

SPECII DE CIUPERCI COMESTIBILE ȘI MEDICINALE CULTIVATE PE SUBSTRATURI CONSTITUITE DIN DEȘURI LIGNOCELULOZICE

EDIBLE AND MEDICINAL MUSHROOM SPECIES GROWN ON SUBSTRATA MADE OF LIGNOCELLULOSIC WASTES

M. PETRE, Violeta PETRE

National Research & Development Institute of Biotechnology in Horticulture - Stefanesti
- Arges, 37 Sos. Bucuresti - Pitesti, Arges County, 117715, Romania

Abstract: *The main target of this work was to find out the best way of recycling the lignocellulosic wastes by using such plant constituents as a growing source for edible and medicinal mushrooms. According to this purpose, three fungal species from Basidiomycetes Group, namely Ganoderma lucidum (Reishi), Pleurotus ostreatus (Oyster Mushroom) and Stropharia rugoso-annulata (Wheat Straw Mushroom) have been used to determine the effect of lignocellulosic wastes used as culture composts on the production of mycelia and fruit bodies that could be processed and marketed as useful products such as, food and drugs. The experiments of this research work were achieved by growing all these fungal species in special culture rooms, where all the culture parameters were kept at optimal levels in order to get the highest production of fruit bodies.*

Anual, în procesul industrializării legumelor, fructelor și strugurilor rezultă imense cantități de materiale vegetale a căror utilitate biotehologică nu a fost testată decât într-o măsură foarte mică (Wainwright, 1992; Ropars și colab., 1992). Valorificarea, ca atare, a acestor deșeuri celulozice, sub forma unor substraturi de cultivare a diferite specii de ciuperci comestibile sau medicinale reprezintă o modalitate eficientă de reciclare a unor asemenea constituenți vegetali, care implică utilizarea unor metode neconvenționale, destinate conversiei acestora în produse de calitate și cu o valoare economică ridicată (Beguin și Aubert, 1994; Nevalainen și Pentilla, 1995; Carlile și Watkinson, 1996).

Această lucrare are drept principal obiectiv prezentarea principalelor rezultate ale experimentelor efectuate în vederea stabilirii biotehologiilor optime de cultivare a unor specii de ciuperci comestibile și medicinale, în vederea reciclării acestor constituenți vegetali reziduali și a obținerii unor produse utilizabile în alimentație, precum și în scop terapeutic (Petre și Petre 2003).

MATERIAL ȘI METODĂ

Capacitatea de a degrada celuloza este specifică multor microorganisme, totuși, din acest punct de vedere, fungii constituie cel mai important grup sistematic, prin numărul mare de genuri și specii, capabile să producă celulaze (Beguin și colab., 1992). Cei mai evoluți fungi sunt bazidiomicetele, cu miceliu bine dezvoltat și înmulțire sexuată, prin basidiospori (Allsopp, 1995; Hawksworth și colab., 1995).

Pentru efectuarea protocolului de lucru s-au întrebuițat:

- culturi pure din speciile de Basidiomycete: *Pleurotus ostreatus*, sușele P.o. 14 și P.o. 23, *Lentinus edodes*, sușele L.e. 07 și L.e. 15, și respectiv, *Stropharia rugoso-annulata*, sușele S.r.a. 14 și S.r.a. 230, din colecția INCDDBH - Ștefănești - Argeș;
- vase de cultivare cilindrice de 50 și 500 ml;
- baloane Erlenmeyer de 500 și 750 ml;
- medii de cultivare pe suport agarizat, cu malț extract și peptonă;
- cameră de cultivare cu termostat și aport intermitent de aer steril;
- incubator cu temperatură programabilă;
- autoclavă pentru termosterilizarea umedă a mediilor de cultivare.

Mediul de cultivare pentru inoculum a fost mediul cu agar-agar și extract de malț (Merck). Pentru cultivarea experimentală a celor trei specii de ciuperci s-au utilizat deșeuri celulozice rezultate la prelucrarea industrială a unor specii de legume și fructe (tomate, fasole, ardei, vinete, dovlecei, mere), fără completarea mediului de cultivare cu surse suplimentare de azot și săruri minerale. Aceste experiențe au fost efectuate utilizând sistemul de cultivare a speciilor de ciuperci din Clasa Basidiomycetes, în fază staționară, de suprafață (Petre, 2002).

Pentru cultivarea experimentală a celor trei specii de ciuperci s-au utilizat deșeuri celulozice rezultate din procesele de prelucrare agro-industrială a legumelor, a fructelor și a strugurilor. Acestea au fost pretratate mecanic, în două etape, de mărunțire și apoi, de măcinare, aplicându-se tratamentul termic de sterilizare cu aburi sub presiune, la 1,1 atm. și temperatura de 121°C, timp de 50 - 60 min (Petre, 2002).

Cultivarea propriu-zisă a acestor specii de ciuperci a fost realizată într-o cameră de creștere, la temperatura de 23 - 25°C, pH 5,5 - 5,7 și umiditatea relativă de 80 - 85%, cu un aport intermitent de aer steril (Chahal și Moo-Young, 1981).

Astfel, în prima etapă, după un interval de timp, cuprins între 15 - 17 zile, în condiții de cultivare în sistem de suprafață, s-a obținut o biomasă compactă, de culoare albă, specifică acestor specii de macromicete cultivate, iar în etapa următoare, timp de 15 - 20 de zile, s-a desfășurat procesul de formare a corpurilor fructifere (Petre și Petre, 2003).

Creșterea gradului de fragmentare a deșeurilor este direct proporțională cu extinderea suprafeței de contact a miceliului ciupercii cu substratul de cultivare. Acest fapt influențează pozitiv randamentul conversiei în proteină, iar rezultatele obținute prin analiza cantitativă a azotului total demonstrează efectul benefic al acestui tip de pretratament aplicat substraturilor de cultivare (Petre, 2002).

Acest protocol de lucru a fost aplicat în trei serii ale ciclurilor de cultivare, pentru fiecare specie de fungi, rezultatele fiind reprezentate de media datelor înregistrate în aceste repetiții.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Prin determinarea cantitativă a de celulozei reziduale, prin metoda cântăririlor directe ale substanței uscate a mediului de cultivare s-a evidențiat capacitatea acestor trei specii fungice de a degrada aceste tipuri de constituenți vegetali, existând o corelație directă între conținutul celulozic al acestor substraturi și cantitatea finală de biomasă proteică. Cele mai bune rezultate s-au obținut în cazul utilizării unor constituenți vegetali rezultați din procesarea merelor și strugurilor, fapt evidențiat prin datele prezentate în tabelele 1, 2 și 3.

Tabelul 1

Corelația dintre concentrația substraturilor în celuloză și cantitatea finală de azot total, obținută prin cultivarea speciei *Stropharia rugoso-annulata*

| Substrat de cultivare | Cantitate de celuloză/substrat (g% s.u.) | | Cantitatea de azot total a biomasei obținute (g% s.u.) | |
|------------------------|--|-----------|--|---------------|
| | Inițială | Finală | Inițială | Finală |
| Tomate | 1,9 - 2,1 | 0,7 - 0,9 | 0,2 - 0,3 | 5,10 - 5,30 |
| Fasole | 2,5 - 2,8 | 1,9 - 1,0 | 0,5 - 0,7 | 11,50 - 11,90 |
| Ardei | 2,1 - 2,3 | 1,6 - 1,8 | 0,3 - 0,4 | 7,80 - 7,90 |
| Dovlecei | 1,4 - 1,5 | 0,9 - 1,0 | 0,1 - 0,3 | 9,50 - 9,70 |
| Vinete | 2,8 - 3,0 | 1,7 - 1,9 | 0,3 - 0,4 | 9,90 - 10,10 |
| Mere | 3,5 - 3,7 | 1,9 - 2,1 | 0,4 - 0,5 | 14,50 - 14,70 |
| Tescovină | 3,9 - 4,1 | 1,7 - 1,9 | 0,3 - 0,4 | 15,10 - 15,30 |
| Martor (celuloză pură) | 1,0 | 0,5 - 0,7 | ---- | 4,10 - 4,30 |

Tabelul 2.

Corelația dintre concentrația substraturilor în celuloză și cantitatea finală de azot total, obținută prin cultivarea speciei *Pleurotus ostreatus*

| Substrat de cultivare | Cantitate de celuloză/substrat (g% s.u.) | | Cantitatea de azot total a biomasei obținute (g% s.u.) | |
|------------------------|--|-----------|--|---------------|
| | Inițială | Finală | Inițială | Finală |
| Tomate | 1,9 - 2,1 | 0,7 - 0,9 | 0,2 - 0,3 | 4,90 - 5,20 |
| Fasole | 2,5 - 2,8 | 1,6 - 1,7 | 0,5 - 0,7 | 11,40 - 11,60 |
| Ardei | 2,1 - 2,3 | 1,4 - 1,6 | 0,3 - 0,4 | 7,50 - 7,60 |
| Dovlecei | 1,4 - 1,5 | 0,7 - 0,8 | 0,1 - 0,3 | 9,30 - 9,50 |
| Vinete | 2,8 - 3,0 | 1,5 - 1,7 | 0,3 - 0,4 | 9,50 - 9,90 |
| Mere | 3,5 - 3,7 | 1,7 - 1,9 | 0,4 - 0,5 | 14,30 - 14,50 |
| Tescovină | 3,9 - 4,1 | 1,6 - 1,8 | 0,3 - 0,4 | 14,90 - 15,10 |
| Martor (celuloză pură) | 1,0 | 0,4 - 0,6 | ---- | 3,70 - 4,10 |

Tabelul 3.

Corelația dintre concentrația substraturilor în celuloză și cantitatea finală de azot total, obținută prin cultivarea speciei *Lentinus edodes*

| Substrat de cultivare | Cantitate de celuloză/substrat (g% s.u.) | | Cantitatea de azot total a biomasei obținute (g% s.u.) | |
|------------------------|--|-----------|--|---------------|
| | Inițială | Finală | Inițială | Finală |
| Tomate | 1,9 - 2,1 | 0,5 - 0,6 | 0,2 - 0,3 | 5,30 - 5,40 |
| Fasole | 2,5 - 2,8 | 1,2 - 1,4 | 0,5 - 0,7 | 11,80 - 11,90 |
| Ardei | 2,1 - 2,3 | 1,1 - 1,3 | 0,3 - 0,4 | 7,90 - 8,10 |
| Dovlecei | 1,4 - 1,5 | 0,5 - 0,7 | 0,1 - 0,3 | 9,50 - 9,70 |
| Vinete | 2,8 - 3,0 | 1,4 - 1,6 | 0,3 - 0,4 | 10,10 - 10,30 |
| Mere | 3,5 - 3,7 | 1,5 - 1,7 | 0,4 - 0,5 | 14,70 - 14,90 |
| Tescovină | 3,9 - 4,1 | 1,4 - 1,5 | 0,3 - 0,4 | 15,50 - 15,70 |
| Martor (celuloză pură) | 1,0 | 0,3 - 0,5 | ---- | 4,50 - 4,70 |

Pentru fiecare dintre ciclurile de cultivare ale celor trei specii de ciuperci, s-au utilizat substraturi de cultivare de același tip și s-au efectuat analize chimice ale compoziției mediului de cultivare, privind determinarea conținutului de celuloză, fapt ce a permis evaluarea ratei de degradare a celulozei în cursul desfășurării acestor cicluri de cultivare (Petre, 2002). Rezultatele acestor determinări sunt prezentate în figurile 1, 2 și 3.

Fig. 1. Rata de degradare a celulozei, în culturi de *Stropharia rugoso-annulata*

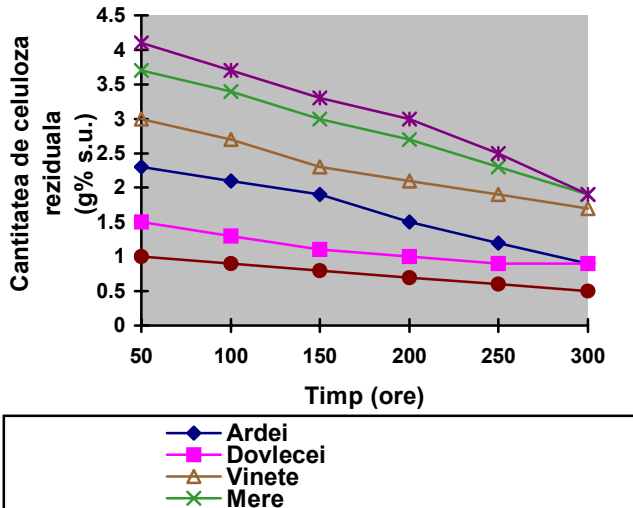


Fig. 2. Rata de degradare a celulozei, în culturi de *Pleurotus ostreatus*

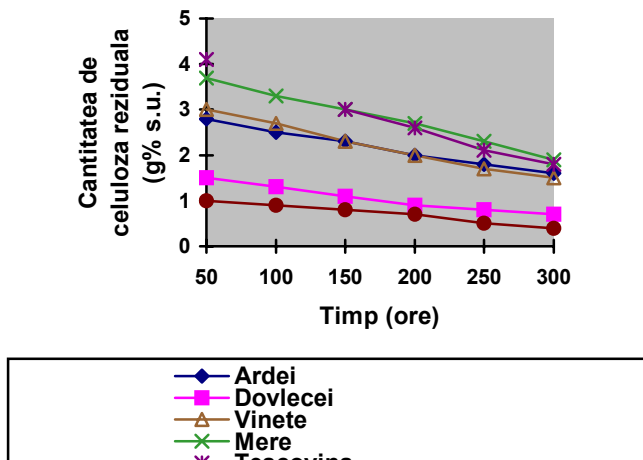
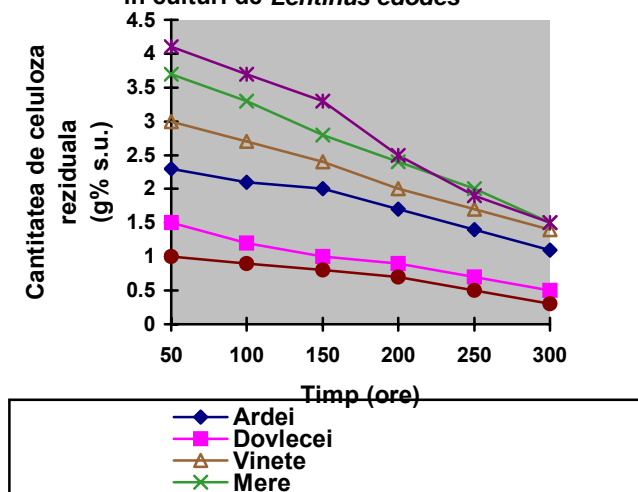


Fig. 3. Rata de degradare a celulozei, în culturi de *Lentinus edodes*



Temperatura, în cursul perioadei de creștere a miceliului, a fost menținută la o valoare constantă de 25°C, iar indicele pH a fost de 5,1 - 5,6. Mărirea cantităților de inoculum a fost aceeași pentru fiecare variantă experimentală, un rol deosebit de important în obținerea biomasei proteice avându-l concentrația substratului celulozic utilizat ca sursă de carbon.

Spre deosebire de cercetările efectuate de Forage și Righelato (1978), Fermor și Wood (1979), precum și Chahal și Moo-Young (1981), în cursul cărora s-au testat unele specii de fungi filamentoși, prin cultivarea acestora pe substraturi celulozice, în sistem *batch*, rezultatele înregistrate în experimentele prezentate anterior au demonstrat un grad sporit de convertibilitate a celulozei, reprezentat printr-o biomasă fungică având conținutul de proteine mai ridicat cu 14,5 - 15 g % s.u., decât cel al substratului inițial de cultivare.

Procedeele utilizate în experimentele prezentate s-a dovedit a fi mai eficiente decât cele consemnate în literatura de specialitate, produsele finale obținute, sub forma corpurilor fructifere sau a miceliului propriu-zis, fiind utilizabile ca proteine de uz alimentar sau farmaceutic (Petre și Petre, 2003)

CONCLUZII

1. Pentru cultivarea experimentală a speciilor de ciuperci *Pleurotus ostreatus*, sușele P.o. 14 și P.o. 23, *Lentinus edodes*, sușele L.e. 07 și L.e. 15, și respectiv, *Stropharia rugoso-annulata*, sușele S.r.a. 14 și S.r.a. 230, din colecția INCDBH - Ștefănești – Argeș s-au utilizat deșeurile celulozice rezultate din procesele de prelucrare agro-industrială a legumelor, a fructelor și a strugurilor.

2. Prin determinarea cantitativă a de celulozei reziduale, s-a evidențiat capacitatea acestor trei specii fungice de a degrada aceste tipuri de constituenți

vegetali, existând o corelație directă între conținutul celulozic al acestor substraturi și cantitatea finală de biomasă proteică, cele mai bune rezultate fiind obținute în cazul utilizării unor constituenți vegetali rezultați din procesarea merelor și strugurilor

3. Rezultatele înregistrate în experimentele efectuate au demonstrat un grad sporit de convertibilitate a celulozei, reprezentat printr-o biomasă fungică având un conținut de proteine mai ridicat cu 14,5 - 15 g % s.u., decât cel al substratului inițial de cultivare.

BIBLIOGRAFIE

1. **Allsopp, D. 1995.** *Basidiomycetes*. In: Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. (Eds), *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th Edn, CABI, Wallingford, pp. 165 - 180.
2. **Beguín, P. and Aubert, J.P. 1994.** *The biological degradation of cellulose*. *FEMS Microbiol. Rev.*, **13**:25 - 58.
3. **Carlile, M.J. and Watkinson, S.C. 1996.** *Fungi and Biotechnology*. In: Carlile, M.J and Watkinson, S.C. (Eds), *The Fungi*. Academic Press: London, pp. 373 - 409
4. **Chahal, D.S. and Moo-Young, M. 1981.** *Bioconversion of lignocellulosics into animal feed*. *Devel. Ind. Microbiol.*, **22**:143 - 159.
5. **Fermor, T.R. and Wood, D.A. 1979.** *The microbiology and enzymology of wheat straw mushroom compost production*. In: Grossbard, E. (ed.), *Straw Decay and its Effect on Utilization and Disposal*, Chichester. J.Wiley and Sons, Ltd, pp. 105 - 112.
6. **Forage, A.J. and Righelato, R.C. 1978.** *Microbial protein from carbohydrate wastes*. In: Bull, M.J. (ed.) *Progress in Industrial Microbiology*. Amsterdam: Elsevier, vol. 14, pp. 59 - 94.
7. **Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, and Pegler, D.N. 1995.** *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed., Wallingford, pp. 56 - 59, 211 - 214, 575 - 579
8. **Nevalainen, H. and Penttilä, M. 1995.** *Molecular biology of cellulolytic fungi*. In: Kuck, H. (ed.), *The Mycota. Genetics and Biotechnology*, vol. 2, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, pp. 303 - 319.
9. **Petre, M., Petre V., 2003.** *Medicinal Mushrooms Used as Natural Adaptogens and Stimulants of Immune System*. Proceedings of the 8th National Symposium "Medicinal Plants – Present and Perspectives", Piatra Neamț, p. 12-15 (ISBN: 973-8392-49-7)
10. **Petre, M., 2002.** *Biotehnologii pentru degradarea și conversia microbiană a constituenților vegetali*. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 203 pagini (ISBN: 973-30-2295-0)
11. **Ropars, M., Marchal, R., Pourquie, J. and Vandecasteele, J.P. 1992.** *Large scale enzymatic hydrolysis of agricultural lignocellulosic biomass*. *Biores. Technol.*, **42**:197 - 203.
12. **Verstraete, W. and Top, E. 1992.** *Holistic Environmental Biotechnology*, Cambridge Univ. Press, p. 1- 18.
13. **Vournakis, J.N. and Runstadler, P.W. 1989.** *Microenvironment: the key to improve cell culture products*. *Biotechnology*, **7**:143- 145.
14. **Wainwright, M. 1992.** *An Introduction to Fungal Biotechnology*. Wiley-Chichester, p. 55-60.