания количественных закономерностей его наследования при скрещивании монокарионов для получения дикариона.

В литературе приведены данные (Simchen, Jinks, 1964; Brian, Imbernon, 1978) об изучении количественного наследования скорости роста на примере Schizophyllum commune и P. ostreatus. Однако, на наш взгляд, авторами этих работ допущен ряд неточностей и ошибок как в статистической обработке экспериментальных данных, так и в интерпретации результатов этой обработки. Кроме того, отдельные этапы статистической обработки экспериментальных данных, например разделение эффекта взаимодействия родительских монокарионов на составляющие (Brian, Imbernon, 1978), не подкреплены известными теоретическими положениями.

Для изучения влияния монокариотических родителей на рост дикарионов, получающихся при слиянии монокарионов, необходимо прежде всего убедиться в том, что выбранные нами родительские монокарионы по "материнской" и "отцовской" линиям существенно отличны друг от друга. Для этого нами был проведен однофакторный дисперсионный анализ при предварительной проверке предпосылок. Заметим, что здесь и ниже мы будем иметь дело с моделями одно- и двухфакторного дисперсионного анализа с фиксированными эффектами (Афифи, Эйзен, 1982). Тем самым мы исключаем ошибку, допущенную в ряде работ (Simchen, Jinks, 1964; Brian, Imbernon, 1978), где необоснованно применялась модель со случайными эффектами.

Общую наблюдаемую вариабельность роста мы разделяли на компоненты, зависящие от генетических факторов и факторов окружающей среды. В свою очередь, генетическая компонента дисперсии состоит из дисперсии, привносимых каждым из монокариотических родителей и их взаимодействием. Монокарионы с факторами несовместимости A_1B_1 – 802 (№ 3), 837 (№ 1) и 838 (№ 2) скрещивали с монокарионами, имеющими факторы несовместимости A_2B_2 – 813 (№ 4), 844 (№ 5), а 900 (№ 6) и 934 (№ 7). Обозначение "отцовских" монокарионов с факторами несовместимости A_2B_2 и "материнских" с факторами A_1B_1 произвольное. В результате скрещивания были получены следующие дикарионы: 837x813 (№ 1), 837x844 (№ 2), 837x900 (№ 3), 837x934 (№ 4), 838x813 (№ 5), 838x844 (№ 6), 838x900 (№ 7), 838x934 (№ 8), 802x813 (№ 9), 802x844 (№ 10), 802x900 (№ 11), 802x934 (№ 12). Итак, в результате анализа роста родительских монокарионов между ними было установлено различие с вероятностью 0,99 на 3, 7 и 10-е сутки [illegible] температурах 3, 28 и 37 °С

Причем почти все различия связаны с физиологическими особенностями монокарионов, контролируемыми геномом, а не с факторами окружающей среды. Остается выяснить, в какой мере эти различия проявляются на уровне дикарионов.

Зависимость роста дикарионов от роста их монокариотических родителей оценивали по результатам двухфакторного дисперсионного анализа с фиксированными эффектами. На первом этапе была проведена проверка гипотезы H_0: отсутствие эффектов взаимодействия. Установлено, что с вероятностью единица гипотеза H_0 отвергается, т.е. с вероятностью единица принимается гипотеза о значимости эффектов взаимодействия родительских монокарионов. Затем проводили проверки гипотез H_1: отсутствие главных эффектов фактора А ("отцовских" монокарионов) и H_2: отсутствие главных эффектов фактора В ("материнских" монокарионов). Установлено, что с вероятностью единица гипотезы H_1 и H_2 отвергаются, т.е. с вероятностью единица принимаются гипотезы о значимости главных эффектов "отцовских" и "материнских" монокарионов. Итак, фенотипическая изменчивость дикарионов на 3,7 и 10-е сутки роста при всех исследованных температурах может быть отнесена на счет следующих компонент дисперсии: определяемой "отцовскими" и "материнскими" монокарионами, взаимодействием родительских монокарионов, факторами окружающей среды (остаточной). По математическим ожиданиям средних квадратов для каждого из факторов взаимодействия и остатка были определены оценки компонент дисперсии, а затем и степень влияния каждого из эффектов на общую дисперсию, т.е. степень влияния "отцовских" монокарионов, "материнских" монокарионов, взаимодействия и среды на наблюдаемое фенотипическое разнообразие дикарионов. Эти результаты, выраженные в процентах, приведены в табл. 7. Ничтожно малая степень влияния среды позволяет в "чистом" виде изучать влияние родительских генотипов и их взаимодействия на изменчивость роста дикарионов.

Таблица 7. Компоненты (%) фенотипического разнообразия роста мицелия дикарионов P. ostreatus

Температура, °C	Рост, сут	А	Б	АБ	В
8	10	9,0	32,8	67,7	0,5
	3	57,5	3,8	36,7	2,0
28	7	16,7	6,8	76,1	0,4
	10	27,7	17,2	54,5	0,6
	3	33,5	0,3	65,9	0,5
37	7	43,5	0,5	55,6	0,4
	10	62,3	1,5	35,8	0,3

Примечание. А – вклад "отцовских" монокарионов, Б – "материнских" монокарионов; АБ – взаимодействия; В – факторов окружающей среды.

Данные табл. 7 свидетельствуют, что почти всегда наибольший вклад в фенотипическую изменчивость роста дикарионов вносит эффект взаимодействия геномов родительских монокарионов. Необходимо отметить тот факт, что вклад главных эффектов "отцовских" и "материнских" геномов, отражающих, по-видимому, эффект доминирования, существенно зависит от температуры культивирования штамма. Так, с ростом температуры прослеживается тенденция к увеличению степени влияния на изменчивость роста дикарионов "отцовских" монокарионов и, наоборот, — тенденция сведения к нулю доли "материнских". При этом при высоких температурах вклад "отцовских" монокарионов значительно превосходит вклад "материнских", а при низких температурах — противоположная картина (табл. 7). Возможно, что отличия в степени влияния "отцовских" и "материнских" монокарионов на рост дикарионов связаны с различным набором факторов несовместимости у этих двух групп штаммов.

Анализ диаграмм динамики радиального роста моно- и дикарионов показал, что истинные средние значения диаметра колонии (Д) с вероятностью не меньше $p = 0{,}99$ содержатся в интервалах ($\bar{Д}+0{,}1\bar{Д}$, $\bar{Д}-0{,}1\bar{Д}$) для всех дикарионов при температурах инкубирования 28 и 37 °С на 3, 7 и 10-е сутки роста, а при температуре 8 °С — на 10-е сутки (рис. 9). Следовательно, представленные результаты позволяют сделать следующие выводы: при температуре 28 °С лучшим по радиальному росту мицелия является дикарион № 1, при 37 °С — № 11, при 8 °С — № 6. Наиболее устойчивыми к изменению температур оказались группы дикарионов, получаемые при скрещивании "материнского" монокариона 837 и "отцовского" монокариона 900. Примечателен тот факт, что родители дикарионов № 1, 11 и 6, являющихся лучшими по радиальному росту мицелия при 28, 37 и 8 °С соответственно, сами не были лучшими при соответствующей температуре (рис. 9). Более того, штаммы 802 и 900, образующие дикарион № 11, вообще не росли при 37 °С по наблюдениям за 10 сут (рис. 9). Для понимания механизмов этих явлений требуется более детальное их изучение. Возможно, это объясняется тем, что генетические системы, ответственные за рост мицелия при определенной температуре, не являются одними и теми же для моно- и дикарионов или функционируют различным способом (Brian, Imbernon, 1978).

Таким образом, нами установлено, что на рост мицелия дикарионов P. ostreatus с вероятностью единица влияют как эффекты "отцовских" и "материнских" монокарионов, так и эффекты взаимодействия родительских монокарионов. В то же время наибольший вклад в фенотипическое разнообразие роста мицелия исследованных дикарионов P. ostreatus вносит эффект взаимодействия родительских монокарионов, а вклад "отцовских" и "материнских" монокарионов существенно и направленно изменяется в зависимости от температуры инкубирования культур (Бисько, Косман, 1986).

Несмотря на значительные различия в устойчивости мицелия к росту при повышенной температуре, отмеченные среди монокариотического потомства одного штамма и разных штаммов, существует ряд закономерностей, свойственных всем штаммам P. ostreatus. Так, разница в росте мицелия штаммов, выделенных из различных географических зон при температуре 35 °С, настолько велика, что может служить надежной характеристикой штамма (Li, 1980). Исследование потомства, полученного при скрещивании монокарионов, хорошо растущих при температуре 32—35 °С, с монокарионами, не обладающими этой способностью, показало, что признак устойчи-

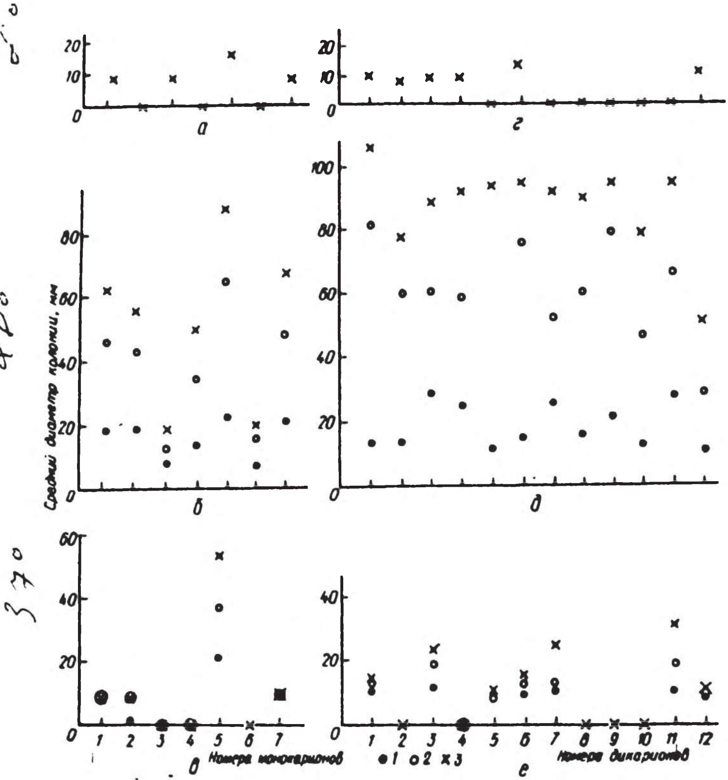


Рис. 9. Динамика радиального роста мицелия моно- и дикарионов P. ostreatus штамма 525 на суслоагаровой среде при различной температуре: *а, г* – 8 °С; *б, д* – 28 °С; *в, е* – 37 °С;
1 – 3-и сутки роста, *2* – 7-е, *3* – 10-е

вости мицелия к росту при этой температуре доминантен при скрещивании (Li, 1980). Однако в противоположность моногенному контролю устойчивости плодоношения к повышенной температуре признак устойчивости роста мицелия при высокой температуре наследуется, вероятно, семью генетическими факторами (Li, 1980). Дикарионы с двойным набором доминатных аллелей в одном или нескольких локусах имеют устойчивость к росту при более высокой температуре, чем те, которые обладают только одним t фактором в каждом локусе. Скрещивание монокарионов, обладающих устойчивостью к росту при повышенной температуре, с большей вероятностью приведет к образованию дикариона, также наделенного этой способностью.

Температурные кривые роста мицелия отобранных дикарионов, роди-

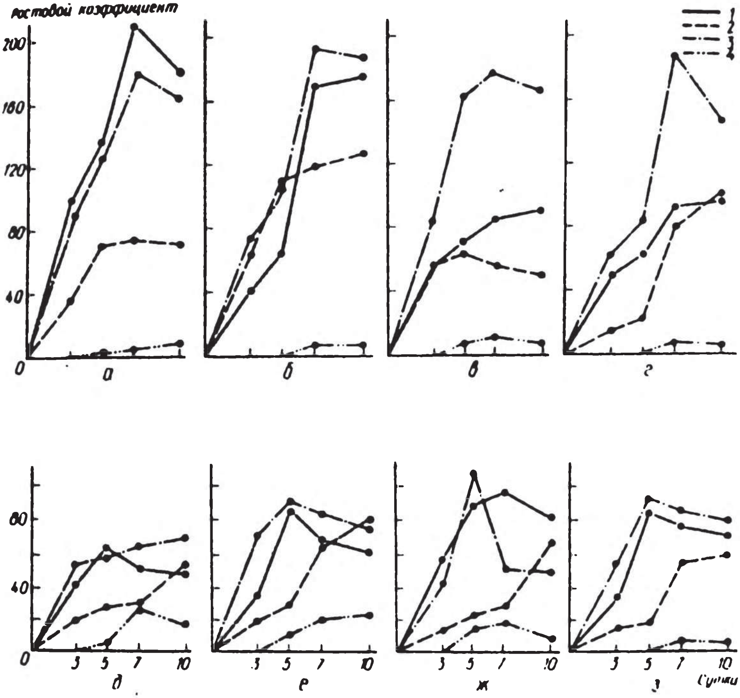


Рис. 10. Термограммы роста мицелия P. ostreatus: *а* – штамм 525, *б* – штамм – 898, *в* – штамм 853, *г* – штамм 928, *д* – штамм 800, *е* – штамм 897, *ж* – штамм 844, *з* – штамм 926; *1* – 28, *2* – 20, *3* – 37, *4* – 8 °С

тельских монокарионов и исходного дикариона P. ostreatus штамма 525 представлены на рис. 10. Температурные кривые роста всех исследованных штаммов подобны. Эти результаты согласуются с данными С.Ли (Li, 1980), доказавшей, что оптимальная температура и ход температурной кривой дикариона совпадают с этими же показателями роста выделенных из него монокарионов. Основные отличия между исходным штаммом 525 P.ostreatus и отобранными на предыдущем этапе селекции дикарионами 853, 898 и 928 заключаются в отношении к высокой температуре (37 °С). Так же как и родительские монокарионы, отобранные дикарионы имеют бо́льшую скорость роста при 37 °С, чем при 28 °С (рис. 11, 12). Следовательно, отселектированные нами штаммы 853, 898 и 928 обладают ценным для культивируемых видов рода Pleurotus признаком: устойчивостью роста мицелия к повышенной температуре. Таким образом, изложенные выше результаты свидетельствуют о возможности использования предложенной нами схемы моноспоровой селекции с применением УФ-облучения и множественных критериев отбора.

высокой урожайности, метаболической активности мицелия в отношении широкого спектра источников углерода и азота, устойчивости мицелия к росту при повышенной температуре, способности образовывать примордии в широких температурных пределах для получения дикариотических штаммов P. ostreatus, характеризующихся высокой метаболической активностью, устойчивостью роста мицелия к повышенной температуре (37 °C), способностью быстро формировать примордии как при 15, так и при 24 °C. Для повышения эффективности селекционной работы со штаммами P. ostreatus целесообразно применять УФ-облучение спор дозами 360, 720 и 900 $Дж \cdot м^{-2}$.

Полученные нами данные по наибольшему влиянию на фенотипическую изменчивость роста мицелия дикарионов P. ostreatus эффекта взаимодействия родительских монокарионов, а также возможности изменения вклада "отцовских" и "материнских" монокарионов в зависимости от температуры культивирования могут быть использованы для создания программ генетического улучшения видов высших съедобных базидиомицетов с гетероталличным типом несовместимости.

ГЛАВА 5

ЭКСТЕНСИВНЫЕ СПОСОБЫ ВЫРАЩИВАНИЯ ВИДОВ РОДА ВЕШЕНКА

Все способы поверхностного культивирования съедобных грибов можно разделить на экстенсивные, когда производство ограничено выращиванием их в естественных условиях, и интенсивные, осуществляющиеся в искусственных условиях в специально построенных помещениях. Первые данные об экстенсивном культивировании видов – представителей рода Pleurotus. P. ostreatus и P. cornucopiae относятся к началу XX ст. В 20-е годы в Германии начали выращивать эти виды на отрезках древесины и поваленных стволах в лесу (Falck, 1919; Zadražil, 1978a). Инокулятом служили сухие растертые плодовые тела, которые вносили в отверстия, просверленные в древесине. Большое значение для разработки основ технологии экстенсивного культивирования имела работа В.Лутхартa (Luthardt, 1969), посвященная вопросам подготовки древесины, способам инокуляции, выбора места для закладки плантации и т.д. В эти же годы был предложен способ подготовки посевного мицелия P. ostreatus на смеси зерен овса и древесных опилок (Eugenio, Anderson, 1968). Экстенсивные способы применяются в основном для выращивания P. ostreatus (Luthardt, 1969; Balázs et al., 1973; Вешенка..., 1976; Промышленное культивирование..., 1978, Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983).

Объектом экстенсивного культивироевания, кроме P. ostreatus, является P. sajor-caju, который в Индии выращивают на отрубках различных древесных пород (Chakravarty, Sarkar, 1982). Из девяти исследованных пород, широко распрос раненных в этой стране, наиболее эффективно плодовые тела развивались на отрубках Mangifera indica и Artocarpus lakoocha (Chakraverty, Sarkar, 1982).

Были предприняты также попытки экстенсивного культивирования P. eryngii путем внесения посевного мицелия гриба в лунки вблизи корней Ferula communis. Через год на инокулированных участках появились плодовые тела P. eryngii, что свидетельствует о возможном расширении площадей, занятых промышленной культурой этого вида (Ferri, 1977).

Получены положительные результаты экстенсивного культивирования P. citrinopileatus на древесине ильма и других лиственных пород в условиях юга Приморского края СССР (Дуплищев, Сивашов, 1982).

Несмотря на ряд недостатков, присущих экстенсивному способу культивирования (сезонность сбора урожая, зависимость урожайности от клима тических факторов), они достаточно широко практикуются при использовании отходов лесной промышленности: пней, отрубков неделовой древесины и др. в ВНР, Италии, ГДР (Balázs et al.,1973; Gramss, 1975; Pirazzi et al., 1978; Steineck, 1982). В СССР P. ostreatus выращивают в основном на отходах древесины осины, тополя, бука и граба (Лозовой, 1978; Фомина, 1981; Фомина и др., 1981; Методические рекомендации..., 1984).

Поскольку древесина является основным источником питания для большинства видов рода Pleurotus, нами были изучены особенности динамики разложения основных ее компонентов: целлюлозы и лигнина в процессе культивирования P. ostreatus в лабораторных и полевых условиях (Бисько и др., 1983, 1984).

В.Кэмпбелл (Campbell, 1932) разделяет лигнинразрушающие грибы на три группы в зависимости от первоначально разлагаемого ими компонента древесины и интенсивности его разложения. Вешенка обыкновенная относится к третьей группе видов, характеризующихся тем, что лигнин и целлюлоза разлагаются с одинаковой скоростью и интенсивностью. Аналогичные выводы делают Ф.Задражил и Дж.Такатс (Zadražil, 1974в; Takáts, 1977). Вместе с тем А.Ревэй (Revay, 1979) показала, что P. ostreatus обладает слабой способностью разрушать лигнин, входящий в состав початков и стеблей кукурузы, тополевых опилок и ячменной соломы. Наши данные также свидетельствуют о значительно более слабом по сравнению с целлюлозой разложении лигнина как в лабораторных условиях при росте на древесине осины, ольхи, дуба, ясеня (табл. 8), так и на древесине отрубков осины в процессе экстенсивного выращивания P. ostreatus (табл. 9).

В первые 60 сут рост мицелия P. ostreatus характеризуется в основном малоинтенсивным разложением древесины, в этот период потери сухого вещества составляют 9 % (табл. 8, Бисько и др., 1984). Исключением является активный рост P. ostreatus штамма 483 на ольхе и P. ostreatus штамма 521 — на дубе. В этих вариантах опыта потери целлюлозы и лигнина примерно соответствуют потерям сухого вещества — 22–30 %. Такие же различия между штаммами P. ostreatus в степени разложения разной древесины сохраняются и через 120 сут. Особенно значительная разница наблюдается при использовании древесины дуба. При высоких потерях сухого вещества в первые 2 месяца процесс разложения древесины в последующие месяцы идет с меньшей скоростью, чем при первоначально низких потерях (табл. 8). Судя по данным потерь сухой массы, для P. ostreatus штамма 483 наиболее благоприятным для роста мицелия субстратом является древесина ясеня и ольхи, для 521 — ясеня и дуба. По показателю потерь сухой массы изученные нами штаммы вешенки обыкновенной можно отнести к активным редуцентам древесины (Степанова, Мухин, 1979). Индекс ксилолиза для P. ostreatus составляет 0,40–0,42 (Соловьев, Малышева, 1980). Аналогичные значения получены нами для обоих штаммов при росте на древесине ясеня, штамма 521 — дуба, штамма 483 — ольхи. Через 120 сут роста процесс разложения древесины дуба штаммом 483 и древесины ольхи штаммом 521 характеризуа 8. **Разложение древесины разных пород штаммами P. ostreatus**

Время культивирования, сут	Содержание, % абсолютной сухой массы						Потери, %				Ин
	Целлюлоза		Лигнин		Сухое вещество		Целлюлоза		Лигнин		
	483	521	483	521	483	521	483	521	483	521	4
Контроль	35,9±0,3	35,9±0,3	30,8±0,5	30,8±0,5	0	0	0	0	0	0	0
60	35,5±0,4	34,7±0,6	30,3±0,5	29,4±0,3	2,0	3,3	1,1	3,3	1,6	4,5	0
120	23,2±0,4	19,5±0,4	18,3±0,6	20,5±0,2	41,0	52,0	35,4	45,7	40,5	33,4	0
Контроль	43,6±0,3	43,6±0,3	25,4±0,5	25,4±0,5	0	0	0	0	0	0	0
60	34,9±0,4	40,3±0,2	19,8±0,1	22,0±0,4	21,0	6,0	20,6	7,5	22,0	13,3	0
120	27,4±0,5	29,5±0,7	11,0±0,2	15,6±0,2	43,0	30,0	37,1	32,3	56,6	15,6	0,
Контроль	50,2±0,4	50,2±0,4	22,3±0,2	22,3±0,2	0	0	0	0	0	0	0
60	45,7±0,4	46,4±0,5	17,3±0,2	17,4±0,2	3,0	2,0	8,9	7,5	22,4	21,9	0,
120	36,0±0,3	40,2±0,2	23,7±0,2	23,7±0,4	26,0	10,0	20,2	19,5	45,7	41,2	0,
Контроль	36,7±0,5	36,7±0,5	23,7±0,2	23,7±0,4	0	0	0	0	0	0	0
60	35,3±0,9	25,4±0,3	23,0±0,2	18,8±0,2	2,0	35,0	3,8	30,7	2,9	20,6	0,
120	28,5±0,4	21,7±0,4	21,4±0,2	11,5±0,4	17,0	49,0	22,3	40,8	10,7	51,4	0,

ечание. Содержание золы в образцах древесины ясеня и ольхи составляет 0,31 %, осины – 0,37, дуба – 0,2

Таблица 9. Изменение состава древесины отрубков осины в процессе экстенсивного выращивания P. ostreatus штамма 529

Время после инокуляции, мес	Часть древесины	Потери сухого вещества древесины,%	Содержание, %			Потери, %	
			Зола	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин
12	Заболонь	3,8	4,9	46,2	15,0	3,2	–2,0
12	Сердцевина	1,5	4,3	42,6	17,9	5,1	–5,0
18	Заболонь	12,4	7,6	41,3	14,2	18,8	3,4
18	Сердцевина	10,1	5,7	42,1	16,6	6,2	2,0
30	Заболонь	42,1	2,4	28,2	14,1	44,7	4,3
30	Сердцевина	25,9	4,5	26,1	15,3	44,0	10,5
36	Заболонь	43,8	3,5	21,2	12,8	58,3	12,9
36	Сердцевина	42,2	1,3	23,2	14,1	48,3	17,0
42	Заболонь	57,8	2,0	17,7	12,7	65,2	13,2
42	Сердцевина	50,0	5,0	16,1	12,4	64,0	27,4
48	Заболонь	58,2	2,4	16,1	11,6	68,3	21,7
48	Сердцевина	51,8	4,2	10,9	11,4	75,0	33,3
Контроль (неинокулированная древесина)	Заболонь	0	4,4	50,9	14,7	0	0
	Сердцевина	0	5,6	44,9	17,1	0	0

ется наиболее высокими показателями индекса ксилолиза (табл. 8). Ранее для P. ostreatus такие значения этого индекса в литературе не приводились. Индексы ксилолиза на древесине осины для обоих штаммов P. ostreatus наиболее низкие, что свидетельствует о более интенсивном использовании лигнина этой породы по сравнению с целлюлозой (табл. 8). Вероятно, лигнин осины находится в более доступной для мицелия вешенки обыкновенной форме, чем лигнин древесины других исследованных пород.

Таким образом, изученные нами штаммы P. ostreatus при росте на древесине ясеня, осины, ольхи и дуба в бóльшей степени используют целлюлозу, чем лигнин. Интенсивность разложения целлюлозы и лигнина мицелием P. ostreatus зависит от продолжительности роста, породы древесины и биологических особенностей штамма.

Исследование интенсивности разложения древесины заболони и сердцевины отрубков осины при экстенсивном культивировании P. ostreatus показало, что в течение 4 лет индекс ксилолиза варьировал (табл. 9). Это свидетельствует об изменении интенсивности разложения целлюлозы и лигнина в процессе роста и плодоношения P. ostreatus. По-видимому, лигнин в клеточной стенке структурно связанный с целлюлозой, гемицеллюлозами и другими веществами, на первоначальных стадиях роста гриба менее доступен для ферментов мицелия P. ostreatus. На более поздних стадиях роста P. ostreatus, характеризующихся бóльшими потерями массы древесины, скорость разложения лигнина увеличивается (табл. 9).

Нами отмечено, что разложение целлюлозы и лигнина в заболони и сердцевине при экстенсивном выращивании P. ostreatus на отрубках осины происходит по-разному. В течение первых трех лет целлюлоза заболони разрушается сильнее, чем сердцевины. Вместе с тем потери лигнина в сердцевине, начиная с 30-го месяца культивирования, и целлюлозы через 4 года выше, чем в заболони (табл. 9). Различное использование грибом питательных веществ заболони и сердцевины в разные периоды роста может быть связано не только с отличиями в физических свойствах этих частей древесины: плотностью, проницаемостью для воды и воздуха и т.д., но и с наличием разницы в содержании азота, являющегося, по мнению многих авторов, лимитирующим фактором при разложении листьев и древесины грибами (Peterson, Cowling, 1964; Merril, Cowling, 1966a, b,c.). Показано, что содержание доступного азота в заболони за счет значительного количества живых клеток больше, чем в сердцевине (Merril, Cowling, 1966b). Такое распределение доступного азота в древесине может являться одним из факторов, объясняющих преимущественную утилизацию питательных веществ заболонии мицелием P. ostreatus на начальных стадиях роста. Изменение содержания золы в исследованных нами образцах древесины связано с ежегодным выносом минеральных элементов в составе плодовых тел при сборе урожая (табл. 9).

Наиболее значительно потери целлюлозы и массы древесины отрубков увеличиваются после двух лет культивирования. Наибольшее количество плодовых тел P. ostreatus на одном отрубке и максимальная урожайность в условиях Гомельской обл. БССР также приурочены ко второму году плодоношения, в последующие годы происходит постепенное снижение этих показателей (табл. 10).

Таблица 10. Плодоношение P. ostreatus штамма 529 на отрубках древесины осины

Время после инокуляции, мес	Средний урожай с 1 отрубка, кг	Среднее количество плодовых тел на 1 отрубке, шт.	Средняя масса 1 плодового тела, кг
18	0,50	32	0,015
30	0,33	25	0,013
42	0,25	15	0,010

Исходя из полученных нами результатов по динамике разложения вешенкой обыкновенной целлюлозы и лигнина различных пород древесины в лабораторных и полевых условиях, можно сделать вывод, что основным источником углерода в метаболизме P.ostreatus при росте мицелия и плодоношении на древесине в течение первых двух лет является целлюлоза. В связи с этим главным критерием подбора субстратов, перспективных для культивирования плодовых тел P.ostreatus, должно быть высокое содержание целлюлозы. Установленная нами корреляция урожайности плодовых тел P. ostreatus и интенсивности утилизации мицелием целлюлозы позволяет вести отбор урожайных штаммов для экстенсивного культивирования на стадии роста мицелия, что существенно сокращает время проведения селекционной работы.

Ранее (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983) нами было показано, что в течение первых двух лет культивирования наблюдается значительное увеличение урожайности P. ostreatus при использовании древесины отрубков, пораженных стволовой гнилью. Дальнейшие наблюдения позволили сделать вывод, что пораженная древесина разрушается вешенкой быстрее и может быть использована для получения плодовых тел только в течение трех лет (табл. 11). Эти результаты объясняются увеличением урожайности вешенки в связи с большей доступностью для ее мицелия древесины, обработанной ферментами гриба, вызвавшего стволовую гниль, и подтверждена опытами по изучению ферментативной активности P. ostreatus и этих видов грибов при их совместном культивировании.

Грибы, вызывающие стволовые гнили древесины, являются активными продуцентами гидролитических ферментов, в частности целлюлаз, и утилизируют из древесины только целлюлозу. Для P. ostreatus характерно наличие ферментов, разлагающих как целлюлозу, так и лигнин. При совместном культивировании этих видов наблюдается синергизм продуцирования монофенол-монооксигеназ, что, по-видимому, связано с необходимостью детоксикации метаболитов фенольной природы, возникающих в процессе совместного роста двух видов грибов.

Таблица 11. Плодоношение P. ostreatus на пнях и отрубках различных пород древесины (Львовская обл., УССР)

Порода древесины	Урожайность, кг·м$^{-3}$						
	1-й год	2-й год	3-й год	4-й год	5-й год	6-й год	Всего
Отрубки							
осина здоровая	10,5	21,5	25,0	13,1	2,3	0	72,4
осина пораженная	0	69,0	30,7	2,2	0	0	101,9
береза здоровая	33,4	9,5	32,0	10,0	1,5	0	86,4
береза пораженная	21,0	69,2	10,7	2,3	0	0	103,2
бук здоровый	0	25,0	15,7	14,3	6,2	0	61,2
бук пораженный	0	42,0	18,7	3,1	0	0	63,8
Пни							
граб	1,2	16,1	12,5	14,2	10,0	2,3	56,3
бук	0,3	11,8	9,2	16,3	11,2	2,1	62,0
ясень	2,5	10,3	13,4	16,8	12,4	2,1	70,3
тополь	3,0	13,2	14,5	15,3	11,2	2,2	59,4

Увеличение урожайности вешенки обыкновенной на древесине, пораженной стволовыми гнилями, связано с усилением ферментативной активности оксидаз мицелия P. ostreatus в присутствии грибов, вызвавших гниение, что, в свою очередь, приводит к более быстрому освоению древесины и утилизации питательных веществ вешенкой обыкновенной. Таким образом, впервые показана возможность выращивания P. ostreatus и на древесине, пораженной стволовой гнилью.

Определяющую роль в получении высоких урожаев плодовых тел высших съедобных базидиомицетов наряду с подбором субстрата и строгим соблюдением технологического режима играет качество посевного мицелия. В практике промышленного выращивания как экстенсивным, так и интенсивным способом видов рода Pleurotus применяют только посевной мицелий, выращенный на зерне пшеницы. Использование зерна вызвано, прежде всего, необходимостью снабдить мицелий гриба "стартовыми питательными веществами", облегчающими приживаемость мицелия в субстрате (Zadražil, 1982). Количество посевного мицелия, необходимого для быстрого роста гриба и получения хорошего урожая при экстенсивном культивировании, составляет 0,5–2 % массы использованной древесины (Pirazzi et al., 1978). Для удешевления производства посевного мицелия и уменьшения количества зерна, используемого для его приготовления, было предложено (Козлова, 1983; А.с.1099891) использовать различные растительные смеси: опилки с добавлением пшеничных отрубей, пивной дробины, подсолнечной лузги, шелухи хлопковых семян или гречневой шелухи. Положительные результаты, полученные при изучении роста P. ostreatus на древесине, пораженной стволовыми гнилями, позволили разработать способ выращивания посевного мицелия на смеси (1:1) зерна и измельченной древесины в конечной стадии разложения Fomes fomentarius (Рептунович, Душин, 1985).

Способы экстенсивного выращивания съедобных грибов рода вешенка на древесине различаются методами инокуляции и проращивания мицелия. При использовании отрубков инокуляцию производят тремя следующими способами: путем введения посевного мицелия в просверленные отверстия диаметром 1 см и глубиной 10 см (Pirazzi et al., 1978); нанесения посевного мицелия на поверхность отрубков (Вешенка ..., 1976); внесения посевного мицелия на землю под отрубок (А.с.1007604 А).

Проращивание мицелия осуществляется либо непосредственно в лесу (отрубки прикапываются в землю сразу после инокуляции первым и третьим способами), либо в специальном помещении или траншее, где отрубки устанавливаются по четыре – шесть друг на друга (второй способ инокуляции). В последнем случае отрубки прикапывают в землю в конце лета (Вешенка ..., 1976).

При любом способе инокуляции и проращивания мицелия в лесной и лесостепной зонах Украины наилучшие результаты получены в тех случаях, когда плантации P. ostreatus вплоть до появления плодовых тел еженедельно поливали. При этом значительно сокращались сроки разрастания мицелия и увеличивался урожай, особенно заметно в первый год плодоношения.

В большинстве лесничеств УССР и БССР экстенсивное культивирование вешенки обыкновенной проводят на отрубках лиственных пород деревьев. Для инокуляции одного отрубка древесины требуется не менее 150–200 г посевного мицелия на зерне. Высаженные отрубки плодоносят 3–5 лет и за это время с одного отрубка можно собрать до 2,5–3,5 кг грибов.

Недостатками существующей технологии являются необходимость значительных затрат трудовых ресурсов при распиловке древесины на отрубки, транспортировке и укладке их в траншеи, уходе во время прорастания мицелия и плодоношения, а также транспортировке отрубков к месту закладки плантации и прикапывании их в землю; большой расход посевного мицелия, выращиваемого на зерне злаковых культур.

Многократная экспериментальная проверка, проведенная нами в Великопольском и Лелеховском лесничествах Львовской обл. УССР, показала, что при выращивании P. ostreatus не на отрубках, а на пнях, занимающих 10–15 % стволовой древесины в местах вырубки леса, обеспечиваются достаточно стабильные урожаи (в среднем 0,6—0,7 кг грибов с 1 пня) в течение 5–6 лет. Одновременно этот способ позволяет снизить трудовые и энергетические затраты, а следовательно, и себестоимость продукта. Кроме того, в ходе этих проверок доказана целесообразность использования меньших количеств посевного зернового мицелия без ущерба для урожайности гриба, что также снижает себестоимость продукции — плодовых тел вешенки обыкновенной.

На основании полученных данных по использованию вешенкой обыкновенной питательных веществ различных частей древесины, описанных выше, нами был предложен способ инокуляции пней, заключающийся в нанесении посевного мицелия только на заболонную часть древесины (Шевченко и др., 1982).

Разработанный нами способ инокуляции не уменьшает урожайность плодовых тел P. ostreatus (табл. 12). На основании полученных данных в существующую технологию культивирования вешенки нами внесены изменения, удешевляющие и облегчающие процесс ее выращивания:

1. Выращивание P. ostreatus проводить не на отрубках, а на пнях, остающихся после вырубки леса, что исключает необходимость распиловки древесины, складирования ее в штабеля для проращивания мицелия, полива для поддержания соответствующей влажности, транспортировки проросших отрубков к месту закладки плантации, прикапывания их в землю и полива перед плодоношением. Урожайность с одного пня в год составляет 0,6—0,7 кг грибов. Плодоношение длится 5—6 лет.

2. Уменьшить количество посевного мицелия: на один пень вносить не 200 г, а 100 г зернового мицелия, что не приводит к снижению урожайности.

Эти изменения, внесенные в технологию экстенсивного культивирования P. ostreatus, существенно удешевляют стоимость конечного продукта — плодовых тел (табл. 13) и упрощают его производство.

Таким образом, предложенный способ внесения посевного мицелия P. ostreatus сокращает его расход для получения единицы массы плодовых тел, что, в свою очередь, уменьшает себестоимость экстенсивного культивирования вешенки обыкновенной на отходах лесного хозяйства. Внедрение новой технологии выращивания P. ostreatus на 1 т грибов даст экономический эффект 955 руб.

Проведенные нами опыты по культивированию на пнях и отрубках здоровой и пораженной стволовой гнилью древесины в различных регионах УССР и БССР показали, что в лесной и лесостепной зонах наибольшая урожайность наблюдается на 2-й год плодоношения (Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983). В зависимости от диаметра, плотности древесины и степени поражения ее стволовой гнилью плодоношение длится до 6 лет (табл. 11).

Т а б л и ц а 12. Урожайность P. ostreatus штамма 482 с 1 пня за 4 года при различных способах инокуляции

Способ инокуляции	Количество мицелия, кг	Урожайность, кг	
		Бук	Граб
		M ± m	M ± m
1	0,15	2,50 ± 0,10	2,73 ± 0,11
2	0,05	2,55 ± 0,08	2,65 ± 0,09
3	0,025	1,08* ± 0,05	1,25* ± 0,07
4	0,015	0,82* ± 0,05	0,98* ± 0,07
5	0,010	0,80* ± 0,07	0,94* ± 0,06

Примечание. Нанесение посевного мицелия *1* – сплошным слоем, *2* – на заболонную часть, *3* – в четырех местах на заболонную часть, *4* – внесение посевного мицелия в два надреза, *5* – в четыре надреза. *Значение урожайности при данном способе инокуляции достоверно меньше (p = 0,95), чем урожайности при первом способе инокуляции.

Т а б л и ц а 13. Расчет экономической эффективности выращивания P. ostreatus по усовершенствованной технологии (в расчете на 1 т грибов, руб.)

Наименование статей затрат	Технология выращивания	
	На отрубках	На пнях
Сырье и материалы, всего	534,6	260,6
Основная зарплата	754,8	891,0
Дополнительная зарплата	75,5	89,1
Отчисления на соцстрах	66,4	78,4
Амортизация зданий и оборудования	910,0	910,0
Цеховые расходы	104,9	104,0
Общезаводские расходы	148,0	148,0
Прочие расходы	53,0	53,0
Производственная себестоимость	2647,2	2535,0
Внепроизводственные расходы	105,9	105,9
Себестоимость	1835,4	880,3
Экономический эффект	0	955,1

Примечание. Расчеты экономической эффективности предложенного способа выращивания грибов выполнены в Институте экономики АН УССР.

За этот период урожаи собранных плодовых тел составил до 30 % массы использованной древесины.

Кроме отрубков и пней для культивирования P. ostreatus используют ветки и другие порубочные остатки: щепу, кору и т.д. (Kiss, 1983; Лозовой 1985; Фомина, Гаврилова 1985). Японские исследователи (Kitaguchi et al., 1984; Yoshioka, Kitaguchi, 1981) предложили способ выращивания плодовых тел P. ostreatus на предварительно пролежавших во влажных условиях в течение месяца ветках плодовых деревьев и виноградной лозы, измельченных до 2,5–6 см. Урожай, полученный при таком способе культивирования с применением посевного мицелия на опилках, не отличается от урожаев, получаемых при выращивании P. ostreatus на отрубках древесины. Помимо отходов лесного хозяйства для экстенсивного культивирования видов рода Pleurotus в последнее время начали использовать солому злаковых культур (Walter, 1984). Метод заключается в том, что тюки соломы, смоченные водой, инокулируют мицелием и укладывают в лесу на лесную подстилку, укрывая сверху полиэтиленовой пленкой. Через месяц пленку снимают и тюки складывают в штабели (по шесть в длину и по три в высоту) под пологом леса. Начало плодоношения зависит от вида и штамма гриба, климатических условий и сорта соломы. Плодовые тела P. ostreatus f. florida появляются, например, через 33–53 сут после инокуляции. В климатических условиях Западной Европы (ФРГ) плодовые тела P. ostreatus при использовании этого метода собирали 6 месяцев в году — с мая по октябрь (Walter, 1984). В 1984 г. этим способом было выращено 3 т грибов. Аналогичным способом производят выращивание P. ostreatus в Японии (Omori, 1974).

Несмотря на то что первые опыты экстенсивного выращивания вешенки обыкновенной в лесу относятся к началу нашего столетия, до настоящего времени дискутируется вопрос об инфекционности этого вида. В работах разных авторов приводятся противоречивые данные о способности этого гриба при определенных условиях переходить к паразитизму на живых деревьях (Zadražil, 1974b; Eger, 1978b; Мелик Хачатрян, 1979, 1980).

Изучение проникновения мицелия P. ostreatus в живые деревья ели и бука, проводившееся В.Лутхардом (Luthardt, 1969) в течение 10 лет, показало, что мицелий не проникал за пределы зоны инфицирования и не распространялся по стволу дерева. Единичные плодовые тела вешенки, наблюдаемые в течение 1—2 лет, были приурочены только к месту инфицирования.

Методами искусственного заражения исследовано проникновение вешенки обыкновенной в древесину живых деревьев Populus euramericana (Anselmi, Deandrea, 1978). Оказалось, что у деревьев, ранее не имевших повреждений, внесенный мицелий P. ostreatus не вызывал каких-либо патологических изменений ни в стволах, ни в корнях и не был обнаружен в тканях. У деревьев с повреждениями мицелий гриба развивался только в омертвевших тканях. При использовании продольных сечений показано (Anselmi, Deandrea, 1978), что мицелий P. ostreatus за 3 года распространился не более чем на 6 см выше и ниже повреждения, даже если протяженность омертвевшей ткани составляла более 1 м. Изучение поперечных сечений на уровне повреждения свидетельствовало о том, что во всех исследованных деревьях мицелий проник довольно глубоко, но его проникновение всегда было ограничено сердцевинной частью дерева. На уровне этих сечений пораженная зона всегда имела форму сегмента, причем угол его был в прямой зависимости от угла повреждения. В некоторых случаях, когда ввиду небольшого диаметра ствола поверхность повреждения была относительно большой, этот угол приближался к 180° (Anselmi, Deandrea, 1978).

Аналогичные результаты получены при заражении мицелием вешенки обыкновенной живых деревьев Populus deltoides (Schmidt, Shain, 1981). Исследователи наблюдали проникновение мицелия P. ostreatus только в зону годичного кольца, образованного в год инфицирования. Наблюдения, проводимые нами в течение 7 лет в лесничествах Львовской обл. (УССР), на плантациях пней, инокулированных P. ostreatus, свидетельствуют об отсутствии появления плодовых тел вешенки на живых деревьях за пределами плантации.

Полученные нами данные по динамике разложения древесины штаммами P. ostreatus при экстенсивном культивировании свидетельствуют о том, что в первые 2 года роста и плодоношения этого вида гриба определяющую роль в снабжении питательными веществами играет заболонная часть древесины. Установленная связь между урожайностью вешенки обыкновенной и утилизацией ее мицелием целлюлозы позволяет сделать вывод о том, что содержание целлюлозы в древесине должно быть основным критерием подбора субстратов для экстенсивного выращивания этого вида. Селекцию высокоурожайных штаммов можно вести при этом на стадии роста мицелия, определяя скорость потребления целлюлозы.

Результаты изучения совместного роста P. ostreatus и грибов, вызывающих стволовую гниль, доказали возможность выращивания вешенки обыкновенной на древесине, пораженной стволовой гнилью, что увеличивает эффективность экстенсивного метода культивирования. Внесенные нами изменения в существующую технологию этого способа (нанесение посевного мицелия на заболонную часть и использование пней) существенно удешевляют стоимость конечной продукции — плодовых тел P. ostreatus.

Приведенные выше результаты подтверждают экологический статус вешенки обыкновенной как лигнофильного сапротрофа и свидетельствуют об отсутствии опасности поражения живых деревьев P. ostreatus при экстенсивном культивировании.

ГЛАВА 6
СУКЦЕССИИ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ ПРИ ЭКСТЕНСИВНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ ГРИБНЫХ СУКЦЕССИЙ НА ДРЕВЕСИНЕ

Искусственное выращивание съедобных грибов, в частности культивирование P.ostreatus экстенсивными способами на пнях и отрубках в лесу, вызывает необходимость изучения последовательности развития и взаимоотношения ее с другими видами дереворазрушающих грибов. Опубликованы всего две работы (Terpo-Pomogyi et al., 1976; Lednar, 1979), дающие представление о видовом составе грибов, встречающихся на отрубках и пнях, инокулированных вешенкой, без анализа динамики их появления и определения доминирующих видов.

Прежде чем перейти к анализу сукцессий грибов на древесине, инокулированной мицелием P.ostreatus, остановимся на факторах, влияющих на формирование грибных сукцессий.

Сукцессия – последовательное заселение одного и того же участка древесины мицелиями различных видов грибов или же различными сообществами грибов (Rayner, Todd, 1979). В литературе существует мнение, что сукцессия отражает неодинаковые возможности групп грибов с использовании основных питательных веществ древесины – углеводов, целлюлозы и лигнина. В то же время показано (Rayner, Todd, 1967), что сукцессия может быть частично объяснена длительностью времени, которое необходимо для плодоношения приходящим один другому на смену видам грибов. Большинство авторов под сукцессией подразумевают изменение видового состава грибов во времени, хотя необходимо учитывать и изменения, происходящие в пространственной структуре древесины.

Д.Келли с соавт. (Keliey et al., 1981) полагают, что грибы с высокой степенью сапрофитной конкуренции должны обладать следующими свойствами: быстрым прорастанием спор и интенсивным ростом мицелия, высокой активностью внеклеточных ферментов, образованием токсинов, устойчивостью к антибиотикам.

Одним из факторов, влияющих на степень конкурентоспособности грибов, является также скорость использования ими неструктурных углеводов, включая простые сахара (Hulme, Shields, 1970). Такие соединения в заболонной части древесины составляют 0,03–0,8 % сухой массы.

Способность гриба образовывать токсичные вторичные метаболиты, которые ингибируют прорастание спор возможных конкурентов, может быть важнейшим фактором в направлении сукцессии (Keliey et al., 1981). Так, при изучении влияния Trichoderma viride на прорастание спор 10 видов дереворазрушающих грибов не установлено ни одного случая взаимной стимуляции. Наиболее часто встречающимся результатом было ингибирование прорастания спор всех исследованных видов фильтратами Tr. viride (Keliey et al., 1981). В фильтрате обнаружены триходермин и смесь белоксодержащих антибиотиков. Таким образом, быстрое заселение древесины Tr. viride препятствует проникновению других видов грибов и может быть вызвано как высокой скоростью роста, обусловленной быстрым использованием этим грибом неструктурных углеводов, так и ингибированием прорастания спор других видов посредством выделения токсических веществ.

Одним из важнейших факторов, влияющих на заселение древесины теми или иными видами грибов, является химический состав древесины, в значительной степени различный у хвойных и лиственных пород деревьев (Рипачек, 1967). Бо́льшая устойчивость к поражению грибами древесины хвойных пород деревьев, чем лиственных (потери древесины хвойных пород в 10–20 раз ниже, чем лиственных), может быть объяснена следующим: ингибированием экстрактивными специфическими веществами, более высоким содержанием лигнина и бо́льшей его концентрацией в клеточных стенках, особенностью строения лигнина древесины хвойных пород: содержит только конифероловый спирт (Peterson, Cowling, 1964). Изучение особенностей химического состава гемицеллюлоз показало, что в древесине хвойных пород присутствует более высокое содержание маннанов, галактанов и пониженное – ксиланов по сравнению с гемицеллюлозами лиственных пород (Rypaček, 1977). Исследование роста мицелия 20 видов дереворазрушающих грибов, в том числе P. ostreatus, на средах, содержащих отдельные моносахара, показало существование корреляции между приуроченностью вида гриба к поражению лиственных или хвойных пород и накоплением биомассы на моносахарах, присутствующих в этой породе в наибольшем количестве. Так, P. ostreatus, плодовые тела которого в основном встречаются на лиственных породах, галактозу и маннозу использует лучше, чем глюкозу, а мальтозу – лучше, чем ксилозу (Rypaček, 1977).

Всем дереворазрушающим грибам свойственно усиление роста в присутствии экстрактов древесины, объясняемое существованием гетероауксотрофизма по неидентифицированным пока ростовым веществам (Robbins, Hervey, 1958). Кроме этого, показано (Rayner, Hedges, 1982) преимущественно стимулирующее действие экстрактов древесины вяза на рост тех видов грибов, которые приурочены к разложению древесины этой породы: Lyophyllum ulmarium (Fr.) Kühner, Pleurotus cornucopiae, Rigidoporus ulmarius (Sow.: Fr.) Imaz. arud S. Ito. У дереворазрушающих грибов отмечены также реакции положительного хемотропизма на летучие вещества древесины, причем один и тот же вид гриба по разному реагирует на летучие вещества живой и мертвой древесины (Mowe et al., 1983). Изучение действия летучих терпенов на рост дереворазрушающих грибов показало (Hintikka, 1970), что большинство видов грибов, растущих на хвойных, хорошо росло в атмосфере, насыщенной терпенами. На грибы, растущие на лиственных породах, в частности на P. ostreatus, терпены (α-пинин, β-пинин, камфен, карен, лимонен) оказывали ингибирующее действие, начиная с 0,0005–0,0025 % (Hintikka, 1970).

Помимо вышеперечисленных факторов на заселение древесины грибами значительное влияние оказывает стойкость древесины, включающей понятия стойкости механической и наличие защитных веществ химической природы, которые можно разбить на две группы: дубильные вещества (таннины), оказывающие на грибы общетоксическое действие, и специфические токсичные соединения (например, пиносильвин), действие которых на грибы связано с нарушением процессов окислительного фосфорилирования. А.Ломан (Loman, 1970) установил, что грибы, вызывающие белую гниль, более устойчивы к фунгитоксическим веществам древесины, чем грибы, вызывающие бурую гниль. М.Гашковой (1972) показано, что грибы, обладающие полифенолоксидазами, в том числе грибы рода Pleurotus, менее чувствительны к таким фенольным соединениям, как таннин, галовая кислота, α-нафтол и α-нафтиламин, по сравнению с грибами, не имеющими этих ферментов. Оказывается, полифенолоксидазы значительно снижают токсичность этих веществ. Таким образом, грибы, характеризующиеся высокой ферментативной активностью и способные изменять структуру токсических веществ или нейтрализовать их действие, могут способствовать в последующем заселению древесины другими видами грибов, не обладающих устойчивостью к фунгитоксическим соединениям (Loman, 1970).

Иногда для объяснения процессов замещения на древесине одних видов грибов другими используют механизм истощения питательной среды. Сущность этой гипотезы состоит в том, что гриб будет заселять древесину до тех пор, пока он сможет добывать из нее необходимые для своего роста питательные вещества, после этого он отмирает, открывая доступ другим грибам, которые смогут добывать питательные вещества из оставшихся соединений. Такая возможность существует, но она не объясняет все случаи замещения. Coriolus versicolor, вырабатывающий ферменты, способные практически полностью разложить древесину, обычно замещается задолго до того, как можно было бы утверждать, что он истощил все имеющиеся резервы питательных веществ (Rayner, Todd, 1979). Если бы основным было эффективное использование полимеров клеточной стенки, то можно было бы ожидать скорейшего замещения грибов, которые вызывают медленное или неэффективное разложение древесины. Однако в действительности это не так – грибы, вызывающие умеренное разрушение (например Hypoxylon multiforme Fr.), способны на длительные периоды исключать грибы, приводящие к активному разрушению. Подобным примером могут служить также виды родов Trichoderma, Penicillum и др. В процессе быстрой колонизации древесины эти грибы извлекают из нее неструктурные углероды, тем самым препятствуя проникновению в древесину других видов грибов (Hulme, Shields, 1970).

Возможно, что сукцессия грибов, заселяющих древесину, зависит, в частности, и от соотношения углерода и азота, которое колеблется у разных пород древесины от 350 : 1 до 1 250 : 1 (Kelley et al., 1981). Содержание азота в лиственных породах больше, чем в хвойных, а в заболони — выше, чем в сердцевине (Merrill, Cowling, 1966). Основная часть азота древесины приходится на клетки камбия (1–5 % массы). Первоначальная колонизация древесины слабыми деструкторами, возможно, связана с утилизацей ими богатых азотом паренхимных клеток древесины (Levi, Cowling, 1969).

Изучение роста грибов, вызывающих белую и бурую гниль, на древесине с разным содержанием азота, показало тесную связь между содержанием азота и скоростью разрушения древесины (Merrill, Cowling, 1966a). Трехкратное увеличение содержания азота в древесине вызывало двухкратное увеличение потери массы древесины. Полученные данные свидетельствуют о том, что различия в содержании азота в древесине в течение разных сезонов года может вызывать изменения в чувствительности ее к разрушению разными видами грибов (Rendoš, 1964).

Азот в древесине присутствует в основном в форме белков, хотя обнаружены и свободные аминокислоты. В то время как количество азота в мицелии гриба, выросшего на древесине, варьирует в зависимости от штамма и вида от 0,23 до 3,27 %: в плодовых телах — 1,5–7,0, а в спорах составляет около 3 %, древесина лиственных пород содержит 0,03–0,1 % азота (Merrill, Cowling, 1966b). Потребности в азоте дереворазрушающие грибы могут восполнять либо за счет механизмов физиологической адаптации, либо путем использования азотсодержащих веществ из источников вне древесины, например из воздуха или почвы (Cowling, Merrill, 1966; Kurtzman, 1978).

Формами физиологической адаптации у дереворазрушающих грибов являются: уменьшение содержания хитина, структурных белков и других метаболически инертных азотсодержащих веществ клеточных стенок; упрощение путей метаболизма таким образом, что в процессе разложения древесины принимает участие минимальное количество ферментов (в основном внеклеточных); многократное использование ферментов, разлагающих древесину, что приводит к уменьшению количества азота, потребляемого для процессов метаболизма; автолизис клеток (Cowling, Merrill, 1966). Опубликован ряд работ (Levi, Cowling, 1969; Gramss, 1979), подтверждающих концепцию физиологической адаптации. В частности, показано (Levi, Cowling, 1969), что при высоких соотношениях углерода и азота в субстрате в клетках дереворазрушающих грибов происходит преимущественная локализация азота в нуклеиновых кислотах и липидах.

Автолизис клеток как ответная реакция гриба на нехватку азота в среде, может протекать следующим образом: внутреннее перемещение веществ цитоплазмы или продуктов автолизиса от более старых клеток к более молодым; усиленное образование внеклеточных ферментов, деполимеризующих клеточные стенки и вещества цитоплазмы более старых клеток в растворимые вещества, которые ассимилируют активно растущие клетки. Косвенными доказательствами возможности протекания автолизиса клеток дереворазрушающих грибов служат результаты опытов, показывающих, что при добавлении глюкозы как единственного источника углерода Polyporus versicolor (Fr.) мог использовать свой собственный мицелий как единственный источник азота (Levi et al., 1968).

Дискуссионным является вопрос о возможности высших базидиомицетов — ксилофагов фиксировать атмосферный азот. Большинство исследователей считают (Zadražil, 1974b; Eger, 1978b), что эукариоты не способны фиксировать азот из воздуха, хотя высказывалось такое предположение (Kurtzman, 1978), что в связи с наличием в атмосфере азота не только в форме N_2, но и NH_3, а также различных окислов можно допустить возможность утилизации высшими базидиомицетами азота в форме этих соединений. Существует ряд работ, в которых приведены доказательства фиксации атмосферного азота P. ostreatus при культивировании на соломе, но на анализе этих данных мы остановимся в главе 7. В то же время отмечено (Larsen, 1978), что пораженная грибами древесина поглощает N_2 воздуха, причем этот процесс по скорости и масштабу может иметь значение для ускорения разложения древесных остатков в лесу, а также в балансе круговорота азота. Фиксацию азота пораженной грибами древесиной М.Ларсен (Larsen, 1978) связывает с наличием в ней азотфиксирующих бактерий. Существование ассоциаций азотфиксирующих бактерий со многими дереворазрушающими грибами (Pholiota adiposa (Fr.) Kumm., Phellinus chrysoloma Bond. и др.) доказано при использовании изотопного метода с $^{15}N_2$ (Aho et al., 1974). В древесине, заселенной Hirchioporus abietinus (Dicks.: Fr.) Donk, азотфиксирующие бактерии составляли до 5 % общего количества колоний. Не были обнаружены азотфиксирующие бактерии в древесине, пораженной Armillariella mellea (Vahl.: Fr.) Karst. и Fomitopsis annosa (Fr.) Karst. — пионеров освоения древесины. Общее количество бактерий и количество среди них азотфиксирующих на ранних стадиях разложения древесины значительно ниже, чем на более поздних (Aho et al., 1974). Б.Косенза (Cosenza, 1970) предположил, что бактерии используют простые углеводы и органические кислоты, образующиеся при разложении древесины дереворазрушающими грибами, а азотфиксирующие бактерии снабжают, в свою очередь, грибы тиамином и азотсодержащими веществами в легкодоступной форме. О широком распространении азотфиксирующей способности среди бактерий, обитающих в древесине, свидетельствует тот факт, что у 28 % изолятов бактерий, выделенных из разных пород древесины, обнаружена нитрогеназная активность (Seidler et al., 1972).

Иным источником получения дополнительных количеств азотсодержащих веществ дереворазрушающими грибами является почва. Многие сапротрофные дереворазрушающие виды грибов способны образовывать почвенный мицелий (Gramss, 1979).

В опытах, поставленных Г.Грамсом (Gramss, 1979), показано, что наличие почвенного мицелия позволяет увеличить содержание азота в грибных клетках на 279 %, фосфора — на 162, калия — на 149 %. Почвенный мицелий образуется только тогда, когда почва содержит достаточно питательных веществ. Урожайность P. ostreatus при экстенсивном культивировании возрастает пропорционально количеству гумуса в почве в пределах до 8–10 % (Gramss, 1979). Формирование почвенного мицелия, кроме того, что дает возможность грибу активно использовать питательные вещества почвы, усиливает его устойчивость к конкурентным микроорганизмам в субстрате. Сапротрофы белой гнили превосходят грибы бурой гнили в формировании почвенного мицелия и утилизации питательных веществ почвы. Показано (Gramss, 1980), что существует корреляция между интенсивностью развития почвенного мицелия и разложением древесины. Потеря сухой массы древесины в результате роста P. ostreatus при помещении инокулированных отрубков в богатую гумусом почву на 25–31 % больше, чем при использовании песка (Gramss, 1980). Потеря урожая при помещении отрубков, инокулированных вешенкой, на бедных гумусом почвах может составить 25–88 % (Gramss, 1979). Такое влияние почвы можно объяснить несколькими причинами, связанными со способностью P. ostreatus образовывать почвенный мицелий: поступлением питательных веществ и влаги из почвы; адсорбцией почвой токсинов, выделяемых мицелием; влиянием почвенной микрофлоры (Gramss, 1979).

Исходя из изложенного выше, наиболее важными факторами, влияющими на формирование грибных сукцессий на древесине, являются: способность гриба к утилизации неструктурных углеводов; скорость прорастания его спор и роста мицелия; возможность выделения токсических веществ, подавляющих рост других микроорганизмов; устойчивость к фунгитоксическим веществам; высокая ферментативная активность; способность адаптироваться к условиям роста на субстратах с низким содержанием азота посредством механизмов физиологической адаптации — азотфиксации либо путем формирования почвенного мицелия.

СУКЦЕССИИ ГРИБОВ НА ПНЯХ, ИНОКУЛИРОВАННЫХ МИЦЕЛИЕМ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Грибы, появляющиеся на пнях и отрубках, инокулированных мицелием P. ostreatus, можно объединить в две группы: грибы, конкурирующие с вешенкой обыкновенной в потреблении питательных веществ, и грибы, конкурирующие с вешенкой обыкновенной в захвате определенной площади.

Наибольшее влияние на рост P. ostreatus при экстенсивном культивировании оказывают грибы-конкуренты за питательные вещества древесины, так как биологически, экологически и ценологически они стоят ближе всего к P. ostreatus. По питанию они в основном принадлежат к ксилофагам, разлагающим лигнин (например, виды рода Trametes), но среди них можно найти и виды, утилизирующие как лигнин, так и целлюлозу, например Stereum hirsutum (Fr.) Fr. Многие из этих видов способны переходить от паразитизма на живом дереве к сапротрофному способу питания на пнях и отрубках. Экологически грибы-конкуренты P. ostreatus при экстенсивном культивировании являются видами, которые и в естественной экосистеме возникают одновременно с вешенкой или опережают ее при заселении древесины. Вместе с тем они отличаются от P. ostreatus более широкой экологической амплитудой как в фазе роста мицелия, так и на этапе развития плодового тела: мицелий растет значительно быстрее, образование плодовых тел не так чувствительно к колебаниям климатических условий. Теоретически можно ожидать наличия трех вариантов взаимодействия мицелия вешенки обыкновенной и грибов-конкурентов в древесине: свободное перемещение, преобладающий рост мицелия одного из видов (замещение), либо взаимный антагонизм (тупиковое взаимодействие).

Наиболее важным для понимания хода сукцессий на древесине являются случаи замещения и тупикового взаимодействия. В то время как тупиковое взаимодействие приводит к сохранению данного сообщества, замещение ведет к смене его. Теоретически и тупиковое взаимодействие и замещение могут возникнуть как в результате непосредственного взаимодействия после контакта двух мицелиев, так и вследствие влияния косвенных факторов, например присутствия различных источников питания, метаболитов и т. д.

В разложении мертвой древесины грибами можно выделить три основные стадии, характеризующиеся сменой сообществ грибов. На первой стадии разложения древесина заселяется большим и до определенного времени возрастающим разнообразием видов грибов, включающим виды, вызывающие разрушение и не принимающие участия в этом процессе. Состав сообщества зависит от степени подверженности древесины воздействию грибных спор или мицелия (соприкосновение с почвой, поверхность среза или рана в коре). На этой стадии часто присутствуют такие не вызывающие разложения древесины микромицеты, как виды родов Phialophora, Botrytis, Graphium и Acremonium, которые подвержены достаточно быстрому замещению, а также быстрорастущие базидиомицеты, лучше развивающиеся при наличии еще живой древесины. К таким базидиальным грибам принадлежат Stereum purpureum (Pers.) Fr., Schizophyllum commune, Flammulina velutipes. Указанные виды имеют ряд общих свойств: быстрый рост мицелия и способность быстро образовывать плодовые тела, относительно незначительное влияние на древесину, приуроченность к заселению коры и поверхности древесины. На пнях всех видов древесных пород первые плодовые тела высших базидиомицетов появляются в течение 7–10 месяцев после рубки дерева. А.Рунге (Runge, 1975, 1978) приводит 13 видов грибов, из них 6 характерны для начальной стадии разложения древесины, продолжающейся 15–20 месяцев (S. purpureum, Corticium evolvens Fr., Coryne sarcoides Höhnel, Stereum hirsutum, Bispora antennata Corda, Melanoma pulvis-pyria Corda).

В отличие от пней на контрольных площадках пни, инокулированные мицелием P. ostreatus, характеризовались меньшим обилием видов дереворазрушающих грибов, а также незначительным видовым разнообразием (табл. 14). В первый год плодоношения P. ostreatus на 20 % пней всех пород появились плодовые тела Schizophyllum commune (рис. 13). Для этого вида характерны рост по поверхности древесины и способность к паразитизму на поврежденных и ослабленных деревьях. В это же время было отмечено появление видов, приуроченных к росту на коре древесины – Hypoxylon coccineum (Pers.) Wild. (на буке, редко на грабе) и Tubercullaria vulgaris Tode (на буке). Второй год плодоношения вешенки характеризуется большим разнообразием видов грибов, заселяющих инокулированные пни (табл. 14). Весной встречаются единичные экземпляры плодовых тел Polyporus brumalis Fr. Начинают появляться плодовые тела дереворазрушающих

Таблица 14. Видовой состав грибов, заселяющих пни, инокулированные мицелием P. ostreatus

Вид	Год плодоношения			
	1-й	2-й	3–4-й	5–6-й
Schizophyllum commune	+++	+++	–	–
Hypoxylon coccineum	++	–	–	–
Tubercularia vulgaris	++	–	–	--
Coriolus hirsutus	–	++	++	–
Coriolus versicolor	–	++	++++	++
Bjercandera adusta	–	++	+++	+++++
Stereum hirsutum	–	++	+++	–
Polyporus brumalis	–	+	+	–
Pseudotrametes gibbosa (Pers.) Bond.	–	–	+	++

Примечание. (–) – плодовые тела отсутствовали, (+) – единичные плодовые тела, (++) – до 10 % площади пня, (+++) – 11–25 % площади пня, (++++) – более 25 % площади пня, (+++++) - сплошное заселение пня.

грибов, вызывающие белые заболонно-ядровые гнили, для которых свойственно образование глубоко проникающего в древесину мицелия – Coriolus hirsutus (Wulf.: Fr.) Quel., Coriolus versicolor, Stereum hirsutum, Bjercandera adusta. Наибольшего распространения в этот период достигает Shizophyllum commune. Таким образом, начальная стадия разложения древесины пней, инокулированных P. ostreatus, по сравнению с естественной сукцессией характеризуется уменьшением разнообразия и обилия видов дереворазрушающих грибов и преобладанием в этой фазе Schizophyllum commune, не оказывающего значительного влияния на древесину и не являющегося характерным видом для сукцессии, наблюдаемой на контрольных площадках. Из видов, определяющих первую стадию разложения древесины, на инокулированных P. ostreatus пнях бука, граба и березы, нами отмечено слабое развитие только Stereum hirsutum (рис. 14).

На второй (оптимальной) стадии разложения древесины в естественных условиях, длящейся 3–4 года, встречается до 30–32 видов грибов, вызывающих более интенсивное разрушение. Среди них Coriolus versicolor, Bjercandera adusta, Stereum hirsutum, Hypholoma fasciculare (Fr.) Kumm. и др. Определяющими эту фазу разложения являются виды Coriolus versicolor, Lenzites betulina (Fr) Fr., Bjercandera adusta (Runge, 1975, 1978). Если за-

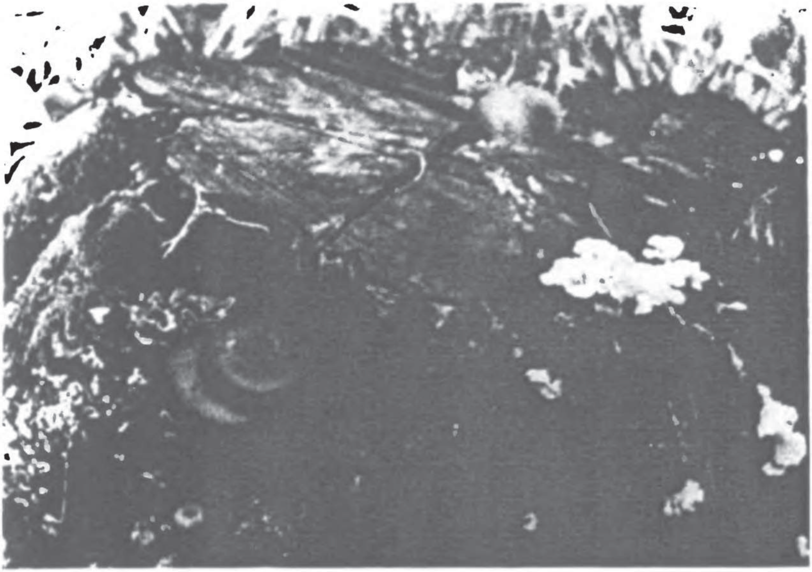


Рис. 13. Плодовые тела Schizophyllum commune на пнях, инокулированных P. ostreatus

Р... 14. Плодовые тела Stereum hirsutum на пнях, инокулированных P. ostre...

тем наступает тупиковое взаимодействие, то устанавливается первая стадия адаптации, на которой присутствует относительно небольшой набор видов грибов. На этой стадии очень часто отмечается наличие взаимно антагонистических мицелиев одних и тех же видов. Стадия адаптации может продолжаться различное время, до тех пор, пока установившееся равновесие не нарушается появлением более "агрессивных" видов грибов. К ним можно отнести, например, Phlebia merismoides (Huds.: Fr.) Kumm. и Phanerochaete velutina Pers. Некоторые из них проникают в древесину из почвы или подстилки. Затем могут возникать следующие тупиковые взаимодействия, которые ведут ко второй стадии адаптации. На ней присутствуют только те виды грибов, которые осуществляют активное разложение древесины.

На плантациях P. ostreatus на 3–4-й год плодоношения в оптимальной фазе разложения древесины были отмечены плодовые тела 6 видов дереворазрушающих грибов (табл. 14). Максимального распространения достигали виды Coriolus versicolor, Stereum hirsutum и Bjercandera adusta (рис. 14, 15). Для этой фазы характерно, в отличие от приводимых в литературе и полученных нами данных по контрольным площадкам, уменьшение количества видов по сравнению с первой фазой разложения древесины. Это объясняется интенсивным плодоношением вешенки на пнях на 3–4-й год после инокуляции. Вместе с тем состав определяющих эту фазу видов был во многом подобен составу видов, характерных для разложения древесины в естественных условиях. Отличие касается только 1 из 3 видов дереворазрушающих грибов: Stereum hirsutum, который заменил Lenzites betulina, характерный для сукцессии в естественных условиях. Венгерские ученые (Terpo-Pomogyi et al., 1976) в этот период на плантациях пней тополя, инокулированных вешенкой, отмечали 9 видов грибов.

Таким образом, культивирование вешенки обыкновенной на пнях приводит к значительному (в 4–5 раз) сокращению количества видов дереворазрушающих грибов в оптимальной фазе разложения древесины. При этом данную фазу определяют виды, утилизирующие как целлюлозу, так и лигнин, т.е. являющиеся конкурентами вешенки в потреблении питательных веществ.

По мере того как основные составные питательные вещества древесины убывают, наступает третья (заключительная) стадия, на которой активные редуценты замещаются видами, оказывающими более слабое воздействие на древесину — Armillariella mellea, Pluteus atricapillus (Schaef.: Fr.) Krmm, Psathyrella hydrophyla (Bull.: Merat.) Meire. и др. В отдельных случаях такое замещение происходит и на более ранних стадиях. Для этой фазы характерно повторное появление видов, свойственных начальной фазе разложения — Stereum hirsutum, Coryne sarcoides, а также сохранение видов, характерных для оптимальной фазы — Coriolus versicolor, Lenzites betulina и Bjercandera adusta. Общее количество видов в заключительной фазе увеличивается за счет почвообитающих грибов, поселяющихся на покрытых мхом и сильно разрушенных участках пней — Laccaria laccata (Fr.) Berk. et Br., Xerocomus chrysenteron (St. Amans.) Quél. и др. Длительность заключительной фазы разложения древесины в естественных условиях составляет до 12 лет (Runge, 1975).

Плодоношение P. ostreatus на пнях длится в среднем 6 лет, реже 7 лет. После этого пни даже таких твердолиственных пород, как граб, полностью разрушаются. 5—6-й год плодоношения вешенки обыкновенной характеризуется еще более резким сокращением видового разнообразия сопутствующих дереворазрушающих грибов. Мы связываем это со значительным истощением питательных веществ древесного субстрата. В этот период на пнях встречается только 3 вида грибов (табл. 14). Наиболее активно среди них, как и во второй фазе разложения древесины, развивается Bjercandera adusta. Таким образом, как и для предыдущих стадий, для третьей фазы разложения пней, инокулированных P. ostreatus, характерно уменьшение числа видов дереворазрушающих грибов по сравнению с естественной сукцессией (Бисько, Шевченко, 1987).

Анализ полученных данных по сукцессиям грибов на пнях, инокулированных вешенкой обыкновенной, свидетельствует о том, что экстенсивное культивирование P. ostreatus значительно (в 2 раза) сокращает сроки разложения древесины. При этом видовой состав грибов, присутствующих на разных стадиях разложения древесины, более беден, чем на незасеянных вешенкой пнях, кроме того, значительно уменьшена площадь, занимаемая этими видами грибов. Необходимо отметить также уменьшение в сукцессии количества видов дереворазрушающих грибов — активных редуцентов древесины и более слабое их развитие. Помимо этого на плантациях, инокулированных P. ostreatus, наблюдается практически полное угнетение роста Armillariella mellea, единичные плодовые тела которого встречаются только на пнях, инокулированных в 10 раз меньшей дозой посевного мицелия вешенки. Аналогичные результаты получены при инокуляции древесины тополя мицелием P. ostreatus (Anselmi, Deandrea, 1978). Наблюдение за этими пнями показало, что наличие мицелия вешенки обыкновенной значительно тормозит плодоношение Armillariella mellea. Таким образом, помимо получения плодовых тел — ценного питательного пищевого продукта, экстенсивное культивирование P. ostreatus приводит к значительному уменьшению ареала распространения опасного возбудителя болезни хвойных пород деревьев — опенка осеннего, а также к ускорению разложения древесины пней, что, в свою очередь, исключает необходимость в дорогостоящих работах по их выкорчевке.

ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛОЖЕНИЯ ДРЕВЕСИНЫ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ И ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Для определения взаимосвязей между видами грибов, присутствующих в сукцессии на пнях, инокулированных мицелием P. ostreatus, и вешенкой обыкновенной, нами была изучена динамика разложения основных компонентов древесины при совместном культивировании этих грибов. В литературе отсутствуют данные, характеризующие особенности процесса разложения древесины при условии участия в нем P. ostreatus и грибов, сопутствующих вешенке при экстенсивном культивировании. В качестве объектов исследования были взяты виды, определяющие первую стадию разложения древесины — Shizophyllum commune, вторую — Coriolus versicolor и третью — Bjercandera adusta. Эти виды вызывают белую гниль древесины, т.е. утилизируют как лигнин, так и целлюлозу и, следовательно, являются конкурентами P. ostreatus в потреблении питательных веществ. В то же время они отличаются по степени воздействия на древесину и способности использовать основные компоненты различных пород древесины — целлюлозу и лигнин. Вышеупомянутые виды и P. ostreatus культивировали на древесине осины и березы различными способами: каждый вид отдельно, попарно с P. ostreatus при одновременном посеве и при подсеве к P. ostreatus после 45 сут роста. Данные табл. 15 свидетельствуют, что наименее интенсивным ростом на обеих испытанных породах (осине и березе) обладает Schizophyllum commune, наиболее активным редуцентом, судя по потерям сухого вещества, является C. versicolor. P. ostreatus более интенсивно разрушает древеси-

Таблица 15. Разложение древесины березы и осины P. ostreatus в монокультуре и при совместном культивировании с дереворазрушающими грибами

Вид, длительность культивирования сут	Содержание, % абсолютно сухой массы			Потери, %			Индекс ксилолиза
	Целлюлоза	Лигнин	Водорастворимые вещества	Сухое вещество	Целлюлоза	Лигнин	
			Береза				
Исходная древесина	43,8	23,9	4,0	0	0	0	0
Pleurotus ostreatus, 45 сут	40,7	19,8	3,8	2,0	7,1	17,2	0,29
Coriolus versicolor, 45 сут	39,0	16,7	6,4	8,4	11,2	30,1	0,27
Bjercandera adusta, 45 сут	42,2	20,0	4,1	4,1	3,7	16,4	0,18
Schizophyllum commune, 45 сут	42,8	21,2	2,5	0,6	2,3	11,2	0,17
Pleurotus ostreatus + + Coriolus versicolor, 45 сут	39,9	17,7	4,5	5,1	9,1	20,2	0,31
Pleurotus ostreatus + + Bjercandera adusta, 45 сут	40,8	20,3	3,4	6,7	6,8	15,2	0,31
Pleurotus ostreatus + + Schizophyllum commune, 45 сут	41,6	21,8	1,8	1,8	5,4	9,2	0,37

Продолжение табл. 15

Вид, длительность культивирования, сут	Содержание, % абсолютно сухой массы			Потери, %			Индекс ксилолиза
	Целлюлоза	Лигнин	Водорастворимые вещества	Сухое вещество	Целлюлоза	Лигнин	
Pleurotus ostreatus, 90 сут	37,4	18,5	1,7	3,7	14,6	18,4	0,44
Coriolus versicolor, 90 сут	36,6	14,6	12,6	20,1	16,5	38,9	0,30
Bjercandera adusta, 90 сут	41,3	19,1	3,7	5,4	5,8	20,1	0,22
Schizophyllum commune, 90 сут	42,3	16,3	3,0	1,2	3,4	17,2	0,16
Pleurotus ostreatus + + Coriolus versicolor, 90 сут	39,0	18,9	6,8	10,1	11,2	21,1	0,35
Pleurotus ostreatus + + Bjercandera adusta, 90 сут	38,6	18,2	3,2	7,4	12,3	24,0	0,34
Pleurotus ostreatus + + Schizophyllum commune, 90 сут	40,3	19,4	0,4	2,3	8,2	18,8	0,30
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Coriolus versicolor, 45 сут	39,7	18,7	3,0	7,0	9,3	32,0	0,30
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Bjercandera adusta, 45 сут	40,5	19,6	6,7	3,4	8,1	18,3	0,31
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Schizophyllum commune, 45 сут	40,4	19,2	3,0	4,8	7,8	19,7	0,28
			Осина				
Исходная древесина	50,2	22,3	5,6	0	0	0	0
Pleurotus ostreatus, 45 сут	46,9	18,7	5,5	6,0	8,5	16,1	0,2.
Coriolus versicolor, 45 сут	46,1	17,7	4,2	5,1	8,2	20,6	0,28
Bjercandera adusta, 45 сут	48,1	16,8	4,9	4,9	4,2	24,8	0,14
Schizophyllum commune, 45 сут	49,2	19,7	2,9	0,9	2,0	10,7	0,15
Pleurotus ostreatus + + Coriolus versicolor, 45 сут	45,9	16,9	4,8	5,4	12,6	24,3	0,34
Pl.ostreatus + + B.adusta, 45 сут	45,5	17,8	3,4	6,7	9,4	20,2	0,32
Pleurotus ostreatus + + Schizophyllum commune, 45 сут	46,1	16,8	4,9	5,2	8,2	21,7	0,29

Окончание табл. 15

Вид, длительность культивирования, сут	Содержание, % абсолютно сухой массы			Потери, %			Индекс ксилолиза
	Целлюлоза	Лигнин	Водорастворимые вещества	Сухое вещество	Целлюлоза	Лигнин	
Pleurotus ostreatus, 90 сут	42,1	16,2	7,9	16,1	16,1	37,6	0,30
Coriolus versicolor, 90 сут	43,5	16,3	16,5	18,1	13,4	27,1	0,33
Bjercandera adusta, 90 сут	47,2	16,2	5,4	6,1	6,2	27,3	0,18
Schizophyllum commune, 90 сут	47,8	16,0	3,8	1,6	4,8	28,2	0,14
Pleurotus ostreatus + + Coriolus versicolor, 90 сут	43,4	45,1	7,5	15,2	13,6	23,0	0,46
Pleurotus ostreatus + + Bjercandera adusta, 90 сут	46,0	16,5	8,4	10,8	12,3	26,2	0,32
Pleurotus ostreatus + + Schizophyllum commune, 90 сут	45,1	17,2	5,1	11,3	10,2	22,9	0,31
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Coriolus versicolor, 45 сут	47,1	18,3	7,9	3,2	10,2	17,8	0,36
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Bjercandera adusta, 45 сут	46,7	18,3	3,2	3,4	6,9	17,9	0,28
Pleurotus ostreatus, 45 сут + Schizophyllum commune, 45 сут	46,4	18,1	6,8	3,8	7,6	18,8	0,29

ну, чем Bjercandera adusta, только при росте на осине. Анализ динамики содержания водорастворимых веществ в используемой грибами древесине показывает, что для всех видов, за исключением C. versicolor, на березе через 45 сут роста характерно их уменьшение по сравнению с исходной древесиной. Это объясняется потреблением растворимых углеводов, содержащихся в древесине, для построения клеток мицелия в начальной фазе роста. Через 90 сут роста происходит значительное накопление водорастворимых веществ в древесине при культивировании C. versicolor на обоих субстратах, свидетельствующее о преобладании процессов окисления лигнина и целлюлозы над процессами потребления углеводов (табл. 15). Сравнение индексов микогенного ксилолиза исследованных видов показывает, что P. ostreatus и C. versicolor обладают более ярко выраженной активностью утилизировать целлюлозу по сравнению с лигнином, чем B. adusta и S. commune. Процесс разложения лигнина в наибольшей степени, чем целлюлозы, зависит от породы древесины и времени культивирования. Необходимо отметить значительно более интенсивную утилизацию лигнина осины P. ostreatus по сравнению с лигнином березы и обратную закономерность, свойственную C.versicolor (табл. 15). Ни в одном из случаев совместного культивирования исследуемых видов грибов с P. ostreatus не был отмечен эффект синергизма. Во всех комбинациях пар разложение лигнина и целлюлозы шло менее интенсивно, чем при суммировании данных показателей у составляющих эти пары видов. Эти результаты свидетельствуют о замедлении метаболических процессов при совместном культивировании вешенки обыкновенной и изучаемых видов грибов. Увеличение индекса микогенного ксилолиза у пар грибов по сравнению с этим показателем у отдельных видов свидетельствует о том, что процесс разложения лигнина при совместном культивировании подавляется в большей степени, чем окисление целлюлозы (табл. 15). Опыты по последовательному подсеву дереворазрушающих грибов к P. ostreatus также подтверждают полученные результаты о замедлении роста обоих видов в совместной культуре (табл. 15).

Таким образом, приведенные выше данные позволяют сделать вывод о частичном подавлении роста P. ostreatus, C. versicoloe, S. commune и B. adusta при совместном культивировании на древесине. Разложение лигнина при этом замедляется в бóльшей степени, чем разложение целлюлозы. Эти результаты свидетельствуют о нецелесообразности использовать для экстенсивного культивирования вешенки обыкновенной древесину, пораженную грибами, вызывающими белую гниль, т.е. способными утилизировать и лигнин и целлюлозу из древесного субстрата.

ГЛАВА 7

ИНТЕНСИВНЫЕ СПОСОБЫ ВЫРАЩИВАНИЯ ВИДОВ РОДА ВЕШЕНКА

Интенсивные способы выращивания плодовых тел, т.е. культивирование грибов в специальных помещениях с регулируемыми условиями микроклимата, имеет ряд преимуществ перед экстенсивными методами: процесс выращивания ведется круглогодично; урожайность более высокая и стабильная, благодаря созданию оптимальных условий, необходимых для плодоношения; используется более широкий круг растительных субстратов из числа целлюлозо- и лигнинсодержащих отходов сельского хозяйства и промышленности в связи с наличием в технологическом процессе фазы тепловой обработки субстрата (ферментации); более короткий производственный цикл, равный 8—10 неделям; возможность применения механизации и автоматизации технологических процессов.

Важным этапом в развитии интенсивного культивирования P. ostreatus явились исследования (Block et al., 1958, 1959, Kedyk, Smotlachova, 1959) по использованию в качестве субстратов древесных опилок с добавлением соевой муки и рисовой соломы. В 1965 г. Г.Эгер (Eger, 1965) сообщила о возможности культивирования этого вида на соломе различных злаковых культур. В начале 60-х годов для промышленного интенсивного культивирования P. ostreatus был предложен (Bano, Srivastava, 1962; Schánĕl et al., 1966; Herzig et al., 1968) режим подготовки субстрата на основе соломы. Условия, необходимые для плодоношения этого вида на различных растительных субстратах, исследовал Дж.Попе (Poppe, 1973). Фундаментальные основы технологии приготовления субстрата и промышленного производства плодовых тел были заложены в 70-е годы (Stanĕk, Ryšava, 1971; Zadražil, Schneidereit, 1972; Zadražil, 1974b; Kalberer, Vogel, 1974a, b). В 1971 г. в Нидерландах построили первую ферму по выращиванию вешенки обыкновенной интенсивным способом. В 1979 г. была предложена (Flegg, 1979) новая технология интенсивного культивирования — выращивание в "высоком" слое. Она отличалась от используемой тем, что слой субстрата достигал высоты 0,6—1 м. При этом для снижения температуры, возникающей в толще субстрата, необходима усиленная вентиляция. Преимуществом новой технологии является значительное увеличение урожая с единицы площади (Flegg, 1979).

В 1959 г. С.Блок с соавт. (Block et al., 1959) предложили для культивирования штамм, выделенный ими из плодовых тел, собранных в США, и определенный как P. ostreatus, но дающий более нежные и мелкие плодовые тела, которые появляются при более высокой температуре, чем у P. ostreatus. В связи с отличиями по многим характеристикам от P. ostreatus, растущего в Европе, был выделен новый вид P. florida Fovose (Eger, 1965). Однако тщательное сравнительное изучение P. ostreatus и P. florida с использованием тестов скрещивания позволило уточнить, что это не самостоятельный вид, а географическая раса P. ostreatus (Eger et al., 1979). Более высокая урожайность и короткий период роста мицелия (Kalberer, Vogel, 1974b), возможность плодоношения при повышенной температуре (Eger, 1970a, b; 1978b), характерные для P. ostreatus f. florida по сравнению с типичными штаммами P. ostreatus, позволили интенсифицировать процесс культивирования плодовых тел (Zadražil, 1974b; Zadražil, Schneidereit, 1972), а также использовать штаммы этой расы при скрещивании для получения ценных гибридов (Eger et al., 1976; Leal-Lara, 1978; Li, 1980; Gyurkó, 1984).

С 1973 г. P. ostreatus f. florida широко культивируется в Японии и Италии (Poppe, 1973).

Первые опыты по искусственному выращиванию P. eryngii относятся к 1958 г. (Poppe, 1978). С 1974 г. P. eryngii культивируется во Франции. Интересно, что масса одного плодового тела, полученного при культивировании, значительно превышает массу плодовых тел, собранных в природе, и может достигать 300—400 г. Трудности промышленного культивирования этого вида связаны с низкой скоростью роста мицелия и малой степенью устойчивости его к конкурентной микрофлоре. Однако при подборе соответствующего состава и способа обработки субстрата приятный аромат и вкус этого гриба, возможно, сделают в будущем культивирование P.eryngii более предпочтительным, чем выращивание других видов рода Pleurotus (Zadražil, 1978a,b).

В Японии в 1960 г. P. cornucopiae начали выращивать интенсивным способом на соломе. В 1974 г. Ф.Задражил (Zadražil, 1974b) разработал технологию культивирования P. cornucopiae на опилках лиственных пород.

В 1975 г. для культивирования был предложен P. cystidiosus (Jong, Peng, 1975). Его выращивают на соломе злаковых культур в странах Юго-Восточной Азии. Особенностью культивирования P. cystidiosus является потребность для образования плодовых тел в покровной почве (слое земли, который наносят на субстрат после прорастания его мицелием).

В Индии с 1975 г. на банановых листьях и рисовой соломе культивируют P. sajor-caju (Jandaik, Kapoor, 1974; Bano, Rajarathnam, 1982), P.flabellatus (Bano et al., 1978; Rajarathnam et al., 1979) и P. eous (Singh, Rajarathnam, 1977; Gupta, 1982).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МИЦЕЛИЯ

Одним из основных факторов, определяющих высокую урожайность плодовых тел при интенсивном способе выращивания, так же как и при экстенсивном, является качество и правильно подобранная доза внесения по-корреляции между урожайностью и количеством утилизированной целлюлозы. Вместе с тем полученные ими данные по степени разложения целлюлозы в процессе роста P. sajor-caju на десяти различных субстратах свидетельствуют о том, что на субстратах, с которых получают маленькие урожаи, разложение целлюлозы идет равномерно и использованное количество практически одинаково как в первой (20 сут), так и во второй (40 сут) фазах роста (Sivaprakasam, Kandaswamy, 1981b).

Т.Кирк и В.Моор (Kirk, Moore, 1972) показали, что основное количество лигнина из древесины может быть удалено грибами белой гнили быстрее, чем полисахариды. Таким образом, удаление углеводов не связано с разложением лигнина, т.е. полисахариды не являются значительным барьером для деградации лигнина в древесине. Результаты большинства авторов подтверждают это наблюдение: P. ostreatus быстрее разлагает лигнин на ранних стадиях развития, характеризующихся небольшой интенсивностью или отсутствием разложения целлюлозы, входящей в состав древесных субстратов. Данные, полученные нами с использованием изотопного метода с меченным ^{14}C лигнином, показали, что наибольшие потери лигнина пшеничной соломы при культивировании P. ostreatus, P. ostreatus f. florida и P. cornucopiae также связаны с первыми 10 сут культивирования (табл. 17). Аналогичные дан-

Таблица 17. Потери (%) лигнина пшеничной соломы при культивировании видов рода Pleurotus

Вид	Штамм	Продолжительность культивирования, сут						За 57 сут
		1–10	10–20	20–30	30–40	40–50	50–57	
P. cornucopiae	407	12,8	9,2	9,5	4,0	2,6	0,6	38,7
P. ostreatus	512	16,1	14,5	5,1	2,0	2,3	0,7	40,7
P. ostreatus f.florida	517	15,0	13,2	5,9	2,3	4,5	0,8	41,7

ные для P. ostreatus и P. ostreatus f. florida получены и другими авторами (Freer, Detroy, 1982; Низковская и др., 1984). Штаммы, относящиеся к виду P. ostreatus, имеют близкие показатели лигнолитической активности (табл. 17) (Бисько и др., 1987). Дальнейшее разложение лигнина зависит от утилизации углеводов (Kirk, Moore, 1972). Подобные результаты получены и для других лигнинразрушающих грибов, которым необходима целлюлоза для утилизации лигнина (Hiroi, Erikson, 1976; Kirk et al., 1976). Опыты, проведенные с P. ostreatus, показали, что лигнин древесины более интенсивно разрушается в присутствии целлюлозы (Hiroi, Eriksson, 1976).

Анализ распределения фенолоксидазной и целлюлазной активности у разных видов рода вешенка с использованием индекса *K*, вычисляемого как отношение активности целлюлаз к сумме активности целлюлаз и оксидаз (Семичаевский, Царевич, 1983), свидетельствует о значительной штаммовой

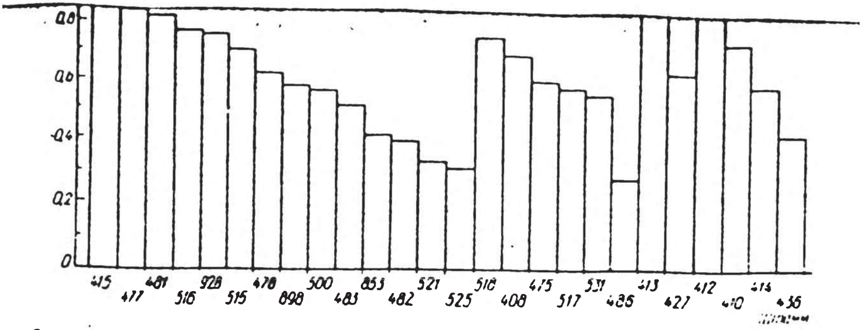


Рис. 18. Диаграмма значения индекса *K* для штаммов разных видов рода Pleurotus

и видовой вариабельности соотношения обоих ферментов (рис.18). Только у штамма 412 отсутствовали оксидазы. Ускорение разложения лигнина в присутствии целлюлозы по сравнению с чистым лигнином связано, по мнению некоторых авторов, с тем, что целлюлоза является дополнительным источником энергии. При оптимальных условиях на разложение 5 мг лигнина требуются затраты энергии, получаемые при утилизации 100 мг глюкозы (Головлева, Ганбаров, 1982). Чем выше молекулярный вес лигнинового комплекса, тем сильнее сказывается влияние целлюлозы на скорость деградации лигнина. Разложение целлюлозы и лигнина древесины связано с обнаруженным только у грибов белой гнили ферментом целлобиозо-хинонокси-доредуктазой, которая окисляет целлюлозу в целлобионо-δ-лактон (Hiroi, Eriksson, 1976). Опыты с использованием изотопа углерода ^{14}C показали, что разложение лигнина древесины клена мицелием P. ostreatus происходит с одинаковой интенсивностью как в атмосфере чистого кислорода, так и в воздухе (Reid, Keith, 1982).

Температура также влияет на скорость разложения целлюлозы и лигнина видами рода вешенка. Так, для P. cornucopiae оптимальной температурой для разложения лигнина является 30 °C, а целлюлозы — 25 °C (Zadražil, 1978a). Максимальная утилизация пшеничной соломы P. cornucopiae наблюдалась при 22 °C, P. ostreatus — 25 °, а для P. ostreatus f. florida этот процесс не зависел от температуры в пределах 20–30 °C (Zadražil, 1977; Zadražil, Brunnert, 1981). Разложение лигнина в значительной степени зависит также от содержания воды в субстрате. Для P. ostreatus оптимальными условиями для разложения лигнина является соотношение водной и твердой фаз, равное 3–4:1 (Zadražil, Brunnert, 1981).

Исследование влияния азотсодержащих добавок в органической и неорганической форме к пшеничной соломе на процесс разложения субстрата при культивировании P. ostreatus и P. eryngii показало, что потеря сухой массы связанного азота, присутствующие в пшеничной соломе. В то же время изучение влияния добавок к тополевым опилкам азота в форме азотнокислых солей калия, кальция и аммония, а также сернокислого аммония, карбамида и пептона показали, что потеря сухой массы за 60 сут увеличивалась в вариантах с добавлением карбамида и пептона ($1,7 \cdot 10^{-3}$ г·мл$^{-1}$) в 7—10 раз по сравнению с контрольными опилками (Takáts, 1978). Объяснение этим противоречивым результатам можно, по-видимому, найти в значительно меньшем (в 40—100 раз) содержании азота в исходном субстрате — древесине по сравнению с пшеничной соломой.

Отмечен положительный эффект добавки азота в форме неорганического соединения (сернокислого аммония) и органического (мочевины и овсяной муки) на скорость разложения P. ostreatus целлюлозы пшеничной соломы, которая увеличилась на 8—15 %. В варианте с добавлением овсяной муки, кроме того, на 10 % усиливалось разложение лигнина (Lindenfelser et al., 1976). Таким образом, при добавлении овсяной муки к пшеничной соломе P. ostreatus утилизировал целлюлозу и лигнин с одинаковой скоростью.

И.Ковач-Легетфалуси (Kovacs-Legetfalusi, 1977) также показала, что добавление смеси мочевины (0,5 %) и витамина B_1 (40 мг %), а также мочевины (0,5 %) и мела (0,8 %) к тополевым опилкам ускоряло разложение субстрата в целом, но при этом утилизация целлюлозы и лигнина происходила пропорционально потерям сухой массы древесины. Следовательно, в этом случае пропорция между лигнином и целлюлозой в разрушенном субстрате остается прежней.

Аналогичные данные получены нами в опытах по изучению динамики разложения целлюлозы и лигнина при культивировании P. ostreatus на субстрате, состоящем из смеси осиновых опилок и пшеничных отрубей, содержащих значительные количества органического азота. На стадии полного обрастания субстрата мицелием потери целлюлозы и лигнина почти равны и невелики у большинства испытанных штаммов (табл. 18). Исключение составляют штаммы 898 и 928, полученные в результате селекции с использованием УФ-облучения. Степень утилизации целлюлозы ими в этот период довольно высока. В то же время при добавлении к осиновым опилкам пшеничной соломы — субстрата, более бедного азотом, чем пшеничные отруби, на стадии роста мицелия увеличивается скорость разложения лигнина по сравнению с целлюлозой для большинства изученных штаммов (табл. 18). Исключение вновь составляют штаммы 853, 898 и 928, степень разложения целлюлозы которыми либо равна, либо больше, чем лигнина. Такая разница между штаммами в предпочтительном использовании целлюлозы субстрата может быть связана с разнокачественностью ферментных систем (Семичаевский, Бисько, 1987).

Штамм	Субстрат, обросший мицелием				Субстрат после 1-й волны плодоношения				Субстрат после 2-й волны плодоношения			
	Содержание, %		Потери, %		Содержание, %		Потери, %		Содержание, %		Потери, %	
	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин	Целлюлоза	Лигнин
	Смесь осиновых опилок и пшеничных отрубей											
528	38,5	25,2	2,8	2,7	27,9	20,4	29,6	21,3	27,2	19,1	31,3	26,2
529	38,4	25,1	3,0	3,1	32,5	22,9	11,9	11,6	Не опред.	Не опред.	Не опред.	Не опред.
525	38,4	25,2	3,0	2,7	28,3	21,6	28,5	14,3	26,6	20,2	32,8	21,6
853	38,3	25,2	3,3	1,5	26,3	21,2	33,6	18,0	20,1	20,3	49,2	21,6
893	35,3	25,2	10,8	2,7	25,5	21,3	38,1	17,8	18,3	20,5	53,8	20,8
928	28,0	23,3	29,3	10,0	22,0	21,4	44,4	17,4	15,4	20,2	61,1	22,0
	Смесь осиновых опилок и пшеничной соломы											
483	42,5	23,9	5,3	9,1	38,6	20,3	18,3	11,1	Не опред.	Не опред.	Не опред.	Не опред.
515	43,6	24,2	2,9	8,0	41,0	18,3	20,2	10,3	–"–	–"–	–"–	–"–
525	42,6	24,1	5,1	8,4	10,5	20,4	22,4	9,8	–"–	–"–	–"–	–"–
853	39,5	22,9	12,0	12,9	38,3	20,1	21,2	12,1	–"–	–"–	–"–	–"–
898	41,3	24,4	8,0	7,2	38,7	20,8	22,0	14,9	–"–	–"–	–"–	–"–
928	39,2	24,6	12,7	6,5	34,5	22,8	33,3	13,3	–"–	–"–	–"–	–"–

Примечание. Содержание целлюлозы в исходной смеси осиновых опилок и пшеничных отрубей составляет 39,6 %, лигнина — 25,9, в исходной смеси осиновых опилок и пшеничной соломы — 44,9 и 26,3 соответственно.

Как правило, для грибов рода Pleurotus характерна высокая активность внеклеточных фенолокисляющих ферментов (Улезло и др., 1975; Семичаевский и др., 1984) и невысокая активность целлюлаз (Петров и др., 1980; Ginterová et al., 1980a). Однако анализ комплекса целлюлолитических и фенолокисляющих ферментов, проведенный нами для 26 штаммов 6 видов рода Pleurotus при культивировании на подсолнечной шелухе, позволил уточнить это представление.

Для всех культур, за исключением P. flabellatus, отмечена активность внеклеточной монофенол-монооксигеназы, которая у 13 штаммов из 26 обнаруживалась уже на 3-и сутки (табл. 19). Наибольшей фенолоксидазой активностью обладали штаммы P. pulmonarius 436, P. ostreatus 482, 483, 500, 521, 525, P. ostreatus f. florida 531. Активность эндо-1,4-β-глюканазы проявлялась на 3-и сутки у 21, а на 7-е сутки — у всех 26 штаммов. При этом наиболее активными были штаммы P. flabellatus 412, P. ostreatus 415, 483, 500, 928, P. pulmonarius 436, P. ostreatus f. florida 518. КМЦ-активность наблюдалась на 3-и сутки у 20 культур и на 7-е сутки у 24, причем наиболее

Вид	Штамм	Монофенол-монооксигеназа мкмоль × мин⁻¹ · мл⁻¹		Эндо-1,4 β-глюканаза %·мин⁻¹·мл⁻¹		КМЦ-активность мкмоль·ч⁻¹ × мл⁻¹		ФБ-активность мкмоль·ч⁻¹ × мл⁻¹	
		3-и	7-е	3-и	7-е	3-и	7-е	3-и	7-е
P. ostreatus	415	0	22,4	58,8	182,7	0	4,9	0	0
" "	477	0	37,2	52,8	131,4	13,8	5,7	13,3	0
" "	481	0	40,8	129,6	140,7	12,3	10,0	10,9	0
" "	516	4,8	59,0	78,9	133,2	0,6	4,3	0,3	0,8
" "	928	0	70,0	110,3	196,2	13,0	24,6	2,3	6,1
" "	515	0	30,0	34,8	138,0	6,1	13,6	4,0	0
" "	478	7,4	38,6	105,3	46,8	9,9	4,4	6,3	0
" "	898	3,0	122,0	98,2	146,8	8,2	14,1	1,4	0
" "	500	10,2	136,6	78,9	174,9	2,8	6,7	1,5	3,2
" "	483	0	224,0	0	177,3	0	5,6	0	0
" "	853	5,2	160,0	44,3	104,4	4,0	10,5	1,1	0
" "	482	8,3	224,0	88,3	108,3	0,2	5,0	0	1,4
" "	521	0	280,0	63,3	99,9	0	0,5	0,4	0
" "	525	0	280,0	30,6	98,3	3,1	8,8	0	1,1
P. ostreatus f. florida	518	26,0	70,0	0	144,0	4,2	21,0	5,3	0
То же	408	37,2	80,0	0	132,0	4,2	15,6	1,8	0
" "	475	9,6	112,0	58,8	117,9	1,9	2,3	0	11,6
" "	517	22,0	101,8	94,8	99,9	0,6	3,7	3,0	3,0
" "	531	9,5	160,0	8,4	130,5	0	2,4	0	0
" "	486	11,2	124,4	73,8	33,3	0,3	0	1,9	0,1
P. eryngii	413	0	25,4	0	65,1	0,5	2,7	4,7	0
" "	427	0	37,4	52,8	45,6	0,7	0,1	0	0
P. flabellatus	412	0	0	11,4	190,8	0	4,6	0	1,4
P. sajor-caju	410	12,4	62,2	40,5	123,0	0	2,9	0	0
P. cystidiosus	414	0	36,2	0	39,3	0,4	0	0	0
P. pulmonarius	436	0	280,0	52,8	144,6	0,3	2,9	0	0

активными были штаммы P. ostreatus f. florida 518, 408 и P. ostreatus 477, 478, 481, 515, 898, 928. ФБ-активность проявлялась у 15-и культур на 3-и сутки выращивания и только у 9 – на 7-е сутки. Наибольшая ФБ-активность была у штаммов P. ostreatus 477, 478, 481 и P. ostreatus f. florida 518. Таким образом, исследованные представители рода Pleurotus продуцируют комплексы внеклеточных ферментов, существенно различающиеся по соотношению активностей отдельных компонентов и срокам их проявления.

Эндо-1,4-β-глюканазы выполняют основную роль в процессе ферментативной деструкции целлюлозы, первыми атакуя нерастворимую целлюлозу (Клесов, Григораш, 1980). Высказывались предположения (Головлева, Ганбаров, 1982) об участии фенолоксидаз базидиомицетов в начальных этапах разрушения лигнина и о сопряженности действия целлюлаз и оксидаз (Westermark, Eriksson, 1974). Показана (Molitoris, 1978) положительная корреляция между образованием внеклеточных фенолоксидаз и скоростью разложения древесины.

Вид	Штамм	продуцирования		культивирования, %			
		1*	2**	1		2	
				0–3	3–7	0–3	3–7
P. ostreatus	415	3,2	8,7	0	100,0	32,2	67,8
" "	477	55,4	6,3	0	100,0	40,2	59,8
" "	481	5,8	6,7	0	100,0	92,1	7,9
" "	516	8,4	6,3	8,1	92,9	59,2	41,8
" "	515	11,4	6,6	0	100,0	25,2	74,8
" "	418	5,6	11,7***	19,2	81,8	100,0	0
" "	500	26,6	8,3	5,5	94,5	45,1	54,9
" "	483	32,0	8,4	0	100,0	0	100,0
" "	482	32,0	8,4	4,9	96,1	77,8	22,2
" "	521	40,0	4,8	0	100,0	63,4	37,6
" "	525	40,0	14,0	0	100,0	23,7	86,3
" "	853	22,9	14,9	3,1	96,9	29,8	80,2
" "	898	16,0	21,0	2,6	97,4	40,1	59,9
" "	928	10,0	28,0	0	100,0	36,0	64,0
	Среднее			3,1	91,1	47,4	54,1
P. ostreatus f.florida	518	10,0	6,9	31,7	62,9	0	100,0
То же	408	11,4	6,3	46,5	63,5	0	100,0
" "	475	16,0	5,6	8,5	91,5	49,9	50,1
" "	517	14,6	4,8	21,6	78,4	94,9	5,1
" "	531	22,8	6,2	5,6	94,4	6,4	93,6
" "	486	17,8	8,2***	9,0	91,0	100,0	0
	Среднее			21,4	78,6	30,2	69,8
P. eryngii	413	3,6	3,1	0	100,0	0	100,0
" "	427	5,4	5,9***	0	100,0	100,0	0
P. flabellatus	412	0	9,1	0	0	5,9	94,1
P. sajor-caju	410	8,8	5,0	20,0	80,0	32,9	67,1
P. cystidiosus	414	3,2	1,9	0	100,0	0	100,0
P. pulmonarius	436	40,0	6,9	0	100,0	36,5	63,5

* Средняя скорость продуцирования, мкмоль·мин$^{-1}$·мл$^{-1}$·сут$^{-1}$. ** Средняя скорость продуцирования, %·мин$^{-1}$·мл$^{-1}$·сут$^{-1}$. *** Средняя скорость продуцирования за 3 сут.

Для оценки продуцентов важно иметь сведения о динамике активностей ферментов. С этой целью использовали значения средней скорости продуцирования, рассчитанные для семисуточных культур (табл. 20). Диапазон варьирования этих показателей достаточно велик, при этом относительные отклонения от средних значений для монофенол-монооксигеназы намного превышали таковые для эндо-1,4-β-глюканазы. Следовзтельно, по динамике целлюлазной активности распределение исследованных штаммов более выравнено, чем по активности монофенол-монооксигеназы, где размах вариаций шире.

...ксидазы; в последнем случае наблюдался сдвиг прироста активности к более ранним срокам культивирования. Это соответствует полученным ранее данным (Семичаевский, 1985) о том, что у P. ostreatus продуцирование целлюлаз по срокам несколько опережает продуцирование монофенол-монооксигеназы.

Для всех исследованных штаммов P. ostreatus f. florida на ранних этапах роста наблюдалось более интенсивное по сравнению с другими культурами проявление активности монофенол-монооксигеназы (табл. 20). Кроме того, наблюдаемый для P. ostreatus f. florida сдвиг показателей индекса активности *K* в области более высоких значений по сравнению с P. ostreatus (рис. 18) соответствует более выраженной способности P. ostreatus к продуцированию оксидаз по сравнению с целлюлазами.

Таким образом, исследованные виды рода Pleurotus продуцируют комплексы внеклеточных фенолоксидаз и целлюлаз, существенно различающиеся по соотношению активностей отдельных компонентов и срокам их проявления. Существует значительная штаммовая вариабельность уровней активности, относительной способности к продуцированию фенолокисляющих и целлюлолитических ферментов, а также динамики проявления активностей, что может оказывать существенное влияние на динамику разложения целлюлозы и лигнина соответствующих субстратов. Культивируемые нами штаммы 853, 898 и 928 отличаются от исходного, как видно из табл. 19 и рис. 18, более ярко выраженной целлюлазной активностью, чем и объясняется различие между ними в интенсивности разложения целлюлозы и лигнина на обоих испытанных субстратах (табл. 18).

Фаза плодоношения для P. ostreatus и P. ostreatus f. florida характеризуется более интенсивным процессом разложения целлюлозы, чем лигнина (Revay, 1979). Полученные нами результаты также свидетельствуют об этой закономерности (табл. 18). Утилизация целлюлозы после 1-й волны плодоношения на 0,3–27,0 %, а после 2-й – на 6,1–39,1 % больше, чем разложение лигнина. На этой стадии необходимо отметить тенденцию ускоренной утилизации целлюлозы штаммами 853, 898 и 928 по сравнению с исходным 525, особенно заметную при культивировании на субстрате с добавкой пшеничных отрубей (табл. 18). Наиболее активным деструктором лигнина на стадиях 1-й и 2-й волн плодоношения является штамм 528 (табл. 18). Для характеристики разложения субстрата дереворазрушающими грибами используется индекс микогенного ксилолиза (Соловьев, Малышева, 1978). Для штаммов 525, 528 и 529 на всех стадиях роста и плодоношения он изменяется в пределах 0,5–0,67, что соответствует ранее опубликованным данным (Бисько и др., 1983), для штаммов 853, 898 и 928 его величина равна 0,62–0,8. Такие высокие значения индекса свидетельствуют о преобладающем процессе разложения целлюлозы на используемом субстрате. Сравнение полученных нами данных с литературными показывает, что P. ostreatus при

P. ostreatus в 3 раза выше (Zadražil, 1975b), что связано с различной структурой комплекса целлюлозы и лигнина в соломе и древесине.

Обобщение литературных и полученных нами результатов по разложению целлюлозы и лигнина в процессе развития мицелия и плодовых тел видов рода вешенка позволяет сказать, что механизм ферментативного разложения этих соединений в значительной мере определяется составом субстрата, в том числе структурой комплекса целлюлозы и лигнина. Скорость разложения целлюлозы и лигнина зависит от ферментативной активности штамма, состава субстрата и содержания в нем воды, фазы роста культуры и температуры. Важную роль в утилизации целлюлозы и лигнина играет содержание азота в субстрате. Используя азотсодержащие добавки, можно регулировать соотношение углерода и азота, что повышает урожайность грибов рода Pleurotus на данном субстрате.

Динамика содержания азота в субстратах в процессе культивирования видов рода вешенка. Одной из важнейших особенностей процесса интенсивного культивирования некоторых видов рода Pleurotus является увеличение содержания азота в субстрате, используемом для выращивания. Полученные нами данные свидетельствуют об увеличении содержания общего азота в субстрате после полного обрастания его мицелием по сравнению с исходным субстратом (Бисько и др., 1985а, 1986).

Содержание общего азота в субстрате, обросшем мицелием, выше, чем в исходном, на 28–153 %. Штаммы P. ostreatus, выделенные из плодовых тел, собранных в природе, практически не различаются между собой по содержанию азота в субстрате на стадии обрастания последнего мицелием. В то же время содержание общего азота в субстрате при выращивании на нем штаммов, полученных в результате УФ-облучения, увеличивается с повышением дозы облучения, что свидетельствует о стимулирующем действии облучения на метаболическую активность мицелия (табл. 21).

Анализ образцов субстратов после 1-й и 2-й волн плодоношения показал, что тенденция увеличения содержания общего азота по сравнению с исходным остается. Однако в связи с выносом значительных количеств азота в составе плодовых тел это увеличение меньше, чем на предыдущей стадии – роста мицелия (табл. 21). При этом, чем больший урожай плодовых тел был собран, тем значительнее разница между содержанием общего азота в субстрате, обросшем мицелием, и в субстрате после плодоношения. Но, несмотря на вынос азота с плодовыми телами, в субстрате после 2-й волны плодоношения остается на 22–67 % общего азота больше, чем в исходном. Наиболее обогащен азотом субстрат после плодоношения штамма 853 (табл. 21). Таким образом, первоначальный субстрат, состоящий на 90 % из осиновых опилок с содержанием азота 0,49 %, после выращивания на нем съедобного гриба вешенки обыкновенной обогащается азотом до 0,82 %.

Ф.Задражил (Zadražil, 1975b, 1977) также отметил увеличение азота

	Субстрат после 14 сут роста мицелия	Субстрат после 1-й волны плодоношения	Субстрат после 2-й волны плодоношения
528	0,63*	0,66*	0,65*
529	0,72*	0,52	Не опред.
525	0,65*	0,80*	0,50*
853	0,65*	1,03*	0,32*
898	1,05*	0,73*	0,50
928	1,24*	0,54*	0,67*

* Разница между контролем и данной величиной достоверна при $p=0,95$. Содержание общего азота в исходном субстрате (контроле) составляет 0,49 %.

[illegible] за 120 сут культивирования содержание азота в субстрате возрастает в зависимости от вида гриба на 32–82 %. Автор считает, что это увеличение связано с потерями сухой массы субстрата. В то же время для P. flabellatus описано (Rajarathnam et al., 1979) уменьшение содержания азота в субстрате в процессе роста мицелия, особенно значительное в фазе образования плодовых тел.

Явление увеличения содержания азота, наблюдавшееся нами и другими авторами при культивировании на простерилизованных субстратах, можно объяснить метаболической активностью растущего мицелия, в результате чего происходит разложение определенной части субстрата до CO_2 и H_2O. Таким образом, относительное содержание общего азота в субстрате соответственно увеличивается. Вместе с тем необходимо отметить, что существует мнение о присущей мицелию P. ostreatus способности фиксировать азот атмосферы (Ginterová, 1973). А.Гинтерова и А.Максиянова (Ginterová, Maxianová, 1975) показали, что P. ostreatus может фиксировать 312 г азота на 100 кг сухого субстрата при культивировании на ферментированной при 60 °С в течение 50 ч пшеничной соломе.

Г.Рангасвами с соавт. (Rangaswami et al., 1975) также приводят доказательства фиксации атмосферного азота одним из представителей рода Pleurotus – P. sajor-caju. Однако эти авторы, как и предыдущие, проводили исследования в нестерильных условиях. По их данным, P. sajor-caju был способен фиксировать атмосферный азот в количестве 109,44 г за 60 сут роста. Вместе с тем другие исследователи (Cho et al., 1981), работавшие с этим же видом, получили отрицательные результаты по фиксации атмосферного азота. Р.Курцман (Kurtzman, 1978) детально изучал баланс азота при выращивании P. ostreatus на стерильной и ферментированной рисовой соломе на свету и в темноте. Начиная с момента формирования плодовых тел на ферментированном субстрате на свету, суммарное количество азота в плодовых телах и субстрате превышало содержание азота в исходной соломе. При культивировании на ферментированной и стериальной соломе в темноте такого увеличения не наблюдалось. Простой тест на азотфиксацию – превращение ацетилена в этилен дал в случае с P. ostreatus отрицательный результат, хотя

...сводится к тому, что в пастеризованной соломе находятся азотфиксирующие микроорганизмы, способные использовать в качестве источника углерода гемицеллюлозу соломы или вещества, образуемые P. ostreatus в процессе разложения соломы.

Для нормального плодоношения P. ostreatus необходимо освещение (Gyurkó, 1972). Поэтому увеличение содержания азота в субстрате для выращивания вешенки по сравнению с исходным, возможно, связано с деятельностью азотфиксирующих бактерий, использующих в качестве источника углерода вещества, образуемые в результате деятельности ферментов гриба, принимающих участие в подготовке к плодоношению и требующих активации светом (Kurtzman, 1978). Предположение Р.Курцмана о существовании в ферментированном субстрате азотфиксирующих микроорганизмов подтверждается данными наших опытов.

Изучение азотфиксирующей способности термофильных штаммов Bacillus macerans, выделенных нами из ферментированной соломы, показало, что все десять исследованных штаммов росли на безазотистой среде Эшби, используя в качестве источника углерода глюкозу, а семь из них — на безазотистой среде Козера с обеззоленной фильтровальной бумагой в качестве единственного источника углерода. Штаммы P_3 и N_5, кроме того, хорошо росли на среде Мишустина для олигонитрофилов. Штаммы B.macerans с аналогичной способностью к азотфиксации были выделены нами из пшеничной соломы, не подвергавшейся никакой обработке. Следовательно, термофильные азотфиксирующие штаммы B. macerans являются представителями обычной микрофлоры соломы. Ферментация субстрата создает благоприятные условия для роста этой группы микроорганизмов, имеющей важное значение в подготовке селектированного субстрата для выращивания P. ostreatus. Подробно на освещении роли микроорганизмов в процессе культивирования P. ostreatus мы остановимся в главе 8.

Изложенные в данном разделе результаты свидетельствуют об обогащении субстрата азотом в процессе роста мицелия и плодоношения P. ostreatus и P. sajor-caju. При культивировании P. flabellatus содержание азота в субстрате уменьшается. Увеличение содержания азота при выращивании на стерильном субстрате может быть объяснено метаболической активностью растущего гриба, в результате которой происходит потеря сухой массы и, соответственно, повышается относительное содержание азота. Кроме того, в условиях культивирования на ферментированном субстрате увеличение содержания азота обусловлено деятельностью азотфиксирующих микроорганизмов.

Динамика содержания аминокислот в субстратах в процессе культивирования штаммов вешенки обыкновенной. Наиболее важными источниками азота в субстрате после плодоношения высших съедобных базидиомицетов

Штамм	Исходный субстрат		Субстрат после 14 сут роста мицелия		Субстрат после 1-й волны плодоношения		Субстрат после 2-й волны плодоношения	
	1	2	1	2	1	2	1	2
				Азот общий				
525	0,49	0,20	0,65	0,34	0,80	0,41	0,60	0,34
853	0,49	0,20	0,65	0,52	1,03	0,29	0,82	Не опред.
898	0,49	0,20	1,05	0,29	0,73	0,33	0,50	" "
928	0,49	0,20	1,24	0,36	0,80	0,52	0,54	0,40
				Азот белковый				
525	0,25	0,16	0,47	0,18	0,58	0,18	0,39	0,19
853	0,52	0,16	0,41	0,20	0,75	0,16	0,65	Не опред.
898	0,52	0,16	0,48	0,16	0,52	0,17	0,41	" "
928	0,52	0,16	0,40	0,19	0,75	0,21	0,38	0,23
				Аспарагиновая кислота				
525	2,53	1,03	3,21	1,41	2,63	1,47	3,57	1,63
853	2,53	1,03	2,75	1,69	3,74	1,49	4,90	Не опред.
898	2,53	1,03	2,98	1,22	3,24	1,43	2,75	" "
928	2,53	1,03	2,84	1,75	2,30	1,67	4,35	1,63
				Треонин				
525	1,45	0,51	1,68	0,75	1,15	0,64	1,92	0,72
853	1,45	0,51	1,60	0,79	1,94	0,60	2,63	Не опред.
898	1,45	0,51	1,57	0,59	1,71	0,70	1,39	" "
928	1,45	0,51	1,32	0,77	11,11	0,79	2,68	0,68
				Серин				
525	1,61	0,55	1,67	0,87	1,36	0,67	1,88	0,71
853	1,61	0,55	1,50	0,86	1,94	0,66	2,39	Не опред.
898	1,61	0,55	1,70	0,71	1,86	0,73	1,43	" "
928	1,61	0,55	1,62	0,83	1,22	0,71	2,41	0,82
				Глютаминовая кислота				
525	7,10	1,44	4,46	1,48	3,65	1,29	6,13	1,75
853	7,10	1,44	4,00	1,84	6,05	1,97	6,75	Не опред.
898	7,10	1,44	5,21	1,16	4,98	1,31	3,90	" "
298	7,10	1,44	3,93	1,71	3,97	1,92	8,64	2,56
				Глицин				
525	1,81	0,50	1,73	0,70	1,29	0,75	2,15	0,80
853	1,81	0,50	1,76	0,79	2,05	0,75	3,01	Не опред.
898	1,81	0,50	1,84	0,61	1,76	0,58	1,47	" "
928	1,81	0,50	1,36	0,81	1,48	0,84	2,60	0,92
				Аланин				
525	1,77	0,71	2,09	0,83	2,20	0,82	3,07	0,95
853	1,77	0,71	1,71	0,84	2,42	0,61	3,02	Не опред.
893	1,77	0,71	1,94	0,68	2,06	0,48	1,63	" "
928	1,77	0,71	1,51	0,89	1,48	0,97	2,89	1,04

				Валин				
525	2.05	0.91	1,58	0,64	1,32	0,94	2,33	0.63
853	2.05	0.91	1,24	0,63	2,12	0,98	2,65	Не опред.
898	2.05	0.91	1,30	0,51	1,94	0,75	1,45	" "
928	2.05	0.91	1,63	0,67	1,40	0,91	2,72	0.91
				Метионин				
525	0,45	0,24	Следы	Следы	0,40	Следы	0,40	Следы
853	0,45	0,24	0,39	"	0,60	"	0,48	Не опред.
898	0,45	0,24	0,20	"	0,30	"	0,48	" "
928	0,45	0,24	Следы	"	0,34	"	0,76	Следы
				Изолейцин				
525	1,28	0,53	1,31	0,46	1,06	0,49	1,64	0,62
853	1,28	0,53	0,97	0,47	1,54	0,45	1,89	Не опред.
898	1,28	0,53	1,07	0,43	1,32	0,71	1,16	" "
928	1,28	0,53	1,29	0,52	1,03	0,73	2,00	0,75
				Лейцин				
525	2,36	0,81	2,21	0,85	1,64	0,93	2,58	0,94
853	2,36	0,81	1,85	0,85	2,53	0,63	3,18	Не опред.
898	2,36	0,81	2,11	0,80	2,32	1,03	1,86	" "
928	2,36	0,81	1,91	0,99	1,82	1,28	3,22	1,10
				Тирозин				
525	0,76	0,33	0,65	0,13	0,45	0,15	0,72	0,25
853	0,76	0,33	0,60	0,12	0,78	Не опред.	0,93	Не опред.
898	0,76	0,33	0,48	0,41	0,59	" "	0,50	" "
928	0,76	0,33	0,56	0,45	0 43	0,43	0,93	0,39
				Фенилаланин				
525	1,52	0,39	1,40	0,46	1,20	0,41	1,64	0,48
853	1,52	0,39	1,19	0,45	1,83	0,37	2,41	Не опред.
898	1,52	0,39	1,16	0,40	1,48	0,54	1,35	" "
928	1,52	0,39	1,47	0,49	1,20	0,74	2,03	0,69
				Гистидин				
525	2,29	1,41	3,81	1,59	2,30	1,76	3,39	1,09
853	2,29	1,41	2,99	1,70	4,84	1,05	5,32	Не опред.
898	2,29	1,41	3,95	1,72	3,31	1,14	2,85	" "
928	2,29	1,41	2,50	1,48	2,50	0,99	4,67	1,30
				Лизин				
525	0,87	0,26	1,05	0,39	0,93	0,34	1,44	0,54

Штамм	Исходный субстрат		Субстрат после 14 сут роста мицелия		Субстрат после 1-й волны плодоношения		Субстрат после 2-й волны плодоношения	
	1	2	1	2	1	2	1	2
				Аргинин				
525	1,70	0,12	1,28	0,40	1,91	0,29	2,06	0,60
853	1,70	0,12	1,05	0,92	4,50	0,27	3,21	Не опред.
898	1,70	0,12	3,10	0,21	2,22	0,72	1,31	" "
928	1,70	0,12	0,95	0,38	1,26	0,58	2,21	0,54
				Сумма незаменимых аминокислот				
525	13,97	5,18	14,32	5,54	11,91	5,80	15,95	5,82
853	13,97	5,18	12,72	6,53	21,52	4,64	23,44	Не опред.
898	13,97	5,18	15,66	4,99	16,07	6,10	12,76	" "
928	13,97	5,18	11,98	5,05	11,66	6,68	21,93	6,76
				Сумма аминокислот				
525	32,38	9,74	29,40	10,96	24,65	10,95	36,51	11,91
853	32,38	9,74	28,80	12,66	40,63	10,12	47,44	Не опред.
898	32,38	9,74	30,90	9,78	32,36	10,61	25,80	" "
928	32,38	9,74	25,05	11,91	23,91	13,22	47,10	14,12

Примечание. 1 – смесь осиновых опилок и пшеничных отрубей, 2 – смесь осиновых опилок и пшеничной соломы; следы – меньше 0,05 %.

являются аминокислоты. Изучение нами динамики их содержания в процессе культивирования разных штаммов P. ostreatus на двух различных по составу субстратах показало, что оба субстрата после 2-й волны плодоношения вешенки сохранили тот же качественный состав этих соединений (кроме метионина на субстрате с добавлением соломы) и то же соотношение количества аминокислот, что и до инокуляции (табл. 22). Таким образом, в субстрате с добавкой пшеничной соломы до инокуляции и после плодоношения содержалось в 3 раза меньше аминокислот, чем в субстрате с пшеничными отрубями. Это же утверждение справедливо и для суммы незаменимых аминокислот. Кроме того, необходимо отметить, что отсутствие в исходном субстрате с пшеничной соломой пролина привело к отсутствию этой аминокислоты и в субстрате на всех стадиях роста P. ostreatus (рис. 19, 20).

Изученные субстраты отличались по динамике содержания аминокислот (рис. 19, 20, табл. 22). Если при добавке пшеничных отрубей содержание аминокислот только после 2-й волны плодоношения превосходило исходный субстрат, то добавка пшеничной соломы привела к аккумуляции аминокислот, начиная со стадии роста мицелия. Исследованные субстраты после плодоношения наиболее резко отличаются друг от друга по накоплению гистидина и аргинина (табл. 22, рис. 19, 20). Так, если исходный субстрат с добавкой соломы содержал в 14 раз меньше аргинина, чем с добавкой отрубей, то после плодоношения P. ostreatus в нем было в 3,6 раза больше аргинина, чем

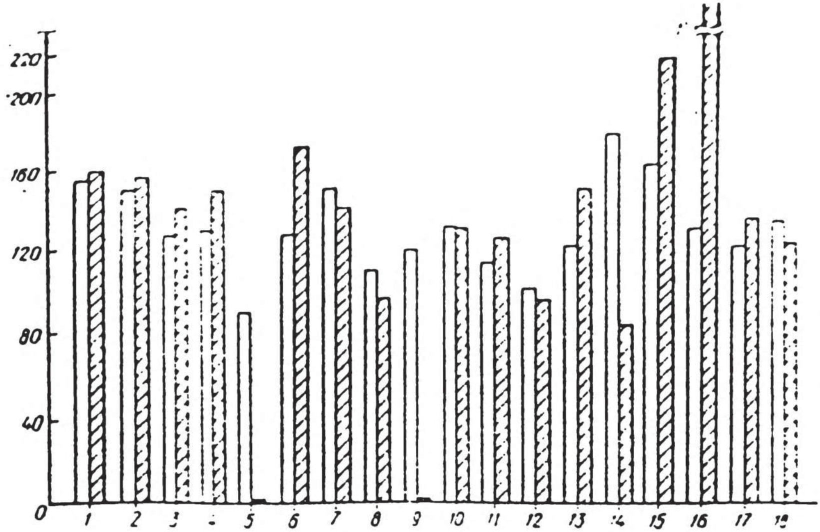


Рис. 19. Содержание аминокислот в субстратах после 1-й волны плодоношения P. ostreatus

в субстрате с отрубями. Аналогичным образом, если при начальном соотношении количество гистидина в субстратах с отрубями и соломой до инокуляции составляло 1,6:1,0, то после плодоношения оно увеличивалось до 2,1:1,0. Отношение содержания остальных аминокислот в субстратах с добавкой отрубей и соломы после плодоношения P. ostreatus варьировало в пределах 0,7–1,2:1.

Исходные субстраты более резко отличались друг от друга по количеству отдельных аминокислот, их соотношение было более широким – 2,2–4,9:1,0. Таким образом, в процессе культивирования штаммов P. ostreatus различные первоначально по содержанию аминокислот субстраты приобретают более выравненный по этому показателю профиль. В фазе роста мицелия большинства исследованных штаммов в обоих субстратах происходит накопление аспарагиновой кислоты, треонина, серина, аланина, гистидина и лизина, уменьшается содержание валина, изолейцина и тирозина (табл.22). Их уменьшение, по-видимому, связано с активным участием этих аминокислот в метаболических процессах конструктивного обмена для построения необходимых клетке азотсодержащих соединений. В отличие от субстрата с добавкой пшеничных отрубей в субстрате с соломой на этой фазе развития P. ostreatus шло накопление ряда аминокислот: глютаминовой кислоты, глицина, лейцина, фенилаланина, аргинина (табл.22). Аналогичные данные были получены и другими авторами (Škultetyova et al., 1978). Такую разни-

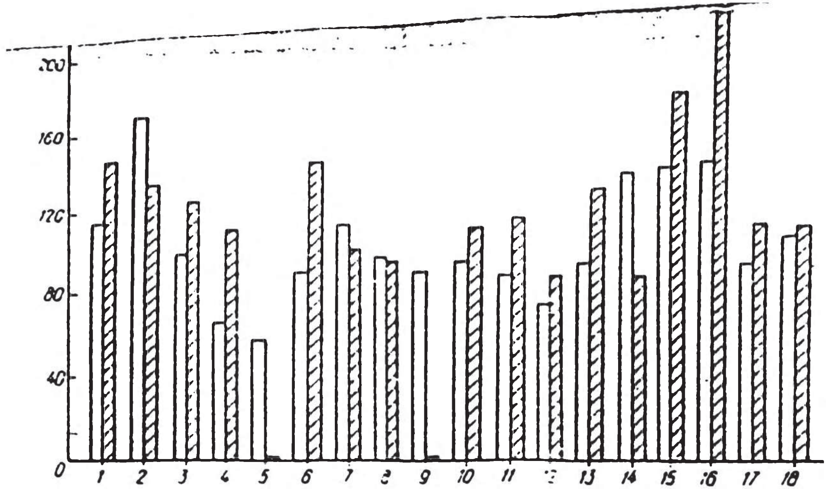


Рис. 20. Содержание аминокислот в субстратах после 2-й волны плодоношения P.ostreatus

цу мы объясняем необходимостью активного синтеза этих важных аминокислот клетками мицелия в связи с обедненностью ими исходного субстрата по сравнению с субстратом с добавкой пшеничных отрубей (табл. 22). На стадии 1-й и 2-й волны плодоношения эти закономерности динамики аминокислот в основном сохраняются (рис. 19, 20).

Изученные штаммы P. ostreatus в процессе роста мицелия на конкретном субстрате незначительно различались между собой (в пределах 10–25 %) по способности аккумулировать глицин, аспарагиновую кислоту, треонин, серин, валин, пролин, изолейцин, лейцин и фенилаланин. На субстрате с пшеничной соломой разница между штаммами в количестве накопленной аспарагиновой и глютаминовой кислот и серина достигала 41–47 %, тирозина – 100, лизина – 166,4, а аргинина – 258. При росте на субстрате с отрубями штаммы резко различались по аккумуляции гистидина, лизина и аргинина (табл. 22). На стадии 1-й и 2-й волны плодоношения эти различия между штаммами по накоплению ряда аминокислот, например треонина и изолейцина, стали более резкими.

Значительная вариабельность способности штаммов аккумулировать аргинин, лизин и гистидин сохранилась и в этих фазах. После плодоношения штамма 928 в обоих субстратах, а штамма 853 – в субстрате с отрубями накапливалось наибольшее количество аминокислот, в том числе и незаменимых (табл. 22). Таким образом, при подборе условий, приводящих к увелипитательной ценности субстрата после плодоношения P.ostreatus, необходимо учитывать как состав исходного субстрата, так и биологические особенности культивируемого штамма.

Динамика содержания минеральных элементов и витаминов в субстратах в процессе культивирования штаммов вешенки обыкновенной. Изучение изменений в минеральном составе субстрата в процессе интенсивного культивирования P. ostreatus показало, что общей тенденцией на

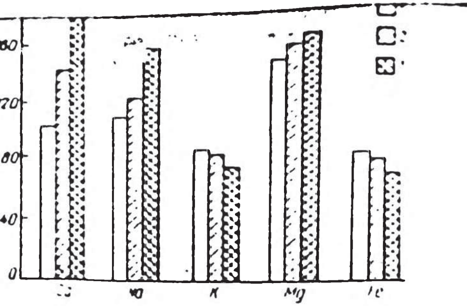


Рис. 21. Содержание минеральных элементов в субстрате (смесь осиновых опилок и пшеничных отрубей) в процессе культивирования P.ostreatus. *1* — после обрастания мицелием, *2* — после 1-й волны, *3* — после 2-й волны плодоношения

всех стадиях роста гриба является увеличение в субстратах (смесь осиновых опилок с пшеничными отрубями или соломой) содержания кальция, натрия, магния и уменьшение калия и железа (табл. 23, рис. 21). Аналогичные данные были получены (Zadražil, 1975b) при культивировании P. ostreatus на пшеничной соломе. Аккумуляция кальция, натрия и магния может быть объяснена уменьшением массы субстрата и невысокой концентрацией этих элементов в плодовых телах (табл. 23). Снижение количества калия и железа в субстрате связано со значительным выносом их плодовыми телами. Роль этих элементов в метаболизме высших базидиомицетов будет обсуждена в главе 9. Соотношение углерода и азота в процессе развития P.ostreatus на смеси осиновых опилок и пшеничных отрубей несколько уменьшается (табл. 23), что совпадает с данными Ф.Задражила (Zadražil, 1976), полученными для роста P. ostreatus на пшеничной соломе. Это уменьшение связано со значительным выносом углерода (до 50 % в форме CO_2) (Zadražil, 1975a).

Изученные штаммы P. ostreatus отличались от других по способности к аккумуляции того или иного минерального элемента на разных стадиях роста. Так, если для штамма 525 характерно наибольшее накопление в субстрате кальция и магния после 2-й волны плодоношения, то натрия — в фазе 1-й. В то же время субстрат после 1-й и 2-й волн плодоношения штамма 853 отличался постоянным содержанием кальция, а концентрация натрия и магния была наибольшей после 2-й волны плодоношения (Бисько и др., 1986, табл. 23).

Исследовали динамику содержания витаминов в субстратах в процессе культивирования двух штаммов P. ostreatus. В обоих субстратах после плодоношения происходит накопление следующих витаминов: тиамина, рибофлавина, никотиновой кислоты и пиридоксина (табл. 24).

Фаза роста	Штамм	Ca	Na	K	Mg	Fe	C:N
Исходный субстрат		1033	115	3099	344	230	226,9
Рост мицелия	525	1122	182	3121	313	242	141,4
	853	1341	174	3155	624	251	923
	898	1080	123	3142	376	268	167,2
	928	1213	118	3201	412	282	136,6
После 1-й волны плодоношения	525	1331	232	3329	289	174	136,5
	853	1908	212	3313	954	328	144,7
	898	1208	158	2179	420	158	143,2
	928	1533	130	1789	624	213	109,7
После 2-й волны плодоношения	525	2940	158	3019	578	158	107,4
	853	1890	131	2730	683	341	Не опред.
	898	1890	131	2415	630	158	" "
	928	1680	158	2310	473	683	80,0

Таблица 24. Содержание (мг·кг⁻¹ абсолютно сухой массы) витаминов группы B в субстратах перед инокуляцией и после плодоношения P. ostreatus

Фаза роста	Штамм	Биотин	Тиамин	Рибофлавин	Никотиновая кислота	Пиридоксин
Смесь опилок и пшеничных отрубей						
Перед инокуляцией		0,03	0,31	1,68	32,32	0,28
После плодоношения	525	0,05	0,65	6,12	47,25	0,47
		0,03*	0,44*	4,14*	31,93*	0,32*
	928	0,05	0,65	6,12	47,25	0,47
		0,04*	0,46*	4,34*	33,51*	0,33*
Смесь опилок и пшеничной соломы						
Перед инокуляцией		0,03	0,41	1,69	40,80	0,32
После плодоношения	525	0,05	0,81	6,93	52,0	0,52
		0,03*	0,83*	4,50*	34,0*	0,34*
	928	0,05	0,80	6,79	51,0	0,51
		0,03*	0,53*	4,53*	34,0*	0,34*

* Содержание витаминов приведено с учетом потери сухой массы субстрата.

Особенно значительно в обоих субстратах повысилась концентрация рибофлавина – в 3,6–4,1 раза (табл. 24). В литературе есть данные (Trandaff et al., 1974) о возможности биосинтеза рибофлавина в процессе роста Agaricus bisporus. Мы считаем, что полученные результаты дают основание предполагать существование биостинтеза рибофлавина в клетках мицелия P.ostreatus. После пересчета полученных данных с учетом потери сухой массы субстрата в процессе культивирования P. ostreatus можно заключить, что только для никотиновой кислоты характерно значительное (до 15 %) уменьшение содержания по сравнению с исходным субстратом, состоящим из смеси опилок и пшеничной соломы. Это связано со значительной аккумуляцией никотиновой кислоты в плодовых телах изученных штаммов P. ostreatus, что будет рассмотрено в главе 9.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СУБСТРАТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИДОВ РОДА ВЕШЕНКА

Перевариваемость растительных материалов сельскохозяйственными животными зависит от количества и качества содержащихся в этих материалах природных полимеров (лигнина и целлюлозы) и количества легко растворимых веществ, таких, как углеводы и аминокислоты. Существуют различные химические и биохимические методы для увеличения перевариваемости растительных субстратов: обработка щелочью, кислотой, γ-лучами и другими агентами (Pritchardt et al., 1962; Dohefer et al., 1969; Han et al., 1975b) с последующим культивированием на них Candida utilis Will., Trichoderma viride (Pers., Fr.) (Han et al., 1975a). Перевариваемость при такой обработке увеличивалась примерно на 40 %. И.Хелтай и С.Петефи (Heltay, Petefy, 1965) в 1965 г. первыми предложили использовать субстрат после культивирования съедобного гриба Agaricus bisporus в качестве корма для крупного рогатого скота, предложив для него термин "микокорм".

Виды рода Pleurotus при выращивании на растительных субстратах способны разрушить оба трудноперевариваемых компонента — целлюлозу и лигнин с освобождением легкодоступных соединений. Так, содержание водорастворимых веществ в соломе увеличивается за 70 сут культивирования P. ostreatus в 4—4,5 раза (Zadražil, 1975b). Для всех изученных видов рода Pleurotus характерно небольшое уменьшение содержания водорастворимых веществ в субстрате в начальной фазе роста мицелия (2—10-е сутки), что связано с утилизацией этих соединений мицелием гриба (Lindenfelser et al., 1976; Zadražil, 1980a; Zadražil, Brunnert, 1981). Несмотря на продолжающийся активный процесс разложения целлюлозы и лигнина в фазе роста мицелия (10—40-е сутки культивирования) и соответственно освобождение легкодоступных углеводов, он не сопровождается увеличением перевариваемости in vitro (Zadražil, 1980b; Zadražil, Brunnert, 1981) по сравнению с необработанным субстратом. Этот факт свидетельствует о существовании баланса между процессом разложения субстрата и потреблением образующихся соединений мицелием гриба для роста и построения клеток. В дальнейшем по мере гидролиза целлюлозы и лигнина в субстрате накапливаются растворимые вещества и перевариваемость увеличивается. Целлюлоза становится значительно более доступной для целлюлаз, присутствующих в желудке сельскохозяйственных животных после разложения 30—40 % целлюлозы и лигнина субстрата. Пшеничная солома при исходной перевариваемости 40 % через 90—120 сут культивирования P. ostreatus и P. ostreatus f. florida имеет перевариваемость 50 %, а после культивирования P. cornucopiae — 59,8, что практически равно показателю перевариваемости высококачественперевариваемость пшеничной соломы после культивирования P. eryngii и P. ostreatus f. florida по сравнению с субстратом без добавок на 35—38 % (Zadražil, Brunnert, 1980). В то же время добавление азотнокислого аммония уменьшает перевариваемость субстрата после выращивания P. eryngii и P. ostreatus f. florida (Zadražil, Brunnert, 1980).

На перевариваемость субстрата in vitro влияет температура культивирования. Так, для P. ostreatus f. florida максимальное увеличение перевариваемости соломы наступает при температуре культивирования 25 °С, P. cornucopiae — 22 °С (Zadražil, 1976). На показатель перевариваемости субстрата in vitro неблагоприятно влияет высокая температура и длительное время культивирования, а также высокое или низкое содержание воды (Zadražil, Brunnert, 1981).

В большинстве случаев перевариваемость in vitro различных растительных субстратов увеличивается после культивирования видов рода Pleurotus. Исключение составляет рисовая шелуха, перевариваемость которой при выращивании и после него плодовых тел P. ostreatus f. florida и P. cornucopiae, падает, что связывают (Zadražil, 1980b, 1981) с аккумуляцией в субстрате двуокиси кремния, который не утилизируется грибом. Были предприняты попытки (Streeter et al., 1981) увеличить перевариваемость пшеничной соломы путем совместного культивирования двух организмов P. ostreatus и Erwinia carotovora. Оказалось, что синергический эффект был отмечен только тогда, когда солому предварительно стерилизовали. В этом случае увеличение перевариваемости по отношению к исходному субстрату составило 10 %, а показатель перевариваемости рос прямо пропорционально потерям сухой массы. Подобный эффект синергизма обнаружен при совместном культивировании в течение 14 сут P. ostreatus и Polyporus tulipiferae Fr. В этом случае увеличение перевариваемости по сравнению с контролем достигло 36 % (Levonen et al., 1983).

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что оптимальные условия для получения более высоких показателей перевариваемости не совпадают с условиями, необходимыми для наиболее интенсивного образования плодовых тел видов рода Pleurotus. В то же время положительные результаты, полученные при исследовании перевариваемости субстратов после культивирования видов рода Pleurotus in vitro дали основу для изучения целесообразности использования этих субстратов для скармливания сельскохозяйственным животным. В связи с увеличением перевариваемости in vivo рисовой соломы после культивирования P. sajor-caju на 34 %, оставшийся субстрат на 60 % был доступен для животных (Zafar et al., 1981). Скармливание свиньям, овцам, телятам и курам 5—10 % суточного рациона пропастеризованного в течение 2 сут субстрата после сбора плодовых тел P.ostreatus не оказало отрицательного влияния на состояние животных (Herzig et al., для данной группы животных. Стоимость корма при этом уменьшается на 23 % (Zatka, 1985). Добавка 200 г субстрата после культивирования P. ostreatus в рацион телят (массой 25—50 кг) увеличивала ежесуточный привес животных на 10—17 % и сокращала расход дорогостоящих кормовых смесей (Pašmik, 1985). Так как около 30 % субстрата после плодоношения P. ostreatus растворимо при 100 °C, то он может быть с успехом использован для приготовления жидкого корма (Zadražil, 1975b).

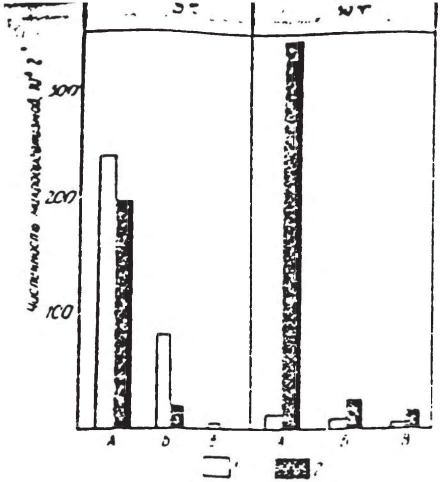
Кроме использования в качестве корма для сельскохозяйственных животных субстрат после плодоношения видов рода Pleurotus применяется в качестве удобрения и для изготовления торфоперегнойных горшочков (Schánél et al., 1966; Zadražil, 1976; Kaneshiro, 1970). Интересные результаты были получены чешскими учеными (Kříž et al., 1980b), использовавшими такой субстрат в качестве основы для выращивания огурцов в теплице. Посев семян производили в простерилизованную землю, нанесенную слоем 5 см на солому после культивирования P. ostreatus. Урожай огурцов при таком способе выращивания увеличивался на 29 % (Kříž et al., 1980a). Помимо этого субстрата после 1 месяца культивирования P. ostreatus, прошедший пастеризацию в течение 22 ч при 60 °C, может быть использован для выращивания Agaricus bisporus. При этом исчезает необходимость в длительной подготовке субстрата для шампиньона двуспорового, поскольку в процессе культивирования P. ostreatus происходит частичное разложение его компонентов, сужение соотношения углерода к азоту и другие изменения, делающие состав субстрата благоприятным для развития мицелия и плодовых тел A. bisporus (Bright, Harsh, 1985). Большую ценность для получения заменителя кедровой древесины при производстве карандашей представляет собой древесина бука после экстенсивного культивирования на ней P. ostreatus ("микохольц"). За счет инокуляции мицелием P. ostreatus значительно сокращается время, необходимое для частичного разрушения буковой древесины и изменения ее физических и механических свойств (Gramss, 1981).

Микроорганизмы играют важную роль на всех технологических этапах процесса культивирования съедобных грибов, создавая селективность субстрата, способствуя росту мицелия и развитию плодовых тел (Staněk, 1978; Гарибова, 1982). В отличие от экстенсивных методов культивирования P. ostreatus на древесине — субстрате, сравнительно бедном микроорганизмами, выращивание интенсивным способом происходит на измельченных растительных субстратах (соломе, кочерыжках кукурузы и т.д.) с богатой микрофлорой.

Изучение различных способов подготовки субстрата для интенсивного культивирования P. ostreatus, подробно описанных в главе 7, показало, что наибольшая урожайность на пшеничной соломе может быть получена при проведении ферментации (Staněk, Ryšava, 1971). Селективность субстрата при этом способе обработки обусловлена деятельностью термофильных спорообразующих бактерий, значительную часть популяции которых составляют бактерии рода Bacillus (Staněk, Ryšava, 1971; Gyurkó, 1977; Staněk, 1978) (рис. 23, 24).

Проведенное нами изучение видового состава бактерий рода Bacillus, выделенных из пшеничной соломы (неферментированной, после ферментации, а также после "бактеризации" Bacillus macerans штаммом С-1 и последующей ферментации), показало, что все изолированные культуры были однотипны по морфологическим признакам (Бисько и др., 1986а). Споры всех штаммов имели цилиндрическую форму и были расположены центрально или субтерминально, слегка раздували клетку, почти не изменяя ее форму (рис. 22). Представленные в табл. 25 данные свидетельствуют о сходстве морфологических и биохимических признаков изучаемых культур. Отличия между некоторыми штаммами обнаружены только по образованию сероводорода. На основании комплекса этих признаков все десять штаммов, выделенные из ферментированной и неферментированной соломы пшеницы, идентифицированы нами как вид Bacillus macerans (Бисько и др., 1986). Из представителей рода Bacillus М.Флик (Flick, 1981) обнаружил в кратковременно ферментированной соломе Bacillus subtilis и B. polymyxa.

Выделенные из ферментированной пшеничной соломы штаммы B. macerans обладали способностью угнетать рост ряда видов микроскопических грибов-конкурентов P. ostreatus (Staněk, Mrázková, 1975). Тщательное изу-



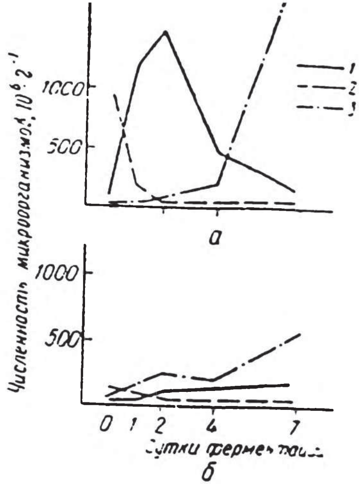


Рис. 23. Влияние длительности ферментации на численность микроорганизмов в пшеничной соломе: *А* – бактерии, *Б* – грибы, *В* – целлюлозоразрушающие микроорганизмы; *1* – ферментация в течение 24 ч, *2* – 4 сут

Рис. 24. Динамика численности микроорганизмов в процессе ферментации: *а* – пшеничной соломы, *б* – смеси пшеничной соломы и коры; *1* – бактерии, растущие при 50 °С *2* – при 25 °С, *3* – целлюлозоразрушающие актиномицеты, растущие при 50 °С

чение взаимоотношений этих культур с мицелием P. ostreatus, Trichoderma sp. и Chaetomium olivaceum Cooke et Ellis показало (Mrázková, Staněk, 1978а), что антагонистическая активность B. macerans по отношению к двум последним микроорганизмам в 3 раза выше, чем к мицелию P. ostreatus. Проявление антагонистического действия этих бактерий зависело от присутствия различных форм азота в субстрате – в присутствии минеральных источников азота антагонизм против Trichoderma sp. и Ch. olivaceum был выше, чем в присутствии органических соединений. Полученные данные могут быть использованы при подготовке селектированного субстрата для выращивания P. ostreatus путем добавления различных источников азота и, таким образом, соответственно регулирования степени антагонистического действия термофильных бактерий (Mrázková, Staněk, 1978а).

Продуктами жизнедеятельности штаммов B. macerans являются водорастворимые полисахариды. В отличие от неферментированной соломы, для которой было характерно небольшое количество клеток бактерий этого вида, в субстрате после ферментации в присутствии B. macerans штамм BM-1 в составе полисахаридов было обнаружено на 18 % больше пентоз, появилась

Показатели	Штамм				
	N_3	N_8	N_9	B_3	B_6
Размер клеток, мкм					
ширина	0,7	0,8	0,8–1	0,8–1	0,7–1
длина	1,5–2	1,5–2,3	2–2,5	2–3	1,5–2,6
Окраска по Граму	+	+	+	±	±
Споры цилиндрические, расположенные					
субтерминально	+	+	+	+	+
центрально	+	–	–	–	+
Каталитическая активность	+	+	+	+	+
Рост в анаэробных условиях	+	+	+	+	+
Реакция ФОГЭС – Проскауэра	–	–	–	–	–
Рост при температуре, °С:10	–	–	–	–	–
20	+	+	+	+	+
42–56	+	+	+	+	+
60	–	–	–	–	–
Ферментация углеводов с образованием газа:					
маннита	+	+	+	+	+
глюкозы	+	+	+	+	+
арабинозы	+	+	+	+	+
ксилозы	+	+	+	+	+
Гидролиз					
крахмала	+	+	+	+	+
казеина	–	–	–	–	–
мочевины	–	–	–	–	–
лецитина	–	–	–	–	–
Образование:					
индола	–	–	–	–	–
сероводорода	–	+	–	+	+
Продукция газов и нитратов в анаэробных условиях	–	–	–	–	–

Продолжение табл. 25

Показатели	Штамм				
	P_6	P_9	P_{11}	P_{13}	P_{14}
Размер клеток, мкм					
ширина	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7
длина	1,5–2	1–2	1,5–2,5	1,5–3	1,5–2
Окраска по Граму	–	+	+	±	+
Споры цилиндрические, расположенные					
субтерминально	–	+	+	–	+
центрально	–	–	–	+	+

табл. 23

Показатели	Штамм				
	P_3	P_9	P_{11}	P_{13}	P_{14}
Каталитическая активность	+	+	+	+	+
Рост в анаэробных условиях	+	+	+	+	+
Реакция ФОГЭС — Проскауэра	—	—	—	—	—
Рост при температур, °С:10	—	—	—	—	—
20	+	+	+	+	+
42—56	+	+	+	+	+
60	—	—	—	—	—
Ферментация углеводов с образованием газа:					
маннита	+	+	+	+	+
глюкозы	+	+	+	+	+
арабинозы	+	+	+	+	+
ксилозы	+	+	+	+	+
Гидролиз					
крахмала	+	+	+	+	+
казеина	—	—	—	—	—
мочевины	—	—	—	—	—
лецитина	—	—	—	—	—
Образование:					
индола	—	—	—	—	—
сероводорода	—	—	—	—	+
Продукция газов и нитратов в анаэробных условиях	—	—	—	—	—

Примечание. (+) — положительный. (—) — отрицательный. ± — вариабельный.

В-галактоза и два неидентифицированных углеводных соединения, общее количество водорастворимых полисахаридов возросло в 2,5 раза (Kubátová et al., 1977). Эти полисахариды являются хорошим источником углерода для роста мицелия P. ostreatus (Mrázková, Staněk, 1978a). Кроме того P.ostreatus обладает широким спектром протеазной активности в кислой, нейтральной и щелочной области pH, что позволяет мицелию этого вида использовать мертвые клетки B. subtilis в качестве единственного источника азота, углерода и фосфора, утилизируя за 21 сут 75 % биомассы клеток (Fermor, 1983). Фильтраты бактериальных культур, выделенных из гифосферы Agaricus bisporus и оказывающие стимулирующее действие на рост шампиньона, также стимулируют и рост мицелия P. ostreatus, добавление их к питательной среде увеличивает выход биомассы мицелия P. ostreatus на 40—50 % (Staněk, Reháčkova, 1975).

Кроме полисахаридов, образуемых термофильными бактериями, в фильтратах этих культур обнаружены следующие витамины: тиамин, пиридоксин, мезоинозитол, Na-пантотеновая кислота, никотиновая кислота, биотин, а также гетероауксины (Mrázková, Staněk, 1979).

Как показали результаты наших опытов, подробно описанные в главе 7,

- B. macerans обладали способностью к азотфиксации.

Таким образом, положительное влияние термофильных бактерий B. macerans на создание селективности субстрата для культивирования P. ostreatus обусловлено несколькими факторами: снижением конкурентоспособности микроскопических грибов, улучшением азотного и углеродного питания P. ostreatus, выделением витаминов и гетероауксинов.

Совершенствование технологии интенсивного культивирования P. ostreatus, а также использование новых субстратов для его выращивания требуют знаний о возможности регуляции микробиологических процессов как в процессе подготовки субстрата – ферментации, так и в процессе роста мицелия и плодоношения вешенки. Анализ данных скорости роста мицелия и урожайности P. ostreatus на субстратах, ферментированных различное время, показал, что оптимальная продолжительность обработки пшеничной соломы ограничена 2 сут (табл. 26).

Таблица 26. Скорость ($мм \cdot сут^{-1}$) роста мицелия и урожайность ($кг \cdot т^{-1}$) влажного субстрата плодовых тел P. ostreatus на субстратах с различной продолжительностью ферментации

Показатели	Продолжительность ферментации, сут			
	0	2	4	7
Скорость роста мицелия	3,2±0,65	4,5±0,36	3,8±0,26	2,7±0,31
Урожайность	7,2±21,0	17,8±5,4	13,2±7,2	12,4±6,0

Проведенные нами опыты показали (табл. 27), что состав популяции микроорганизмов пшеничной соломы – наиболее традиционного субстрата – был различен в разных образцах как до, так и после ферментации (Stanek, Bisko, 1982).

В связи с более длительным сроком хранения образцы соломы № 1 и 2 отличались более значительным заселением грибами (виды родов Mucor, Trichoderma, Penicillum, Aspergillus и др.). Однако для всех взятых образцов характерно значительно бо́льшее количество микроорганизмов, растущих при 25 °С, чем при 50 °С (табл. 27). Проведение ферментации привело к количественным изменениям в популяции микроорганизмов: возросло число термофильных бактерий и грибов, а также термофильных актиномицетов, разрушающих целлюлозу, в то же время произошло снижение числа микроорганизмов, растущих при 25 °С (табл. 27). Данные табл. 27 свидетельствуют о том, что между популяциями термофильных грибов разных образцов существовали как количественные, так и качественные отличия. Так, грибы образца № 1 были представлены только термофильными видами Mucor pusillus Lindt., а образца № 4 – Aspergillus fumigatus Fres. Состав популяций микроорганизмов зависел от длительности процесса. Если ферментация была ограничена 24 ч, то отличия в количестве бактерий, растущих при 25 °С, были меньше. При увеличении срока ферментации до 4 сут наряду со сни-

...до и после ферментации [illegible]

Номер образца	Образец	Количество клеток в 1 г субстрата					
		Бактерии, $\times 10^6$		Грибы, $\times 10^3$		Целлюлозоразрушающие микроорганизмы, $\times 10^3$	
		25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
1	До ферментации	35	27	95	0	0*	[illegible]
	После ферментации	97	340	10	53**	0	[illegible]
2	До ферментации	206	4	123	1	10	1
	После ферментации	47	218	40	6	0	5
3	До ферментации	370	2	76	1	77	[illegible]
	После ферментации	566	340	13	2	0	[illegible]
4	До ферментации	45	25	26	28	0	[illegible]
	После ферментации	54	98	16	37***	0	[illegible]
5	До ферментации	99	172	84	18	3	[illegible]
	После ферментации	37	330	9	11	1	[illegible]

* Меньше, чем 1000. ** Только Mucor pusillus Lindt. *** Только Aspergillus fumigatus Fres.

жением количества термофильных бактерий рода Bacillus в популяции наблюдалось увеличение количества термофильных актиномицетов, разлагающих целлюлозу (рис. 23).

Опыты по подбору новых субстратов для выращивания P. ostreatus показали (Kříž et al., 1980a) перспективность использования смеси равных частей коры хвойных деревьев и пшеничной соломы или кукурузных кочерыжек. Урожайность на субстратах с включением коры не отличается от урожайности на пшеничной соломе. Для исследования особенностей микробиологических процессов, протекающих в субстратах, состоящих из смеси коры и соломы, нами проанализированы образцы субстратов, взятых на разных стадиях культивирования трех штаммов P. ostreatus. Основным отличием ферментированного субстрата с добавкой коры от традиционного на основе пшеничной соломы является преобладание в популяции бактерий — представителей мезофильной микрофлоры, растущих при 25 °C (табл. 28, 29; рис. 24). В отличие от процессов, происходящих при культивировании на соломе, на субстрате с добавлением коры хвойных деревьев остается стабильным соотношение количества бактерий, растущих при 25 и 50 °C, и значительно увеличивается количество грибов, растущих при 25 °C (табл. 29).

Непроросший мицелием P. ostreatus субстрат отличается от субстрата, пронизанного мицелием, большим количеством грибов, растущих при 25 °C (в 1,5–3 раза), и значительно меньшим грибов, растущих при 50 °C (в 2,5–3 раза).

Кроме того, в субстрате, проросшем мицелием P. ostreatus, заметно увеличение количества целлюлозоразрушающих микроорганизмов, растущих

Субстрат	Бактерии, × 10[illegible]		Грибы, $\times 10^3$	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
Солома пшеничная до ферментации	396	0,1	72	0
Кора сосны до ферментации	36	36	33	6,5
Солома пшеничная после ферментации	24	150	55	41
Смесь соломы и коры сосны (1:1) после ферментации	204	16	37	32

Штамм	Количество клеток в 1 г субстрата					
	Бактерии, × 10[illegible]		Грибы, $\times 10^3$		Целлюлозоразрушающие микроорганизмы, $\times 10^3$	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
483	200	[illegible]	150	130	320	150
521	320	45	180	22	520	150
476	100	[illegible]	100	120	340	200

при 25 °C, представленных только бактериями (табл. 29). Это явление мы связываем с деятельностью мицелия P.ostreatus, для которого характерно усиление разложения лигнина в начальный период роста. При этом происходит делигнификация клеточных оболочек древесины и освобождается доступ микроорганизмам к целлюлозе.

Одним из субстратов, перспективных для интенсивного культивирования P. ostreatus, является солома рапса. В связи с особенностями ее химического состава хорошие результаты дает анаэробная ферментация. Анализ популяции микроорганизмов после такой обработки субстрата показал (Erbanová et al., 1984), что в ней значительное место занимают также термофильные бактерии рода Bacillus — факультативные анаэробы.

Предложенная в 1979 г. П.Флегом (Flegg, 1979) технология культивирования P. ostreatus в "высоком" слое вызвала необходимость изучения особенностей состава популяции микроорганизмов субстратов при этом способе выращивания. Нами был изучен состав микроорганизмов при культивировании в высоком слое на двух вариантах субстрата: пшеничной соломе и смеси соломы, с корой хвойных пород деревьев (1:1) (Staněk, Bisko, 1982). В связи с более высоким количеством бактерий и более высокой скоростью роста мицелия P. ostreatus на соломе, температура соломы уже на 7-е сутки после инокуляции достигла 32 °C (табл. 30). Полученные результаты свидетельствуют о том, что повышение температуры в средних слоях соломы приводит к значительному увеличению количества грибов (в основном Trichoderma sp.). Эти факторы неблагоприятно повлияли на развитие мицелия P.ostreatus и урожайность, снизившуюся до 24 кг/т влажного субстрата. Мы не отметили значительных различий в количественном распределении мезофильных и термофильных бактерий в зависимости от глубины слоя на обоих исследованных субстратах (табл. 30).

…ица 30. Состав популяций микроорганизмов в процессе культивирования штаммов *P. ostreatus* … слое субстрата на 10-е сутки роста

…б …ия	Субстрат, место отбора образца	Штамм	Температура, °C	Количество клеток в 1 г субстрата							
				Бактерии, x 10⁴		Грибы, x 10³		Целлюлозоразрушающие микроорганизмы, x 10³		Лигнинразрушающие микроорганизмы, x 10³	
				25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
…ом	Солома, глубина 1 см	521	20	480	20	350	6	0	0	От	От
		483	20	240	60	165	4	0	0	От	От
		476	20	220	44	180	6	0	0	"	"
…· …ое	Солома, глубина 1 см,	476	20	208	65	10	0	0	160	121	16
	15 см	476	32	223	80	100	0	0	110	29	15
…ом	Смесь соломы и коры, глубина 1 см	521	20	100	20	100	120	340	200	90	10
		483	21	200	21	150	36	320	150	80	8
		476	20	320	45	180	22	520	150	104	7
…· …ое	Смесь соломы и коры, глубина 1 см,	476	20	48	60	280	0	0	174	100	12
	15 см	476	27	10	65	260	0	0	48	11	13

…мечание. От -- отсутствует.

...тивиро-вания	...то отбора образца	Штамм	...культи-вирования, сут	...сухого вещест-ва, %	Содержание, % Целлюлоза	Содержание, % Лигнин	Потери, % Целлюлоза	Потери, % Лигнин
На обычном слое	Солома,							
	глубина	521	10	38,1	28,1	17,6	26,2	5,0
	1 см	521	47	62,0	22,1	16,5	41,7	10,8
		483	10	22,9	27,1	16,6	26,6	10,2
		483	47	67,0	23,0	14,8	39,6	20,0
		476	10	27,5	29,0	14,4	23,9	22,4
		476	47	75,0	20,0	10,0	47,5	45,9
На "высоком" слое	Солома,							
	глубина	476	16	29,2	27,9	14,1	28,9	24,1
	1 см	476	42	71,4	20,7	11,4	45,6	39,0
	15 см	476	16	16,5	29,4	17,5	22,8	5,4
		476	421	51,0	27,5	16,5	27,8	10,8
На обычном слое	Смесь соломы и коры,							
	глубина	521	10	29,8	20	32,0	17,0	15,3
	1 см	521	47	36,6	17,9	30,9	25,7	18,2
		483	10	24,2	21,0	33,0	12,5	12,7
		483	47	40,0	15,0	28,0	37,0	25,9
		476	10	22,5	22,0	29,5	8,7	21,9
		476	47	37,0	19,0	24,8	21,2	34,3
На "высоком" слое	Смесь соломы и коры,							
	глубина	476	16	24,1	21,0	29,0	12,5	23,2
	1 см	476	42	60,2	18,0	26,8	25,3	29,1
	15 см	476	16	3,6	24,0	37,8	3,4	2,4
		476	42	31,0	21,8	32,9	9,1	13,0

Изучение динамики разложения целлюлозы и лигнина при культивировании P. ostreatus в "высоком слое" показало, что на начальных стадиях роста мицелия P. ostreatus содержание целлюлозы в обоих субстратах, инокулированных разными штаммами, значительно отличается (табл. 31). Это может быть объяснено различной способностью штаммов к окислению целлюлозы и присутствием в разных субстратах большего или меньшего количества целлюлозоразрушающих микроорганизмов (Bisko et al., 1982). Так, если в соломе последние не были обнаружены, то из смеси соломы и коры было выделено до 520×10^3 колоний$\cdot 1$ $г^{-1}$ субстрата (табл. 30). Через 47 сут в период полного обрастания мицелием P. ostreatus субстратов величины потерь целлюлозы при культивировании разных штаммов становятся более близкими. Для всех исследованных штаммов характерна более высокая величина потерь лигнина на начальном этапе роста на смеси соломы и коры, чем на соломе, что может быть также объяснено активностью лигнинразрушающих микроорганизмов, присутствующих в значительных количествах в коре (табл. 30). Вместе с тем в период полного освоения субстрата для штаммов 476 и полос, чем смеси соломы и коры (табл. 31). При культивировании в "высоком" слое на начальном этапе роста мицелия и на стадии полного обрастания сохраняется закономерность больших потерь целлюлозы из пшеничной соломы, чем из смеси соломы с корой, что можно объяснить различиями в строении комплексов целлюлозы и лигнина в древесине и соломе. Потери лигнина в центральных слоях обоих субстратов примерно одинаковы и значительно ниже, чем в поверхностных (табл. 31).

Приведенные данные свидетельствуют о целесообразности использования коры как добавки, стабилизирующей температуру, к субстратам при культивировании в "высоком" слое.

Появление грибов рода Trichoderma является основным показателем недостаточно селективного субстрата для P. ostreatus. Их неблагоприятное воздействие на P. ostreatus можно объяснить образованием антибиотиков и способностью быстрой утилизации углеводов и целлюлозы из субстрата, что тормозит развитие мицелия P. ostreatus. Кроме того, рост грибов рода Trichoderma значительно повышает температуру в субстрате. При микроскопировании участков совместных колоний P. ostreatus и Trichoderma sp. оказалось (Teplikova et al., 1984), что гифы Trichoderma sp.

Т а б л и ц а 32. Влияние заселения грибов рода Trichoderma на состав популяции микроорганизмов пшеничной соломы и урожайность плодовых тел P. ostreatus

Характеристика субстрата	Количество клеток в 1 г субстрата: Бактерии, x10^6		Грибы, x10^3		Целлюлозоразрушающие микроорганизмы, x10^3		Урожайность плодовых тел, кг т$^{-1}$ влажного субстрата: Волна плодоношения			Всего	%
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	1-я	2-я	3-я		
До ферментации	466	10	682	2	1	20	–	–	–	–	–
После ферментации	380	480	131	2	1	40	32,7	39,0	7,0	78,7 ±1,42	100
После инокуляции суспензией клеток B. macerans и ферментации	680	1140	44	17	2	15	39,5	79,0*	60,5*	179,0* ±0,4	227

* Здесь и в табл. 33 величина существенно отличается от контрольной при p = 0,95.

ции микроорганизмов субстрата и урожайность плодовых тел ...

Характеристика субстрата	Количество клеток в 1 г субстрата				Урожайность плодовых тел, кг $т^{-1}$ влажного субстрата	
	Бактерии, $\times 10^6$		Грибы, $\times 10^3$			
	25 °С	50 °С	25 °С	50 °С	Всего	%
После ферментации	37	335	9	11	18.0 ±12,4	100
После добавки муки люцерны и ферментации	19	690	16	1	266.0*±26,0	140,7
После "бактеризации" и ферментации	37	626	13	5	254,0*±15,3	134,4
После "бактеризации", добавки муки люцерны и ферментации	15	640	19	11	260,0*±29,0	137,6

Таблица 34. Влияние влажности субстрата на рост мицелия P. ostreatus и состав популяции микроорганизмов после ферментации

Влажность субстрата, %	Количество клеток в 1 г субстрата				Длина гиф мицелия за 9 сут роста, мм	Поверхность субстрата, покрытая мицелием грибов конкурентов на 20-е сутки, %
	Бактерии, $\times 10^6$		Грибы, $\times 10^3$			
	25 °С	50 °С	25 °С	50 °С		
74,0	150	380	9	12	52,5±1,1	0,12
71,5	136	312	18	31	50,3±0,8	0,20
67,0	71	117	56	68	38,6±3,2	1,20

проникали в гифы P. ostreatus и образовывали конидиеносцы, выходящие за пределы гиф P. ostreatus. Таким образом, кроме перечисленных факторов негативного влияния грибов рода Trichoderma на P. ostreatus, возможен и паразитизм Trichoderma sp. на гифах мицелия вешенки обыкновенной.

"Бактеризация" соломы, заселенной спорами и мицелием грибов рода Trichoderma, повышает общее количество бактерий в популяции и снижает количество грибов, растущих при 25 °С, а также увеличивает урожайность плодовых тел P. ostreatus (табл. 32). Аналогичные данные по увеличению урожайности P. ostreatus при "бактеризации" субстрата были получены чешскими учеными (Staněk et al., 1976).

На состав популяции микроорганизмов и урожайность плодовых тел P. ostreatus влияет также добавление к пшеничной соломе перед ферментацией муки люцерны (табл. 33). "Бактеризация" субстрата, в который была добавлена мука люцерны, не приводила к увеличению урожайности.

Дальнейшие опыты показали, что количество бактерий и грибов в субстрате после ферментации зависит от влажности субстрата. В более влажном субстрате в популяции микроорганизмов больше бактерий, чем грибов (табл. 34).

[illegible] популяции [illegible] микроорганизмов [illegible] на 10-е сутки

Штамм	Длина [illegible] мицелия, мм	Отношение количества бактерий (х 10⁶) и грибов (х 10⁴)
476	55,0±2,[illegible]	110
483	27,4±0,7	1,6
521	25,2±0,6	1,3

[illegible] для культивирования P. ostreatus

Характеристика субстрата	Количество клеток в 1 г субстрата		
	Бактерии, х 10⁶		Грибы, х 10⁴
	25 °С	50 °С	25 °С
До ферментации	396	1	[illegible]2
После ферментации	24	150	55
После 10 сут культивирования	220	44	110
Непроросший мицелием	880	60	250

При культивировании разных штаммов P. ostreatus показано, что более высокая скорость роста мицелия вешенки наблюдается при возрастании отношения количества бактерий и грибов, выделяемых из этого субстрата (табл. 35). Непроросший либо недостаточно проросший мицелием P. ostreatus субстрат был заселен в значительной степени грибами родов Trichoderma, Penicillum, а также микроорганизмами, разлагающими целлюлозу. В процессе роста мицелия P. ostreatus возрастает количество бактерий и грибов, выделяемых при 25 °С, и уменьшается количество термофильных бактерий (табл. 36).

Анализ литературных и полученных нами данных свидетельствует о том, что термофильные бактерии рода Bacillus определяют селективность субстрата при аэробной и анаэробной ферментации субстратов для интенсивного культивирования P. ostreatus в обычном и "высоком" слоях. Для создания соответствующих условий роста мицелия P. ostreatus необходимо сохранение высокого соотношения (100:1, 110:1) количества бактерий и грибов в популяции микроорганизмов, присутствующей в субстрате.

Хим. состав и пит. ценность плодовых тел видов рода Вешенка

Несмотря на то что грибы являются для человечества прекрасным питательным продуктом уже в течение 30 тыс. лет, интенсификация промышленного производства съедобных грибов (использование новых видов субстратов, новых штаммов и т.д.) требует тщательного изучения химического состава и питательной ценности культивируемых видов. О значении грибов в питании человека свидетельствует тот факт, что по прогнозам ученых к 2000 г. 2/3 потребности человека в белке будет удовлетворено за счет промышленного производства съедобных грибов (Delcaire, 1981).

Достаточно подробно химический состав плодовых тел изучен только для двух культивируемых видов рода Pleurotus — P. ostreatus и P. sajor-caju. Наиболее обширная литература по этому вопросу имеется для P.ostreatus (табл. 37). В отдельных работах (Jandaik, Randal, 1978; Мелик-Хачатрян, 1980) встречаются сведения о содержании азота, сырого протеина, аминокислот или липидов в плодовых телах P. eryngii и P. cornucopiae.

Анализ приведенных в табл. 37 данных позволяет заключить, что основные показатели химического состава плодовых тел P. sajor-caju укладываются в пределы варьирования соответствующих показателей P. ostreatus. В плодовых телах исследованных видов рода Pleurotus содержатся все незаменимые для человека аминокислоты (Crisan, Sands, 1978; Мелик-Хачатрян, 1980). В составе аминокислот этих видов в основном преобладают глютаминовая и аспарагиновая кислоты, что характерно в целом для съедобных грибов (Crisan, Sands, 1978). Вместе с тем аминокислотный состав белков плодовых тел P. sajor-caju более близок к составу стандартного белка ФАО, чем белков плодовых тел P. ostreatus. Особо существенные для расчета питательной ценности различия между P. ostreatus и P. sajor-caju наблюдаются по содержанию серосодержащих аминокислот, которые традиционно являются лимитирующими в плодовых телах съедобных грибов (Crisan, Sands, 1978). Количество этих аминокислот в плодовых телах P. sajor-caju находится на уровне стандартного белка ФАО (Jandaik, Kapoor, 1976). Результаты, полученные для плодовых тел P. sajor-caju, свидетельствуют, что по количеству всех незаменимых аминокислот этот вид также отвечает требованиям ФАО (табл. 37). Для белков P. sajor-caju свойственно в целом значительно большее, чем у P. ostreatus, содержание аминокислот (табл. 37). Лимитирующими аминокислотами для P. ostreatus являются лизин, метионин и цистеин.

Показатель	P. ostreatus	Литературный источник	P. sajor-caju	Литературный источник
Абсолютно сухая масса, %				
Сырой протеин ($N_{общ.}$×6,25)	7,0—41,6	Sawada, 1965; Dzidzic, Lasota, 1977; Crisan, Sands, 1978; Высшие съедобные базидиомицеты, ... 1983	26,6—47,9	Chang et al., 1981
Липиды	1,0— 6,9	Crisan, Sands, 1978; Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983; Gapinski, Wozniak, 1983	1,7—2,2	Chang et al., 1981
Углеводы	16,7—81,8	Crisan, Sands 1978; Lasota, Sylwestzak, 1984	53,5—64,0	Chang et al, 1981
Зола	2,1—9,8	Crisan, Sands, 1978; Высшие съедобные базидиомицеты..., 1983	6,4—6,7	
Аминокислоты, мг·г⁻¹ белкового азота				
Аспарагиновая кислота	564—638	Kalberer, Kunsch, 1974; Crisan, Sands, 1978	715	Jandaik, Kapoor, 1976
Треонин	264—324	То же	353	То же
Серин	271—345	" "	331	" "
Глютаминовая кислота	890—1266	" "	1 792	" "
Пролин	269—321	" "	280	" "
Глицин	273—315	" "	353	" "
Аланин	404—451	" "	443	" "
Цистеин	29—32	" "	90	" "
Валин	309—364	" "	377	" "
Метионин	90—108	" "	131	" "
Изолейцин	266—299	" "	313	" "
Лейцин	310—610	" "	478	" "
Тирозин	184—210	" "	445	" "
Фенилаланин	216—260	" "	394	" "
Гистидин	87—120	" "	157	" "
Лизин	250—321	" "	399	" "
Аргинин	306—374	" "	441	" "
Триптофан	61—97	" "	88	" "
Сумма незаменимых аминокислот	2 059—2 415	" "	2 639	" "
Сумма аминокислот	5 169—6 232	" "	7 596	" "

		Источник		Источник
Витамины, мг·г⁻¹ абсолютно сухой массы				
Тиамин	48–84	Crisan, Sands, 1978. Makinen et al., 1978	0,2–0,6	Chang et al., 1981
Рибофлавин	24–47	Crisan, Sands, 1978. Lasota et al., 1981	12–14	Тот же
Ниацин	399–1087	Crisan, Sands, 1978. Lasota, Sylwestzak, 1984	182–213	" "
Пиридоксин	4	Crisan, Sands, 1978. Lasota et al., 1981	Не опред.	
Пантотеновая кислота	$10{,}3 \cdot 10^{-3}$	Те же		
Фолиевая кислота	$353{,}3 \cdot 10^{-3}$	Те же	Не опред.	Тот же
B_{12}	$0{,}84 \cdot 10^{-3}$	" "	" "	" "
Аскорбиновая кислота	0	Crisan, Sands, 1978	0	" "
Минеральные элементы, мг·кг⁻¹ абсолютно сухой массы				
Ca	330–800	Lelley, 1974; Crisan, Sands, 1978; Стеценко и др., 1979	189–400	Chang et al., 1981
Mg	5900	Crisan, Sands, 1978; Kreula et al., 1978	1360–1880	Тот же
Na	300–8370	Dziedzic, Lasota, 1977, Crisan, Sands, 1978	1580–2560	" "
K	2 9900–3 7930	Crisan, Sands, 1978; Lasota, Florezak, 1981	21000–25800	" "
Fe	152–334	Crisan, Sands, 1978; Lasota, Sylwestzak, 1984	50–116	"
Cu	192–219	Crisan, Sands, 1978; Стеценко, Бакаева, 1985	Не опред.	" "
Co	2,1–3,7	Crisan, Sands, 1978; Lasota, Florszak, 1981	"	" "
Mn	44,7–55,2	Crisan, Sands, 1978; Стеценко, Бакаева, 1985		" "
Cd	3,9	Lasota, Florszak, 1981	" "	" "
Pb	7,4	Те же	" "	" "
Zn	37,3	" "	" "	" "
P	4956–1 8000	Crisan, Sands, 1978; Lasota, Florszak, 1981	5870–16200	Chang et al., 1981
Жирнокислотный состав липидов, % абсолютно сухой массы				
C_8–C_{13}	1–2,3	Kreula et al., 1978; Соломко и др. 1984	Не опред.	Chang et al., 1981

[illegible]	P. ostreatus	Литературный источник	P. sajor-caju	Литературный источник
Миристиновая кислота	[illegible]5–2.4	Kimila et al. 1978; Соломко и др., 1984	Не опред.	Chang et al., [illegible]
$C_{15:0}$	[illegible]3–2.5	То же	Не опред.	То же
$C_{15:1}$	[illegible]0–2.2	" "	" "	" "
Пальмитиновая кислота	[illegible]4–15.1			
Пальмитолеиновая кислота	[illegible]–0.5			
$C_{17:0}$	[illegible]5–5.3			
Стеариновая кислота	[illegible]–19.8			
Олеиновая кислота	[illegible]5–50.0			
Линолевая кислота	[illegible]–13.4			
Линоленовая кислота	[illegible]–16.4	" "		

Плодовые тела двух наиболее тщательно исследованных видов в значительной степени отличаются также по содержанию минеральных элементов (табл. 37), что, вероятно, связано с различиями в составе субстратов, на которых они культивируются. Известно (Crisan, Sands, 1978), что плодовые тела съедобных грибов способны аккумулировать минеральные элементы. В наибольшем количестве в плодовых телах P. ostreatus обнаружен калий, фосфор, натрий и магний, у P. sajor-caju – фосфор, натрий и магний (табл.37).

По содержанию изученных витаминов плодовые тела P. ostreatus значительно превосходят P. sajor-caju, но закономерность распределения соответствующих витаминов аналогична (табл. 37). Плодовые тела обоих видов сравнительно богаты ниацином, содержат мало рибофлавина и не содержат аскорбиновой кислоты.

Анализ данных по содержанию жирных кислот P. ostreatus позволяет сделать вывод о довольно широком диапазоне вариабельности качественного состава и количественного содержания отдельных жирных кислот. Общим является то, что из насыщенных жирных кислот преобладает стеариновая, которая составляет до 23 % суммы жирных кислот, а также то, что основное содержание жирных кислот приходится на олеиновую – 55 % (Соломко и др., 1984). Состав липидов плодовых тел P. ostreatus по соотношению ненасыщенных и насыщенных жирных кислот сходен с составом масел растительного происхождения (Химический состав пищевых продуктов ... 1979).

Содержание сырого протеина в шляпках P. ostreatus и P. ostreatus f. florida в 2 раза больше, чем в ножке (Rimoczi, Vetter, 1976; Lasota, Sylwestzak, 1984). Однако величина азотсодержащих веществ небелкового

89,9–92,2 % (Rimoczi, Vetter, 1978).

Исследование изменения содержания сырого протеина в шляпке и ножке плодовых тел P. ostreatus в процессе развития карпофора показало, что наибольшее его количество содержится в шляпке и ножке плодовых тел диаметром 5–8 см (Vetter, Rimoczi, 1981). Распределение перевариваемого белка подчинялось той же закономерности. Фракции непереваривыемого белка и небелковых азотсодержащих соединений в процессе морфогенеза плодового тела P. ostreatus практически не изменяются. На основании полученных результатов оптимальным временем сбора урожая плодовых тел P. ostreatus, с точки зрения наибольшей питательной ценности, является период развития карпофоров, при котором шляпка имеет диаметр 5–8 см (Vetter, Rimoczi, 1981). Аналогичные данные были получены П.Варью (Varju, 1978) для P. ostreatus, а также индийскими исследователями (Jandaik, Randal, 1978) для P. ostreatus, P. ostreatus f. florida, P. cornucopiae и P. eryngii. Помимо фазы развития плодового тела на содержание сырого протеина и соотношение небелковых азотсодержащих соединений и перевариваемого белка влияет состав субстрата, на котором проводится выращивание.

Данные табл. 38 свидетельствуют, что для всех отселектированных нами штаммов P. ostreatus характерно увеличение содержания как общего, так и белкового азота во 2-ю волну плодоношения на обоих испытанных субстратах. Белковый азот составляет 64–76 % общего азота. Содержание азота в плодовых телах, выращенных на более бедном азотом субстрате с добавкой пшеничной соломы, было значительно ниже.

Из трех видов субстрата – стебли кукурузы, кочерыжки кукурузы и пшеничная солома – наилучшими показателями химического состава обладали плодовые тела P. ostreatus, выращенные на стеблях кукурузы, вероятно, в связи с более высоким содержанием азота в этом субстрате (Varju, 1978). Аналогичные данные зависимости содержания сырого протеина от состава субстрата получены и для плодовых тел P. sajor-caju: количество его изменялось от 26,6 % (на пшеничной соломе) до 35,6 % (на смеси отходов хлопка и листьев чая). (Chang et al., 1981).

Для всех исследованных нами штаммов P. ostreatus характерно увеличение в плодовых телах во 2-ю волну плодоношения на смеси опилок и отрубей аскорбиновой кислоты, серина, глютаминовой кислоты, гистидина и аргинина. Штаммы различались по активности синтеза отдельных аминокислот, в частности, треонина, лейцина и фенилаланина (табл. 38). В связи с более бедным содержанием азотистых веществ в субстрате с добавкой пшеничной соломы плодовые тела исследуемых штаммов во всех случаях содержали меньшее количество аминокислот. Кроме того, в составе аминокислот не обнаружили пролин и метионин, что связано с их отсутствием в исходном субстрате.

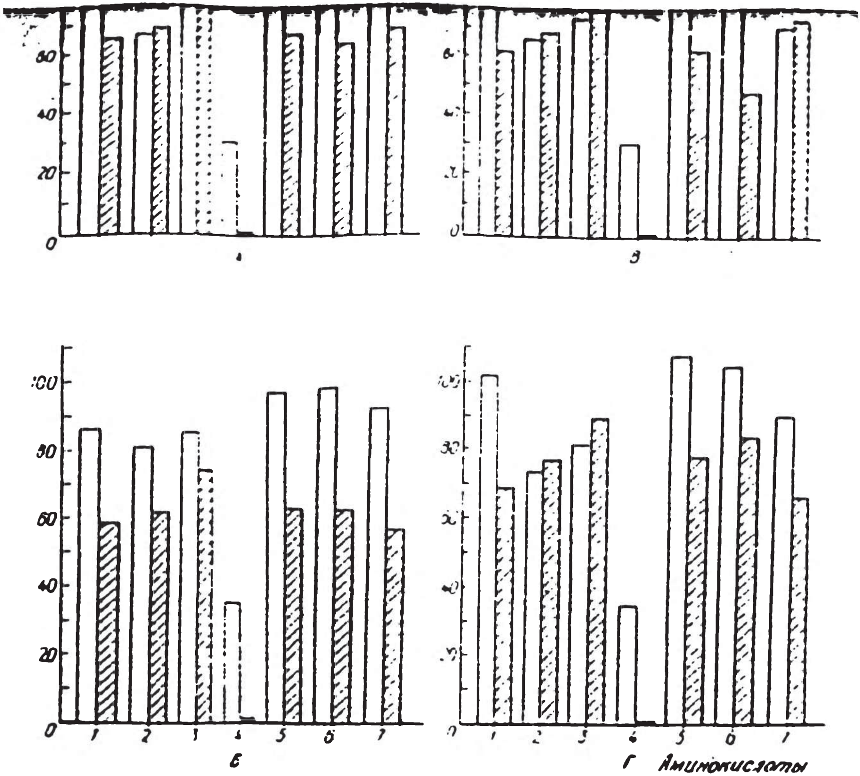


Рис. 25. Содержан. : незаменимых аминокислот (% содержания в стандартном белке ФАО) в плодовых телах P. ostreatus при интенсивном культивировании на различных субстратах: *А* — штамм 525, *Б* — штамм 853, *В* — штамм 898, *Г* — штамм 928; *а* — смесь осиновых опилок и пшеничных отрубей, *б* — смесь осиновых опилок и пшеничной соломы; *1* — изолейцин, *2* — лейцин, *3* — лизин, *4* — метионин + цистеин, *5* —фенилаланин+ + тирозин, *6* — треонин, *7* — валин

Для плодовых тел изученных нами штаммов характерно наибольшее содержание аспарагиновой и глютаминовой аминокислот, наименьшее — метионина, изолейцина, тирозина и фенилаланина. Штаммы наиболее близки по содержанию пролина, метионина и тирозина. Отмечено различное влияние субстрата на синтез отдельных аминокислот разными штаммами. Так, количество аланина в плодовых телах штамма 928 на субстрате с отрубями было минимальным. На субстрате с соломой наблюдается обратная зависимость.

во активно в плодовых телах ... treatus, выращенных интенсивным способом

этого штамма на обеих субстратах.

Эти данные совпадают с приводимыми в литературе. По общему содержанию аминокислот штаммы P. ostreatus, полученные нами в результате УФ-облучения, превосходят исходный штамм 525. Наиболее высокое содержание аминокислот, в том числе и незаменимых, отмечено для штамма 928, обладающего рядом других ценных признаков, отмеченных нами ранее (табл. 38).

Определяющим для вычисления питательной ценности плодовых тел грибов является содержание незаменимых аминокислот. Для всех исследованных штаммов, кроме 928, характерно меньшее содержание отдельных незаменимых аминокислот, чем в стандартном белке ФАО (FAO, 1972). В плодовых телах штамма 928, выращенных на смеси опилок с пшеничными отрубями, изолейцин, треонин, сумма фенилаланина и тирозина содержатся в количестве, превышающем стандартный белок ФАО. Наиболее выравненный состав незаменимых аминокислот характерен для штамма 853 на смеси опилок с отрубями — все аминокислоты, кроме метионина и цистеина, составляют 82—98 % содержания в стандартном белке ФАО (рис. 25). Для всех штаммов отмечено наиболее низкое содержание метионина и цистеи-

Штаммы	1-я волна плодоношения		2-я волна плодоношения	
	1	2	1	2
Азот общий				
525	4,29	3,64	5,82	4,09
853	4,22	4,00	4,38	Не опред.
898	4,69	5,68	4,82	" "
928	4,21	4,01	6,07	4,83
Азот белковый				
525	3,28	2,64	3,77	3,00
853	3,54	2,71	3,99	Не опред.
898	3,34	2,37	4,08	" "
928	3,95	2,95	4,52	3,24
Аспарагиновая кислота				
525	19,91	15,45	20,82	17,12
853	25,50	15,63	27,95	Не опред.
898	21,83	13,13	31,42	" "
928	26,82	20,13	29,52	20,04
Треонин				
525	10,40	5,99	9,30	7,44
853	10,36	6,29	22,11	Не опред.
898	9,76	4,40	21,66	" "
928	11,11	8,53	11,53	9,55
Серин				
525	9,55	7,59	10,08	8,39
853	11,30	7,84	13,21	Не опред.
898	10,00	6,19	11,03	" "
928	10,02	10,01	11,90	10,33
Глютаминовая кислота				
525	37,02	40,07	67,95	60,95
853	37,29	38,99	47,33	Не опред.
898	35,31	35,02	60,46	" "
928	64,23	44,99	68,73	48,22
Пролин				
525	10,50	сл.	10,83	Следы
853	11,56	сл.	10,78	Не опред.
898	9,22	сл.	11,04	" "
928	10,22	сл.	12,02	Следы
Глицин				
525	9,18	6,95	8,78	7,19
853	10,99	6,93	11,73	Не опред.
898	10,70	6,09	10,36	" "
928	11,12	6,79	11,24	9,18

Штамм	1-я волна плодоношения		2-я волна плодоношения	
	1	2	1	2
		Аланин		
525	12,48	[illegible]	12,48	12,28
853	13,56	[illegible]	16,29	Не опред.
898	12,50	[illegible]	13,25	" "
928	11,50	[illegible]	15,69	11,72
		Валин		
525	11,56	[illegible]	8,35	7,47
853	12,03	[illegible]	12,75	Не опред.
898	10,30	[illegible]	12,60	" "
928	10,50	[illegible]	12,86	10,70
		Метионин		
525	2,85	Следы	2,30	Следы
853	3,35	"	3,37	Не опред.
898	3,09	"	3,67	" "
928	3,25	"	3,64	Следы
		Изолейцин		
525	8,61	6,0[illegible]	5,48	5,61
853	9,04	6,31	9,92	Не опред.
898	9,05	5,57	9,92	" "
928	10,74	6,07	19,94	6,95
		Лейцин		
525	12,93	11,15	11,21	10,64
853	14,97	11,20	16,56	Не опред.
898	13,71	10,95	14,73	" "
928	13,78	13,53	15,63	12,32
		Тирозин		
525	6,58	3,72	6,83	4,85
853	6,87	4,22	7,98	Не опред.
898	7,73	3,56	7,48	" "
928	7,72	4,95	8,12	4,91
		Фенилаланин		
525	9,17	5,74	7,81	6,62
853	9,13	5,33	10,09	Не опред.
898	8,76	5,23	9,72	" "
928	9,51	6,93	11,07	6,83
		Гистидин		
525	15,59	21,15	19,41	26,83
853	16,50	24,40	28,22	Не опред.
898	18,42	18,40	17,42	" "
928	17,33	18,72	21,78	26,93

Все [illegible] штаммы, кроме 853, накапливали в плодовых телах на смеси опилок и соломы больше лейцина и лизина, чем на смеси опилок и отрубей. Остальные аминокислоты при культивировании на этом субстрате определены в меньшем количестве, чем на смеси опилок и отрубей.

Для оценки питательной ценности Б.Осер (Oser, 1951, 1959) предложил использовать индекс незаменимых аминокислот (ЕАА-индекс), вычисляемый как отношение суммы незаменимых аминокислот в исследуемом продукте к содержанию незаменимых аминокислот в яичном белке. Вычисление ЕАА-индекса для изученных нами плодовых тел штаммов P.ostreatus показало, что, как и следовало ожидать, этот показатель для плодовых тел, выращенных на смеси опилок с соломой, ниже, чем на субстрате с добавкой отрубей (табл. 39). Наиболее высоким ЕАА-индексом обладали плодовые тела штамма 928, находящиеся по этому показателю на уровне питательности картофеля и бобовых (Crisan, Sands, 1978). Однако о питательной ценности продукта нельзя судить только по содержанию незаменимых аминокислот. Необходимо учитывать и количество белка в исследуемом продукте. Для более точной оценки питательной ценности предложен индекс питательности, рассчитываемый (Crisan, Sands, 1978) как ЕА-индекс x содержание белка (%) /100.

	1	2	1	2
		Лизин		
525	11.30	12.68	11.20	10.84
853	12.14	10.11	14.12	Не опред.
898	11.[illegible]	9.58	12.38	" "
928	11.72	12.28	14.22	11.17
		Аргинин		
525	17.22	10.41	22.69	12.51
853	16.54	14.65	17.90	Не опред.
898	16.71	11.49	17.00	" "
928	17.02	13.60	23.55	13.92
		Сумма аминокислот		
525	204.85	164.82	235.52	187.54
853	221.12	169.62	249.62	Не опред.
898	209.00	146.33	254.94	" "
928	246.69	184.08	282.84	202.67
		Сумма незаменимых аминокислот		
525	124.44	80.14	97.75	86.76
853	104.06	84.63	125.04	Не опред.
898	101.62	74.61	110.00	Не опред.
928	105.06	88.85	125.62	98.27

Примечание: Здесь и в табл. 39, 40, 42 1 — субстрат, состоящий из смеси осиновых опилок и пшеничных отрубей; 2 — субстрат, состоящий из смеси осиновых опилок и пшеничной соломы; следы — меньше 0,05 %.

[illegible] также соответствует литературным данным (табл. 39).

Одним из важных показателей ценности продуктов для человека является содержание витаминов. Плодовые тела, проанализированных нами штаммов P. ostreatus, содержали по сравнению с литературными данными более высокое количество пиридоксина и рибофлавина (табл. 39, 40). Плодовые тела отличались также значительным содержанием никотиновой кислоты. Различный состав субстрата почти не влиял на содержание в плодовых телах биотина, пиридоксина и никотиновой кислоты (табл. 40). В то же время этот фактор влиял на распределение рибофлавина и тиамина, причем на каждый штамм поразному. Сравнение содержания витаминов группы В в плодовых телах P. ostreatus с содержанием их в пищевых продуктах показало, что уровень биотина в исследованных штаммах в 10 раз выше, чем в яйцах, молоке и шпинате. Концентрация пиридоксина такая же, как в картофеле, но больше, чем в капусте и моркови. Количество тиамина в плодовых телах изученных штаммов соответствует содержанию его в овсяной крупе, пшеничном хлебе, фасоли и капусте. Кроме витаминов группы В плодовые тела P. ostreatus содержат и аскорбиновую кислоту, о чем не упоминается в литературе (Володина, Бисько, 1983; табл. 41). В процессе хранения плодовых тел в течение года содержание этого витамина значительно уменьшается.

Изучение минерального состава плодовых тел P. ostreatus показывает, что во всех штаммах преобладает калий, что соответствует литературным данным (табл. 37, 42).

Калий участвует в углеводном обмене высших базидиомицетов, а у дереворазрушающих грибов служит, по-видимому, для связывания и нейтрализации органических кислот (Шиврина и др., 1969). На втором месте по

[illegible]	[illegible]		[illegible]	
	1	2	1	2
525	73.50	70.20	[illegible]	18.26
353	82.03	55.30	21.53	12.32
698	70.3	58.2	20.61	13.39
925	89.3	68.1	19.29	17.07

Витамин	[illegible]		[illegible]	
	1	2	1	2
Биотин	3.3	3.2	2.6	[illegible]
Тиамин	42.4	36.4	38.4	[illegible]
Пиридоксин	26.5	23.4	23.4	[illegible]
Никотиновая кислота	3170.0	3250.0	3250.0	3605.0
Рибофлавин	185.0	165.0	156.0	172.0

значительности в исследуемых плодовых телах находится магний, роль которого заключается в активации многочисленных ферментных систем. Железо также имеет важное значение в метаболизме грибов (входя как компонент в такие ферменты, как каталаза, цитохромоксидаза и др.) и содержится в плодовых телах в достаточно большом количестве (табл. 42).

Минеральный состав субстрата в значительной степени определяет содержание минеральных элементов в плодовых телах грибов (Crisan, Sands, 1978). Для всех исследованных нами штаммов характерно бóльшее содержание железа и магния и меньшее кальция при культивировании на субстрате с добавкой пшеничной соломы (табл. 42). Количество калия варьировало незначительно. Наибольшая разница между штаммами наблюдается в аккумуляции натрия.

Аналогичные результаты получены при изучении роста P.sajor-caju на различных субстратах. Так, содержание кальция в плодовых телах этого вида возросло от 189 $мг \cdot кг^{-1}$ при выращивании на хлопковых отходах до 362 — на пшеничной соломе; железа — 50–115, магния – 1360–1880 соответственно (Chang et al., 1981). Достаточно стабильным при выращивании на этих субстратах было содержание кальция в плодовых телах.

Изучение содержания натрия, калия и кальция в плодовых телах P. ostreatus, P. eryngii и P.cornucopiae в процессе развития показало (Jandaik, Randal, 1978), что их количество остается достаточно стабильным на разных стадиях роста.

Сравнение состава минеральных элементов плодовых тел отселектиро-

Таблица 41. Влияние длительности хранения на содержание аскорбиновой кислоты в плодовых телах P.ostreatus штамма 521

Номер образца	Содержание аскорбиновой кислоты, $мг \cdot кг^{-1}$ абсолютно сухой массы		Потери при хранении, %
	в свежевысушенном материале	после 12 месяцев хранения	
1	2327	1947	16
2	2455	1711	31
3	2464	1686	32

[illegible] плодовых телах P. ostreatus, выращенных интенсивным методом

Элемент	Штаммы							
	525		853		898		928	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Na	545	390	260	708	487	780	496	258
K	26 000	22 447	26 000	24 077	24 700	22 520	21 735	29 098
Ca	442	191	336	181	338	132	492	181
Mg	1716	1976	1656	1957	1664	2215	1838	2704
Fe	328	783	155	407	130	361	111	232

ванных штаммов P. ostreatus, выращенных интенсивным способом, с другими пищевыми продуктами, например картофелем, свидетельствует, что в данном грибе содержится меньше калия и кальция, примерно столько же натрия и магния, и значительно больше железа, чем в клубнях картофеля (Вечер, Гончарик, 1973).

Калорийность плодовых тел изученных видов рода вешенка составляет 1000–3700 ккал·кг$^{-1}$ (Ginterová, Maxianová, 1975; Crisan, Sands, 1978; Chang et al., 1981) и во многом зависит от состава субстрата, на котором проводится культивирование. Так, калорийность плодовых тел P. sajor-caju при выращивании на смеси хлопковых отходов и чая достигла 2730 ккал·кг$^{-1}$, а на пшеничной соломе – 3000 ккал·кг$^{-1}$ (Chang et al., 1981). По калорийности плодовые тела видов Pleurotus примерно равны Agaricus bisporus (Crisan, Sands, 1978).

Таким образом, анализ химического состава и питательной ценности плодовых тел отселектированных нами штаммов P. ostreatus показал, что по индексу питательности и содержанию незаменимых аминокислот они равноценны бобовым, по содержанию витаминов превосходят многие овощи, в их минеральный состав входят все макроэлементы, необходимые в питании человека. Эти данные свидетельствуют о ценности плодовых тел отселектированных штаммов P. ostreatus как пищевого продукта для человека.

Съедобные грибы рода вешенка являются перспективными объектами культивирования с целью получения высокопитательных плодовых тел и производства обогащенного азотом корма для сельскохозяйственных животных.

Для получения высокопродуктивных штаммов вешенки обыкновенной целесообразно использовать схему моноспоровой селекции с применением принципа отбора по множественным показателям, включающую этапы подбора исходных штаммов; обработку спор УФ-лучами; скрещивания совместных монокарионов, образующих примордии в широких температурных пределах; проверки метаболической активности штаммов в отношении широкого спектра источников углерода и азота; испытания температурной устойчивости мицелия; проверки урожайности на различных субстратах. Эффективность селекционной работы может быть повышена при использовании облучения спор дозами УФ-лучами 360, 720 и 900 дж·м$^{-2}$.

Применение приведенной схемы селекции позволило получить высокопродуктивные штаммы P. ostreatus. Испытания в полупромышленных условиях Ленинского лесхоза Гомельской области показали, что урожайность селектированных штаммов на 30–60 % выше, чем исходных. Они обладают способностью образовывать плодовые тела как при 15 °C, так и при 24 °C, используют широкий набор источников углерода и азота.

С целью повышения возможностей эффективности экстенсивного способа культивирования плодовых тел видов рода Pleurotus целесообразно использовать древесину, пораженную стволовой гнилью, а также проводить культивирование на пнях с нанесением посевного мицелия на заболонную часть. Испытания усовершенствованной технологии экстенсивного культивирования P. ostreatus проведены в полупромышленных условиях лесничеств Львовской обл. В процессе сукцессий дереворазрушающих грибов, возникающих при экстенсивном культивировании P. ostreatus, на начальном этапе разложения древесины доминирует Schizophyllum commune, на оптимальной стадии – Coriolus versicolor, Stereum hirsutum и Bjercandera adusta, а на заключительной – Bjercandera adusta. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что экстенсивное выращивание вешенки обыкновенной значительно сокращает видовое разнообразие и обилие дереворазрушающих грибов, препятствуя распространению опасного возбудителя болезней хвойных пород деревьев – Armillariella mellea, а также в 2 раза сокращает длительность разложения древесины пней.

Исследование динамики разложения целлюлозы и лигнина древесины в процессе экстенсивного культивирования P. ostreatus показало, что основным источником углерода для вешенки на этом субстрате в течение первых двух лет является целлюлоза. Потери массы древесины и целлюлозы в этот период коррелируют с наиболее интенсивным плодоношением вешенки. Используя тесты на интенсивность разложения целлюлозы заболонной части древесины, можно вести отбор высокопродуктивных штаммов вешенки обыкновенной для экстенсивного культивирования на стадии роста мицелия, что позволяет сократить время проведения селекционной работы.

Интенсивные способы культивирования плодовых тел имеют ряд преимуществ перед экстенсивными: выращивание грибов ведется круглогодично, достигается более высокая урожайность, короче производственный цикл, может быть использован широкий набор растительных субстратов из числа целлюлозо- и лигнинсодержащих отходов сельского хозяйства и промышленности. Из исследованных нами в лабораторных условиях субстратов (опилок разных древесных пород и различных отходов целлюлозобумажной промышленности) лучшие условия для роста P. ostreatus обеспечивала смесь осиновых опилок с пшеничными отрубями в соотношении 9:1. В зависимости от специфики субстрата целесообразно применение термообработки либо ферментации. Важную роль в ферментации субстрата играют термофильные бактерии рода Bacillus. Помимо защитной функции как антагонистов грибов-конкурентов P. ostreatus эти бактерии выделяют полисахариды и витамины, а также способны фиксировать атмосферный азот. Селектированные нами штаммы P. ostreatus при выращивании на смеси древесных опилок и пшеничных отрубей дают урожай, равный 20—22 % массы субстрата. Субстрат при этом обогащается витаминами и минеральными элементами, а также азотсодержащими соединениями, основное место среди которых занимают аминокислоты.

Исследование химического состава плодовых тел селектированных штаммов вешенки обыкновенной свидетельствует, что такие показатели, как содержание азота, аминокислот и минеральных элементов, во многом определяются особенностями состава субстрата. Установлено, что на подобранном субстрате (смесь осиновых опилок и пшеничных отрубей) содержание азота у высокопродуктивных штаммов P. ostreatus составляет 4,2—4,7 %, аминокислот — 221—246 $мг \cdot г^{-1}$ сухой массы, в том числе незаменимых аминокислот — 104—105 $мг \cdot г^{-1}$. По индексам питательности и незаменимых аминокислот плодовые тела отселектированных штаммов P. ostreatus соответствуют питательности бобовых. Определение биологической ценности плодовых тел полученных нами штаммов P. ostreatus показало, что они содержат все незаменимые для человека аминокислоты, достаточно высокие количества аскорбиновой кислоты, пиридоксина и рибофлавина.

Проведенные исследования свидетельствуют о перспективности введения высокоурожайных штаммов видов рода вешенка, особенно вешенки обыкновенной, в промышленную культуру. В условиях нашей страны целесообразно развитие как экстенсивного, так и интенсивного способов выращивания этого вида. Первый позволит использовать имеющиеся в стране отходы неделовой древесины, обеспечить эффективную раскорчевку лесных вырубок, второй — даст возможность круглогодичного получения плодовых тел гриба на непищевых отходах лесного и сельского хозяйства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Акимова Е.Е. Влияние освещения и аэрации на морфогенез Polyporus ciliatus Fr. и Pleurotus ostreatus (Fr.) Kumm. // Микология и фитопатология. – 1982. – 16, № 2. – С.89–95.

Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ. Подход с использ. ЭВМ. – М.: Мир, 1982. – 488 с.

Бисько Н.А. Первичный отбор продуктивных штаммов Pleurotus ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm. // Микология и фитопатология. – 1985. – 19, № 2. – С.89–92.

Бисько Н.А., Билай В.Т., Чурикова Э.К. Разложение древесины различных пород в процессе роста вешенки обыкновенной Pleurotus ostreatus (Fr.) Kumm. // Там же. – 1984. – 18, № 5. – С.435–439.

Бисько Н.А., Бутейко П.Ф., Дудка И.А., Шевченко С.В. Культивирование вешенки обыкновенной Pleurotus ostreatus (Fr.) Kumm. экстенсивным способом на пнях и отрубках в лесничествах Львовской обл. // Раст. ресурсы. – 1982. – 18, № 3. – С.407–411.

Бисько Н.А., Володина Е.П., Билай В.Т. Влияние культивирования съедобного гриба Pleurotus ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm. на химический состав субстрата // II Респ. науч. семинар "Превращение древесины при микробиологическом и энзиматическом воздействиях" (Рига, нояб. 1985 г.) : Тез. докл. – Рига: Зинатне, 1985. – С.187–191.

Бисько Н.А., Володина Е.П., Василевская А.А. Изучение видового состава бактерий рода Bacillus из субстратов при интенсивном культивировании вешенки обыкновенной Pleurotus ostreatus (Jacq. : Fr.) Kumm. // Микробиол. журн. – 1986. – № 6. – С.21–24.

Бисько Н.А., Косман Е.Г. Изучение роста культивируемых штаммов вешенки обыкновенной на различных источниках углерода и азота // II Всесоюз. совещ. "Производство высших съедобных грибов в СССР" (Чернигов, май 1985 г.) : Тез. докл. – Киев : Наук. думка, 1985. – С.90–92.

Бисько Н.А., Косман Е.Г. Рост штаммов вешенки обыкновенной Pleurotus ostreatus (Jacq. : Fr.) Kumm. на средах с различными источниками углерода и азота // Микология и фитопатология. – 1987. – № 3.

Бисько Н.А., Косман Е.Г. Изучение наследования показателей роста мицелия вешенки обыкновенной P.ostreatus (Jacq. : Fr.) Kumm. // Докл. АН УССР. – 1986. – № 3. – С.74–77.

Бисько Н.А., Панькова И.М., Кочетова Г.И., Мануковский Н.С. Динамика разложения лигнина пшеничной соломы P.ostreatus (Jacq. : Fr.) Kumm. и Pleurotus cornucopiae (Paul. : Pers.) Roll. // Микология и фитопатология. – 1987. – № 4.

Бисько Н.А., Посудин Ю.И. Исследование фотоморфогенеза и фототропизма вешенки обыкновенной // II Всесоюз. совещ. "Производство высших съедобных грибов в СССР" (Чернигов, май 1985 г.) : Тез. докл. – Киев : Наук. думка, 1985. – С.89–90.

Бисько Н.А., Фомина В.И., Билай В.Т. Разрушение древесины грибом Pleurotus ostreatus (Fr.) Kumm. // Микология и фитопатология. – 1983. – 17, № 3. – С.199–202.

Бисько Н.А., Фомина В.И., Билай В.Т., Володина Е.П. Особенности изменения химического состава субстрата при культивировании Pleurotus ostreatus (Jacq. : Fr.) Kumm. // Там же. 1986. – 20, № 5. – С.392–395.

Бисько Н.А., Шевченко С.В. Сукцессии грибов при экстенсивном выращивании Pleurotus ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm. на пнях // Там же. – 1987. – № 3.

Westermark U., Eriksson K.-E. Cellobiose: Quinone oxidoreductase, a new wood-degrading enzyme from white-rot fungi // Acta chem. scand. – 1974. – 28, N 2. – P.209–214.

Yoshioka S., Kitaguchi M. Studies on efficient us of fruned branches by cultivating mushroom. 1. Cultivation of Pleurotus ostreatus using pruned branches of Japanese pear // Тибе кэн поче сикэнгое кэнкю хококу. – 1984. – № 25. – P. 79–93.

Zadrazil F. Pleurotus-Sporen-Allergie // Champignon. – 1973. – 13, N 140. – S.9–10.

Zadražil F. Stimulierende Wirkung von Kohlendioxid auf das Myzelwachstum von Pleurotus – Spezie und deren Nutzung im Pleurotusenbau // Ibid. – 1974a. – 14, N 147. – S.22–28.

Zadražil F. The ecology and industrial production of Pleurotus ostreatus, Pleurotus florida, Pleurotus curnucopiae and Pleurotus eryngii // Mushroom Sciense, IX : Proc. Ninth Intern. Sci. Congr. Cultivat. Edible Fungi. – Tokyo, 1974b. – P.621–652.

Zadražil F. Influence of CO_2 concentration of the mycelium growth of three Peurotus species // Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1975a. – 1. – P.327–335.

Zadražil F. Die Zersotzung des Stroh-Zellulose-Lighninkomplexes mit Preurotus florida und dessen Nutzung // Z. Pflanzemernahr. – 1957b. – 138, N 3. – S.263–278.

Zadražil F. Ein Beitrag zur Strohzersetzung durch hohere Pilze (Basidiomycetes) und Nutzung für Ernahrungs und Dungungswecke // Landwirt. Forsch. – 1976. – 29, N 32/2. – S.153–167.

Zadražil F. The conversion of straw into feed by Basidiomycetes // Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1977. – 4. – P.273–281.

Zadražil F. Cultivation of Pleurotus // The biology and cultivation of edible mushroom.– New York Etc. : Acad. press, 1978a. – P.521–557.

Zadražil F. Umwandlung von pflanzenabfall in tierfutter durch hohere pilze // Mushroom Sciense, X : Proc. Tenth Intern. Sci. Congr. Cultivat. Edible Fungi. – Paris. – 1978b. – S.231–241.

Zadražil F. Grundlagen für das Wachstum von hoheren Pilzen in Schuttsubstraten // Ibid. – 1978c. – 10. – S.529–538.

Zadražil F. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of Pleurotus sajor-caju (Fr.) Sing. // Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1980a. – 9. – P.31–35.

Zadražil F. Conversion of different plant waste into feed by Basidiomycetes // Ibid. – 1980b. – 9. – P.243–248.

Zadražil F. Factors determining lignin decomposition and in vitro digestibility of lignocellulose during solid state fermentation // Adv. Biotechnol. – 1981. – 56. – P.369–374.

Zadražil F., Brunnert H. The influence of ammonium nitrate pupplementation on degradation and in vitro digestibility of straw colonized by higher fungi // Eur. J. Appl. Microbiol. – 1980. – 9. – P.37–44.

Zadražil F., Brunnert H. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi // Ibid. – 1981. – 11. – P.183–188.

Zadražil F., Schliemann J. Einfluss der Temperatur auf Habitus und Farbung des Basidiocarps von Pleurotus Florida (Austern-Seitling)// Naturwissenschaften. – 1975. – 62, N 2. – S.139–146.

Zadražil F., Schneidereit M. Die Grundlagen für dei Inkulturnahme einer bisher nicht kultivierten Pleurotus-Art // Champignon. – 1972. – 12, N 135. – S.25–32.

Zafar S.I., Kausar T., Shan F.H. Biodegradation of the cellulose component of rice straw by Pleurotus sajor-caju // Folia microbiol. – 1981. – 26, N 3. – P.394–397.

Zatka P. Vyuzitie vyplodeného substrátu pri vykrnie hovadzieho dobytka // Zbornik I Celoštatny zjazd pestovatelov hlivy. – Bratislava : Rača, 1985. – P.4046.