ХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. 2019. №2. С. 225–230.
DOI: 10.14258/jcprm.2019024258

Биотехнологии

УДК 604.4:582.28

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СУБСТРАТА НА ОСНОВЕ ТОРФА И СОЛОМЫ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ГРИБОВ *PLEUROTUS OSTREATUS*

© ***В.В. Леонов[1], С.П. Пронтишева[2], И.А. Булатов[1], Л.В. Леонова[1], М.В. Ефанов[2*], И.В. Ананьина[2]***

[1]Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, ул. Мира, 40, Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, Тюменская обл., 628012 (Россия), e-mail: leonovvadim@yandex.ru
[2]Югорский государственный университет, ул. Чехова, 16, Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, Тюменская обл., 628012 (Россия), e-mail: efanov_1973@mail.ru

Цель исследования – оптимизация состава лигноцеллюлозного субстрата на основе торфа и соломы для выращивания грибов *Pleurotus ostreatus*. Для достижения данной цели были поставлены следующие основные задачи: анализ исходного растительного сырья верхового торфа и соломы; изучение влияние водного экстракта торфа на рост грибов *Pleurotus ostreatus*; изучение влияния компонентного состава субстрата на культивирование вешенки.

Исследовали влияние следующих соотношений – среда : водный экстракт торфа – 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4 и 1 : 10. Рост грибов *Pleurotus ostreatus* контролировали по уменьшению концентрации глюкозы и увеличению концентрации общего белка в среде культивирования. Кинетические характеристики роста грибов *Pleurotus ostreatus* определены из изменения массовых долей лигнина, целлюлозы, легко- и трудногидролизуемых полисахаридов в субстратах в зависимости от продолжительности культивирования вешенки.

Показано, что лигноуглеводный комплекс соломы более доступен для биодеградации, чем лигноуглеводный комплекс торфа. Установлено, что добавление торфа в субстрат совместно с соломой создает оптимальные условия для роста грибов *Pleurotus ostreatus*. Для оптимизации производства *Pleurotus ostreatus* целесообразно рекомендовать комбинированный субстрат со следующими соотношениями торфа к соломе – 30 : 70% или 40 : 60% соответственно.

Ключевые слова: лигноцеллюлозный субстрат на основе торфа и соломы, экстракты торфа, грибы *Pleurotus ostreatus*.

Введение

Промышленное выращивание грибов за последние десятилетия превратилось в мощную индустрию, соединяющую традиционное сельское хозяйство и современную биотехнологию. В мире ежегодно выращивается более 5 млн тонн грибов [1]. Широкое распространение получила культура вешенки обыкновенной.

Леонов Вадим Вячеславович – доцент кафедры биологии с курсом микробиологии, кандидат технических наук, e-mail: leonovvadim@yandex.ru
Пронтишева Светлана Павловна – студентка института природопользования, e-mail: leonovvadim@yandex.ru
Булатов Иван Александрович – лаборант кафедры биологии с курсом микробиологии, e-mail: iabulatov@yandex.ru
Леонова Любовь Вячеславовна – аспирант кафедры биологической химии, e-mail: leonovalv@yandex.ru
Ефанов Максим Викторович – доцент кафедры химии, кандидат химических наук, e-mail: efanov_1973@mail.ru
Ананьина Ирина Викторовна – доцент кафедры химии, кандидат химических наук, e-mail: i_ananina@ugrasu.ru

Вешенка обыкновенная, вешенка устричная, устричный гриб (лат. *Pleurotus ostreatus*) – съедобный гриб рода вешенок семейства вешенковых. Диаметр шляпки достигает 20 см. Ее окраска варьируется от серой до серовато-коричневой. Вешенка является представителем сапрофитов – грибов, разрушающих древесину [2]. Грибы вешенки обладают отличными вкусовыми качествами, имеют лечебно-профилактическое значение, богаты биологически активными веществами и относятся к низкокалорийным продуктам. Род *Pleurotus* не прихотлив к выбору субстрата и произрастает на отходах древесины, со-

* Автор, с которым следует вести переписку.

ломе, зерне, отрубях и многих других сельскохозяйственных отходах, что делает вешенку доступной и недорогой круглый год. По общему количеству биотехнологически производимой грибной продукции вешенка занимает третье место после трюфелей и шампиньонов [1–4].

Россия обладает большими запасами возобновляемых растительных ресурсов, пригодных в качестве сырья для культивирования вешенки. Традиционные методы выращивания базидиальных грибов требуют создания стерильных условий, что предполагает обработку лигноцеллюлозного субстрата в автоклавах, различные режимы которых способны разрушать необходимые питательные вещества, что значительно повышает стоимость производства. Анализ существующих технологий, используемых грибными фермами [5–16], показал, что забраковке в результате загнивания субстрата подвергается примерно 20–25% субстрата, что приводит к потере 2 кг плодовых тел с каждых 10 кг произведенных грибов. Таким образом, развитие гнилостной микробиоты в субстрате, губительной для урожая грибов, следует считать одной из основных проблем культивирования базидиальных грибов.

Мы считаем возможным решение этой проблемы при использовании, в качестве одного из компонентов субстрата, торфа, обладающего лигноуглеводным комплексом, более устойчивым к гниению. На территории России содержится до трети всех запасов торфа (около 150 млрд тонн). Возобновление торфа в России оценивается в 260–280 млн тонн в год. Несмотря на вышесказанное, сегодня торф не используется в качестве компонента субстрата для выращивания грибов, так как его лигноуглеводный комплекс труднодоступен для биодеградации [17]. Мы считаем, что использование торфа совместно с соломой, содержащей целлюлозу, позволит максимально оптимизировать технологию для выращивания базидиальных грибов *Pleurotus ostreatus*.

Цель исследования – оптимизация состава лигноцеллюлозного субстрата на основе торфа и соломы для выращивания грибов *Pleurotus ostreatus*. Для достижения данной цели были поставлены следующие основные задачи: анализ исходного растительного сырья верхового торфа и соломы; изучение влияние водного экстракта торфа на рост грибов *Pleurotus ostreatus*; изучение влияния компонентного состава субстрата на культивирование грибов вешенки.

Экспериментальная часть

Эксперименты проводили в условиях лаборатории в зимне-весенний период. В качестве сырья для субстрата использовали верховой торф из ХМАО-Югры и солому ячменную урожая 2016 г. из Челябинской области.

На первом этапе, для анализа процентного состава исходного растительного сырья, определяли следующие показатели: влажность, зольность, экстрактивные вещества, целлюлоза, легкогидролизуемые полисахариды, трудногидролизуемые полисахариды, лигнин [18].

На втором этапе грибы выращивали в LB-бульоне (бульон Лурия-Бертани) с глюкозой при различном содержании водного экстракта торфа в среде культивирования. Водный экстракт получали указанным методом [19]. Исследовали влияние следующих соотношений – среда : водный экстракт торфа – 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4 и 1 : 10. Рост контролировали по уменьшению концентрации глюкозы и увеличению концентрации общего белка в среде культивирования. Концентрацию глюкозы и белка определяли глюкозооксидазным (ЗАО ВекторБест «Новоглюк – М, К1000») и биуретовым (ЗАО ВекторБест «Протеин-Ново 1000») методами соответственно. Оптическую плотность определяли фотоэлектроколориметром при температуре 37 °С, длине волны 510 (490-540) нм, длине оптического пути 10 мм.

На третьем этапе культивировали вешенку следующим образом. Выращивали мицелий на стерильной пшенице, для чего пшеницу помещали в конические колбы, автоклавировали (112 °С, 1,5 атм, 15 мин) и проращивали в термостате при температуре 25 °С, в течение 7 суток. Солому измельчали до отрезков длиной 0,5–5 см. Торф и солому автоклавировали (112 °С, 1,5 атм, 15 мин). В пронумерованные стаканы помещали торф, солому и мицелий в заранее подобранных соотношениях, которые приведены в таблице 1. В каждый стакан помещали одинаковое количество мицелия. Опрыскивали массу водой и закрывали пищевой пленкой с небольшими отверстиями. Наблюдали за ростом грибов в течение 46 дней. Каждый день опрыскивали массу через отверстия водой. Через неделю пищевую пленку снимали. На 5-й, а затем на 10-й день брали пробу и по экспериментально полученным данным строили графики зависимости массовых долей лигнина, целлюлозы, легко- и трудногидролизуемых полисахаридов от времени культивирования вешенки, по которым определялись кинетические характеристики роста *P. ostreatus*. Для этого строили кинетическую кривую

$\ln(\omega)=f(t)$, где ω – массовая доля компонента, t – продолжительность культивирования *P. ostreatus*. По тангенсу угла наклона касательной, проведенной к начальному участку кинетической кривой, определяли скорость биодеградации *P. ostreatus* для каждого случая.

Обсуждение результатов

Анализ исходного растительного сырья приведен в таблице 2, соответствует справочным данным и подтверждает, что солома – это лигноуглеводное сырье, содержащее значительное количество полисахаридов, что оптимально для целлюлолитической активности грибов *P. Ostreatus* [19, 20]. Содержание целлюлозы в соломе на 10% больше, чем в торфе. Легко- и трудногидролизуемых полисахаридов также больше содержится в соломе, чем в торфе. Лигнина на 3% больше в торфе, чем в соломе. Следовательно, лигноуглеводный комплекс соломы должен быть более доступным для биодеградации, чем лигноуглеводный комплекс торфа.

Влияние водных экстрактов торфа на рост грибов *P. ostreatus* представлено на рисунке 1. Из приведенного на рисунке 1А графика видно, что начальный этап кривой роста соответствует периоду индукции. В первые сутки концентрация белка под влиянием экстракта максимально увеличивалась, и уже во вторые сутки достигла своего постоянного значения, и практически не изменялось в течение всего периода культивирования. Наибольший стимулирующий эффект на рост вешенки относительно контроля (без водного экстракта торфа), судя по концентрации белка в среде культивирования, оказывало соотношение среда : водный экстракт торфа 1 : 1. По мере увеличения соотношения до 1 : 10 происходило ингибирование роста *P. ostreatus.*

Из приведенного на рисунке 1Б графика видно, что начальный этап кривой роста соответствует периоду индукции. В первые сутки концентрация глюкозы под влиянием экстракта максимально уменьшалась, уже во вторые сутки достигла своего постоянного значения и практически не изменялась в течение всего периода культивирования. Наибольшую стимуляцию роста вешенки относительно контроля (без водного экстракта торфа), судя по концентрации белка в среде культивирования, оказывало соотношение среда : водный экстракт торфа 1 : 1. По мере увеличения соотношения до 1 : 10 происходило ингибирование роста *P. ostreatus*.

Можно сделать вывод, что водный экстракт торфа оказывает стимулирующее влияние на рост *P. ostreatus.* При этом наибольший стимулирующий эффект наблюдается при соотношении среда : водный экстракт торфа 1 : 1, а наименьший при соотношении среда : водный экстракт торфа 1 : 10.

Предположительно, стимулирующий эффект на рост грибов оказывают гуминовые кислоты торфа, на долю которых приходится до 70% органической части торфа [19]. Они являются аккумуляторами органического вещества почвы – аминокислот, углеводов, пигментов, биологически активных веществ. Многочисленными исследованиями установлено стимулирующее действие гуминовых веществ, особенно гуминовых кислот и их солей, на рост и развитие растений [19]. Однако для подтверждения этого предположения необходимо проведение дополнительного исследования на грибах.

Результаты заключительного этапа исследования – изучение зависимости скорости биодеградации в зависимости от компонентного состава субстрата – приведены на рисунке 2.

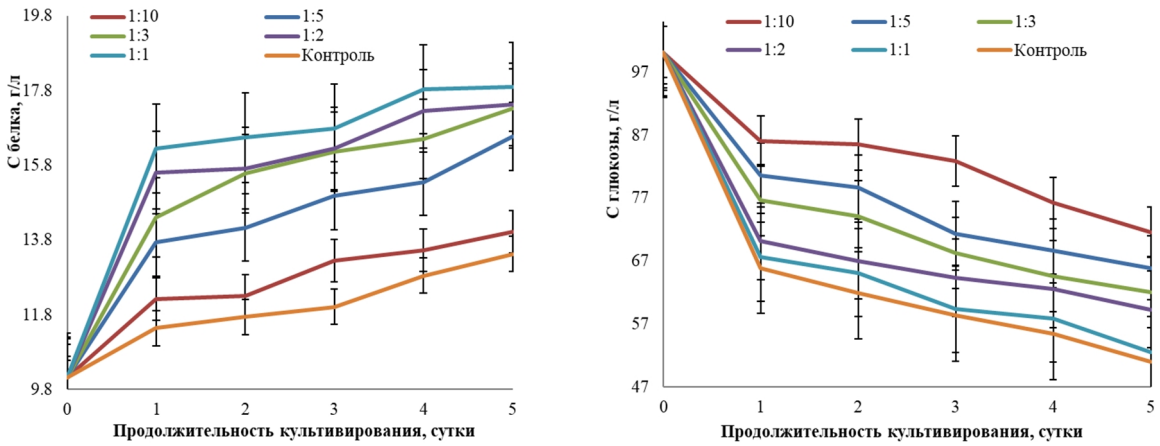
При сравнительном изучении целлюлолитической и лигнолитической активности *P. ostreatus* в отношении лигноуглеводного комплекса соломы и торфа показано, что полисахариды торфа имеют большую скорость биодеструкции, чем полисахариды соломы, тогда как лигнин соломы лучше повергается биодеструкции, чем лигнин торфа.

Таблица 1. Массовое соотношение торф : солома в составе субстрата

Содержание торфа, масс. %	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
Содержание соломы, масс. %	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

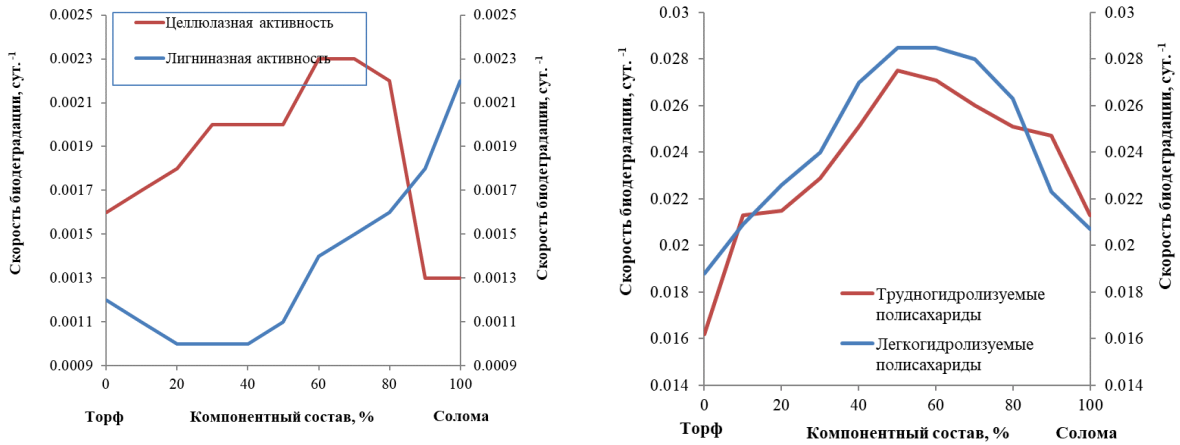
Таблица 2. Химический состав исходного растительного сырья для субстратов

Показатель, %	Солома	Торф
Влажность	13.0	14.4
Зольность	7.2	5.2
Экстрактивные вещества	–	4.3
Целлюлоза	34.5	24.0
Легкогидролизуемые полисахариды	20.0	13.4
Трудногидролизуемые полисахариды	33.9	21.0
Лигнин	19.0	22.0



А Б

Рис. 1. Изменение концентрации белка (А) и глюкозы (Б) в динамике культивирования P. ostreatus в зависимости от содержания водного экстракта торфа в питательной среде



А Б

Рис. 2. Зависимость скорости биодеградации субстрата в зависимости от его компонентного состава при выращивании *P. ostreatus*

Из приведенного на рисунке 2А графика следует, что целлюлазная активность *P. ostreatus* наибольшая при составе – торф (30–40)% : солома (60–70)%. Лигниназная активность максимальна при составе субстрата – торф 0% : солома 100%.

Полученные результаты подтверждаются анализом содержания легко- и трудногидролизуемых полисахаридов в субстрате в динамике культивирования. Из приведенного на рисунке 2А графика видно, что целлюлазная активность максимальна при составе – торф (50–40)% : солома (50–60)%. Также согласно этому рисунку видно, что легкогидролизуемые полисахариды менее устойчивы к действию ферментов грибов (рис. 2Б).

Таким образом, экспериментально показана возможность выращивания грибов *P. ostreatus* на комбинированном субстрате, состоящем из торфа и соломы. Из полученных данных подобраны оптимальные соотношения торфа и соломы для субстрата – 30–40% и 60–70% соответственно.

Выводы

1. Скорость биодеградации лигноуглеводного комплекса соломы под действием *P. ostreatus* выше, чем скорость биодеградации лигноуглеводного комплекса торфа.

2. Использование комбинированного субстрата на основе торфа и соломы состава – 30 : 70% или 40 : 60% соответственно, создает оптимальные условия для роста *P. ostreatus*.

Список литературы

1. Бисько Н.А., Дудко И.А. Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка. Киев, 1987. 148 с.
2. Костиков И.Ю. Водоросли и грибы. 2-е изд. Киев, 2006. 442 с.
3. Тишенков А.Д. Выращивание вешенки в агрокомбинате «Пуща-Водица» // Школа грибоводства. 2003. № 6. С. 7–11.
4. Глунцов Н.Н. Технология производства вешенки в фермерских условиях // Плодородие. 2001. № 1. С. 32–33.
5. Казокин Ю.И., Комов В.П. Особенности выращивания вешенки обыкновенной // Плодоовощное хозяйство. 1986. № 11. С. 33–35.
6. Петров А.П., Тюфкий В.М. Условия образования примордиев у Pleurotus ostreatus // Микология и фитопатология. 1991. Т. 25. Вып. 6. С. 58–61.
7. Соломко Э.Ф., Панченко Л.П., Симченкова Р.К. Содержание липидов и состав жирных кислот высшего съедобного гриба вешенки обыкновенной // Прикладная биохимия и микробиология. 1984. Т. 22, вып. 2. С. 273–278.
8. Шалашова Н.Б., Нахалова К.П. Вешенка – перспективная культура // Картофель и овощи. 1997. № 5. С. 30–31.
9. Ellor T. Some parameters of growth of Pleurotus species on primary paper mill sludge // Mushroom News. 1988. Vol. 36, N 8. Pp. 6–15.
10. Galzada J.F. Growth of mushroom on Wheat straw and coffer pulp: Strain Selection // Biological Wastes. 1987. Vol. 20, N 3. Pp. 217–225.
11. Патент № 2183056 (РФ). Способ стимуляции роста культуры вешенки обыкновенной / О.А. Евдокимова, С.В. Польских, В.Е. Аксеновская и др. 10.06.2002.
12. Патент № 2204236 (РФ). Субстрат для выращивания съедобного гриба вешенки обыкновенной / А.С. Мушинский, И.А. Быкова. 20.05.2003.
13. Патент № 2222179 (РФ). Субстрат для выращивания съедобного гриба вешенки обыкновенной / А.С. Мушинский, И.А. Быкова. 27.01.2004.
14. Патент № 2290387 (РФ). Способ получения биокомпоста / А.В. Брыкалов, С.В. Мернов, А.А. Голота, Е.С. Романенко, О.В. Мазицына, Н.Н. Павленко, О.А. Гладков, Т.Н. Ярыльченко. 27.12.2006.
15. Патент № 2332005 (РФ). Поточная линия для выращивания грибов вешенка, способ выращивания грибов вешенка и субстрат для их выращивания / С.А. Фролов. 27.08.2008.
16. Патент № 2409019 (РФ). Способ бациллярной термоанаэробной подготовки качественного соломистого субстрата для интенсивного нестерильного культивирования вешенки обыкновенной / Б.Г. Анненков, В.А. Азарова. 20.01.2011.
17. Хренов А.В., Тишенков А.Д. Эта удивительная вешенка // Школа грибоводства. 2009. № 5. С. 38–43.
18. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.
19. Беляков А.С. Торф и бизнес. М., 2006. 53 с.
20. Sarikaya A., Ladisch M.R. Solid-state fermentation of lignocellulosic plant residues from Brassica napy by Pleurotus ostreatus // Journal of Applied Biochemistry and Biotechnology. 1999. N 82(1). Pp. 1–15.

Поступила в редакцию 10 июля 2018 г.

После переработки 23 ноября 2018 г.

Принята к публикации 12 января 2019 г.

Для цитирования: Леонов В.В., Пронтишева С.П., Булатов И.А., Леонова Л.В., Ефанов М.В., Ананьина И.В. Оптимизация состава лигноцеллюлозного субстрата на основе торфа и соломы для выращивания грибов *Pleurotus Ostreatus* // Химия растительного сырья. 2019. №2. С. 225–230. DOI: 10.14258/jcprm.2019024258.

Leonov V.V.[1], Prontisheva S.P.[2], Bulatov I.A.[1], Leonova L.V.[1], Efanov M.V.[2], Ananina I.V.[2]* OPTIMIZATION OF THE COMPOSITION OF LIGNOCELLULOSIC SUBSTRATE BASED ON PEAT AND STRAW FOR THE CULTIVATION OF MUSHROOMS *PLEUROTUS OSTREATUS*

[1]Khanty-Mansi state medical academy, ul. Mira, 40, Khanty-Mansiysk, Khanty-Mansy Autonomous Okrug – Yugra, Tyumen region, 628012 (Russia), e-mail: leonovvadim@yandex.ru

[2]Yugra state University, ul. Chekhova, 16, Khanty-Mansiysk, Khanty-Mansy Autonomous Okrug – Yugra, Tyumen region, 628012 (Russia), e-mail: efanov_1973@mail.ru

The aim of the study was to optimize the composition of lignocellulosic substrate based on peat and straw for growing fungi *Pleurotus ostreatus*. To achieve this goal, the following main tasks were set: analysis of the initial plant raw materials of peat and straw; study of the effect of an aqueous extract of peat on the growth of fungi *Pleurotus ostreatus*; study of the effect of the component composition of the substrate on the cultivation of oyster mushrooms.

Investigated the influence of the following relations medium : an aqueous extract of peat– 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4 and 1 : 10. The growth of fungi *Pleurotus ostreatus* was controlled by reducing the concentration of glucose and increasing the concentration of total protein in the culture medium. The kinetic characteristics of the growth of fungi *Pleurotus ostreatus* are determined from changes in the mass fractions of lignin, cellulose, easily and hardly hydrolyzed polysaccharides in substrates depending on the duration of cultivation of oyster mushrooms.

It is shown that the lignocarbon straw complex is more available for biodegradation than the lignocarbon peat complex. It was found that the addition of peat to the substrate together with straw creates optimal conditions for the growth of fungi *Pleurotus ostreatus*. To optimize the production of *Pleurotus ostreatus*, it is advisable to recommend a combined substrate with the following ratios of peat to breakage – 30 : 70% or 40 : 60%, respectively.

Keywords: lignocellulosic substrate based on peat and straw extracts and peat, mushrooms *Pleurotus ostreatus*.

References

1. Bis'ko N.A., Dudko I.A. *Biologiya i kul'tivirovanie s"edobnyx gribov roda veshenka*. [Biology and cultivation of edible mushrooms of the oyster mushroom genus], Kiev, 1987, 148 p. (in Russ.).
2. Kostikov I.Yu. *Vodorosli i griby*. [Algae and mushrooms], Kiev, 2006, 442 p. (in Russ.).
3. Tishenkov A.D. *Shkola gribovodstva*, 2003, no. 6, pp. 7–11. (in Russ.).
4. Gluncov N.N. *Plodorodie*, 2001, no. 1, pp. 32–33. (in Russ.).
5. Kazokin Yu.I., Komov V.P. *Plodoovoshhnoe xozyajstvo*, 1986, no. 11, pp. 33–35. (in Russ.).
6. Petrov A.P., Tyufkij V.M. *Mikologiya i fitopatologiya*, 1991, vol. 25, issue 6, pp. 58–61. (in Russ.).
7. Solomko E'.F., Panchenko L.P., Simchenkova R.K. *Prikladnaya bioximiya i mikrobiologiya*, 1984, vol. 22, issue 2, pp. 273–278. (in Russ.).
8. Shalashova N.B., Naxalova K.P. *Kartofel' i ovoshhi*, 1997, no. 5, pp. 30–31. (in Russ.).
9. Ellor T. *Mushroom News*, 1988, vol. 36, no. 8, pp. 6–15.
10. Galzada J.F. *Biological Wastes*, 1987, vol. 20, no. 3, pp. 217–225.
11. Patent 2183056 (RU). 10.06.2002 (in Russ.).
12. Patent 2204236 (RU). 20.05.2003 (in Russ.).
13. Patent 2222179 (RU). 27.01.2004 (in Russ.).
14. Patent 2290387 (RU). 27.12.2006 (in Russ.).
15. Patent 2332005 (RU). 27.08.2008 (in Russ.).
16. Patent 2409019 (RU). 20.01.2011 (in Russ.).
17. Khrenov A.V., Tishenkov A.D. *Shkola gribovodstva*, 2009, no. 5, pp. 38–43. (in Russ.).
18. Obolenskaya A.V., El'nickaya Z.P., Leonovich A.A. *Laboratornye raboty po ximii drevesiny i cellyulozy*. [Laboratory work on the chemistry of wood and cellulose], Moscow, 1991, 320 p. (in Russ.).
19. Belyakov A.S. *Torf i biznes*. [Peat and business], Moscow, 2006, 53 p. (in Russ.).
20. Sarikaya A., Ladisch M.R. *Journal of Applied Biochemistry and Biotechnology,* 1999, no. 82(1), pp. 1–15.

Received July 10, 2018

Revised November 23, 2018

Accepted January 12, 2019

For citing: Leonov V.V., Prontisheva S.P., Bulatov I.A., Leonova L.V., Efanov M.V., Ananina I.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya,* 2019, no. 2, pp. 225–230. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019024258.

* Corresponding author.