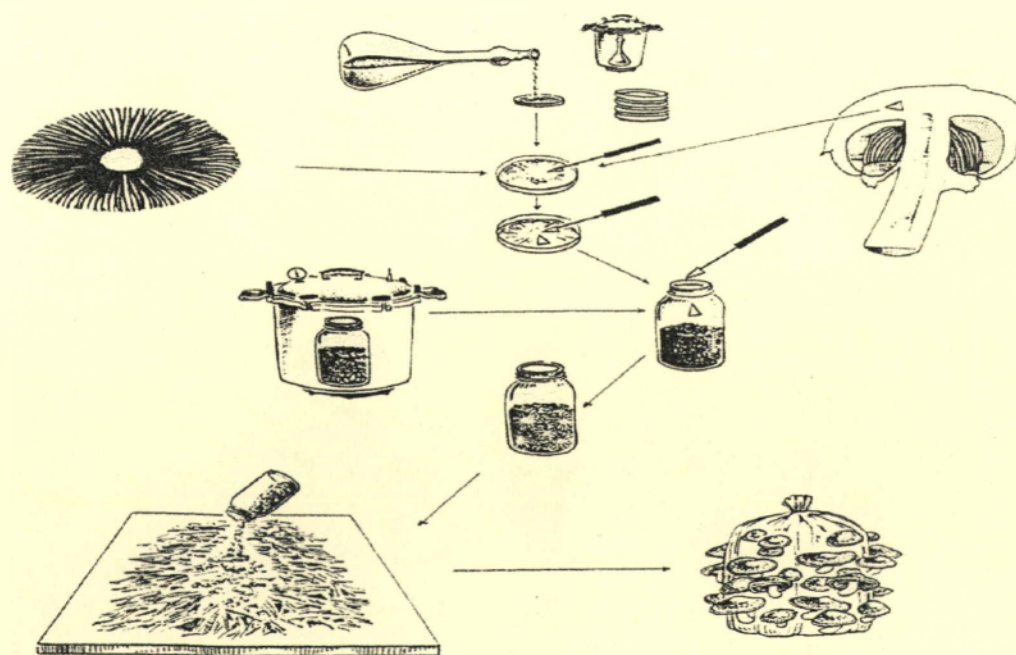


ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΕΜΒΟΛΙΟΥ (ΣΠΟΡΟΥ) ΚΑΙ ΤΗΣ
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ
ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ *LENTINULA EDODES* ΠΟΥ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΤΑΙ ΣΕ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ**



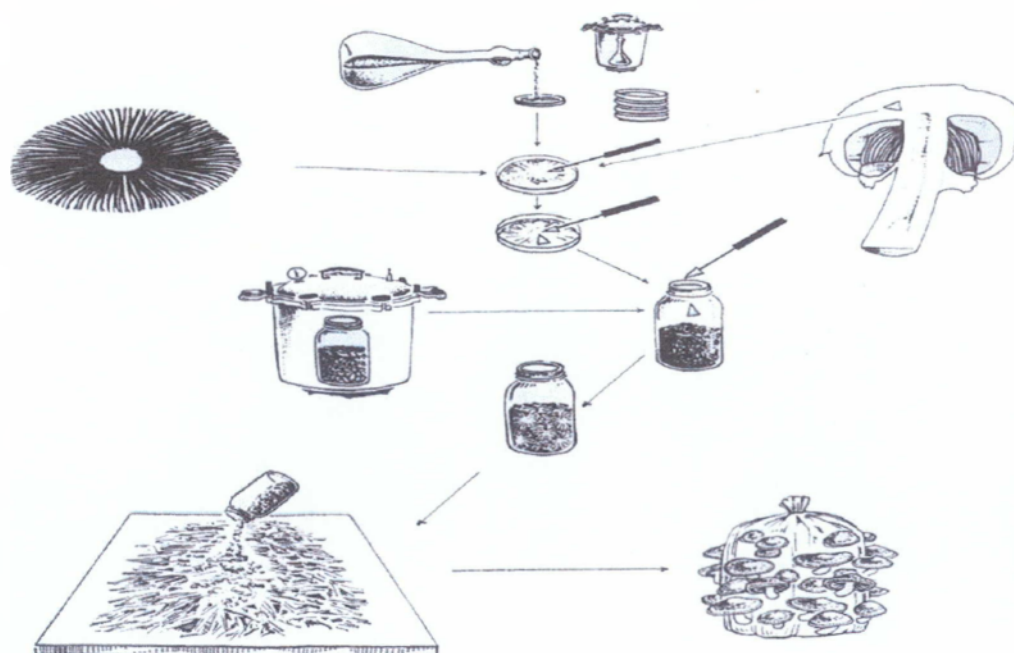
Καλαμάτα, Δεκέμβριος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΕΜΒΟΛΙΟΥ (ΣΠΟΡΟΥ) ΚΑΙ ΤΗΣ
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ
ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ *LENTINULA EDODES* ΠΟΥ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΤΑΙ ΣΕ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ



Καλαμάτα, Δεκέμβριος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΕΜΒΟΛΙΟΥ (ΣΠΟΡΟΥ) ΚΑΙ ΤΗΣ
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ *LENTINULA EDODES* ΣΕ
ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΣΕ ΣΑΚΟΥΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ

Επιβλέποντες Καθηγητές:
Ηλιόπουλος Αναστάσιος
Κάτσαρης Παναγιώτης

Καλαμάτα, Δεκέμβριος 2005

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ του ΕΘΙΑΓΕ/ ΙΓΕΜΚ (Δημοκρατίας 61, 135 61 Άγ. Ανάργυροι Τηλ. 210-2611012 - Fax 210-2619202, e-mail: iamec@ath.forthnet.gr) από 1/11/2004 μέχρι 29/4/2005 στα πλαίσια της πρακτικής μου άσκησης υπό την επίβλεψη των:

(α) Δρ. Αντώνη Φιλιπούση, Γεωπόνου-Μυκητολόγου, Εντ. Ερευνητή ΕΘΙΑΓΕ και Επιστημονικού Υπευθύνου του Εργαστηρίου Εδώδιμων Μυκήτων/ ΙΓΕΜΚ.

(β) κας Παναγιώτας Διαμαντοπούλου, Γεωπόνου Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων MSc, Ειδικού Επιστήμονα Εφαρμογών του Εργαστηρίου Εδώδιμων Μυκήτων/ ΙΓΕΜΚ.

Από άποψη δομής η εργασία χωρίζεται σε δύο μέρη. Στο πρώτο μέρος (θεωρητικό) περιγράφονται τα είδη εμβολίου, τα γεωργικά υπολείμματα και οι τεχνικές καλλιέργειας (παραδοσιακή και σύγχρονη) που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια του μανιταριού *Lentinula edodes*, καθώς και οι μετασυλλεκτικοί χειρισμοί του. Στο δεύτερο μέρος (πειραματικό) περιγράφονται οι πειραματικές εργασίες που αφορούν στη χρησιμοποίηση δύο ειδών εμβολίου (εμβόλιο στερεής και εμβόλιο υγρής καλλιέργειας) για την καλλιέργεια του μύκητα *L. edodes* S4080 σε λιγνοκυτταρινούχα γεωργικά υπολείμματα (άχυρο σίτου, σπάδικες καλαμποκιού και πριονίδι βελανιδιάς).

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον Δρ. Αντ. Φιλιπούση και στην κα Παναγιώτα Διαμαντοπούλου MSc, για την καθοδήγηση, την επίβλεψη, τις συμβουλές, τις πληροφορίες και την υπομονή τους κατά την εκπόνηση της πρακτικής μου άσκησης και την συγγραφή της πτυχιακής μου μελέτης.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου κ. Αναστ. Ηλιόπουλο και κ. Παν. Κάτσαρη για τις παρατηρήσεις-διωρθώσεις που έκαναν στο κείμενο της πτυχιακής μελέτης.

Γεωργακόπουλος Βασίλης

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Ο ΜΥΚΗΤΑΣ <i>LENTINULA EDODES</i>	1
1.1.1. ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΘΕΣΗ, ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ	1
1.1.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ <i>L. EDODES</i>	4
1.1.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ <i>L. EDODES</i>	5
1.1.3.1. Παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό της μυκηλιακής αύξησης των μυκήτων <i>L. edodes</i>	5
1.1.3.2. Παράγοντες που επιδρούν στην καρποφορία του <i>L. edodes</i>	8
1.1.4. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ <i>L. EDODES</i>	10
1.2. ΛΙΓΝΟΚΥΤΑΡΙΝΟΥΧΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΤΟΥ <i>L. EDODES</i> ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΑΧΥΡΟ ΣΙΤΗΡΩΝ, ΚΟΤΣΑΛΑ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΙΟΝΙΔΙ ΒΕΛΑΝΙΔΙΑΣ	13
1.2.1. ΑΧΥΡΟ ΣΙΤΗΡΩΝ: ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ, ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ	13
1.2.2. ΚΟΤΣΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΕΛΕΧΗ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ: ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ, ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ	14
1.2.3. ΠΡΙΟΝΙΔΙ ΒΕΛΑΝΙΔΙΑΣ: ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ, ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ	16
1.2.4. Η ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ ΚΑΙ Η ΛΙΓΝΙΝΗ: ΤΑ ΚΥΡΙΑ ΒΙΟΑΠΟΔΟΜΗΣΙΜΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ	17
1.2.4.1. Κυτταρίνη	17
1.2.4.2. Λιγνίνη	22
1.2.4.3. Λιγνινοκυτταρινόλυση και αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών υπολειμμάτων μέσω της καλλιέργειας μανιταριών	28
1.3. ΕΙΔΗ ΕΜΒΟΛΙΟΥ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ <i>L. EDODES</i>	29
1.3.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	29
1.3.2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΜΒΟΛΙΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ ('ΣΠΟΡΟΥ') <i>L. EDODES</i>	30
1.3.3. ΕΜΒΟΛΙΟ ΣΕ ΣΠΟΡΟ ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΩΝ	31
1.3.4. ΕΜΒΟΛΙΟ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ ΑΝΑΠΤΥΓΜΕΝΟ ΣΕ ΠΡΙΟΝΙΔΙ	33
1.3.5. ΕΜΒΟΛΙΟ ΣΕ ΤΕΜΑΧΙΑ ΞΥΛΟΥ	34
1.3.6. ΕΜΒΟΛΙΟ ΥΨΡΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΥΚΗΛΙΟΥ	34
1.4. Η ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i> ΣΕ ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ	36
1.4.1. Η ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΕ ΚΟΡΜΟΥΣ ΔΕΝΔΡΩΝ	36
1.4.2. Η ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΕ ΣΑΚΟΥΣ ΜΕ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ	38
1.5. ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ <i>L. EDODES</i>	43
1.5.1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i>	43
1.5.2. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i> ΥΠΟ ΨΥΞΗ, ΜΕ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ ΚΑΙ ΜΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ	44
1.5.2.1. Συλλογή	44
1.5.2.2. Συντήρηση μανιταριών <i>L. edodes</i> υπό ψύξη	45
1.5.2.3. Ελεγχόμενη ατμόσφαιρα	45
1.5.2.4. Ακτινοβολία	46
1.5.3. ΜΕΤΑΠΟΙΗΣΗ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i>	47
1.5.4. ΤΑΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΩΝ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i>	49

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	51
2.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	52
2.2.1. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΥΛΙΚΟ	52
2.2.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΜΒΟΛΙΟΥ ΜΥΚΗΤΑ <i>L. EDODES</i> (‘ΣΠΟΡΟΥ’ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ).....	52
2.2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΥΚΗΛΙΑΚΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΕΜΒΟΛΙΟ ΣΤΕΡΕΑΣ Η ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ	53
2.2.4. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ – ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΣΑΚΩΝ	53
2.2.5. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	54
2.2.6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	55
2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	56
2.3.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΞΗΡΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΥΓΡΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΥΚΗΤΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ ΕΜΒΟΛΙΟ Α) ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ (ΕΥΚ) ΚΑΙ Β) ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΕΡΕΗΣ ΦΑΣΗΣ (ΕΣΚ)	56
2.3.2. ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i>	57
2.3.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΑΠΟΔΟΣΕΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ <i>L. EDODES</i> (ΒΑ%, ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΡΠΟΦΟΡΙΩΝ).....	59
2.3.4. ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ <i>L. EDODES</i> (ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ, ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΠΙΛΟΥ/ΣΤΙΠΟΥ, ΠΛΑΧΟΣ ΠΙΛΟΥ, ΥΨΟΣ ΣΤΙΠΟΥ).....	61
2.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	63
2.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	74
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ	76

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Ο ΜΥΚΗΤΑΣ *LENTINULA EDODES*

1.1.1. Ταξινόμική θέση, ονομασία και βιολογικός κύκλος

Η ταξινόμική θέση του γένους *Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler είναι η ακόλουθη (Przybylowich & Donogue 1990, Stamets 2000):

ΦΥΛΟ: Basidiomycota

ΚΛΑΣΗ: Basidiomycetes (Βασιδιομύκητες)

ΥΠΟΚΛΑΣΗ: Homobasidiomycetidae

ΤΑΞΗ: *Agaricales*

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: Tricholomataceae

ΓΕΝΟΣ: *Lentinula*

ΕΙΔΟΣ: *edodes*

Η επιστημονική ονοματολογία των μικροοργανισμών βασίζεται σε ένα σύστημα διεθνώς αποδεκτό και είναι μια διαδικασία που κατά διαστήματα μπορεί να αλλάζει, καθώς κατά περιόδους αλλάζουν τα κριτήρια ταξινόμησης. Για παράδειγμα, στο μανιτάρι Shiitake έχουν δοθεί κατά καιρούς πολλά επιστημονικά ονόματα (Πίνακας 1). Από το 1941 και μετά, το πιο ευρέως διαδεδομένο όνομα για το συγκεκριμένο μανιτάρι ήταν το *Lentinus edodes* (Berkeley) Singer, που δόθηκε από τον R. Singer. Τελικά, το 1978 το Shiitake κατατάχθηκε από τον Pegler στο καινούριο γένος *Lentinula*, από όπου και πήρε το σημερινό του επιστημονικό όνομα *Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler (Pegler 1983). Και τα δύο γένη χαρακτηρίζονται από λευκά σπόρια, στίβο που συνδέεται κεντρικά έως παράκεντρα με τον πύλο, ελάσματα που συνήθως είναι οδοντωτά και έχουν χαρακτηριστική προτίμηση σε δασικά περιβάλλοντα.

Η κύρια διαφορά τους εντοπίζεται μικροσκοπικά, καθώς τα μανιτάρια του γένους *Lentinula* είναι μονομιτικά, δηλαδή αποτελούνται μόνο από καρποφόρες υφές και τα κότταρά τους είναι παράλληλα μέσα στα ελάσματα. Τα μανιτάρια του γένους *Lentinus* αντίθετα, είναι διμιτικά δηλαδή αποτελούνται από καρποφόρες και σκελετικές ή συνεκτικές υφές και έχουν ακανόνιστα κότταρα στα ελάσματα. Το 1975, ο Pegler πρότεινε το είδος *Lentinus* να μεταφερθεί στο *Lentinula*. Παρόλο που ο Singler διαφώνησε με αυτόν τον χαρακτηρισμό, πολλοί επιστήμονες συμφώνησαν με τον Pegler (Stamets 2000).

Ο Pegler πιστεύει ότι το Shiitake έχει περισσότερα κοινά με το *Collybia* της οικογένειας *Tricholomataceae* παρά με το μανιτάρι *Lentinus tigrinus*, χαρακτηριστικό είδος του γένους *Lentinus*. Επιπλέον το *Lentinus* έχει μεγαλύτερη συγγένεια με τη οικογένεια *Polyporaceae* στην οποία ανήκει σήμερα, παρά με άλλα μανιτάρια με ελάσματα. Αυτή η σχέση μπέρδεψε πολλούς ερασιτέχνες μυκητολόγους, μέχρι που τα μανιτάρια συγκρίθηκαν στο μικροσκόπιο. Πρόσφατες έρευνες του DNA υποστηρίζουν αυτή την περιγραφή, οπότε πλέον το επιστημονικό όνομα του Shiitake είναι *Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler.

Πίνακας 1: Συνώνυμα του *Lentinula edodes* (Przybylowich & Donogue 1990).

Όνομα	Χρονολογία
<i>Agaricus edodes</i>	1877
<i>Collidia shiitake</i>	1886
<i>Armillaria edodes</i>	1887
<i>Agaricus russaticeps</i>	1888
<i>Lepiota shiitake</i>	1889
<i>Lentinus tonkinensis</i>	1890
<i>Mastaleucomyces edodes</i>	1891
<i>Pleurotus russaticeps</i>	1891
<i>Cortinellus shiitake</i>	1899
<i>Tricholoma shiitake</i>	1918
<i>Continellus berkeleyanus</i>	1925
<i>Lentinus shiitake</i>	1936
<i>Cortinellus edodes</i>	1938
<i>Lentinus edodes</i>	1941
<i>Lentinula edodes</i>	1975

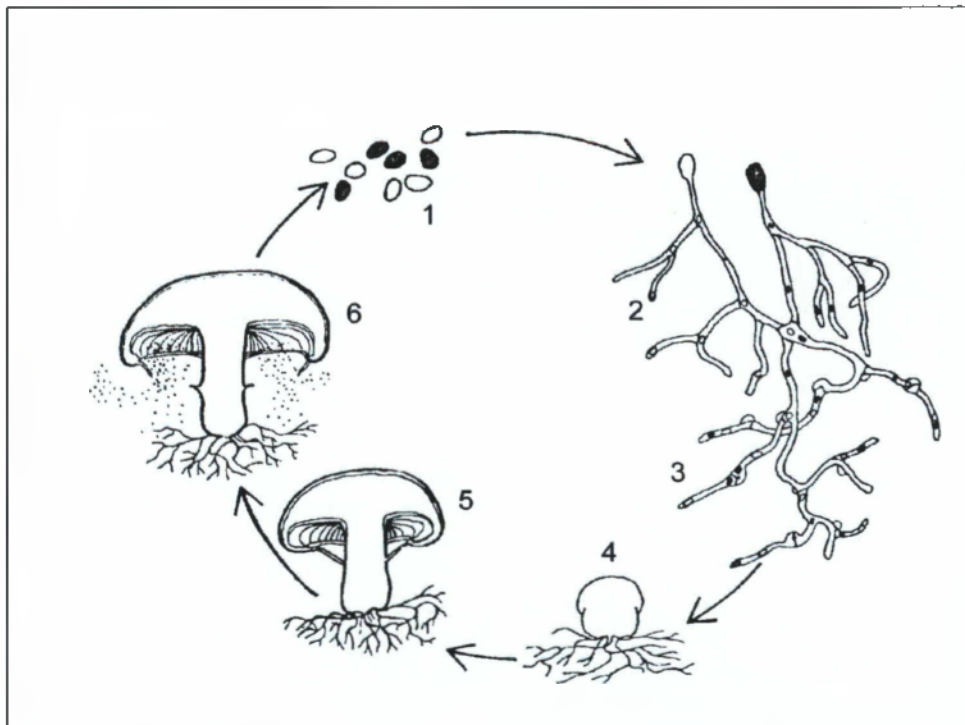
Βιολογικός κύκλος του *L. edodes*

Η τάξη *Agaricales* περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό ειδών. Θεωρείται η πιο σημαντική, γιατί σε αυτήν ανήκουν τα περισσότερα εδώδιμα και δηλητηριώδη μανιτάρια. Χαρακτηριστικό της τάξης είναι η εφήμερη ύπαρξη του βασιδιοκαρπίου. Σε αντίθεση με τα βασιδιοκάρπια των *Aphyllorphorales* αυτά των *Agaricales* αυτολύονται μετά την ωρίμανση και την διασπορά των βασιδιοσπορίων. Γι' αυτό τα μανιτάρια δεν διατηρούνται για μακρά χρονικά διαστήματα στο φυσικό τους περιβάλλον.

Ο βιολογικός κύκλος του *L. edodes* ξεκινάει με το διασκορπισμό των σπορίων από τον άνεμο στο περιβάλλον του βασιδιομύκητα από ένα ώριμο μανιτάρι. Τα βασιδιοσπόρια

είναι πολύ ευαίσθητα και κατά την έκθεσή τους στο φως θανατώνονται γρήγορα. Τα περισσότερα από αυτά πεθαίνουν, ωστόσο, υπάρχουν κάποια τα οποία πέφτοντας σε κατάλληλο υπόστρωμα είναι πιθανόν, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, να αναπτυχθούν και να δημιουργήσουν νέα αποικία.

Όταν το βασιδιοσπόριο βλαστάνει, δημιουργεί νέες υφές, οι οποίες αναπτύσσονται μέσα στο πρωτογενές μυκήλιο. Αν το νέο μυκήλιο δεν βρει την ανάλογη πηγή θρεπτικών συστατικών, εξαντλεί τα αποθέματα από το σπόριο και ύστερα πεθαίνει. Διαφορετικά, αν βρει κατάλληλο υπόστρωμα εκβλαστάνει μυκήλιο. Στη φύση, ωστόσο το πρωτογενές στάδιο μυκηλίου είναι συνήθως σύντομο, και δεν μπορεί να παράγει καθόλου μανιτάρια. Για την ανάπτυξη δευτερογενούς μυκηλίου, θα πρέπει δύο πρωταρχικά μονοκαρυωτικά κύτταρα που περιέχουν συμβατούς πυρήνες να έρθουν σε επαφή, έτσι ώστε με σπερματίωση ή με αναστόμωση να σχηματιστεί ένα δικάρυωτικό κύτταρο. Από την σύζευξη αυτή δημιουργείται το δευτερογενές μυκήλιο, το οποίο έχει τη δυνατότητα να παράγει μανιτάρια ολοκληρώνοντας το βιολογικό κύκλο ζωής (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Βιολογικός κύκλος των μυκήτων *L. edodes*.

- 1: Βασιδιοσπόρια
- 2: Πρωτογενές μυκήλιο
- 3: Δευτερογενές μυκήλιο
- 4: Καταβολές
- 5: Άωρο μανιτάρι με αδιάρηκτη μεμβράνη
- 6: Ξημο μανιτάρι με διαρρηγμένη μεμβράνη από τα ελάσματα του οποίου εκτινάσσονται βασιδιοσπόρια

Όλα τα πρωτογενή μυκήλια του *L. edodes* δεν είναι συμβατά. Υπάρχουν τέσσερα είδη φύλων (sexes), τα οποία είναι συμβατά μόνο σε συγκεκριμένους συνδυασμούς. Το σύστημα εγγενούς αναπαραγωγής είναι ετεροθαλικό, δηλαδή θα πρέπει να ενωθούν δύο διαφορετικά γενετικά σπόρια και τετραπολικό, το οποίο σημαίνει ότι τέσσερα διαφορετικά γονίδια ελέγχουν τη συμβατικότητα των σπόρων (Nisikado & Yamauti 1935, Takemaru 1961, Χριστιάς 1999).

Το μανιτάρι *L. edodes* βρίσκεται το περισσότερο χρονικό διάστημα του βιολογικού του κύκλου ζωής του ως δευτερογενές μυκήλιο. Σε αυτό το βλαστικό στάδιο, το μυκήλιο αποικεί στο ξύλο απορροφώντας θρεπτικά συστατικά με σκοπό την προετοιμασία του για την καρποφορία. Διαφορετικά, αν δεν έχουν αποθηκευτεί αρκετά θρεπτικά συστατικά δεν θα μπορέσει να ακολουθήσει το στάδιο της καρποφορίας. Η δημιουργία μανιταριών στη φύση οφείλεται κυρίως στο ερέθισμα ακραίων περιβαλλοντικών συνθηκών που δίνουν το έναυσμα στο μυκήλιο για να αναζητήσει νέες πηγές θρεπτικών ουσιών. Ο σχηματισμός των μανιταριών ξεκινά όταν αναπτύσσονται κάτω από την επιφάνεια του υποστρώματος μικροί 'κόμποι' που ονομάζονται καταβολές (primordia). Οι καταβολές αυξάνονται σε μέγεθος, δημιουργώντας αρκετή πίεση στην επιφάνεια του μυκηλίου και αν το περιβάλλον είναι ευνοϊκό, νερό και θρεπτικά συστατικά δεν είναι περιορισμένα, θα συνεχίσουν να αναπτύσσονται δημιουργώντας ώριμα μανιτάρια. Καθώς το μανιτάρι μεγαλώνει, ο στίπος λυγίζει έτσι ώστε η κορυφή του πύλου να κατευθύνεται προς τα πάνω και τα σχηματιζόμενα ελάσματα προς τα κάτω. Αρχικά τα ελάσματα καλύπτονται από μια μεμβράνη (veil), η οποία επεκτείνεται από τον στίπο μέχρι το ακραίο σημείο του πύλου. Υπολείμματα της μεμβράνης αυτής μπορεί να παραμείνουν στην κορυφή του πύλου και στον στίπο. Το γόνιμο υμένιο στην επιφάνεια των ελασμάτων καλύπτεται από βασίδια και βασιδιοσπόρια. Η σύζευξη των δικαρυωτικών πυρήνων συμβαίνει μέσα στο βασίδιο και στη συνέχεια ακολουθεί ο διαχωρισμός τους (μείωση) που καταλήγει σε τέσσερα μονοκαρυωτικά βασιδιοσπόρια. Τα πιο ώριμα σπόρια πέφτουν σε γειτονικές περιοχές ή μεταφέρονται από τον αέρα σε μεγαλύτερες αποστάσεις σε άλλα υποστρώματα. (Przybylowicz & Donoghue 1990, Χριστιάς 1999).

1.1.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του *L. edodes*

Η χαρακτηριστική δομή ενός ώριμου μανιταριού *L. edodes* περιλαμβάνει τον πύλο (pileus), τα ελάσματα (gills), τον στίπο (stipe). Ο πύλος του μανιταριού *L. edodes* είναι φαρδύς, ανοικτός, ημισφαιρικός με διάμετρο που κυμαίνεται από 5 μέχρι 25 εκατοστά. Κατά την

διάρκεια της ανάπτυξής του έχει κυρτή επιφάνεια, η οποία στο τέλος της ωρίμανσης μετατρέπεται σε επίπεδη. Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης, ο πύλος είναι σκούρος καστανός σχεδόν μαύρος και καθώς περνά ο καιρός ή κατά την διάρκεια της ξήρανσής του μετατρέπεται σε ανοιχτόχρωμο καστανό. Το εξωτερικό μέρος του πύλου είναι ακανόνιστο, στρογγυλό στην αρχή και στη συνέχεια γίνεται κυρτό. Τα ελάσματα άσπρα ακόμη και στα αρχικά στάδια, μετατρέπονται σε οδοντωτά-πριονωτά ή ακανόνιστα καθώς περνά ο καιρός και σε σκούρα καφέ αν τραυματιστούν. Ο στίπος είναι ινώδης, βρίσκεται στο κέντρο του πύλου και έχει σκληρή υφή. Τέλος η σάρκα είναι καστανωπή.

Το μυκήλιο του μανιταριού *L. edodes* στα αρχικά στάδια έχει λευκό χρώμα, οι υφές γίνονται επιμήκεις γραμμικές και παίρνουν βαμβακοειδή μορφή καθώς περνά ο καιρός. Σε περίπτωση που 'τραυματιστεί' το χρώμα του μυκηλίου μετατρέπεται σε σκούρο καστανό. Επίσης, κάποια στελέχη δημιουργούν συσσωματώματα υφών, μαλακά, βαμβακοειδή και σφαιρικά, που μπορεί ή όχι να εξελιχθούν σε καταβολές. Οι κορμοί των δένδρων έχουν τέτοια εμφάνιση μετά τον αποικισμό του μύκητα που πολλοί επιστήμονες χαρακτηρίζουν το μύκητα αυτό λευκό σαπροφυτικό (Stamets 2000).

1.1.3. Στοιχεία φυσιολογίας των μυκήτων *L. edodes*

1.1.3.1. Παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό της μυκηλιακής αύξησης των μυκήτων *L. edodes*

Τα στάδια ανάπτυξης του μυκηλίου κατά την καλλιέργεια του *L. edodes* είναι α) ο αποικισμός του υποστρώματος από το μυκήλιο, β) ο σχηματισμός εξογκωμάτων δηλαδή η παραγωγή άμορφης μυκηλιακής μάζας (εν είδη σβώλων) και γ) το καφέτισμα του μυκηλιακού ιστού που γίνεται με την έκκριση χαρακτηριστικής χρωστικής από το ώριμο μυκήλιο (Donogue & Denison 1995).

Θερμοκρασία

Η επιβίωση του μυκηλίου σε υψηλές θερμοκρασίες καθορίζεται τόσο από τη θερμοκρασία, όσο και από το χρόνο έκθεσης στις θερμοκρασίες αυτές. Για παράδειγμα, ο μύκητας *L. edodes* παύει να είναι ζωντανός σε θερμοκρασία γύρω στους 45 °C, ενώ και η παρατεταμένη έκθεση του μυκηλίου σε θερμοκρασίες άνω των 35 °C, είναι πιθανόν να θανατώσουν το μυκήλιο (Tokimoto & Komatsu 1978, Han κ.α. 1981). Η ανάπτυξη του μύκητα ευνοείται καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται έως μιας βέλτιστης τιμής και στη

συνέχεια υπό την επίδραση υψηλότερων θερμοκρασιών μειώνεται και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η θερμοκρασία επηρεάζει τις χημικές διαδικασίες που σχετίζονται με την μυκηλιακή αύξηση. Το μυκήλιο του *L. edodes* αναπτύσσεται μεταξύ 4-35 °C, αλλά η άριστη θερμοκρασία είναι 24-28 °C, με πιο συνηθισμένη αυτή των 25 °C (Tokimoto & Komatsu 1982). Αυτό φαίνεται και σε πειράματα που έχουν γίνει από τους Han κ.α. (1981) και δείχνουν ότι η μυκηλιακή αύξηση είναι μέγιστη στους 24-28 °C.

Υγρασία

Η περιεκτικότητα της υγρασίας στο υπόστρωμα αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την επιτυχία του αποικισμού του κατά τη διάρκεια της επώασης (spawn run). Το εύρος υγρασίας για την ανάπτυξη του μυκηλίου σε υπόστρωμα από γεωργικά υπολείμματα κυμαίνεται από 55% έως 68% (Przybylowicz & Donoghue 1990). Όπως φαίνεται, από πειράματα που έγιναν από τους Han κ.α. (1981) έδειξε ότι το μυκήλιο δεν αναπτύσσεται καθόλου σε υγρασία κάτω του 40%, ενώ η μέγιστη ανάπτυξη του μυκηλίου επιτυγχάνεται μεταξύ 50-60% (Donoghue & Denison 1995). Στα κούτσουρα των δένδρων η περιεκτικότητα της υγρασίας πρέπει να κυμαίνεται από 35% έως 75%. Τιμές μεγαλύτερες ή μικρότερες από αυτές, δημιουργούν πρόβλημα στην ανάπτυξη. Το άριστο εύρος τιμών για καλλιέργεια σε κούτσουρα είναι 35% έως 55% (Przybylowicz & Donoghue 1990).

Όσον αφορά στην ατμοσφαιρική υγρασία, ο μύκητας δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις καθώς αναπτύσσεται σε κλειστούς σάκους που περιορίζουν τις απώλειες υγρασίας. Ωστόσο ο Stamets (2000) θεωρεί ότι κατά την επώαση η σχ. υγρασία του θαλάμου θα πρέπει να είναι 90% έως 100%.

Φως

Σύμφωνα με τον Zadrazil (1993) δεν έχει ακόμα εξακριβωθεί η επίδραση του φωτός στην ανάπτυξη του μυκηλίου. Το μυκήλιο κατά τη διάρκεια της επώασης αναπτύσσεται τόσο στο φως όσο και στο σκοτάδι. Ωστόσο θεωρείται απαραίτητη η έκθεση του μυκηλίου στο φως πριν από την επαγωγή των καρποσωμάτων (Leatham & Stahman 1987). Μάλιστα, ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα πρώτα καρποσώματα εμφανίζονται μόνο στα σημεία που έχουν δεχθεί φως κατά την επώαση. Σύμφωνα με τους Miller και Jong (1986) τα πιο αποτελεσματικά μήκη κύματος είναι στη περιοχή του μπλε φωτός (370-420 nm) με ένταση φωτός 400-500 lux. Οι Przybylowicz & Donoghue (1990) αναφέρουν ένταση φωτός 180-500 lux που επιτυγχάνεται με λαμπτήρες φθορισμού λευκού ψυχρού φωτός.

Συνήθως εφαρμόζονται δύο μέθοδοι έκθεσης του μυκηλίου στο φως κατά την επώαση. Σύμφωνα με την πρώτη η έκθεση γίνεται για μικρό χρονικό διάστημα 8-12 ώρες

τη ημέρα καθ' όλη τη διάρκεια της επώασης σε χαμηλής έντασης φωτισμό (200 lux). Η άλλη μέθοδος αφορά επώαση στο σκοτάδι και έκθεση του μυκηλίου στο φως στις τελευταίες 20 ημέρες της επώασης σε ένταση φωτός 180-500 lux (Przybylowicz & Donoghue 1990).

pH

Το pH είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη του μυκηλίου επιδρώντας στη διαλυτότητα των θρεπτικών συστατικών, η οποία καθορίζει την διαθεσιμότητα τους στο μύκητα. Επίσης, επηρεάζει άμεσα και τη δράση των ενζύμων του μύκητα. Το εύρος τιμών pH για την ανάπτυξη του μυκηλίου του *L. edodes* στα κούτσουρα των δένδρων κυμαίνεται μεταξύ 3,5 και 5,5 με άριστες τιμές 3,5 και 5,3 (Przybylowicz & Donoghue 1990). Πειράματα του Kalberer (1995) δείχνουν ότι το pH κατά τη διάρκεια της επώασης υποστρώματος με βάση το πριονίδι βελανιδιάς και οξυάς μειώνεται από 4,2 σε 3,3. Για την καλλιέργεια του *L. edodes* σε γεωργικά υπολείμματα το pH του υποστρώματος ρυθμίζεται στο 4,5-6,0 με προσθήκη ανθρακικού ασβεστίου (CaCO_3) (Miller και Jong 1986).

Συγκέντρωση αερίων

Τα μανιτάρια όντας αερόβιοι οργανισμοί, για την επιβίωση τους χρησιμοποιούν οξυγόνο και εκπνέουν διοξείδιο του άνθρακα. Η σύνθεση της ατμόσφαιρας λοιπόν, ειδικά η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα και άλλων πτητικών ουσιών, επηρεάζει την αύξηση του μυκηλίου και την ανάπτυξη των μανιταριών. Η συγκέντρωση του CO_2 εξαρτάται από τη δραστηριότητα του μύκητα στο υπόστρωμα. Μελέτες του Kalberer (1995) αναφέρουν ότι κατά τη διάρκεια της επώασης η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) μέσα στο σάκο τις 10 πρώτες μέρες έχει μια απότομη αύξηση μέχρι 6% (60.000 ppm), στη συνέχεια μειώνεται σταδιακά μέχρι που φτάνει την πεντηκοστή μέρα στο 2% (20.000 ppm). Γενικά, κατά την ανάπτυξη του μυκηλίου το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) στο θάλαμο είναι μεγαλύτερο από 10.000 ppm (Stamets 2000)

Διάρκεια της επώασης

Συνήθως χρειάζονται 30-120 ημέρες για να ολοκληρωθεί η επώαση. Η διάρκεια της επώασης εξαρτάται από το καλλιεργούμενο στέλεχος, τη σύνθεση του υποστρώματος και το ποσοστό του εμβολίου, καθώς και από τη θερμοκρασία. Αν και κάποια στελέχη έχει παρατηρηθεί να καρποφορούν μετά από 60 μέρες επώασης, οι μεγαλύτερες παραγωγές μανιταριών επιτυγχάνονται με χρόνους επώασης 90-150 ημέρες. Αυτό οφείλεται στη

μεγαλύτερη μυκηλιακή βιομάζα και τη ποσότητα των ενζύμων που μπορεί αυτή να παράγει.

1.1.3.2. Παράγοντες που επιδρούν στην καρποφορία του *L. edodes*

Οι σπουδαιότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την καρποφορία σε συνθετικά ή σε φυσικά μέσα είναι:

Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καρποφορία, επηρεάζοντας τόσο την επαγωγή όσο και την ανάπτυξη του μανιταριού. Αν και η μείωση της θερμοκρασίας κατά την επαγωγή είναι αναγκαία για το ξεκίνημα της καρποφορίας (Song κ.α. 1991), οι βέλτιστη τιμή της εξαρτάται από το στέλεχος του μύκητα. Η επαγωγή των καρποσωμάτων γίνεται σε θερμοκρασίες 10-16 °C για τα ψυχρόφιλα στελέχη και σε εύρος θερμοκρασιών 16-21 °C για το θερμόφιλα στελέχη (Tokimoto & Komatsu 1982, Stamets 2000).

Ο σχηματισμός των καταβολών επηρεάζεται αρνητικά από την απότομη μεταβολή θερμοκρασίας ή από περιόδους κυμαινόμενης θερμοκρασίας. Η θερμοκρασία κατά την διάρκεια της επαγωγής επηρεάζει όχι μόνο την μέγιστη απόδοση της καλλιέργειας αλλά και το σχήμα του μανιταριού, π.χ. υψηλές θερμοκρασίες δημιουργούν ψηλό στίβο και λεπτό πύλο (Tokimoto & Komatsu 1978). Τα μανιτάρια, κατά την περίοδο της ανάπτυξής τους έχουν τη δυνατότητα να αντέξουν σε χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά μόνο για μικρά χρονικά διαστήματα. Αντίθετα, σε παρατεταμένη έκθεση στο ψύχος καταστρέφονται.

Υγρασία

Κατά την διάρκεια ανάπτυξης του μανιταριού *L. edodes* παρατηρείται έντονη εξάτμιση νερού από την επιφάνεια του προς το περιβάλλον, καθώς περιέχει νερό σε ποσοστό 85-95%. Απώλειες νερού υπάρχουν στον αέρα και στο υπόστρωμα καλλιέργειας, οι οποίες εάν είναι μεγάλες οδηγούν σε κακή ποιότητα και ποσότητα μανιταριών. Η τελική περιεκτικότητα του μανιταριού σε νερό εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος από την υγρασία του θαλάμου κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των καρποφοριών. Τα μανιτάρια που αναπτύσσονται σε υψηλά επίπεδα υγρασίας, συγκρατούν περισσότερο νερό σε σχέση με αυτά που αναπτύσσονται σε χαμηλότερα επίπεδα υγρασίας, σε συνθήκες ίδιας θερμοκρασίας, ρεύματος αέρα, περιεκτικότητας και πίεσης νερού στο υπόστρωμα.

Η απώλεια του νερού μπορεί να ελεγχθεί ρυθμίζοντας το επίπεδο υγρασίας στους θαλάμους καλλιέργειας, που πρέπει κατά τη διάρκεια της παραγωγής να είναι 75-95% (Przybylowich & Donogue 1990).

Φως

Ο μύκητας *L. edodes* απαιτεί φως κατά την διάρκεια της καρποφορίας του, ενώ το φως αποτελεί βασική προϋπόθεση για την επαγωγή των καρποσωμάτων. Το φως, επίσης, παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του καρποσώματος, ειδικά των ελασμάτων και των σπορίων. Το τελικό χρώμα του μανιταριού επηρεάζεται τέλος από το φως κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, με τα μανιτάρια που αναπτύσσονται στο σκοτάδι να είναι ανοιχτού χρώματος και συχνά μισό-σχηματισμένα (Leatham & Stahman 1987).

Οι παράμετροι έκθεσης στο φως είναι ίδιοι με αυτούς της μυκηλιακής αύξησης, δηλαδή μήκος κύματος 370 έως 420 nm και ένταση 180-500 lux (Przybylowicz & Donoghue 1990). Λάμπες φθορίου, και ειδικότερα μπλε, ευνοούν την εναπόθεση χρωστικής (pigmentation) στις καταβολές και επάγουν την καρποφορία. Οι Han κ.α. (1981) που μελέτησαν την επίδραση της έντασης του φωτισμού στην απόδοση της καλλιέργειας σε μανιτάρια έδειξαν ότι η μεγαλύτερη συγκομιδή μανιταριών επιτυγχάνεται σε ένταση φωτός 550 lux, ενώ εντάσεις μεγαλύτερες των 940 lux και μικρότερες των 180 lux είχαν αρνητική επίδραση στο σχηματισμό καταβολών. Ωστόσο ο Stamets (2000) επισημαίνει ότι σε πολλά στελέχη ένταση φωτισμού μικρότερη των 500 lux επιδρά στο σχηματισμό μακρύτερου στίπου. Για το λόγο αυτό προτείνει την επαγωγή των καταβολών στα 100-200 lux στη πράσινη ως υπερ-ιώδη περιοχή του φάσματος (370 έως 420 nm) και την ανάπτυξη των καρποσωμάτων στα 500-2000 lux.

pH

Οι Tokimoto και Komatsu (1978) αναφέρουν ότι οι άριστες τιμές pH για σχηματισμό των καταβολών αλλά και για την ανάπτυξη της καρποφορίας κυμαίνονται μεταξύ 3,5 και 4,5. Ακόμη οι Przybylowicz και Donoghue (1990) αναφέρουν ότι η καρποφορία σε συνθήκες εργαστηρίου σε συνθετικό θρεπτικό υλικό γίνεται σε pH 3,5-4,5, ενώ σε σάκους με υπόστρωμα πριονίδι σε pH 5. Ακόμη οι Han κ.α. (1981), μελετώντας την επίδραση του pH του νερού διαβροχής του υποστρώματος στην απόδοση σε μανιτάρια κατέγραψαν μεγαλύτερη παραγωγή σε pH 4,5-5.

Συγκέντρωση αερίων

Για το σχηματισμό των καρποφοριών απαιτούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οξυγόνου απ' ό τι στην ανάπτυξη του μυκηλίου του *L. edodes*. Όταν ο αερισμός είναι ανεπαρκής η καρποφορία εμποδίζεται εντονότερα από τη βλαστική ανάπτυξη (Zadrazil 1993). Η ανταλλαγή αερίων στους σάκους καλλιέργειας γίνεται με ειδικό φίλτρο ή τρυπώντας τους σάκους με βελόνες διαμέτρου 1,3 mm (Kalberer 1995). Κατά τη φάση σχηματισμού και ανάπτυξης των καταβολών απαιτούνται 4-8 αλλαγές του αέρα του θαλάμου καλλιέργειας ώστε το επίπεδο του διοξειδίου του άνθρακα να διατηρείται μικρότερο από 1000 ppm.

Διάρκεια της επώασης

Η διάρκεια της επώασης επιδρά τόσο στα ποιοτικά όσο και στα ποσοτικά χαρακτηριστικά της παραγωγής. Σύμφωνα με τους Przybylowicz και Donoghue (1990) η μεγαλύτερη διάρκεια επώασης επιδρά θετικά τόσο στο μέγεθος των μανιταριών όσο και στο αποτέλεσμα της συγκομιδής. Μάλιστα οι Han κ.α. (1981), μελετώντας την επίδραση της διάρκειας επώασης στον αριθμό και το βάρος των μανιταριών, κατέγραψαν τις μεγαλύτερες αποδόσεις μετά από επώαση 6-12 εβδομάδων.

1.1.4. Διαιτητικές και φαρμακευτικές ιδιότητες του *L. edodes*

Οι διαιτητικές ιδιότητες του μανιταριού *L. edodes*

Το μανιτάρι *L. edodes* περιέχει πολλά θρεπτικά συστατικά όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και μεγάλο αριθμό βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων.

Η περιεκτικότητα του *L. edodes* σε πρωτεΐνες ανέρχεται στο 10-29% (ξ.β) (Wu & Stahman 1975, Crisan & Sands 1978, Philippousis κ.α. 2005) και λαμβάνοντας υπόψη και τη σύστασή τους το μανιτάρι αυτό κατατάσσεται πάνω από τα δημητριακά, τις πατάτες, τις ντομάτες και τα καρότα (Roysse & Schisler 1980). Ακόμα, η ποσότητα των πρωτεϊνών του μπορεί να είναι λιγότερη από αυτή στο κρέας, αλλά συγκρίνεται με αυτή των φασολιών (Wu & Stahman 1975). Τα εννέα βασικά αμινοξέα βρίσκονται σε αναλογίες παρεμφερείς με την 'ιδανική' πρωτεΐνη για την διατροφή του ανθρώπου (Crisan & Sands 1978, Chang 1980, Roysse & Schisler 1980). Τέλος είναι πλούσιο στα αμινοξέα λευκίνη και λυσίνη, τα οποία σε πολλά σιτηρά απαντώνται σε μικρές ποσότητες (Chang 1980).

Οι υδατάνθρακες που περιέχει το μανιτάρι *L. edodes* είναι μεταξύ 43-78% (ξ.β), οπότε θεωρείται χαμηλή θερμιδική τροφή. Ακόμη, η συνολική περιεκτικότητα ανόργανων στοιχείων κυμαίνεται από 2,6% μέχρι 6,5%. Ασβέστιο, φώσφορος, σίδηρος, κάλιο και

νάτριο βρίσκονται σε επαρκείς ποσότητες (Crisan & Sands 1978). Επιπλέον είναι μια πολύ καλή πηγή βιταμινών, ειδικότερα του συμπλέγματος Β (Β1, Β2, Β12), σημαντικό γεγονός καθώς η βιταμίνη Β12 συντίθεται μόνο από βακτήρια και μύκητες και δεν είναι διαθέσιμη από τα λαχανικά. Κατά την ξήρανση των μανιταριών *L. edodes* στον ήλιο αυξάνεται η συγκέντρωση της βιταμίνης D, αλλά καταστρέφονται οι νιασίνη, θιαμίνη και ριβοφλαβίνη. Τα μανιτάρια *L. edodes* τέλος όταν καλλιεργούνται υπαίθρια έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε βιταμίνη D από αυτά που καλλιεργούνται σε θερμοκήπια (Takeuchi κ.α. 1984).

Παρ' όλα αυτά, το μανιτάρι επειδή περιέχει σε ποσοστό 85-95% νερό, για να υπάρξει αξιόλογη θρεπτική συνεισφορά στην καθημερινή ανθρώπινη διατροφή, πρέπει να καταναλωθούν μεγάλες ποσότητες μανιταριών. Θα πρέπει να σημειωθεί τέλος ότι οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών συστατικών και η βιολογική δραστηριότητά τους επηρεάζονται από τις διαφορές των στελεχών, των υποστρωμάτων καλλιέργειας, τις συνθήκες καρποφορίας και τη μετασυλλεκτική επεξεργασία του μανιταριού *L. edodes*.

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες του μανιταριού *L. edodes*

Σε πολλές χώρες της ανατολής, ιδιαίτερα στην Κίνα και την Ιαπωνία, τα μανιτάρια και ειδικότερα το *L. edodes* θεωρούνται μια ιδιαίτερη διατροφική ομάδα με συστατικά που επιδρούν πολύ θετικά στην υγεία του ανθρώπου και αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της διαίτας τους. Σε αυτούς τους λαούς το *L. edodes* θεωρείται το 'ελιξίριο της ζωής'. Ειδικότερα, σύγχρονα επιστημονικά δεδομένα που αφορούν ειδικά στο *L. edodes* έρχονται να δώσουν στο μανιτάρι αυτό τη θέση που του αξίζει, κατατάσσοντάς το στην κατηγορία των φαρμακευτικών/θεραπευτικών σκευασμάτων.

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες του *L. edodes* περιγράφηκαν πρώτα από τον διάσημο κινέζο φυσικό Wu Shui κατά την δυναστεία των Ming (1368-1644). Σύμφωνα με τον Shui, το *L. edodes* μπορεί να χορηγήσει στον άνθρωπο δυναμικότητα και ενέργεια και είναι αποτελεσματικό στην πρόληψη και στην αντιμετώπιση της εγκεφαλικής αιμορραγίας. Σε πρόσφατες έρευνες, κατά τις οποίες απομονώθηκε πληθώρα συστατικών από το μανιτάρι *L. edodes*, αποδείχθηκε η αποτελεσματικότητά του στη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας και συγκεκριμένα στη μείωση της πίεσης του αίματος, της χοληστερίνης καθώς και η δράση του ως παράγοντας με ανοσοδιεγερτικές, αντικαρκινικές, αντι-ΰκεις, αντιβακτηριακές, αντιμυκητικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες (Mizuno 1995, Hirasawa κ.α. 1999, Wasser 2002, Bis'ko κ.α. 1996).

Η Chihara (1978), ήταν από τους πρώτους ερευνητές που δημοσίευσαν για τις αντικαρκινικές ιδιότητες του *L. edodes* υποστηρίζοντας μάλιστα ότι ο διαλυτός στο νερό

πολυσακχαρίτης 'lentinan', ο οποίος εκχυλίζεται από το μανιτάρι, έχει την ιδιότητα να ενεργοποιεί τα κύτταρα T του πάσχοντα με καρκίνο οργανισμού, τα οποία επιτίθενται και καταστρέφουν τα καρκινικά. Μάλιστα ο lentinan, ο οποίος περιέχεται στα καρποσώματα του *L. edodes*, έχει πάρει έγκριση έτσι ώστε σε ενέσιμη μορφή να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου όπως του πεπτικού συστήματος, του καρκίνου του προστάτη, γυναικολογικών καρκίνων του μαστού, του τραχήλου της μήτρας και των ωοθηκών (Taguchi 1987). Όσον αφορά στη δοσολογία για πρόληψη έχει αναφερθεί ότι 1,5g ξηρό μανιτάρι (ή 10g νωπό) την μέρα έχει θετική επίδραση στην ανοσοδιέγερση. Στον παρακάτω Πίνακα 2, δίνονται αναλυτικά όλες οι πληροφορίες που αφορούν τα ενεργά συστατικά του μανιταριού *L. edodes*, τη δράση τους καθώς και το όργανο του μύκητα από όπου απομονώνονται.

Πίνακας 2: Δραστικά συστατικά του φαρμακευτικού μανιταριού *L. edodes* (Mizuno 1995, Wasser 2002).

Ενεργό συστατικό	Δράση	Όργανο μύκητα
Lenthionine (Θειούχο)	Αντιμυκητικό	Καρπόσωμα
bis(methylsulfonyl)methyl]disulfide(Δι-θειούχο)	Αντιβακτηριακό	Καρπόσωμα /Μυκήλιο
Lentinan (πολυσακχαρίτης)	Αντιπαρασιτικό	Καρπόσωμα
Πολυριβονοκλεοτίδιο διπλής έλικας (Double-stranded RNA)	Αντιϊικό	Καρπόσωμα
Ac 2P (πολυσακχαρίτης)	Ανοσοδιεγρετικό Αντιϊικό	Μυκήλιο- Σπόρια Καρπόσωμα /Μυκήλιο
FBP (πρωτεΐνη)	Αντιϊικό	Καρπόσωμα
KS-2, KS-2-B (πεπτιδομανάνες)	Αντιϊικό Ανοσοδιεγρετικό	Μυκήλιο
EP ₃ (Σύμπλοκο Λιγνίνης)	Αντιϊικό Ανοσοδιεγρετικό	Μυκήλιο
Lentinan (πολυσακχαρίτης)	Αντικαρκινικό	Καρπόσωμα
KS-2 (πεπτιδομανάνη)	Αντικαρκινικό	Μυκήλιο
LEM (γλυκοπρωτεΐνη)	Αντικαρκινικό	Μυκήλιο
LAP & LAP1(γλυκοπρωτεΐνη)	Αντικαρκινικό	Μυκήλιο
EP ₃ (Σύμπλοκο Λιγνίνης)	Αντικαρκινικό	Μυκήλιο
Emitanin (πολυσακχαρίτης)	Αντικαρκινικό Ανοσοδιεγρετικό	Μυκήλιο
Lectin (λεκτίνη)	Lectin (λεκτίνη)	Καρπόσωμα
Παράγωγα νουκλεϊκών οξέων	Αντιθρομβωτικό	Καρπόσωμα
Thioproline (TCA) (αμινοξύ)	Ανίχνευση Νιτρωδών	Καρπόσωμα

1.2. ΛΙΓΝΟΚΥΤΑΡΙΝΟΥΧΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΤΟΥ *L. EDODES* ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΑΧΥΡΟ ΣΙΤΗΡΩΝ, ΚΟΤΣΑΛΑ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΙΟΝΙΔΙ ΒΕΛΑΝΙΔΙΑΣ

1.2.1. Αχυρο σιτηρών: χημική σύσταση, παραγόμενες ποσότητες και χρήσεις

Τα σιτηρά ανήκουν στην οικογένεια *Graminae*, είναι από τα σημαντικότερα καλλιεργούμενα φυτά, σε έκταση και παραγωγή, σε ολόκληρο το κόσμο. Στην Ελλάδα, η Μακεδονία και η Θεσσαλία αποτελούν τους σιτοβολώνες παράγοντας το 40% η πρώτη και το 23% η δεύτερη.

Η απόδοση σε άχυρο ανέρχεται σε 120 kg ανά στρέμμα. Στην Μακεδονία και τη Θεσσαλία παράγονται ετησίως 600.000 και 350.000 τόνοι άχυρου αντίστοιχα. Το άχυρο σιτηρών χρησιμοποιείται στην Ελλάδα κυρίως στη κτηνοτροφία και λιγότερο για παραγωγή βιομάζας. Όσο αναφορά στις βιομηχανικές χρήσεις χρησιμοποιούνται συνήθως τα στελέχη και όχι ξηρά φύλλα ή λέπυρα για την παραγωγή πολτού απ' όπου παράγεται κόντρα πλακέ, καθώς και για διάφορα είδη χαρτιού. Επίσης τα υπολείμματα μπορούν να ενσωματώνονται στο έδαφος ή χρησιμοποιούνται ως επιστρώματα (Καραμάνος 1999, Ισραηλίδης & Κωδούνης 1982).

Γενικά το άχυρο σιτηρών όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 3 είναι πλούσιο σε κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη και φτωχό σε αμυλούχες και αζωτούχες ενώσεις, βιταμίνες και άλατα. Είναι χαμηλής θρεπτικής αξίας ζωοτροφή, καθώς τα μυρηκαστικά αδυνατούν να χρησιμοποιήσουν τη λιγνίνη σαν πηγή άνθρακα. Από όλα τα σιτηρά πιο πλούσιο σε άμυλο και αζωτούχες ουσίες είναι το άχυρο του αραβοσίτου και του σόργου, ακολουθούν η βρώμη, το κριθάρι και το ρύζι. Τέλος το άχυρο του σιταριού και της βρίζας θεωρούνται υποδεέστερα όλων των άλλων. Γι' αυτό δεν συνιστάται ως αποκλειστική τροφή για ζώα εκτροφόμενα για υψηλή παραγωγικότητα. (Καλαϊσάκης 1986).

Πίνακας 3: Χημική σύσταση αχύρου σιτηρών (Καλαϊσάκης 1986).

Συστατικά (% ξ,β)	
Υγρασία	8,7
Ξηρά ουσία	91,3
Τέφρα	6,5
Οργανική ουσία	93,5
Αζωτούχες ουσίες	4,4
Λιπαρές ουσίες	1,2
Ινώδεις ουσίες	43,6
Ολικά σάκχαρα	0,0
Ca	0,33
Mg	0,08
P	0,3
K	0,91
Na	0,14
Fe	129 (mg/Kg)
Cu	6 (mg/Kg)
Zn	28 (mg/Kg)
Mn	37 (mg/Kg)
NDF	80,3
ADF	51,7
Κυτταρίνη	45,7
Ημικυτταρίνη	28,6
Λιγνίνη-Κουτίνη	6,2

1.2.2. Κότσαλα και στελέχη καλαμποκιού: χημική σύσταση, παραγόμενες ποσότητες και χρήσεις

Το καλαμπόκι ανήκει στην οικογένεια *Poaceae*. Καλλιεργείται κυρίως για τον καρπό του και δευτερευόντως για παραγωγή βιομάζας για άμεση κατανάλωση ή ενσίρωση. Η βιομάζα του αραβοσίτου χρησιμοποιείται ως κτηνοτροφή, η οποία καταναλώνεται νωπή, αποξηραμένη ή ενσιρωμένη. Υπολογίζεται ότι η παραγωγή βιομάζας καταλαμβάνει 10-15% της ολικής καλλιεργούμενης έκτασης στις Η.Π.Α., ενώ στην Ελλάδα το ποσοστό ήταν περίπου στο 3,1% κατά μέσο όρο την περίοδο 1963-1977.

Σύμφωνα με δεδομένα του Ο.Π.Ε.Κ.Ε.Π.Ε. (Οργανισμός Πληρωμών και Ελέγχου Κοινοτικών Ενισχύσεων Προσανατολισμού και Εγγυήσεων), που παρατίθενται στο πίνακα Πίνακας 5, κατά το 2004 το καλαμπόκι καλλιεργήθηκε στην Ελλάδα σε έκταση 2.101,977 στρεμμάτων. Ο νομός των Σερρών έχει την μεγαλύτερη παραγωγή και ακολουθούν οι νομοί Έβρου, Καβάλας και Ηλείας. Τέλος η μέση στρεμματική απόδοση είναι περίπου 1000 kg/στρέμμα, ενώ αποδόσεις της τάξης 1500-1700 kg/στρέμμα δεν είναι ασυνήθιστες σε αρδευόμενα και πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη.

Πίνακας 5: Κατανομή καλλιεργούμενων εκτάσεων καλαμποκιού (σε στρέμματα και %) σε νομούς της Ελλάδας κατά το 2004 (Ο.Π.Ε.Κ.Ε.Π.Ε.).

Περιοχές (νομοί)	Έκταση (στρ)	Ποσοστό (%)
Αιτωλοακαρνανίας	155,918	7,3
Αχαΐας	58,809	2,7
Δράμας	124,599	5,8
Έβρου	183,318	8,6
Ηλείας	167,633	7,8
Ημαθίας	58,826	2,7
Θεσσαλονίκης	108,928	5,1
Καβάλας	171,237	8,2
Καρδίτσας	79,904	3,7
Κοζάνης	73,693	3,4
Λαρίσης	97,411	4,5
Ξάνθης	152,900	7,1
Πέλλης	138,679	6,4
Κιλκίς	50,705	2,3
Σερρών	233,879	10,4
Τρικάλων	115,503	5,4
Φλώρινας	130,035	6,1
Σύνολο	2.101,977	100

Ο καρπός του καλαμποκιού χρησιμοποιείται κυρίως για την κτηνοτροφία. Η ξηρά ουσία του καρπού αποτελείται από 70% άμυλο, 10% πρωτεΐνες και 5% έλαια. Επιπλέον ο καρπός του περιέχει σημαντικές ποσότητες βιταμινών, όπως βιταμίνη E, νικοτινικού οξέος, παντοθενικού οξέος, θειαμίνης και ριβοφλαβίνης. Από όλα αυτά φαίνεται ότι ο καρπός έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ενέργεια, αλλά χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Ειδικότερα, όσον αφορά στο σπάδικα του αραβοσίτου, όπως φαίνεται στους Πίνακες 4 και 5 αυτός είναι πλούσιος σε μη αζωτούχες ουσίες και ακατέργαστες ιώδης ουσίες (Αγίας κ.α. 2003).

Πίνακας 4: Χημική σύσταση σπάδικα καλαποκιού (Αγίας κ.α. 2003).

Συστατικά	% ξ.ο.
Τέφρα	2.1
Πρωτεΐνη	4.5
Λίπη	0.5
Ινώδεις ουσίες	27.9
Μη αζωτούχες ουσίες	64.9

Πίνακας 5: Ανάλυση ινωδών ουσιών σπάδικα καλαποκιού (www.fao.org).

Συστατικά	% ξ.ο.
Ξ.Ο	93,27
Νερό	6,63
Τέφρα	1,96
ADF	47,61
NDF	93,96
Λιγνίνη	9,60
Κυτταρίνη	38,01
Ημικυτταρίνη	46,35
Άξωτο	0,5

1.2.3. Πριονίδι βελανιδιάς: χημική σύσταση, παραγόμενες ποσότητες και χρήσεις

Η βελανιδιά είναι δένδρο που αναπτύσσεται στα δάση, με ύψος που φτάνει τα 25-30 m. Η ονομασία βελανιδιά αναφέρεται στα είδη: *Quercus alba*, *Quercus borealis*, *Quercus cerris*, *Quercus frainetto*, *Quercus ilex*, *Quercus palustris*, *Quercus petraea*, *Quercus robur*, *Quercus virginiana*. Στην Ελλάδα εμφανίζεται στην Αιτωλοακαρνανία, Αττική, Πελοπόννησο, Κρήτη, Κεφαλληνία, Κέρκυρα, Ήπειρο, Κυκλάδες, Β. Αιγαίο και Θράκη. Είναι μακρόβιο είδος με πλατειά ωοειδή κόμη. Τα φύλλα έχουν τελικό μέγεθος 4 έως 8 cm αλλά διαφέρουν σημαντικά στο σχήμα και στο μέγεθος ακόμα και στο ίδιο δένδρο. Μπορεί να ζήσει περισσότερο και από 500 χρόνια.

Η βελανιδιά είναι ένα από τα σπουδαιότερα είδη της Ελληνικής χλωρίδας. Η βελανιδιά καταλαμβάνει σήμερα στην Ελλάδα, υπό μορφή συστάδων, λοχμών και ομάδων, έκταση 296.318 στρέμματα. Οι σημαντικότεροι νομοί σε έκταση (εξάπλωση) είναι οι νομοί Αιτωλοακαρνανίας (116.58 στρ), Ρεθύμνου (55.000 στρ), Λέσβου (50.000 στρ), Λακωνίας (34.840 στρ) και Κυκλάδων (20.000 στρ).

Η βελανιδιά είναι από τα πιο γνωστά φυλλόδενδρα, με ξύλο άριστης ποιότητας. Το πολύτιμο ξύλο της αποτελεί ένα από τα καλύτερα υλικά για την επιπλοποιία και τον οικοδομικό τομέα, αφού δεν σαπίζει εύκολα γιατί έχει μια στυπτική ουσία που λέγεται τανίνη. Από την αρχαιότητα μέχρι και τα μέσα περίπου του 20^{ου} αιώνα τα κύπελλα της βελανιδιάς συλλέγονταν για την παραγωγή δεψικών εκχυλισμάτων, με μεγάλη περιεκτικότητα σε τανίνη, που χρησιμοποιούνταν στην επεξεργασία των δερμάτων και την παραγωγή βαφικών ουσιών και μελάνης. Επιπλέον και ο φλοιός της βελανιδιάς είναι πλούσιος σε τανίνη, μια ουσία που χρησιμοποιείται στη βυρσοδεψία.

Η χρησιμότητα της είναι πάρα πολύ σημαντική. Το ξύλο της χρησιμοποιείται για ξυλουργικές εργασίες όπως επίσης και για υποστηρίγματα στις γραμμές των σιδηροδρόμων. Το κύριο είδος ζώου που αξιοποιεί τα δάση βελανιδιών είναι τα πρόβατα και κατά δεύτερο λόγο οι αίγες και τα βοοειδή. Στο παρελθόν, οι χοίροι ελεύθερης βοσκής ήταν από τα κύρια ζώα που αξιοποιούσαν τα βελανιδία (Παντέρα κ.α. 2002).

Η χημική σύσταση του πριονιδιού της βελανιδιάς όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 6 αποτελείται στο μεγαλύτερο ποσοστό της από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη (www.homedistiller.org/oak.pdf).

Πίνακας 6: Χημική σύσταση ξύλου βελανιδιάς (www.homedistiller.org/oak.pdf).

Συστατικά	(%)
Κυτταρίνη	38
Ημικυτταρίνη	29
Λιγνίνη	25
Εκχυλίσματα (λίπη, ταννίνες κλπ.)	4.4
Τέφρα (ανόργανα υλικά)	0.3

1.2.4. Η κυτταρίνη και η λιγνίνη: τα κύρια βιοαποδομήσιμα συστατικά των υπολειμμάτων

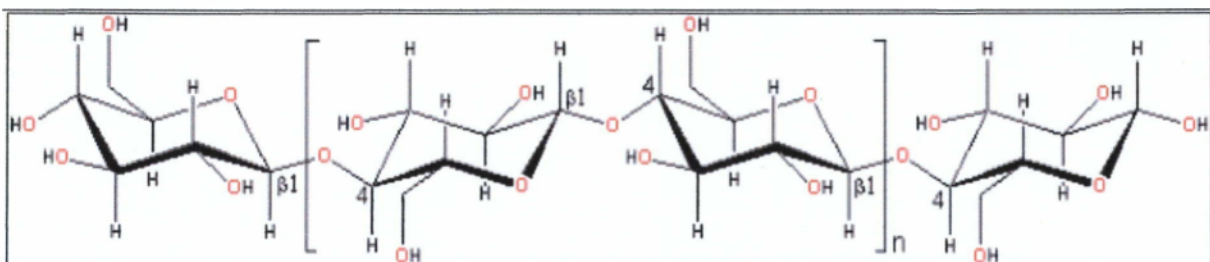
1.2.4.1. Κυτταρίνη

Η κυτταρίνη είναι μόριο πολύ μεγάλου μοριακού βάρους (300.000-500.000) και ανήκει στους μη σακχαροειδείς πολυσακχαρίτες. Είναι ο περισσότερο διαδομένος στη φύση υδατάνθρακας. Αποτελεί το κύριο συστατικό των τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων και συνοδεύεται και από άλλες ουσίες, όπως είναι η λιγνίνη, η ξυλίνη, τα πυριτικά άλατα κλπ. Καθαρή κυτταρίνη βρίσκεται στα τοιχώματα νεαρών κυττάρων και κυρίως στο βαμβάκι.

Γενικά, η περιεκτικότητα της στο σύνολο της φυτικής βλάστησης κυμαίνεται από 15-50%. Η κυτταρίνη δεν είναι θρεπτική ύλη για τον άνθρωπο και τα σαρκοφάγα ζώα, επειδή ο οργανισμός τους δε διαθέτει τα κατάλληλα ένζυμα (κυτταρινάσες) για την υδρόλυσή της. Έτσι η κυτταρίνη που τυχόν λαμβάνεται, είτε αποβάλλεται αυτούσια είτε διασπάται στα έντερα προς CH_4 , CO_2 και H_2O (www.xhnikos.gr).

Αντίθετα, η κυτταρίνη αφομοιώνεται από τα φυτοφάγα ζώα και αποτελεί τροφή για αυτά. Επειδή διαθέτει ελεύθερα αλκοολικά υδροξύλια, όπως το άμυλο, δίνει διάφορα παράγωγα, όπως εστέρες, αιθέρες κτλ. που βρίσκουν σημαντικές εφαρμογές. Η συνένωση των μορίων της γλυκόζης, ώστε να σχηματισθεί η κυτταρίνη γίνεται έτσι, ώστε στο μόριο της κυτταρίνης κάθε μόριο γλυκόζης να διατηρεί 3 ελεύθερα αλκοολικά υδροξύλια. Έτσι με επίδραση οξέων η κυτταρίνη σχηματίζει εστέρες (νιτρικούς, οξικούς κλπ.).

Η κυτταρίνη είναι ένα πολυμερές της γλυκόζης όπου οι δομικές μονάδες είναι ενωμένες με β -1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς. Οι αλυσίδες της κυτταρίνης που είναι γραμμικές, περιέχουν από 8.000-12.000 μόρια γλυκόζης (με ένα μέσο όρο 3.000) και συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου. Το μόριο της κυτταρίνης έχει περιοχές 'κρυσταλλικές', με παράλληλη διάταξη των αλυσίδων και δεσμούς υδρογόνου, και περιοχές 'άμορφες' όπου οι αλυσίδες δεν είναι παράλληλες. Όταν η κυτταρίνη απορροφά νερό, οι άμορφες περιοχές διογκώνονται ενώ στις κρυσταλλικές περιοχές η διόγκωση εμποδίζεται. Η διόγκωση αυτή της κυτταρίνης διευκολύνει πάρα πολύ την δράση των κυτταρινολυτικών ενζύμων (Γαλιώτου-Παναγιώτου 2002).



Σχήμα 2: Σχηματική δομή της κυτταρίνης (www.isbu.ac.uk/water/hycel).

Οι παράγοντες που επιδρούν στη βιολογική αποδόμηση της κυτταρίνης είναι οι ακόλουθοι:

(α) Διαθέσιμο άζωτο

Η προσφορά ανόργανου αζώτου ευνοεί και αυξάνει την αποσύνθεση της κυτταρίνης. Ο ρυθμός αποδόμησης είναι ανάλογος του προστιθέμενου αζώτου μέχρι ενός ορίου. Επίσης

η χρησιμοποίηση κόπρου ή οργανικού αζώτου όπως, ουρίας, αμινοξέων, πεπτόνης και καζεΐνης αυξάνει το ποσοστό αποσύνθεσης της κυτταρίνης.

(β) Θερμοκρασία περιβάλλοντος

Η βιολογική αποδόμηση της κυτταρίνης μπορεί να συμβεί σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, αρχίζοντας από αυτές που βρίσκονται κοντά στους 0°C μέχρι εκείνες που πλησιάζουν τα όρια αντοχής των περισσότερων μικροοργανισμών, δηλαδή από 5°C έως 65°C. Ανάλογα δε με την επικρατούσα θερμοκρασία περιβάλλοντος επικρατούν και οι ανάλογοι κυτταρινολυτικοί μικροοργανισμοί.

(γ) Αερισμός

Ο αερισμός επιδρά στη σύνθεση της ενεργού μικροχλωρίδας που διασπά την κυτταρίνη. Σε αερόβιες συνθήκες επικρατούν οι αερόβιοι μικροοργανισμοί, ενώ σε συνθήκες απουσίας αέρος τα αναερόβια βακτήρια.

(δ) Υγρασία

Η υγρασία επίσης αποτελεί έναν παράγοντα διαφοροποίησης της ενεργού χλωρίδας. Ιδιαίτερα για τους μικροοργανισμούς του εδάφους που χρησιμοποιούν την κυτταρίνη σαν πηγή άνθρακα, η υψηλή υγρασία σημαίνει χαμηλό επίπεδο οξυγόνου με συνέπεια να επικρατούν αναερόβια βακτήρια. Αντίθετα σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας έχουμε αυξημένο ποσοστό οξυγόνου και επικρατούν αερόβιοι μύκητες και αερόβια βακτήρια.

(ε) pH

Σε περιβάλλον με ουδέτερο ή αλκαλικό pH, πολλοί μικροοργανισμοί είναι δυνατόν να αναπτυχθούν και να απελευθερώσουν τα κατάλληλα ένζυμα για την υδρόλυση της κυτταρίνης. Σε όξινο όμως περιβάλλον η απομάκρυνση της κυτταρίνης οφείλεται κυρίως στη δράση των μυκήτων.

(στ) Επίδραση άλλων πολυσακχαριτών και ιδιαίτερα της λιγνίνης

Πολλοί μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε πτωχά θρεπτικά υλικά που περιέχουν καθαρή κυτταρίνη σαν τη μοναδική πηγή άνθρακα, ενώ αντίθετα οι ίδιοι μικροοργανισμοί (π.χ. τα βακτήρια) σε αποστειρωμένα φυτικά υλικά χρησιμοποιούν έντονα άλλους πολυσακχαρίτες. Οι ξυλάνες και οι άλλοι υδατάνθρακες που απαντούν στα φυτικά υλικά επιταχύνουν τον μεταβολισμό της κυτταρίνης. Αντίθετα όταν η περιεκτικότητα σε λιγνίνη είναι υψηλή παρατηρείται μείωση της κυτταρινολυτικής δραστηριότητας ορισμένων

μικροοργανισμών. Το γεγονός αυτό εξηγείται, λόγω της στενής σύνδεσης των μορίων κυτταρίνης και λιγνίνης στο κυτταρικό τοίχωμα του κυτταρικού ιστού, στον οποίο η λιγνίνη λειτουργεί σαν διαχωριστική επίστρωση που παρεμποδίζει την αποδόμηση της κυτταρίνης.

Τέλος, τόσο το άμυλο όσο και η κυτταρίνη είναι πολυμερή της γλυκόζης αλλά, οι δομικές ιδιαιτερότητες των δύο αυτών μορίων επιτρέπουν ευκολότερη μικροβιακή προσβολή του πρώτου από ό,τι το δεύτερο. Έτσι, οι δύο αυτοί πολυσακχαρίτες δραστηριοποιούν εντελώς διαφορετικούς πληθυσμούς.

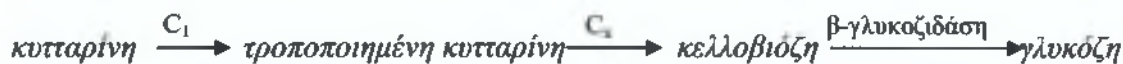
Οι μύκητες από την άποψη της συμβολής τους στην αποδόμηση της κυτταρίνης στο έδαφος, ιδιαίτερα σε έδαφος με $pH < 5,5$ αποτελούν το σημαντικότερο κλάσμα της μικροβιακής χλωρίδας. Ακόμα είναι από παλιά γνωστό ότι οι μύκητες είναι υπεύθυνοι για τη σήψη του ξύλου. Η λευκή σήψη (white rot), περιγράφηκε για πρώτη φορά σαν καταστρεπτική και διαβρωτική σήψη προκαλούμενη από βασιδιομύκητες. Η ομάδα των μυκήτων λευκής σήψης είναι μια ετερόκλητη ομάδα μικροοργανισμών με κοινή ιδιότητα την αποσύνθεση λιγνίνης και κυτταρίνης

Οι μικροοργανισμοί της σήψης του ξύλου εμφανίζουν ποικίλες ιδιότητες που τους προσδίδουν πλήθος δυνατοτήτων όπως: α) ικανότητα χρησιμοποίησης μικρών ποσοτήτων αζώτου που υπάρχουν στο ξύλο (ο λόγος C:N του ξύλου είναι 350:1 έως 1250:1) ή πιθανά ικανότητα δέσμευσης ατμοσφαιρικού αζώτου, β) δυνατότητα αύξησης σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου ή σε υψηλή υγρασία ξύλου, γ) ικανότητα αποσύνθεσης υλικών όπως λιγνίνη, ρητίνη, κηροί, δ) αντοχή σε διάφορα τοξικά συστατικά του ξύλου.

Το πρώτο βήμα στην αποδόμηση της κυτταρίνης είναι η ενζυματική υδρόλυση του πολυμερούς. Στο ενζυμικό σύστημα που στην πραγματικότητα περιλαμβάνει μια ομάδα διαφόρων ενζύμων, έχει δοθεί το όνομα κυτταρινάση (Alexander 1977). Η κυτταρινάση καταλύει την μετατροπή της αδιάλυτης κυτταρίνης σε απλούς υδατοδιαλυτούς μόνο- ή δισακχαρίτες, μια αντίδραση χαρακτηριστική του συνόλου της κυτταρινολυτικής μικροχλωρίδας. Το σύστημα των κυτταρινασών καταλύει την υδρόλυση μιας ολόκληρης τάξης ενώσεων στις οποίες οι μονάδες γλυκόζης ενώνονται με δεσμούς τύπου β (1-4). Τα επόμενα βήματα ποικίλουν ανάλογα με τον οργανισμό, και τα απλά σάκχαρα μεταβολίζονται σε CO_2 από τους αερόβιους μικροοργανισμούς.

Το καταλυτικό σύστημα που χρειάζεται ένας μικροοργανισμός για να μετατρέψει την κυτταρίνη σε απλά σάκχαρα περιλαμβάνει τρεις τύπους ενζύμων: α) κελλοβιουδρόλαση, β) β (1 - 4) γλυκανάση και γ) β-γλυκοζιδάση.

Από τις πρώτες έρευνες που έγιναν πάνω στην υδρόλυση της κυτταρίνης, επεκράτησε η άποψη της ύπαρξης δύο σταδίων στη διαδικασία αυτή όπως φαίνεται και στο πιο κάτω σχήμα.

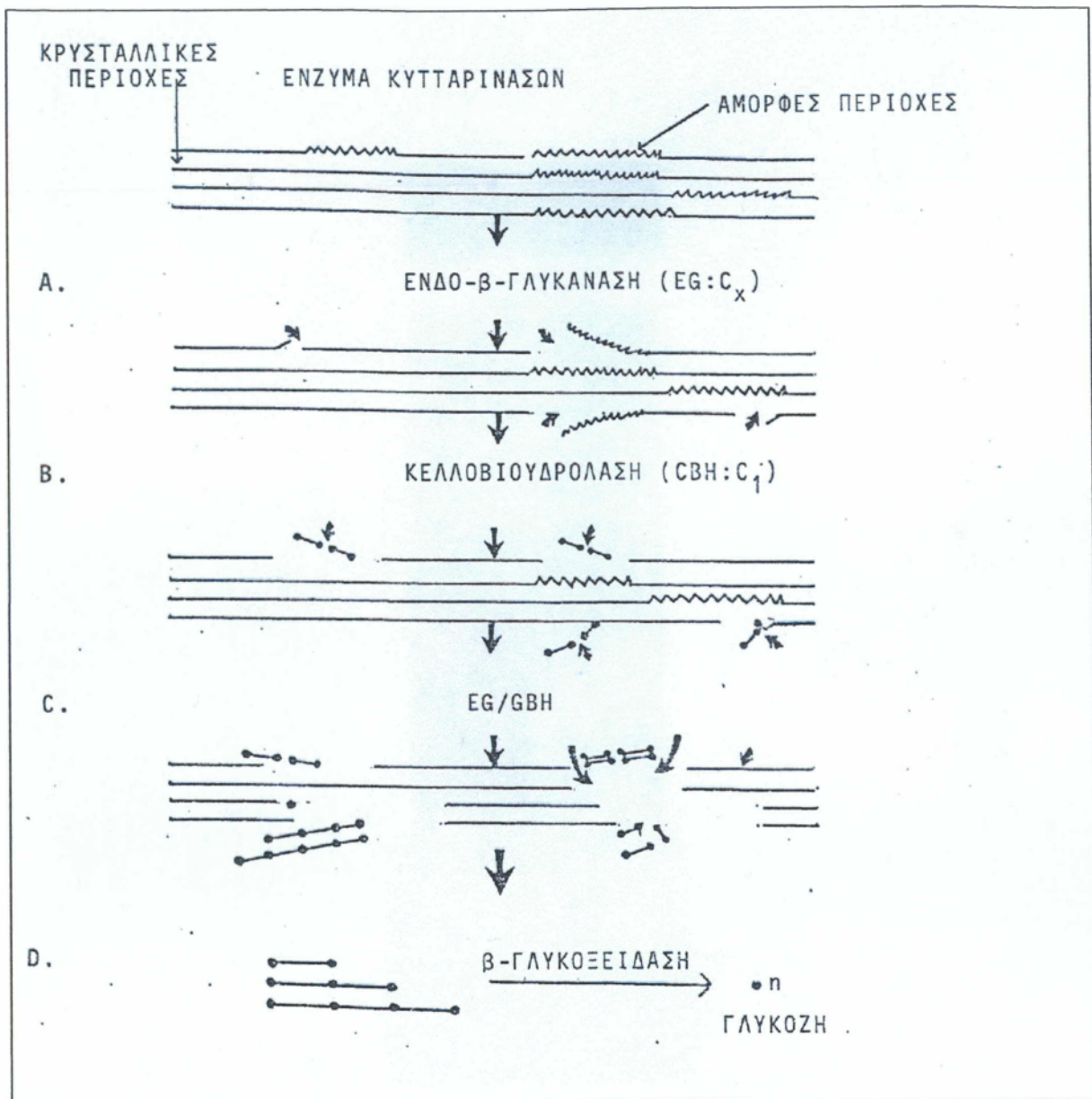


Στο πρώτο γίνεται μια ενεργοποίηση της κυτταρίνης από ένα μη υδρολυτικό ένζυμο που ονομάστηκε C_1 και στη συνέχεια δρουν τα υδρολυτικά ένζυμα που ονομάστηκαν C_x στα διάφορα παράγωγα της κυτταρίνης όπως είναι καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη, κυτταρίνη με φωσφορικό οξύ κ.λ.π. (Γαλιώτου-Παναγιώτου 2002).

Στο Σχήμα 3 διατυπώνεται ένα υποθετικό μοντέλο σχετικά με την επίδραση του συστήματος των 'κυτταρινασών' επί της άθικτης κυτταρίνης. Όπως είναι φανερό από την παρακάτω σχηματική παράσταση η ενδο-β-γλυκανάση (E.G.: C_x) επιτίθεται αρχικά τυχαία στο μεγαλομόριο της κυτταρίνης προκαλώντας διάσπαση αυτού. Ακολουθεί προσβολή της κελλοβιο-υδρολάσης (C.B.H.: C_1) η οποία προκαλεί ελευθέρωση κελλοβιόζης από το μη αναγωγικό άκρο της αλυσίδας της κυτταρίνης. Η ακολουθούσα συνεργιστική δράση της ενδο-β-γλυκανάσης και της κελλοβιο-υδρολάσης οδηγεί στη μετατροπή του πολυσακχαρίτη σε κελλοβιόζη και μερικούς ολιγοσακχαρίτες. Τέλος, η επίδραση της β-γλυκοξειδάσης που ακολουθεί μας δίδει τις δομικές μονάδες από τις οποίες αποτελείται η κυτταρίνη, δηλαδή μονάδες γλυκόζης (Σαμαρά 1988).

Σήμερα επικρατεί η άποψη ότι οι τρεις τύποι ενζύμων είναι υπεύθυνοι για την υδρόλυση της κυτταρίνης. Τα ένζυμα αυτά είναι, ενδογλυκανάση, κελλοβιουδρολάση και β-γλυκοζιδάση. Είναι ένζυμα υδρολυτικά και δρουν είτε συγχρόνως είτε το ένα μετά το άλλο. Η ενδογλυκανάση δεν δρα στην κρυσταλλική κυτταρίνη αλλά στα παράγωγα της και μάλιστα στις άμορφες περιοχές. Η κελλοβιουδρολάση δρα στην κρυσταλλική κυτταρίνη και κυρίως μετά την δράση της ενδογλυκανάσης πάνω στα καινούργια άκρα των αλυσίδων (σύγχρονη δράση των δύο ενζύμων). Τέλος, η β-γλυκοζιδάση συμπληρώνει την δράση απομακρύνοντας την κελλοβιόζη, η οποία είναι παρεμποδιστής των δύο άλλων ενζύμων, με υδρόλυση παράγοντας γλυκόζη. Εκείνο που έχει τονιστεί από τους ερευνητές, είναι ότι η ενδογλυκανάση και η κελλοβιουδρολάση δρουν συνεργιστικά δημιουργώντας περιοχές δράσης η μια στην άλλη. Ενώ η υδρόλυση της φυσικής κυτταρίνης από μεμονωμένα

ένζυμα είναι μόλις 1-2%, με τη δράση και των τριών ενζύμων να φθάνει το 71% (Γαλιώτου-Παναγιώτου 2002).



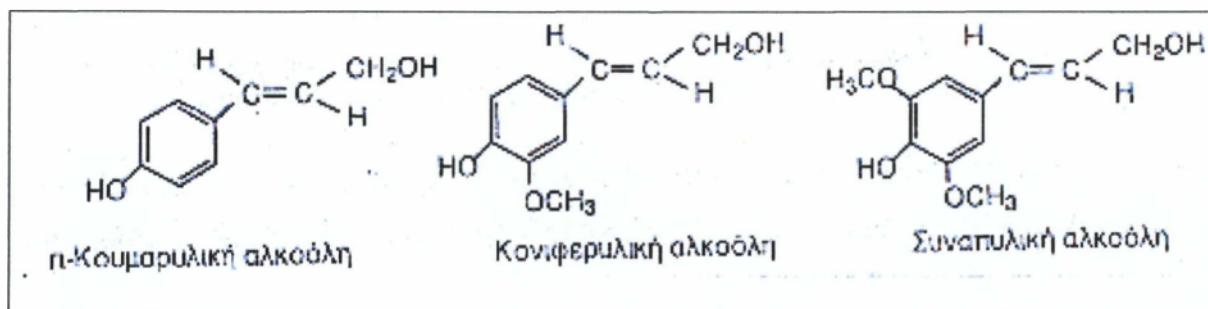
Σχήμα 3: Σχηματική παράσταση των ακολουθούμενων σταδίων κατά την κυτταρινόλυση (Σαμαρά 1988).

1.2.4.2. Λιγνίνη

Μετά την κυτταρίνη, η πιο διαδεδομένη οργανική ουσία στα φυτά είναι η λιγνίνη, ένα πολυδιακλαδιζόμενο πολυμερές της φαινυλοπροπανικής ομάδας. Έχει υπολογιστεί ότι το 15-20% του άνθρακα που δεσμεύεται στη βιομάζα κάθε χρόνο, τελικώς ενσωματώνεται σε αυτό το άκαμπτο πολυμερές του κυτταρικού τοιχώματος.

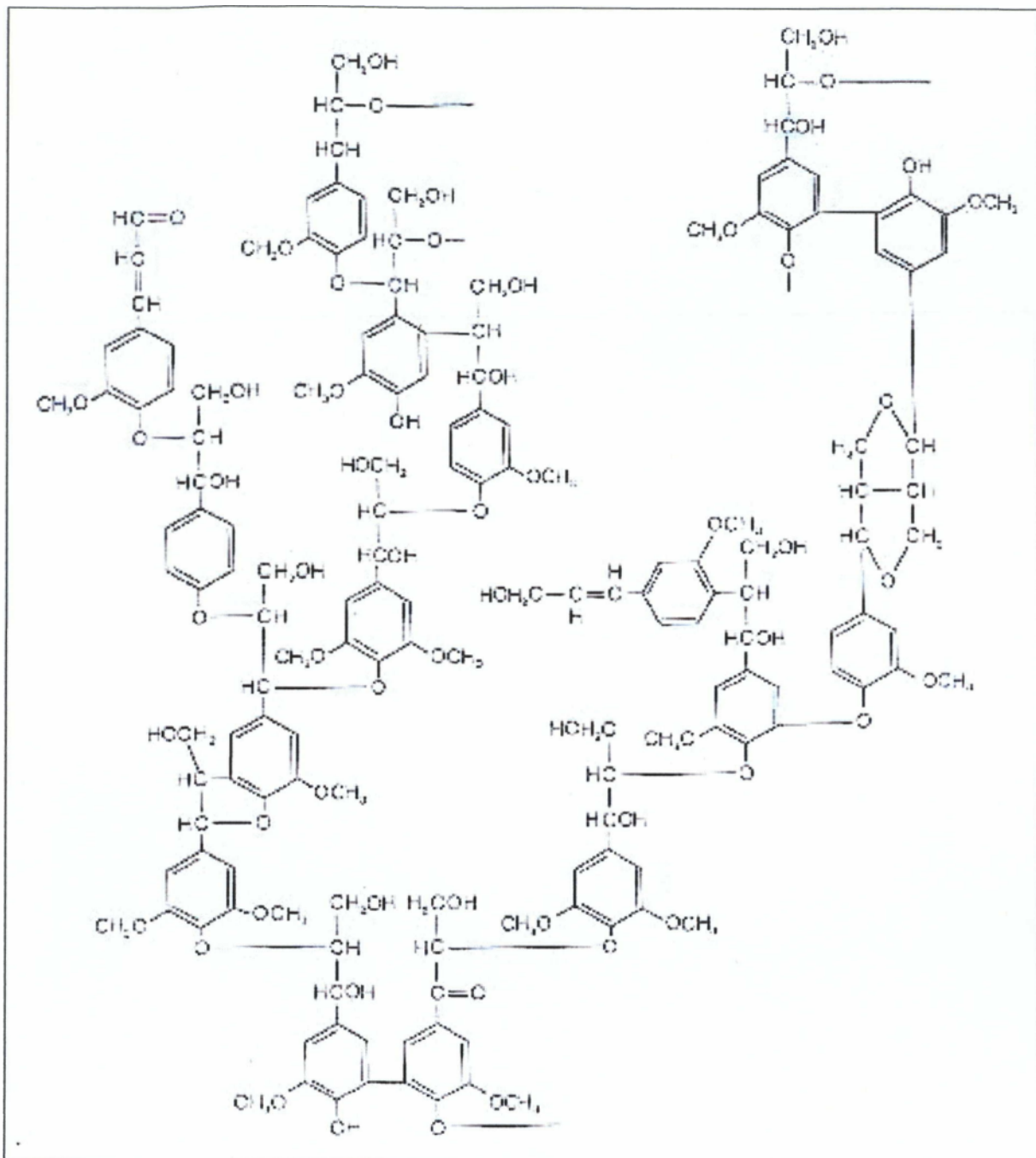
Η ακριβής δομή της λιγνίνης δεν είναι γνωστή, γιατί είναι δύσκολο να εκχυλιστεί η λιγνίνη από τα φυτά, αφού είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένη με την κυτταρίνη και άλλους πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος. Η λιγνίνη βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα των διαφόρων τύπων των στηρικτικών και αγωγών ιστών και κυρίως στις τραχειίδες και τα αγγεία του ξυλώματος. Η μηχανική ακαμψία που προσδίδει η λιγνίνη στους ενισχυμένους βλαστούς και τους αγγειώδεις ιστούς, επιτρέπει την αύξηση των φυτών προς τα άνω και επιπλέον επιτρέπει το νερό και τα διαλυμένα σε αυτό θρεπτικά στοιχεία να μεταφέρονται μέσω του ξυλώματος κάτω από αρνητικές πιέσεις, δίχως την κατάρρευση του βλαστού. Αυτή ακριβώς η ικανότητα της λιγνίνης επέτρεψε τη μεταφορά της φυτικής ζωής από το νερό στη ξηρά. Επίσης ζωτικής σημασίας ιδιότητα της λιγνίνης είναι η ισχυρή ανθεκτικότητα της στην υδρόλυση με οξέα. Είναι αδιάλυτη στους ουδέτερους οργανικούς διαλύτες, αλλά διαλυτή στα αλκάλια (Ander & Eriksson 1976).

Η λιγνίνη σχηματίζεται από τρεις διαφορετικές φαινυλοπροπανικές αλκοόλες, την κουμαρυλική, την κονιφερυλική και την συναπυλική αλκοόλη, οι οποίες συντίθενται από τη φαινυλαλίνη μέσω διαφόρων παραγόντων του κινναμωνικού οξέος (Σχήμα 4).



Σχήμα 4: Κοινά φαινολικά συστήματα που βρίσκονται στη λιγνίνη (Καραταγλής 1999).

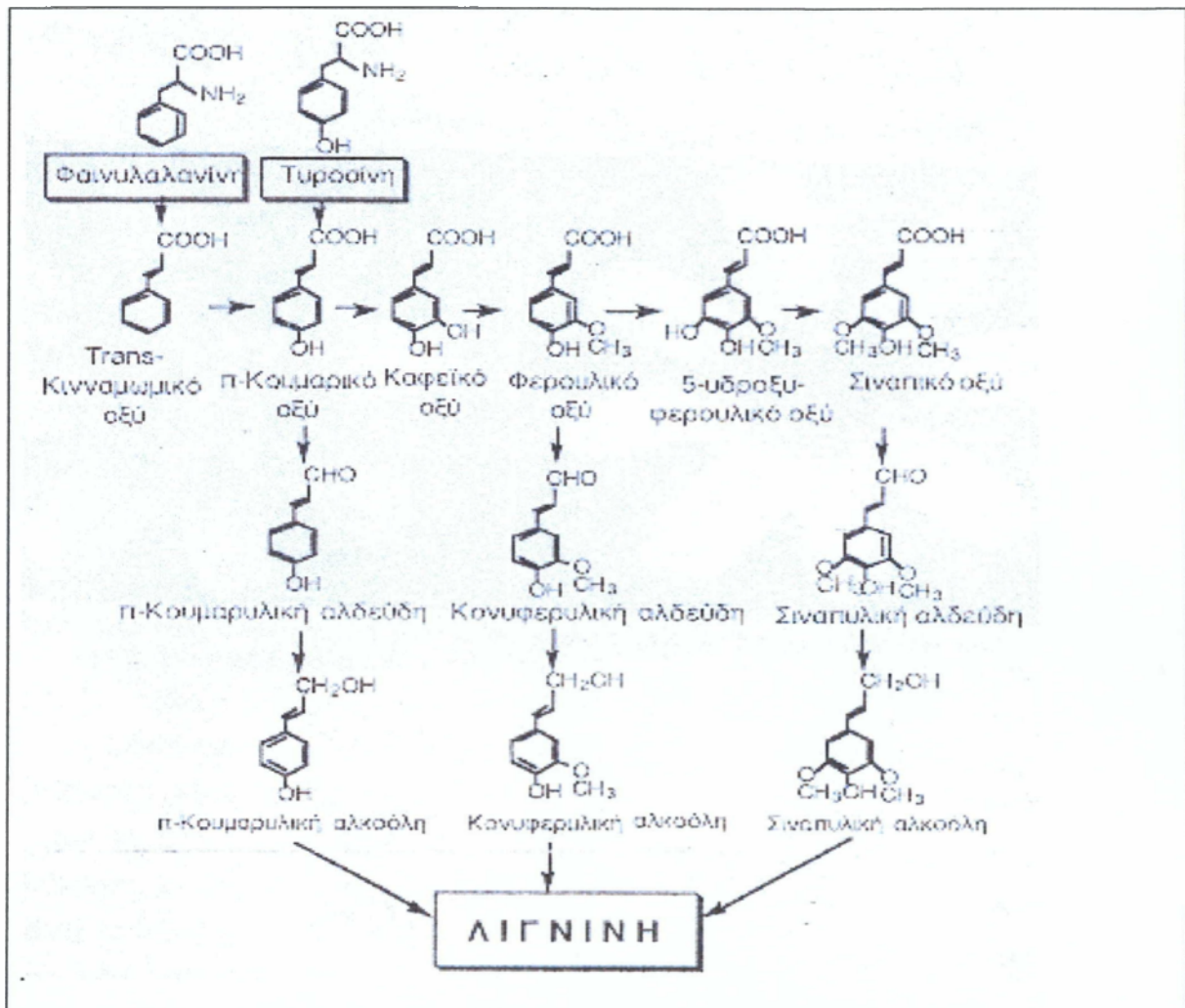
Οι φαινυλοπροπανικές αλκοόλες συνδέονται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίζουν ένα πολυμερές με τη βοήθεια της δράσης των ενζύμων της υπεροξειδάσης. Τα ένζυμα αυτά καταλύουν την οξείδωση των φαινυλοπροπανικών αλκοολών δημιουργώντας ελεύθερες ενδιάμεσες ρίζες, οι οποίες συνδυάζονται μη ενζυμικά, σε μια τυχαία μορφή για να δώσουν τη λιγνίνη. Υπάρχουν συχνά πολλαπλοί δεσμοί C – C και C – O – C σε κάθε μονάδα φαινυλοπροπανικής αλκοόλης στο μόριο της λιγνίνης, δημιουργώντας έτσι μια πολύπλοκη δομή, ώστε να σχηματίζεται ένα δίκτυο τριών διαστάσεων. Μια μερική δομή ενός υποθετικού μορίου λιγνίνης φαίνεται στο Σχήμα 5.



Σχήμα 5: Σχηματική δομή του μορίου της λιγνίνης (Καραταγλής 1999).

Αντίθετα με τα πολυμερή άμυλο και κυτταρίνη, οι δομικές μονάδες της λιγνίνης δε συνδέονται κατά ένα οργανωμένο, επαναλαμβανόμενο τρόπο και συνεπώς κάθε μόριο λιγνίνης μπορεί να είναι μοναδικό χωρίς να μπορεί να ταυτιστεί με κάποιο άλλο. Οι λιγνίνες δεν μπορούν να θεωρηθούν σαν ουσίες με ενιαία δομή, διότι εμφανίζουν σαφείς διαφορές μεταξύ τους σαν συστατικό διαφορετικών ειδών, γενεών και οικογενειών του φυτικού βασιλείου. Ακόμη και στο ίδιο φυτικό οργανισμό η χημική τους σύσταση μπορεί να διαφέρει έως ένα βαθμό, ανάλογα με το στάδιο ωριμότητας (Ander & Eriksson 1976).

Η εναπόθεση της λιγνίνης στο ξύλωμα αρχίζει στα κύτταρα που βρίσκονται μερικές στρώσεις εσωτερικά του καμβίου. Η βιοσύνθεση της λιγνίνης, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6 αρχίζει με τα κινναμωνικά οξέα, τα οποία αναγώμενα μετατρέπονται στις αντίστοιχες αλκοόλες. Στη συνέχεια οι αλκοόλες αυτές μετατρέπονται σε γλυκοζίτες, οπότε με τη μορφή αυτή μεταφέρονται στη θέση εναπόθεσης. Μόλις ο γλυκοζίτης φτάσει στους αγγειώδεις ιστούς, διασπάται από το ένζυμο β-γλυκοσιδάση και απελευθερώνονται οι αλκοόλες, οι οποίες ανάγονται ενζυμικά και στη συνέχεια πολυμερίζονται, σχηματίζοντας τη λιγνίνη (Καραταγλής 1999).



Σχήμα 6: Βιοσύνθεση λιγνίνης (Καραταγλής 1999)

Το κυρίαρχο μικροβιολογικό χαρακτηριστικό της λιγνίνης είναι η ανθεκτικότητα της στην ενζυματική αποδόμηση. Ο ρυθμός εξαφάνισής της είναι χαρακτηριστικά βραδύτερος από εκείνον που παρατηρείται στους πολυσακχαρίτες και η αποδόμησή της πραγματοποιείται είτε παρουσία είτε απουσία οξυγόνου. Στη διάρκεια της αποδόμησης η μικροχλωρίδα καταναλώνει με διαφορετικούς ρυθμούς τα διάφορα οργανικά συστατικά

και η λιγνίνη φαίνεται σαν το τελευταίο από αυτά, που υφίσταται οξείδωση. Ο ρυθμός και η έκταση της αποδόμησης της λιγνίνης επηρεάζεται από: (α) την θερμοκρασία, (β) τη διαθεσιμότητα του αζώτου, (γ) την παρουσία ή την απουσία οξυγόνου και (δ) το είδος των συστατικών της φυτικής μάζας που αποσυντίθεται.

Είναι ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι η λιγνίνη στα περισσότερα φυσικά οργανικά υλικά προστατεύει από την αποδόμηση ανθρακούχες ενώσεις συνδεδεμένες μαζί της. Αυτή η προστατευτική της δράση, δεν φαίνεται να έχει σχέση με κάποια μορφή τοξικότητας, αφού διάφορα παρασκευάσματα λιγνίνης δεν επιβραδύνουν τη μικροβιολογική αποδόμηση. Πιθανότατα η λιγνίνη λειτουργεί με την έννοια μιας επίστρωσης η οποία διαχωρίζει μηχανικά τους μικροοργανισμούς από τους υδατάνθρακες. Παρ' όλα αυτά, αυτή η αρωματική ουσία αποσυντίθεται από μύκητες και ιδιαίτερα βασιδιομύκητες. Πολλοί μύκητες ικανοί να αποσυνθέτουν λιγνίνη μπορούν επίσης να μεταβολίζουν και κυτταρίνη.

Ο μηχανισμός αποδόμησης της λιγνίνης, η βιοχημεία αυτής της διαδικασίας καθώς και συμμετέχων ενζυμικός μηχανισμός δεν έχουν ακόμη αποσαφηνισθεί εντελώς. Υπάρχουν ακόμα σημαντικές διαφωνίες σχετικά με την ταυτότητα των ενζύμων αποδόμησης της λιγνίνης. Συχνά όμως γίνεται αποδεκτό ότι ένζυμα γνωστά σαν φαινολοξειδάσες, λακκάσες και υπεροξειδάσες είναι οι υπεύθυνοι καταλύτες, ιδιαίτερα διότι είναι συνηθισμένα στους λιγνολυτικούς βασιδιομύκητες. Οι φαινολοξειδάσες οξειδώνουν αρωματικές ουσίες περιέχουσες ένα ή δύο υδροξύλια, οι λακκάσες οξειδώνουν μόνο αρωματικές ενώσεις με περισσότερες της μιας υδροξυλομάδες. Οι υπεροξειδάσες είναι ικανές επίσης να οξειδώνουν αρωματικά μόρια αλλά χρειάζονται την παρουσία H_2O_2 .

Σύμφωνα με άλλους ερευνητές το ενζυματικό σύστημα, το υπεύθυνο για τη διάσπαση των λιγνινών είναι εκείνο των φαινολοξειδάσων. Οι φαινολοξειδάσες (στις οποίες περιλαμβάνεται η λακκάση και η τυρονινάση) οξειδώνουν φαινόλες και άλλα υποστρώματα με μοριακό οξυγόνο, με παραγωγή νερού και χρωστικών, που πολυμερίζονται και σχηματίζουν χρώματα όμοια με τη μελανίνη.

Η λακκάση οξειδώνει κυρίως διφαινόλες παράγοντας ελεύθερες ρίζες και κινόνες, ενώ η τυροσινάση είναι σε θέση να οξειδώσει μονοφαινόλες (δράση κρεοσολάσης) προς διφαινόλες, που κατόπιν οξειδώνονται περαιτέρω προς κινόνες (δράση κατεχολάσης). Γενικά πιστεύεται ότι τα παραπάνω ένζυμα διασπούν αιθερικούς δεσμούς, απομακρύνουν πλάγιες αλυσίδες και προκαλούν απώλειες μεθοξυλομάδων παράγοντας απλές αρωματικές ουσίες, όπως βανιλίνη, βανιλλικό οξύ και φερουλικό. Αυτές οι τελευταίες χρησιμοποιούνται σαν πηγές άνθρακα, από πολλούς μύκητες και μετατρέπονται σε

πρωτοκατεχικό οξύ. Αυτή η αρωματική ένωση μπορεί πράγματι να υποστεί διάσπαση του βενζολικού δακτυλίου. Είναι λοιπόν σαφές ότι οι λακκάσες είναι ένζυμα κλειδιά για τους βασιδιομύκητες και η ενεργότητα τους επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως : α) pH, β) θερμοκρασία, γ) συνάφεια υποστρώματος – ενζύμου και δ) παρουσία απλών φαινολών.

Τέλος είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφερθεί ότι οι λακκάσες των μυκήτων λευκής σήψης, φαίνεται να είναι επίσης απαραίτητες και για τη διάσπαση της κυτταρίνης. Παράγουν τις κινόνες που μαζί με την κελλοβιόζη, αποτελούν το υπόστρωμα της κελλοβιο-δεϋδρογενάσης που διασπά την κυτταρίνη (Ander & Eriksson 1976).

Συμπερασματικά αναφέρουμε ότι το λιγνολυτικό σύστημα των μυκήτων λευκής σήψεως είναι κατά μεγάλο μέρος οξειδωτικό και μη εξειδικευμένο. Τα ένζυμα που εμπλέκονται είναι οξειδωτικά, εξωκυτταρικά. Ένζυμα όπως η λιγνινάση (ligninase), η υπεροξειδάση του μαγγανίου (manganese peroxidase) και η λακκάση (laccase) μπορούν να χαρακτηρισθούν ως φαινολοξειδάσες.

Αμφότερες η λιγνινάση και η υπεροξειδάση του μαγγανίου ανήκουν στην κλάση των υπεροξειδασών. Λόγω του υψηλού δυναμικού οξειδοαναγωγής η λιγνινάση δρα κατά προτίμηση σε μη φαινολικές αλλά υποκαταστημένες με μεθοξύλιο υπομονάδες της λιγνίνης, τουναντίον η υπεροξειδάση του Μn δρα αποκλειστικά ως φαινολοξειδάση σε φαινολικά υποστρώματα. Η οξείδωση φαινολικών υποστρωμάτων από την λιγνινάση οδηγεί στον πολυμερισμό τους. Η διάσπαση των αρωματικών δακτυλίων αποτελεί ουσιαστικό γεγονός για την ανοργανοποίηση της λιγνίνης. Οι αλκοξυλικές ομάδες, ενεργοποιούν τους αρωματικούς δακτυλίους ως προς την οξείδωση τους από την λιγνινάση και έτσι μερικώς εξηγείται γιατί η σφιγγυλική λιγνίνη αποδομείται ευκολότερα από την γουαγιακυλική λιγνίνη.

Η λακκάση είναι μια πραγματική φαινολοξειδάση με μικρή εκλεκτικότητα στα υποστρώματα. Οξειδώνει φαινόλες και φαινολικές υπομονάδες της λιγνίνης με την απόσπαση ενός ηλεκτρονίου και τον σχηματισμό ριζών οι οποίες μπορούν να επαναπολυμεριστούν ή να οδηγήσουν σε αποπολυμερισμό.

Είναι λοιπόν φανερό ότι οι μύκητες λευκής σήψεως επιτυγχάνουν την βιοαποδόμηση της λιγνίνης με διάφορους ξεχωριστούς συνδιασμούς οξειδασών και υπεροξειδασών (Γιατράς 1996).

1.2.4.3. Λιγνινοκυτταρινόλυση και αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών υπολειμμάτων μέσω της καλλιέργειας μανιταριών

Η καλλιέργεια μανιταριών αποτελεί σήμερα την πλέον βιομηχανοποιημένη μορφή γεωργικής εκμετάλλευσης στην οποία εφαρμόζεται η μικροβιακή τεχνολογία για την επικερδή βιομετατροπή λιγνινοκυτταρινούχων υπολειμμάτων και αποβλήτων της γεωργίας ή της δασοκομίας σε προϊόντα υψηλής διαιτητικής και προστιθέμενης αξίας. Τα γεωργικά υπολείμματα είναι πλούσια σε κυτταρίνη και λιγνίνη και η βιο-αποδόμησή τους από τα καλλιεργούμενα μανιτάρια βασίζεται στην ικανότητά τους να παράγουν τα αντίστοιχα ένζυμα (κυτταρινάσες, λακκάσες, υπεροξειδάση της λιγνίνης, υπεροξειδάση του μαγγανίου κ.α.).

Οι μύκητες λευκής σήψης (βασιδιομύκητες) στους οποίους ανήκει και ο *Lentinula edodes* είναι οι μόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι μπορούν να αποδομήσουν αμφότερες την κυτταρίνη και τη λιγνίνη, μερικοί μάλιστα από αυτούς αποδομούν επιλεκτικά τη λιγνίνη (Γιατράς 1996).

Μεταξύ των υπολειμμάτων ιδιαίτερη σημασία για τη χώρα μας έχουν τα άχυρα σιτηρών και ψυχανθών, υπολείμματα εκκοκισμού βαμβακιού, υπολείμματα από τη διαδικασία εξαγωγής της ζάχαρης, σπάδικες και στελέχη καλαμποκιού, στελέχη ηλίανθου, παραπροϊόντα της διαδικασίας εξαγωγής του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο (πυρηνόξυλο), τα στέμφυλα οиноποιίας κ.α. Η παραδοσιακή χρήση αυτών των υπολειμμάτων-υποπροϊόντων είναι η απευθείας χρησιμοποίησή τους ως ζωοτροφή ή ως συστατικά αυτής, ενώ ακόμη και σήμερα τα υπολείμματα αυτά καίγονται ή παραμένουν για αποσύνθεση στον αγρό, δημιουργώντας έτσι περιβαλλοντικά και οικολογικά προβλήματα. Παρ' όλα αυτά είναι πλούσια σε οργανική ουσία και ανόργανα στοιχεία, γεγονός που επιτρέπει την ανάπτυξη μεθόδων για αξιοποίησή τους μέσω της κομποστοποίησης για παραγωγή φυτοχωμάτων και βελτιωτικών εδάφους και της χρησιμοποίησής τους σαν υποστρώματα για την καλλιέργεια μανιταριών (Zervakis & Philippoussis 2000).

1.3. ΕΙΔΗ ΕΜΒΟΛΙΟΥ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ *L. EDODES*

1.3.1. Ιστορική αναδρομή

Στις αρχικές προσπάθειες καλλιέργειας του μανιταριού *L. edodes* στην Ιαπωνία (1500 και 1600 A.D.) η διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε ήταν η δημιουργία τομών σε κούτσουρα δένδρων ('Hodagi'), οι οποίες χρησίμευαν σαν δίοδο για την είσοδο στο εσωτερικό των κορμών αιωρούμενων στον αέρα σπορίων μανιταριού. Οι καλλιεργητές έπρεπε υπομονετικά να περιμένουν το μυκήλιο του *L. edodes* να απλωθεί σε ολόκληρο το κούτσουρο και στη συνέχεια να δώσει τις πρώτες καρποφορίες. Στην ερασιτεχνική αυτή μέθοδο καλλιέργειας του *L. edodes*, που χαρακτηρίζεται κυρίως από την έλλειψη εμβολίου, υπήρχε μεγάλη εξάρτηση από τα φυσικά φαινόμενα, οπότε η παραγωγή των μανιταριών ήταν, ως αναμενόμενο, ασταθής και συνήθως μικρή.

Προς τα τέλη του 19^{ου} αιώνα, άρχισε να γίνεται από τους καλλιεργητές αναπαραγωγή των σπορίων του *L. edodes* όπου μετά από πειραματισμούς αποδείχτηκε ότι η μέθοδος του εμβολιασμού με καθαρή καλλιέργεια σπόρου πριονιδιού ήταν ασφαλής και επιτυχημένη. Αρχικά το μυκήλιο του *L. edodes* αναπτύσσονταν σε ροκανίδι-πριονίδι βελανιδιάς, σε τεμάχια ξύλου ή για μεγαλύτερη απόδοση σε μικρά κομμάτια ξύλου ('wood chip spawn' ή 'tanegoma'). Στη συνέχεια, την άνοιξη ο σπόρος τοποθετείτο μέσα σε οπές των κορμών των δένδρων που είχαν ανοιχθεί για τον σκοπό αυτό, όπου αναπτυσσόταν το μυκήλιο και με τον καιρό, παρήγαγε τις καρποφορίες των μανιταριών. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποίησης σπόρου μανιταριού σε πριονίδι βελανιδιάς εφαρμόστηκε γρήγορα σε όλες τις περιοχές της Ιαπωνίας και η καλλιέργεια του *L. edodes* έγινε από ερασιτεχνική επαγγελματική, με μεγάλη παραγωγή μανιταριών, κάτι που αύξησε και τη ζήτηση του προϊόντος.

Στη συνέχεια, μελέτες για την σεξουαλικότητα και την γενετική του *L. edodes* από τους Nishikado & Yamuti (1935, 1961), Mori κ.α. (1972), Tanaka & Koga (1972) βοήθησαν ώστε η καλλιέργεια του *L. edodes* να γίνει σε μια πιο επιστημονική βάση. Για παράδειγμα, το 1920 ο Kitayama ανέπτυξε σπόρο από καθαρή καλλιέργεια μυκηλίου μανιταριού, η οποία ήταν γενετικά ομοιόμορφη, συμβάλλοντας έτσι στην επιλογή και αναπαραγωγή σπόρου με βελτιωμένη ζωτικότητα και υψηλότερες αποδόσεις. Επίσης, το 1943 ο Mori παρουσίασε αποστειρωμένες ξύλινες φέτες που είχαν αποικηθεί από καθαρή καλλιέργεια του *L. edodes* και οι οποίες τοποθετήθηκαν σε σχισμές κούτσουρων.

Χρησιμοποιώντας αυτή τη μέθοδο, παρατηρήθηκε γρήγορος και επιτυχής αποικισμός των κορμών από το μυκήλιο και πιο αξιόπιστες αποδόσεις, επιτρέποντας την γρήγορη ανάπτυξη της καλλιέργειας του μανιταριού *L. edodes* στην Ιαπωνία. Αργότερα, οι ξύλινες φέτες αντικαταστάθηκαν από ξύλινα πάματα τα οποία εισάγονταν σε οπές που είχαν ανοιχτεί στα κούτσουρα για τον σκοπό αυτό, γεγονός που ελάττωσε τον χρόνο εμβολιασμού και τον έκανε πιο επιτυχή.

Επιπλέον, με την χρησιμοποίηση εναλλακτικών υποστρωμάτων σε σάκους αντί της παραδοσιακής μεθόδου με κορμούς δέντρων, πολλά είδη *L. edodes* αναπτύχθηκαν χάρις στη χρησιμοποίηση της μεθόδου του σπόρου του πριονιδιού.

1.3.2. Εισαγωγή στη δημιουργία εμβολίου μανιταριού ('σπόρου') *L. edodes*

Για τη δημιουργία 'σπόρου μανιταριού' *L. edodes*, πρώτα απ' όλα καλλιεργείται το μυκήλιο του *L. edodes* σε θρεπτικό άγαρ που έχει προηγουμένως αποστειρωθεί και απλωθεί σε τρυβλεία πετρί, γυάλινα φιαλίδια ή δοκιμαστικούς σωλήνες. Μόλις το μυκήλιο καθαρής καλλιέργειας μύκητα αποικήσει όλη την επιφάνεια του τρυβλείου, τεμαχίζεται χειρονακτικά ή τοποθετείται για το σκοπό αυτό σε αναδευτήρα με απιονισμένο-αποστειρωμένο νερό, όποτε στην πρώτη περίπτωση μπορούν να εμβολιαστούν 10 lt σπόρων δημητριακών, ενώ στη δεύτερη περίπτωση 40-100 lt. Αν στα αρχικά στάδια παραγωγής του σπόρου εμφανιστεί μόλυνση, τότε αυτή θα εξαπλωθεί σε ολόκληρο το μυκήλιο με γρήγορο ρυθμό καθιστώντας τον σπόρο ακατάλληλο. Συνεπώς, θα πρέπει να λαμβάνεται μεγάλη προσοχή στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του σπόρου.

Ο όρος 'σπόρος μανιταριού σε δημητριακά' συνήθως αναφέρεται σε εμβόλιο μυκηλίου μανιταριού ανεπτυγμένο σε κόκκους δημητριακών (κεχρί, βρώμη, σιτάρι, σόργο). Είναι πολύ διαδεδομένη μέθοδος κατά την οποία βάζα, μπουκάλια ή σάκοι με αποστειρωμένους σπόρους δημητριακών εμβολιάζονται με το μυκήλιο του μύκητα. Μόλις ολοκληρωθεί η επώαση, κάθε βάζο μπορεί να εμβολιάσει τις αρχικές ποσότητες σπόρου μέχρι και για 3 γενεές. Επίσης, μυκήλιο του μανιταριού *L. edodes* χρησιμοποιείται και για τη δημιουργία 'σπόρου υγρής καλλιέργειας μυκηλίου'. Κατά την καλλιέργεια του *L. edodes* σε γεωργικά υπολείμματα σε σάκους, χρησιμοποιείται κυρίως το εμβόλιο σε σπόρο δημητριακών (Stamets 2000) και δευτερευόντως εμβόλιο πριονιδιού (Przybylowicz & Donoghe 1990) ή υγρή καλλιέργεια μυκηλίου. Τέλος, τεμάχια ξύλου χρησιμοποιούνται συνήθως υπό μορφή τάπας που τοποθετούνται μέσα σε τρύπες του ξύλου με σφυρί, οι διαστάσεις των οποίων είναι αναλόγως το μέγεθος του εμβολίου. (Tatsuziro 1978).

1.3.3. Εμβόλιο σε σπόρο δημητριακών

Η χρησιμοποίηση δημητριακών στην παραγωγή του σπόρου μανιταριού είχε ως στόχο και σκοπό την αύξηση της ποσότητας του μυκηλίου του μανιταριού σε τέτοιο βαθμό, ώστε να μπορεί να εισαχθεί σε ένα ογκώδες υπόστρωμα και να το αποικίσει γρήγορα και με επιτυχία. Το κεχρί χρησιμοποιείται σήμερα περισσότερο από κάθε άλλο δημητριακό στην παρασκευή του σπόρου μανιταριών (Ε.Σ.Κ.). Η σίκαλη και το σιτάρι είναι επίσης δημοφιλή δημητριακά για την δημιουργία του σπόρου, ουσιαστικά όμως μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλοι οι σπόροι των δημητριακών, όπως το σόργο και το καλαμπόκι (Stamets 2000).

Αρχικά, γίνεται διαλογή του σπόρου των δημητριακών στο εργαστήριο, ο οποίος θα πρέπει να είναι από 1 μέχρι 3 εβδομάδων, το πολύ 4 εβδομάδων και οτιδήποτε ασυνήθιστο απομακρύνεται. Τα δημητριακά που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του σπόρου δεν θα πρέπει να είναι μολυσμένα ή να περιέχουν μυκητοκτόνα ώστε το μυκήλιο να αναπτυχθεί ιδανικά (Stamets 2000). Αφού γίνει η διαλογή ο σπόρος αποστειρώνεται. Υπάρχουν δύο τρόποι για την προετοιμασία του σπόρου. Σύμφωνα με τον πρώτο τρόπο (Stamets 2000), οι σπόροι τοποθετούνται σε χύτρα με βρασμένο νερό, βράζονται για μια ώρα, στη συνέχεια αφού στραγγίσουν τοποθετούνται σε βάζα, κωνικές φιάλες ή σακούλες πολυπροπυλενίου που φέρουν ειδικά φίλτρα. Τα βάζα πωματίζονται με καπάκια που έχουν φίλτρα με μικρές οπές και οι κωνικές με βαμβάκι. Στο τέλος μεταφέρονται για αποστείρωση στο αυτόκαυστο. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως και προτείνεται από πολλούς παραγωγούς, καθώς θεωρείται βέβαιη η απορρόφηση της επιθυμητής ποσότητας υγρασίας και η συνεκτικότητα του σπόρου.

Όσο αναφορά στον δεύτερο τρόπο (Stamets 2000), οι σπόροι τοποθετούνται στα βάζα, προσθέτοντας ζεστό νερό και στη συνέχεια αφήνονται για διάστημα μιας νύχτας. Τα βάζα κλείνονται με καπάκια, τα οποία έχουν φίλτρα με μικρές οπές. Αφήνοντας τους σπόρους να εμποτιστούν με το νερό για 12-24 ώρες, τα βακτήρια γίνονται ευαίσθητα στη θερμική αποστείρωση. Επίσης, πριν την χρησιμοποίησή τους θα πρέπει να ελέγχονται και να απολυμαίνονται τα φίλτρα για τυχόν μολύνσεις. Την επόμενη μέρα τα βάζα ανακινούνται, ώστε να ανακατευτούν οι υγροί σπόροι με τους ξηρούς και τέλος τοποθετούνται για αποστείρωση. Ακόμη, το άμυλο και τα θρεπτικά συστατικά μπορούν να διατηρηθούν αρκεί το νερό να είναι καθαρό. Το πλεονέκτημα της δεύτερης μεθόδου έναντι της πρώτης είναι η ολοκλήρωση της διαδικασίας σε ένα βήμα. Οι υποστηρικτές της πρώτης μεθόδου όμως, διαφωνούν με την τεχνική της δεύτερης γιατί το ποσοστό της υγρασίας δεν μπορεί να καθοριστεί. Η περίσσεια σε νερό έχει σαν αποτέλεσμα οι σπόροι

να ανοίγουν και να γίνονται πιο ευαίσθητοι στις μολύνσεις. Ακόμη δημιουργούνται θέσεις περιορισμένης ανταλλαγής αερίων, η οποία ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων. Οι σπόροι που είναι άθικτοι, προστατευμένοι από την εξωτερική τους επιφάνεια, ευνοούν επλεκτικά την ανάπτυξη του νηματώδους μυκηλίου του μύκητα, παράγοντας έτσι εμβόλιο μανιταριού που διαχωρίζεται εύκολα με ανακίνηση. Σύμφωνα τον Stamets (2000) καμιά μέθοδος δεν υπερτερεί έναντι της άλλης.

Ανεξάρτητα της μεθόδου που χρησιμοποιείται, η περιεκτικότητα της υγρασίας στο τέλος της αποστείρωσης παίζει σημαντικό ρόλο στην επιτυχή αποίκιση του μυκηλίου. Εάν ο σπόρος είναι ξηρός, η επώαση επιβραδύνεται, ενώ υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία ενισχύει την ανάπτυξη των βακτηρίων. Επειδή ο σπόρος πρέπει να φτάσει στο καταναλωτή με υγρασία που κυμαίνεται από 8-15%, λιγότερο νερό προστίθεται από αυτό που αναμένεται, για να επιτευχθεί η επιθυμητή υγρασία στο τέλος της αποστείρωσης. Γενικά, χωρίς το κατάλληλο επίπεδο υγρασίας η ανάπτυξη του μυκηλίου στους σπόρους παρεμποδίζεται, ακόμη και αν οι υπόλοιπες τεχνικές είναι τέλειες. Οι άριστες τιμές υγρασίας για το σπόρο δημητριακών κυμαίνονται από 45-55%, με ιδανικότερη αυτή των 50%. Επίσης μετά την αποστείρωση προστίθεται γύψος, για να βοηθήσει τους κόκκους να διαχωριστούν, ο οποίος παρέχει ασβέστιο και θείο, βασικά συστατικά που προάγουν το μεταβολισμό του μανιταριού.

Στη συνέχεια ο αποστειρωμένος σπόρος τοποθετείται σε δροσερό χώρο. Μόλις η θερμοκρασία του πέσει κάτω τον 38 °C ο εμβολιασμός με μυκήλιο καθαρής καλλιέργειας μύκητα *L. edodes*, η οποία δεν πρέπει να είναι ηλικίας πάνω από δύο εβδομάδες, μπορεί να ξεκινήσει. Σακούλες με τρύπες ή μικρά σχισίματα πρέπει να αποφεύγονται. Αποστειρώνονται όλα τα εργαλεία που θα χρησιμοποιηθούν. Κόβονται μικρά κομμάτια από το μυκήλιο με νυστέρι και τοποθετούνται στις κωνικές (βάζα ή σακούλες) πολύ προσεκτικά ώστε να μην υπάρχει πρόβλημα μόλυνσεως. Κλείνονται οι κωνικές με βαμβάκι και ανακινούνται για να εισχωρήσει το μυκήλιο σε ολόκληρο το υπόστρωμα. Στη συνέχεια τοποθετούνται οι εμβολιασμένες κωνικές σε ράφια και αφήνονται να επωαστούν αρκετές μέρες, σε ειδικούς θαλάμους με θερμοκρασία 24 °C. Εξετάζεται ύστερα από τρεις ημέρες αν το μυκήλιο έχει αναπτυχθεί, ή αν υπάρχουν μολύνσεις. Σακούλες, βάζα ή κωνικές ανακινούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα έτσι ώστε να δημιουργηθεί στο εσωτερικό καλύτερη ατμόσφαιρα και το μυκήλιο να μεταφερθεί σε ολόκληρη τη μάζα του σπόρου, γεγονός που θα βοηθήσει στην επώαση. Μετά από δύο με τρεις εβδομάδες επώασης τα δοχεία καλλιέργειας θα πρέπει να είναι γεμάτα από το μυκήλιο του μανιταριού. Αν το μυκήλιο δεν έχει ολοκληρώσει την ανάπτυξή του μέσα σε τρεις έως τέσσερις εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό, τότε έχει γίνει κάποιο λάθος, που μπορεί να

οφείλεται σε λανθασμένο ποσοστό υγρασίας, σε κάποια μόλυνση από άλλον μύκητα ή και σε κακή ποιότητα των σπόρων (Stamets 2000).

Αν χρησιμοποιούνται σακούλες, αυτές κατά την επώαση ακουμπάνε η μία την άλλη. Γι' αυτό τοποθετούμε ένα θερμόμετρο ανάμεσά τους, καθώς αν η θερμοκρασία ξεπεράσει τους 35 °C μπορεί να αναπτυχθούν βακτήρια και μύκητες. Οι σάκοι ελέγχονται σε καθημερινή βάση για τυχόν μολύνσεις. Οι πιο συνηθισμένες μολύνσεις είναι η πράσινη μούχλα του *Penicillium* sp. και του *Aspergillus* sp. Αν διαπιστωθεί μόλυνση απομακρύνονται για να μην μολυνθούν οι υπόλοιποι σάκοι. Όταν το μυκήλιο αναπτυχθεί σε ολόκληρη τη σακούλα, οι σάκοι μεταφέρονται στο θάλαμο καρποφορίας (Przybylowicz & Donoghue 1990, Stamets 2000).

Μέσω του εμβολιασμού και της επώασης σπόρων δημητριακών μπορεί να επιτευχθεί μαζική ανάπτυξη του μυκηλίου, καθώς 10 βάζα (κωνικές φιάλες) που αποικίστηκαν με τον μύκητα μπορούν επιπλέον να εμβολιάσουν άλλα 100 βάζα και αυτά με την σειρά τους άλλα 1000 (Stamets 2000). Η σύγχρονη μέθοδος για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων σπόρου ωστόσο γίνεται σε σάκους πολυπροπυλενίου στους οποίους έχουν τοποθετηθεί φίλτρα που παρεμποδίζουν τις μολύνσεις, αλλά επιτρέπουν την αναπνοή του αναπτυσσόμενου μυκηλίου. Η τελική περιεκτικότητα των σάκων σε σπόρο μανιταριού διαφέρει ανάλογα των διαστάσεών τους, όμως πληρώνεται μόλις το 1/3 μέχρι 1/2 της χωρητικότητάς τους.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι η μέθοδος της καλλιέργειας μανιταριών με χρησιμοποίηση 'σπόρου' δημητριακών σύντομα χρησιμοποιείται σε πολλά είδη μανιταριών όπως τα *Pholiota nameko*, *Flammulina velutipes* και *Pleurotus* sp.

1.3.4. Εμβόλιο μανιταριού αναπτυγμένο σε πριονίδι

Η ανάπτυξη 'σπόρου μανιταριών σε πριονίδι' πραγματοποιείται με τον εμβολιασμό πριονιδιού με 'σπόρο δημητριακών' υπό ασηπτικές συνθήκες. Προτιμάται πριονίδι βελανιδιάς ή κωνοφόρων δέντρων, φρέσκο αντί παλαιότερων ετών, ενώ αυτό με τις μαύρες ζώνες πρέπει να αποφεύγεται, όπως και το πριονίδι που έχει πολλά ροκανίδια που δυσκολεύει την ανάπτυξη του μυκηλίου. Το πριονίδι είναι το κύριο συστατικό των περισσότερων μειγμάτων που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη του *L. edodes*. Πολλά ξύλα περιέχουν ρετσίνι και φαινολικές ουσίες οι οποίες αναστέλλουν (Przybylowich & Donoghue 1990) την ανάπτυξη του μύκητα. Αυτά τα παρασκευάσματα θα πρέπει να μειώνονται ή να αφαιρούνται πριν το πριονίδι χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια του

μύκητα *L. edodes*. Η υγρασία του πριονιδιού είναι πολύ σημαντική για την καλή ανάπτυξη του μυκηλίου γι' αυτό πρέπει να είναι 60-70%.

Ακόμα, η μεταφορά αποικισμένου με μυκήλιο πριονιδιού σε νέο πριονίδι είναι συνηθισμένη όταν αναπτύσσονταιμανιτάρια *L. edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus* sp, *Grifola frondosa* (Maitake), *Ganoderma lucidum* (Reishi) ή *Stropharia rugoso-annulata* (King *Stropharia*). Μετά την επώαση, ο κάθε σάκος θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή 5-10 επιπλέον σάκων πριονιδιού και αυτό μπορεί να επαναληφθεί για μία ακόμα φορά (Stamets 2000).

1.3.5. Εμβόλιο σε τεμάχια ξύλου

Το μανιτάρι *L. edodes* αναπτύσσεται σε κομμάτια από φυλλοβόλα δέντρα. Η επιφάνεια του φλοιού που πρόκειται να εμβολιαστεί πρέπει να είναι ακέραια, καθαρή και στεγνή. Υπάρχουν δύο τρόποι εμβολιασμού. Σύμφωνα με τον πρώτο, στερεά κομμάτια ξύλου βελανιδιάς (τάπες) τοποθετούνται μέσα στις τρύπες του ξύλου με σφυρί. Τα κομμάτια που έχουν προηγουμένως αποστειρωθεί, εμβολιάζονται με το μυκήλιο του *L. edodes*, στη συνέχεια τοποθετούνται σε θαλάμους με θερμοκρασία 24-28 °C για επώαση. Ο δεύτερος τρόπος γίνεται με σπόρο πριονιδιού, οι τομές στα ξύλα είναι ίδιου μεγέθους με προηγουμένως, δηλαδή ανάλογα με το μέγεθος του εμβολίου. Πρόκειται για μίγμα πριονιδιού και πίτουρου το οποίο έχει εμβολιαστεί με το μυκήλιο του *Lentinula*. Και στις δύο περιπτώσεις οι τομές καλύπτονται με κερί για να μην γίνει εξάτμιση. Ο πρώτος τρόπος πλεονεκτεί σε σχέση με το δεύτερο γιατί είναι πιο εύκολος στη χρήση και αντιστέκεται καλύτερα στην ξήρανση του μυκηλίου (Tatsuziro 1978, Przybylowicz & Donoghue 1990).

Μετά τον εμβολιασμό, οι κορμοί των δένδρων τοποθετούνται σε θέση που να ευνοεί την ανάπτυξη του μυκηλίου. Οι εμβολισμένοι κορμοί τοποθετούνται σε χώρο σκιαζόμενο και ξηρό και καλύπτονται με ένα φύλο νάυλον. Το μυκήλιο θα αναπτυχθεί ένα με ενάμιση χρόνο μετά τον εμβολιασμό.

1.3.6. Εμβόλιο υγρής καλλιέργειας μυκηλίου

Η δημιουργία εμβολίου μανιταριού από υγρή καλλιέργεια μυκηλίου είναι αρκετά διαδεδομένη μέθοδος σήμερα, καθώς παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, όπως την γρήγορη αποίκιση και την καθαρότητα του μυκηλίου (Stamets 2000). Επιπλέον,

πλεονεκτεί σε σχέση με τον σπόρο δημητριακών γιατί μπορεί να διασκορπίζεται στο υπόστρωμα ομοιόμορφα, καθώς και η πρώτη καρποφορία συνήθως παράγεται γρηγορότερα. Στη καλλιέργεια *L. edodes* όταν χρησιμοποιηθεί σπόρος δημητριακών χρειάζονται 120 μέρες να επωαστεί το μυκήλιο για να παραχθούν μανιτάρια, ενώ με την υγρή καλλιέργεια η επώαση διαρκεί 90 μέρες (Kawai κ.α. 1996). Επίσης, όπως αναφέρουν οι Kirchhoff και Lelley (1991) η χρήση του υγρού εμβολίου μυκηλίου δίνει μεγαλύτερη καρποφορία. Γενικά, η υγρή καλλιέργεια μυκηλίου είναι μια πολλή καλή μέθοδος για αναπαραγωγή μανιταριών, γιατί έχει μικρό κύκλο καρποφορίας, παράγει όμως μεγάλες ποσότητες μανιταριών (Chang & Miles 1989, Wuest 1989).

Για την παρασκευή εμβολίου υγρής καλλιέργειας μυκηλίου, χρειάζεται καθαρή καλλιέργεια του *L. edodes* αναπτυγμένη σε τρυβλείο με συνθετικό υπόστρωμα (potato dextrose agar, yeast malt agar, κτλ). Όταν το μυκήλιο μετά από επώαση σε θερμοκρασία 24 °C φτάσει στο επιθυμητό επίπεδο ανάπτυξης, παρασκευάζεται το υγρό συνθετικό υπόστρωμα, το οποίο τοποθετείται σε κωνικές φιάλες, οι οποίες πωματίζονται με βαμβάκι και αποστειρώνεται για 1 έως 2 ώρες στους 121 °C. Το υγρό θρεπτικό υλικό συνήθως αποτελείται από νερό, πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου, πριονίδι, βύνη και θειϊκό ασβέστιο (Stamets 2000).

Μόλις τελειώσει η αποστείρωση οι κωνικές φιάλες αφήνονται να κρυώσουν και στη συνέχεια μεταφέρονται μαζί με το μυκήλιο στο θάλαμο νηματικής ροής, όπου υπό ασηπτικές συνθήκες, γίνεται ο εμβολιασμός, καθώς στο στάδιο αυτό το παραμικρό λάθος θα έχει ως αποτέλεσμα τη μόλυνση του σάκου. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι εμβολιασμού των κωνικών φιαλών με την καθαρή καλλιέργεια του μύκητα. Για παράδειγμα, χρησιμοποιείται μια αποστειρωμένη σύριγγα με την οποία 30-50 ml απιονισμένο νερό μεταφέρονται στο τρυβλείο με το μυκήλιο του *L. edodes*. Στη συνέχεια, ξύνεται λίγο η επιφάνεια του μυκηλίου, ώστε τραβώντας με την σύριγγα να εισχωρήσουν όσο γίνεται περισσότερα κομμάτια μυκηλίου. Σε άλλη περίπτωση, ο καλλιεργητής κόβει το μυκήλιο σε μικρά τεμάχια, τα οποία και προσθέτει στις φιάλες με το υγρό θρεπτικό μέσο. Έπειτα οι κωνικές εισέρχονται σε θάλαμο επώασης στους 24-26 °C, (Stamets 2000).

Μετά την επώαση των κωνικών φιαλών που διαρκεί περίπου 3-4 εβδομάδες, όπως αναφέρει ο Song κ.α. (1987), οι αποστειρωμένοι σάκοι εμβολιάζονται συνήθως με 100 ml ανά 2 kg υποστρώματος. Μόλις εμβολιαστούν οι σάκοι τοποθετούνται οριζόντια για την πρώτη εβδομάδα και ανακινούνται ελαφρά κάθε τρεις μέρες, μέχρι την πλήρη επώαση του μυκηλίου. Άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι 30 ml υγρού εμβολίου είναι επαρκή για τον εμβολιασμό 1,9 kg υποστρώματος (Kawai κ.α. 1996).

1.4. Η ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ *L. EDODES* ΣΕ ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

1.4.1. Η παραδοσιακή μέθοδος καλλιέργειας σε κορμούς δένδρων

Τα δένδρα

Η παραδοσιακή μέθοδος της καλλιέργειας του μανιταριού *L. edodes* σε κορμούς δένδρων συναντάται συχνά στην Ασία. Οι κορμοί δένδρων που χρησιμοποιούνται ανήκουν στην οικογένεια Fagaceae, δηλαδή το μανιτάρι *L. edodes* αναπτύσσεται σε βελανιδιά (*Quercus serrata*, *Q. acutissima*, *Q. mongolica* var. *grossoserrata*, *Cyclobalanopsis acuta*, *C. glauca*), στο δένδρο Shii (*Castanopsis cuspidata*, *C. cuspidate* var. *shieboldii*), σε καστανιά (*Castanea crenata*) και σε καρπίνο (*Carpinus tschonoskii*, *C. laxiflora*, *C. japonica*).

Όσον αφορά στην επιλογή των κούτσουρων, προτιμώνται κορμοί δέντρων με χονδρό φλοιό, καθώς αυτός αντιστέκεται καλύτερα στις φυσικές φθορές και στην απώλεια υγρασίας. Τα δέντρα κόβονται αργά το φθινόπωρο έως νωρίς την άνοιξη, όταν η περιεκτικότητά τους σε υγρασία είναι 35-55%, ο χυμός του δένδρου ρέει και έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Σχετικά με την περιεκτικότητα των σακχάρων στο δέντρο και ειδικότερα στη βελανιδιά, αυτή αυξάνεται απότομα όταν το 1/3 από τα φύλλα τους γίνουν κόκκινα. Επομένως, το μυκήλιο σε ξύλα τα οποία έχουν κοπεί αργά το φθινόπωρο και νωρίς την άνοιξη, θα βρει ένα μεγάλο ποσοστό υδατανθράκων στο ξύλο και θα αναπτυχθεί πολύ γρήγορα πάνω σ' αυτό (Tatsuziro 1978). Η κοπή των δένδρων πρέπει να γίνεται και στο κατάλληλο σημείο αλλιώς τα κούτσουρα μπορεί να μολυνθούν από μύκητες που πιθανώς παρεμποδίσουν την ανάπτυξη του μυκηλίου του μανιταριού. Αν μετά τη κοπή και πριν τον εμβολιασμό τα κούτσουρα πρέπει να αποθηκευτούν για μεγάλη χρονική περίοδο, τότε είναι σημαντικό να αποφευχθεί η υπερβολική ξηρασία ή υγρασία. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη δημιουργία κατάλληλου σωρού. Κατά τη διάρκεια ζεστού, ξηρού καιρού η απώλεια υγρασίας ελαχιστοποιείται με δημιουργία ογκωδών σωρών, ενώ αν ο καιρός είναι κρύος και βροχερός απαιτούνται χαμηλοί σωροί κούτσουρων.

Είδη μανιταριών L. edodes κατάλληλα για κούτσουρα

Τα είδη του *L. edodes* διακρίνονται σε αυτά που αναπτύσσονται σε υψηλές (10-27 °C), ή χαμηλές θερμοκρασίες (7-16 °C) και σε αυτά που μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα εύρος θερμοκρασιών. Κάθε μια ποικιλία έχει τα δικά της μορφολογικά χαρακτηριστικά αν και αυτά επηρεάζονται και από τους παράγοντες του περιβάλλοντος κατά τη χρονική στιγμή της ανάπτυξης τους.

Η μέθοδος καλλιέργειας

Μέσα σε ένα με δύο μήνες, από το κόψιμο των δένδρων, τα κούτσουρα εμβολιάζονται με το μυκήλιο του μανιταριού *L. edodes* (Stamets 2000). Σε κάθε κορμό ενός μέτρου και διαμέτρου 15 cm, ανοίγονται 15-20 τρύπες, πάχους 0,8-1,2 cm (Przybylowicz & Donoghue 1990, Φραντζεσκάκης 1990). Μετά τον εμβολιασμό οι κορμοί των δένδρων τοποθετούνται σε τέτοια θέση που να ευνοούν την ανάπτυξη του μυκηλίου, δηλαδή στήνονται ελαφρά πλαγιασμένα με μια μικρή κλίση ως προς την επιφάνεια της γης, με μονά ξύλα χιαστί ώστε να αυξάνεται ο αερισμός (Tatsuziro 1978). Επίσης, τοποθετούνται σε χώρο σκιαζόμενο και ξηρό και καλύπτονται με ένα φύλο νάυλον. Κατά τη διάρκεια της επώασης το μυκήλιο του *L. edodes* διεισδύει στους κορμούς των δένδρων. Ο χώρος δεν πρέπει να έχει υπερβολική υγρασία διότι υπάρχει κίνδυνος μόλυνσής τους, όπως επίσης και ανάπτυξη μυκήτων οι οποίοι προκαλούν καταστροφές στο ξύλο. Οι κατάλληλες θερμοκρασίες για την ανάπτυξη του μυκηλίου είναι 24-28 °C. Η ιδανική υγρασία για τους κορμούς των δένδρων κυμαίνεται μεταξύ 35%-55%. Εάν όμως οι κορμοί έχουν ξεραθεί τότε θα πρέπει να ραντιστούν με νερό για να αυξηθεί η περιεκτικότητα της υγρασίας.

Το μεγαλύτερο ποσοστό αποτυχίας για την καλλιέργεια του *L. edodes* οφείλεται σε λανθασμένα ποσοστά υγρασίας στο χώρο που τοποθετούνται τα ξύλα. Αν ο καιρός είναι δροσερός, απαιτείται ελάχιστο πότισμα. Επίσης, σε ξηρό καιρό θα πρέπει να βρέχονται ελαφρά. Πότισμα γίνεται κάθε 7 με 30 ημέρες και μπορεί να κρατήσει από 6 έως 12 ώρες. Επίσης, συνήθως τοποθετούνται στην ύπαιθρο σε αειθαλή δασύλλια, όπου γίνεται καλή ανανέωση του αέρα.

Το μυκήλιο θα αποικίσει τους κορμούς των δένδρων, ένα με ενάμιση χρόνο μετά τον εμβολιασμό, κάτι που εξαρτάται από το είδος του ξύλου, του σπόρου, του καιρού και τις συνθήκες στον χώρο επώασης. Στη συνέχεια τα δέντρα μεταφέρονται σε άλλο μέρος για την καρποφορία. Αυτή η μεταφορά των κορμών δέντρων γίνεται μετά την βλαστική ανάπτυξη του μυκηλίου. Για την καρποφορία, οι θερμοκρασίες μειώνονται σε σχέση με την επώαση, ιδανικές θερμοκρασίες κυμαίνονται από 12-20 °C. Κατά την ίδια περίοδο η υγρασία πρέπει να είναι σε υψηλότερα επίπεδα, όπως επίσης και οι κορμοί των δένδρων θα πρέπει να σκιάζονται. Ο κύκλος καρποφορίας του *L. edodes* έχει τέσσερα στάδια.

Καταρχήν η επαγωγή, όπου δίνεται το έναυσμα για το πέρασμα από την βλαστική στην αναπαραγωγική φάση του μύκητα. Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού, συμβαίνουν περιβαλλοντικές αλλαγές (στην θερμοκρασία, την υγρασία και τα θρεπτικά συστατικά) που επάγουν την καρποφορία. Το δεύτερο στάδιο είναι ο σχηματισμός των κεφαλών. Το σύνολο των υφών σχηματίζει κόμπους στους κορμούς των δένδρων, αυτοί διαφοροποιούνται και σχηματίζουν τα αρχέγονα, δηλαδή μικρά μανιτάρια. Στην συνέχεια

είναι το στάδιο της καρποφορίας, όπου εμφανίζεται ο πύλος και ο στίπος. Κατά την διάρκεια αυτής της περιόδου τα μανιτάρια αναπτύσσονται και ανοίγουν. Τέλος είναι η περίοδος ή το στάδιο της ανάπαυσης. Ο μύκητας σε αυτό το στάδιο ξεκουράζεται από την παραγωγή μανιταριού, ουσιαστικά όμως το μυκήλιο αναπτύσσεται και αποθηκεύει θρεπτικά συστατικά για περαιτέρω καρποφορία. Ένα σημαντικό πρόβλημα στην καλλιέργεια του *L. edodes* είναι οι ανταγωνιστές μύκητες που αναπτύσσονται στους κορμούς των δένδρων και δεν αφήνουν το μυκήλιο να αναπτυχθεί.

Τα μανιτάρια θα παραχθούν κανονικά για 2 μέχρι και 6 χρόνια. Ο συνολικός αριθμός των κύκλων καρποφορίας εξαρτάται από το μέγεθος των κορμών των δένδρων, τα είδη του δένδρου και τη διαχείριση της σοδειάς. Γενικά, οι αποδόσεις είναι υψηλότερες κατά τη διάρκεια του δεύτερου και τρίτου χρόνου παραγωγής. Το 75% της συνολικής απόδοσης συγκομίζεται αυτές τις χρονικές περιόδους (Przybylowicz & Donoghue 1990).

Πολλοί παραγωγοί που ζουν στα προάστια των πόλεων παράγουν φρέσκο μανιτάρι *L. edodes* σε θερμοκήπια. Η τεχνική αυτή δεν διαφέρει πολύ από την μέθοδο παραγωγής στο ύπαιθρο και πλεονεκτεί γιατί παράγεται φρέσκο μανιτάρι *L. edodes* όλες τις εποχές. Πριν ξεκινήσει η καλλιέργεια, οι κορμοί των δένδρων διατηρούνται σε ξηρές συνθήκες περιβάλλοντος. Στην συνέχεια εμποτίζονται με παγωμένο νερό για 1 ή 2 μέρες, το οποίο θα επάγει το σχηματισμό των καρποφοριών. Έπειτα, τοποθετούνται στο θερμοκήπιο με θερμοκρασίες πάνω από 15 °C, κατά προτίμηση 20 °C. Η υγρασία του αέρα διατηρείται σε αρκετά υψηλά επίπεδα. Κάτω υπό αυτές τις συνθήκες τα μανιτάρια *L. edodes* θα εμφανιστούν μέσα σε 7-14 μέρες (Tatsuziro 1978).

1.4.2. Η σύγχρονη μέθοδος καλλιέργειας σε σάκους με γεωργικά υπολείμματα

Η καλή γνώση του βιολογικού κύκλου του *L. edodes* αποτέλεσε τη βάση πάνω στην οποία επιστήμονες και καλλιεργητές στηρίχτηκαν για τον σχεδιασμό των διαφόρων σταδίων της καλλιέργειας τους. Είναι εκπληκτικό λοιπόν αν αναλογιστεί κανείς πως ανάλογα με τη μεθοδολογία, ξεκινώντας από δύο τρυβλεία με μυκήλιο του *L. edodes* η εκθετική ανάπτυξη του επιτρέπει την παραγωγή 2-4 τόνων μανιταριών σε 12 εβδομάδες.

Η καλλιέργεια σε σάκους με γεωργικά υπολείμματα είναι σχετικά καινούργια μέθοδος για την παραγωγή μανιταριών *L. edodes*. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε περισσότερο από τους Αμερικανούς καλλιεργητές, αφού παραδοσιακά στην Ασία χρησιμοποιούσαν τους κορμούς δένδρων. Η καλλιέργεια σε σάκους έχει υψηλότερες αποδόσεις σε μικρότερο χρονικό διάστημα (Stamets 2000).

Η τεχνική καλλιέργειας των μανιταριών *L. edodes* σε επιχειρηματική κλίμακα περιλαμβάνει καταρχήν την επεξεργασία των πρώτων υλών και την παρασκευή του υποστρώματος. Υψηλά επίπεδα θρεπτικών ουσιών επιταχύνουν την ανάπτυξη του μυκηλίου και αυξάνουν τις αποδόσεις. Τα συστατικά αυτά προστίθενται για να αυξήσουν τα επίπεδα αζώτου και τις διαθέσιμες αμυλούχες τροφές. Περιεκτικότητα του αζώτου 0.5% δίνει μέγιστες αποδόσεις για το *L. edodes* (Jablonsky 1981). Το υπόστρωμα του *L. edodes* αποτελείται συνήθως από μίγμα πριονιδίου και/ή λιγνοκυτταρινούχα υλικά, όπως το άχυρο, καθώς και άλλα πρόσθετα υλικά για υδατάνθρακες και άζωτο όπως το πίτουρο. Προτιμάται πριονίδι από πλατύφυλλα δένδρα (βελανιδιά, σφενδάμι). Το πριονίδι είναι το κυριότερο συστατικό των περισσότερων μειγμάτων που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη του *L. edodes*. Η σύσταση του υποστρώματος διαφέρει από περιοχή σε περιοχή εξαρτώμενο από την ποικιλία των διαθέσιμων λιγνοκυτταρινούχων υλικών. Ευρέως χρησιμοποιείται, 80% πριονίδι και 20% συμπληρώματα, σε ξηρό βάρος (Roysel 1985, Miller & Jong 1986). Για παράδειγμα, στην Ασία το υπόστρωμα αποτελείται από 80% πριονίδι και 20% πίτουρο (Iizuka & Takeuchi 1978), ενώ στην Αμερική αποτελείται 80% πριονίδι, 10% άχυρο και 10% πίτουρο (Roysel 1985, Miller & Jong 1986).

Έπειτα, ανακατεύονται τα συστατικά ξηρά και στη συνέχεια διαβρέχονται μέχρι να φτάσουν το επιθυμητό ποσοστό υγρασίας. Η άριστη περιεκτικότητα υγρασίας κυμαίνεται μεταξύ 55% και 70%, πριν την αποστείρωση (Han κ.α. 1981, Roysel 1985, Miller & Jong 1986). Το υπόστρωμα τοποθετείται σε σάκους πολυαιθυλενίου ή πολυπροπυλενίου (Przybylowicz και Donoghue 1990). Το πολυαιθυλένιο είναι ένας από τους πιο κοινούς τύπους πλαστικού. Διακρίνονται σε δύο είδη: χαμηλής και υψηλής πυκνότητας. Χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο είναι ένα λεπτό καθαρό υλικό χρησιμοποιούμενο σε πολλούς τύπους σάκων. Δεν αντέχει σε θερμοκρασίες πάνω από 80 °C, είναι όμως το πιο διαπερατό στα αέρια και στους υδρατμούς. Ο μύκητας *L. edodes* μπορεί να καλλιεργηθεί σε χαμηλής πυκνότητας σάκους επειδή επιτρέπουν ανταλλαγή αερίων μέσω του πλαστικού για την ανάπτυξη του μυκηλίου. Αντίθετα οι σάκοι από υψηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο είναι συνήθως σκοτεινοί, ημιδιαφανείς και σκληροί. Κατά την διάρκεια της επώασης πρέπει να γίνεται ανταλλαγή αερίων. Γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται φίλτρα με μικρές οπές, ή αλουμινένια 'δαχτυλίδια' που τοποθετούνται στο πάνω μέρος του σάκου και κλείνονται με πώματα από βαμβάκι.

Στη συνέχεια, οι σάκοι αποστειρώνονται για να θανατωθούν οι ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο υπόστρωμα (Rubbo & Gardner 1965). Ο χρόνος που απαιτείται για την αποστείρωση είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας: όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία τόσο λιγότερο χρόνο χρειάζεται για την αποστείρωση. Συνήθως τα

μανιτάρια *L. edodes* αποστειρώνονται με ατμό υπό πίεση, σε αυτόκαυστο. Αποστειρώνονται για δύο περίπου ώρες στους 121 °C.

Έπειτα, αφήνονται οι σάκοι να κρυώσουν και η θερμοκρασία τους να φτάσει τους 30 °C, διαφορετικά σε υψηλότερες θερμοκρασίες το μυκήλιο του μανιταριού *L. edodes* δεν θα μπορέσει να αναπτυχθεί. Όταν οι σάκοι θα έχουν την επιθυμητή θερμοκρασία, τότε θα εμβολιαστούν με το μυκήλιο του *L. edodes*. Η αναλογία σπόρου προς βάρος υποστρώματος που προτιμάται για τον εμβολιασμό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Ο σπόρος με βάση τα δημητριακά μπορεί να εμβολιαστεί σε παστεριωμένο άχυρο και πριονίδι, σε αναλογία μεταξύ 3-15% (ν.β σπόρου προς ξ.β υποστρώματος). Εάν ο καλλιεργητής αγοράζει το σπόρο από εταιρία παραγωγής, τότε η χρησιμοποιούμενη αναλογία είναι συνήθως μεταξύ 3-7% του υποστρώματος. Δηλαδή, σε κάθε 450 kg του υποστρώματος (ξ.β.), προτείνεται 10-30kg σπόρου (ν.β.). Καθώς, το εμβόλιο σε σπόρο έχει συνήθως 50% υγρασία, αυτή η αναλογία του εμβολιασμού θα είναι ισάζια με το 1,5-3,5% του ξηρού σπόρου/ξηρού υποστρώματος. Οι καλλιεργητές που παράγουν οι ίδιοι τον σπόρο μανιταριού συνήθως χρησιμοποιούν μεγαλύτερη ποσότητα δηλαδή 8-15% αναλογία σε υγρό σπόρο/ξηρό υπόστρωμα, ή 35-70 kg φρέσκου σπόρου. Με αυτόν τον τρόπο επιταχύνεται γρηγορότερη αποίκιση του υποστρώματος και ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος επικράτησης ανταγωνιστικών μυκήτων, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η απόδοση της καλλιέργειας.

Ο εμβολιασμός γίνεται σε θάλαμο 'νηματικής ροής' για να αποφευχθούν οι μολύνσεις. Στο υπόστρωμα γίνεται μια κεντρική τρύπα, τοποθετείται το μυκήλιο και οι σάκοι κλείνονται με το βαμβάκι ή σφραγίζονται. Έπειτα ανακινούνται οι σάκοι για να αναμειχθεί το μυκήλιο όσο το δυνατόν καλύτερα με το υπόστρωμα.

Στη συνέχεια οι σάκοι μεταφέρονται σε θαλάμους επώασης. Οι άριστες θερμοκρασίες επώασης είναι 25-27 °C. Έκθεση σε φως είναι απαραίτητη κατά τη διάρκεια της επώασης (Ando 1976, Royse 1985, Miller & Jong 1986). Μια εναλλακτική μέθοδος είναι το υπόστρωμα να επωαστεί στο σκοτάδι, και στη συνέχεια εκθέτεται σε φως για 10-20 μέρες (Pellinen κ.α. 1987). Η επώαση διαρκεί 30-120 μέρες (Han κ.α. 1981, Miller & Jong 1986, Pellinen κ.α. 1987). Κατά τη διάρκεια της επώασης το μυκήλιο του *L. edodes* εισχωρεί στο υπόστρωμα και το αποικίζει. Το υπόστρωμα εμφανίζει ένα άσπρο χρώμα και συνοχή. Κατά τη διάρκεια της επώασης μία ευρεία ποικιλία από μύκητες και βακτήρια μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στο υπόστρωμα. Μύκητες όπως *Trichoderma* spp., *Mucor* spp, *Penicillium* spp και *Neurospora* spp. μπορούν εύκολα να αποικήσουν το υπόστρωμα με τους σάκους. Οι αποικίες αυτές αυξάνονται γρήγορα εις βάρος του μανιταριού *L. edodes* το οποίο δεν θα μπορέσει να αναπτυχθεί.

Για την εμφάνιση των καταβολών οι σάκοι μεταφέρονται σε ψυχρότερο θάλαμο (16 °C), από ό,τι βρίσκονταν προηγουμένως (25 °C). Για την καρποφορία τωνμανιταριών *L. edodes* απαιτούνται συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Δηλαδή, χρειάζεται θερμοκρασίες από 13-20 °C, η σχετική υγρασία να κυμαίνεται από 75% μέχρι 95%, φως, καθαρό αέρα, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 7, επάρκεια σε θρεπτικά συστατικά και αρκετή ποσότητα νερού στα μπλοκ. Η θερμοκρασία επηρεάζει την πρωιμότητα της καρποφορίας και την πυκνότητα της σάρκας, ενώ, φως απαιτείται για την ανάπτυξη του πύλου και το χρωματισμό του. Επίσης το διοξείδιο του άνθρακα πρέπει να κρατείται σε χαμηλά επίπεδα, κάτω από 1,200 ppm (Roysel 1985), γιατί σε διαφορετικές περιπτώσεις θα δημιουργηθούν μικρά μανιτάρια με λεπτό και μακρύ στίβο. Όσο αναφορά στην ατμοσφαιρική υγρασία, χαμηλά επίπεδα της έχουν σαν αποτέλεσμα την γρήγορη απώλεια νερού, που χρειάζεται για την ανάπτυξη των μανιταριών *L. edodes*.

Πίνακας 7: Χρονική διάρκεια και άριστες συνθήκες που απαιτούνται για ένα κύκλο παραγωγής μανιταριών *L. edodes* (Οει 1993).

Δραστηριότητες	Μέρες	Θερμοκρασία (°C)	Φως (lux)	Υγρασία (%)
Επώαση	30 – 120	20 – 30	καθόλου	65 – 70
Σχημ. Καταβολών	2 – 4	10 – 20	500 – 1000	85 – 95
Καρποφορία	7 – 14	12 – 18	500 – 1000	60 – 80
Κενό	7 – 21	20 – 30	καθόλου	65 – 70
Σχημ. Καταβολών	2 – 4	10 – 20	500 – 1000	85 – 95

Μετά την καρποφορία μεσολαβεί ένα χρονικό διάστημα κενού καρποφορίας για τους σάκους με το υπόστρωμα. Η περίοδος αυτή κυμαίνεται από 10-20 μέρες, με άριστη θερμοκρασία περίπου στους 25 °C, για να έρθει γρηγορότερα το επόμενο κύμα καρποφορίας. Τέλος η συνολική συγκομιδή μανιταριών *L. edodes* διαρκεί από τρεις μέχρι έξι μήνες ή και περισσότερο. Αυτό εξαρτάται από τις συνθήκες περιβάλλοντος κατά την διάρκεια της καρποφορίας, από την περίοδο ανάπαυλας στο υπόστρωμα και το μέγεθος των μπλοκ.

Στον παρακάτω Πίνακα 8 παρουσιάζονται αναλυτικά τα υποστρώματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καλλιέργεια των μανιταριών *L. edodes*, οι δύο κύριες τεχνικές (κορμοί δένδρων, συνθετικά υλικά), καθώς και η αναμενόμενη παραγωγικότητα.

Πίνακας 8: Παραγωγή του μανιταριού *L. edodes* σε διάφορα υποστρώματα και με διαφορετικές τεχνικές καλλιέργειας.

Υπόστρωμα	Λατινική ονομ.	Τεχνική καλλιέργειας	Απόδοση (%)*	Βιβλιογραφία
Καρπίνος Καστανιά Χρυσή καστανιά Chinquarín Βελανιδιά	<i>Betula carpinus</i> <i>Castanea sp.</i> <i>Castanopsis sp.</i> <i>Lithocarpus sp.</i> <i>Quercus sp.</i>	Κορμοί δένδρων	10,0-15,0	Chang & Miles 1987
Grey alder Σημύδα	<i>Alnus incana</i> <i>Betula pendula</i>	Κορμοί δένδρων	17, 0-25,0	Roaska 1992
Βελανιδιά	<i>Quercus sp.</i>	Κορμοί δένδρων	15,0	Campbell & Rajan 1998
Σφεντάμι και Σημύδα	<i>Acer sp.</i> <i>Betula sp.</i>	Πριονίδι + 40% ρύζι πίτουρο/ κεχρί σε σάκους	53,0-74,0	Deihle & Roysce 1986
Κόκκινη βελανιδιά & άλλα	<i>Quercus rubra</i>	Πριονίδι + 18-24% σιτάρι/ κεχρί σε σάκους	70,0	Roysce & Bahler 1986
Σφεντάμι & Σημύδα	<i>Acer sp.</i> <i>Betula sp.</i>	Πριονίδι σε σάκους	80,0	Chang & Miles 1987
Έλατο	<i>Picea abies</i>	Πριονίδι + 20% σιτάρι + CaCO ₃ σε σάκους	30,0	Kalberer 1987
Βελανιδιά	<i>Quercus sp.</i>	Πριονίδι + 30% πλιγούρι βρώμης	65,0	Pettipher 1988
Οξιά	<i>Fagus sylvatica</i>	Πριονίδι + συμπλήρωμα σε σάκους	2,0-5,0	Kirchhoff & Lelley 1991
Κινέζικα έλατα	<i>Cunninghamia lanceolata</i> και <i>Cunninghamia hytrix</i>	Πριονίδι + 60% ρύζι + CaCO ₃ σε σάκους	47,8	Shieh κ.α.1991
Κόκκινη βελαν. Στάχτη Σφεντάμι	<i>Quercus rubra</i> <i>Fraxinus americana</i> <i>Acer saccharum</i>	Πριονίδι σε σάκους	27,0	Worrall & Jang 1992
Ευκάλυπτος & λεύκα	<i>Eucalyptus sp.</i> <i>Populus sp.</i>	Πριονίδι + ρύζι σε σάκους	36,0	Kaur 1995
Κινέζικο πεύκο	<i>Pinus densiflora</i>	Πριονίδι σε σάκους	60,0-70,0	Ko & Kim 1995
Βελανιδιά & κινέζικη καστανιά	<i>Quercus sp.</i> <i>Castanopsis cuspidata</i>	Πριονίδι σε σάκους	67,0	Wantabe 1995
Σιτάρι	<i>Triticum aestivum</i>	Άχυρο + γύψος σε σάκους	20,0	Delpech & Olivier 1991

*Το πηλίκο του νωπού βάρους των παραγόμενων καρποφοριών προς το νωπό βάρος του υποστρώματος (x100).

1.5. ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΜΑΝΙΤΑΡΙΟΥ *L.*

EDODES

1.5.1. Στοιχεία μετασυλλεκτικής φυσιολογίας των μανιταριών *L. edodes*

Η ανάπτυξη των μανιταριών συνεχίζεται και μετά τη συγκομιδή τους, καθώς κατά τη διάρκεια της συντήρησης συντελούνται αρκετές φυσιολογικές διαδικασίες. Αυτές οι διαδικασίες είναι σημαντικό να κατανοηθούν, διότι επηρεάζουν την ποιότητα των μανιταριών. Όλες αυτές οι διαδικασίες επηρεάζονται από την θερμοκρασία.

Η αναπνοή, η εισπνοή οξυγόνου και εκπνοή διοξειδίου του άνθρακα, είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη των μανιταριών. Τα μανιτάρια *L. edodes*, όπως και τα περισσότερα φρέσκα προϊόντα, συνεχίζουν να αναπνέουν και μετά την συγκομιδή. Η υποβάθμιση των πρωτεϊνών και η μείωση των υδατανθράκων συντελούνται μετά την συγκομιδή τους και έχει σαν αποτέλεσμα αλλαγές στην υφή των μανιταριών (Nichols & Hammond 1975, Muir & Morris 1975). Ο ρυθμός της αναπνοής είναι ενδεικτικός για την καλή συντήρηση. Τα μανιτάρια έχουν υψηλότερο ρυθμό αναπνοής συγκρινόμενα με άλλα νωπά προϊόντα. Για παράδειγμα, τα μανιτάρια *L. edodes* συντηρούνται για μικρότερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με τις ντομάτες (Lutz & Hardenburg 1968).

Κατά τη διάρκεια της συντήρησης, τα μανιτάρια *L. edodes* μπορεί να αλλοιωθούν από βακτήρια, μύκητες ή και ενζυμικές αλλαγές που συμβαίνουν στο εσωτερικό του καρποσώματος. Οι χαμηλές θερμοκρασίες προστατεύουν τα μανιτάρια από την αλλοίωση, παρ' όλα αυτά όμως, ο πληθυσμός των βακτηρίων και η συγκέντρωση των ενζύμων αυξάνονται κατά τη συντήρηση με ψύξη (Goodenough & Ricketts 1977, Doores κ.α. 1986), ενώ τα ένζυμα προκαλούν αλλαγές στην υφή των μανιταριών, τα οποία μαλακώνουν και χάνουν την σκληρότητα τους (Beelman κ.α. 1986).

Επίσης, κατά τη συντήρηση η απώλεια νερού που συντελείται είναι επιζήμια για τα νωπά μανιτάρια *L. edodes*, γιατί έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση του βάρους τους. Καθώς αποτελούνται από 85% μέχρι 90% νερό και στερούνται επιδερμίδας, η απώλεια νερού από την επιφάνεια τους μπορεί να είναι σημαντική (Ruddo & Gardner 1965). Τα μανιτάρια τότε συρρικνώνονται και μαραίνονται, με αποτέλεσμα να υποβαθμίζεται κατά πολύ η εμφάνισή τους, άρα και η ποιοτική τους αξία. Ο βαθμός μααρασμού εξαρτάται από την συνεκτικότητα της σάρκας, καθώς τα συνεκτικά μανιτάρια δεν μαραζώνουν εύκολα (Gormley 1975), ενώ η συνεκτικότητα επηρεάζεται και από το στέλεχος καθώς και από τις συνθήκες που επικρατούν κατά την διάρκεια της καρποφορίας (Komatsu 1961). Ακόμα,

σημαντικός παράγοντας που επιδρά στον ρυθμό απώλειας της υγρασίας του μανιταριού *L. edodes* είναι το φυσιολογικό στάδιο στο οποίο έχει κοπεί και αποθηκευθεί το μανιτάρι, καθώς τα ώριμα μανιτάρια με ανοιχτά ελάσματα διαθέτουν μεγαλύτερη επιφάνεια από την οποία το νερό μπορεί να εξατμιστεί. Τέλος, όταν τα μανιτάρια *L. edodes* τοποθετούνται σε περιέκτες αντί να εκθέτονται στον αέρα, η απώλεια του βάρους τους είναι μικρότερη.

1.5.2. Συλλογή, συντήρηση μανιταριών *L. edodes* υπό ψύξη, με τροποποιημένη ατμόσφαιρα και με ακτινοβολία

1.5.2.1. Συλλογή

Πριν τη συγκομιδή των μανιταριών *L. edodes*, καλό είναι να μειώνεται η υγρασία του θαλάμου παραγωγής στο 60% RH για 6-12 ώρες, καθώς αυτό βοηθάει ώστε τα μανιτάρια να συντηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η συλλογή τους θα πρέπει να γίνεται όταν ο πύλος είναι κλειστός ή το μέγεθος του φτάσει στο 60% με 70% της πλήρους ανάπτυξης, στρίβοντας το μίσχο πολύ μαλακά από τους σάκους καλλιέργειας (Chen 2001). Εάν η συγκομιδή των μανιταριών *L. edodes* γίνει όταν ο πύλος έχει ‘ανοίξει’ πλήρως (‘ώριμα’ μανιτάρια, μέγεθος στο 100%), τότε μειώνεται η διάρκεια συντήρησης των μανιταριών καθώς και η ποιότητά τους. Οι κινήσεις θα πρέπει να γίνονται αρκετά προσεκτικά. Μόνο ο μίσχος πρέπει να πιάνεται κατά την διάρκεια της συλλογής, διαφορετικά θα εμφανιστούν μώλωπες στα ελάσματα και τον πύλο.

Στη συνέχεια, καθαρίζεται ο μίσχος από τα υπολείμματα του υποστρώματος. Τα μανιτάρια θα πρέπει να είναι καθαρά πριν τοποθετηθούν σε περιέκτες, γιατί διαφορετικά μπορεί να μολυνθούν. Αυτοί θα πρέπει να είναι φτιαγμένοι από πλαστικό ή άλλα υλικά που καθορίζονται εύκολα. Επίσης, είναι αναγκαίο να είναι διάτρητοι ώστε να γίνεται καλή κυκλοφορία του αέρα και τα μανιτάρια να ψύχονται γρήγορα (Przybylowich & Donogue 1990).

Στην Κίνα και την Ιαπωνία η ποιότητα των μανιταριών *L. edodes* καθορίζεται από το σχήμα, την συνεκτικότητα της σάρκας, το μέγεθος, το χρώμα, τη γεύση και το άρωμα, ενώ η απουσία ακαθαρσιών και εχθρών είναι σημαντικοί παράγοντες για την εξασφάλιση υψηλής ποιότητας μανιταριών (Chen 2001).

1.5.2.2. Συντήρησημανιταριών *L. edodes* υπό ψύξη

Η συντήρηση τωνμανιταριών *L. edodes* υπό ψύξη έχει ως αποτέλεσμα την διατήρηση τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, καθώς οι χαμηλές θερμοκρασίες επιδρούν στη μετασυλλεκτική φυσιολογία του προϊόντος και οι διαδικασίες οι οποίες υποβαθμίζουν την ποιότητα του ελαττώνονται ή αναστέλλονται τελείως (Przybylowicz & Donoghue 1990).

Οι άριστες θερμοκρασίες για να ψυχθούν ταμανιτάρια κυμαίνονται μεταξύ 0 °C έως 2 °C, η σχετική υγρασία πρέπει να είναι από 85% έως 95% (Tomkins 1966), ενώ θα πρέπει να ψύχονται μέσα σε 5 ώρες από την συλλογή. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, ταμανιτάρια θα πρέπει να τοποθετούνται σε διάτρητους περιέκτες διότι σε μη διάτρητους παρεμποδίζεται η γρήγορη ψύξη τους και η διάρκεια συντήρησης τους μειώνεται σημαντικά. Επιπλέον, η απώλεια βάρους σεμανιτάρια που βρίσκονται σε ανοιχτά κιβώτια κυμαίνεται από 1% έως 2% ανά μέρα (Nichols 1985). Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η συντήρηση τωνμανιταριών μπορεί να διαρκέσει από δύο μέχρι και τρεις εβδομάδες. Για παράδειγμα, τομανιτάρι *L. edodes* μπορεί να συντηρηθεί για 17 με 20 μέρες σε θερμοκρασία 0 °C, ενώ σε θερμοκρασία 3 °C συντηρείται για 7 με 10 μέρες (ohioline.osu.edu/for-fact).

1.5.2.3. Ελεγχόμενη ατμόσφαιρα

Η συγκέντρωση του οξυγόνου, του διοξειδίου του άνθρακα και άλλων πτητικών ουσιών επηρεάζουν το χρόνο συντήρησης τωνμανιταριών *L. edodes*. Η χαμηλή περιεκτικότητα του O₂ και υψηλή περιεκτικότητα του CO₂ της ατμόσφαιρας επιδρούν στην αναπνοή και στην δράση του ενζύμου πολυφαινολοξυδάση (polyphenoloxidase, PPO), οι οποίες είναι οι κύριοι παράγοντες που επιδρούν στην αποσύνθεση τουμανιταριού. Μείωση της περιεκτικότητας του O₂ και αύξηση του CO₂, κατά τη διάρκεια της συντήρησης, έχει σαν αποτέλεσμα ο ρυθμός της αναπνοής να ελαττώνεται, οπότε ταμανιτάρια *L. edodes* να διατηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Pujantoro κ.α 1995). Επιπλέον, τα υψηλά επίπεδα CO₂ περιορίζουν την επιμήκυνση του μίσχου, ενώ αντίθετα οι χαμηλές συγκεντρώσεις του O₂ περιορίζουν την οξειδωτική δράση τωνμανιταριών *L. edodes*, η οποία είναι υπεύθυνη για το καφέτιασμα της σάρκας (Kauter κ.α. 1978).

Σε προϊόντα όπως τα μήλα που συντηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα είναι δυνατή η χρησιμοποίηση της μεθόδου της ελεγχόμενης ατμόσφαιρας. Σταμανιτάρια όμως, καθώς ο χρόνος συντήρησής τους είναι μικρός, η πιο εφικτή μέθοδος για τον έλεγχο της

ατμόσφαιρας στο περιβάλλον συντήρησής τους είναι συσκευάζοντάς τα. Η συσκευασία των μανιταριών *L. edodes* μπορεί να γίνει με μεμβράνες που έχουν μικρούς πόρους, οι οποίες ανάλογα την περατότητά τους καθορίζονται και οι συγκεντρώσεις των αερίων CO₂/O₂ βελτιώνοντας την διάρκεια συντήρησής των μανιταριών (Nichols & Hammond 1973).

1.5.2.4. Ακτινοβόληση

Η μέθοδος της ακτινοβόλησης έχει δοκιμασθεί στα μανιτάρια για να αυξήσει το χρόνο συντήρησής τους. Όπως αναφέρει και ο Campbell (1968), Καναδοί ερευνητές ανακάλυψαν ότι η ακτινοβόληση με 1 kGy αναστέλλει την ανάπτυξη των μανιταριών *L. edodes* και αυξάνει τη διάρκεια συντήρησής τους. Επιπλέον και Αμερικανοί ερευνητές αναφέρουν αρκετά αποτελεσματική την ακτινοβόληση σε χαμηλές δόσεις, δηλαδή με 1 kGy, ενώ αντίθετα σε μεγαλύτερες δόσεις είχε ως αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του πύλου του μανιταριού *L. edodes* (Skou 1975).

Η ακτινοβόληση με ακτίνες γάμα θανατώνει τα βακτήρια, ελαττώνει το ρυθμό της αναπνοής και εμποδίζει την περαιτέρω ωρίμανση των μανιταριών (Langerank 1972). Η μέθοδος της ακτινοβόλησης σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία, όπως αναφέρει και ο Krammer (1988) έχει σαν αποτέλεσμα τα μανιτάρια *L. edodes* τα οποία έχουν δεχθεί μικρή δόση ακτινοβολίας, 0,5 με 1 kGy, να συντηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασίες πάνω από 10 °C, όχι όμως και σε θερμοκρασίες κάτω από αυτήν. Η χρήση ακτινοβολίας στα μανιτάρια *L. edodes* έχει μικρή αποδοχή από τους καταναλωτές για αρκετούς λόγους. Επιφέρει αλλοίωση του χρώματος της σάρκας ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα ακτινοβόλησης, (Skou κ.α. 1974), όπως και της γεύσης τους (Lai κ.α 1994). Άλλοι λόγοι έχουν να κάνουν φόβους για την ασφάλεια του προϊόντος.

Ακτινοβόληση στα μανιτάρια *L. edodes* μπορεί να γίνει με ακτίνες UV και κατά τη διάρκεια της ξήρανσής τους για αύξηση της συγκέντρωσης της βιταμίνης D, μέσω μετατροπής της εργοστερόλης σε βιταμίνη D. Καθώς στα ελάσματα περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες εργοστερόλης από ό,τι άλλα σημεία του μανιταριού, 40 λεπτά ακτινοβόλησή τους με UV αυξάνει τη ποσότητα της βιταμίνης D έως και 10 φορές. Γενικά όμως, ολόκληρη η διαδικασία της ακτινοβόλησης είναι πολύ ακριβή μέθοδος.

1.5.3. Μεταποίηση μανιταριών *L. edodes*

Η μεταποίηση των φρέσκων μανιταριών *L. edodes* επιτρέπει στα εποχιακά παραγόμενα μανιτάρια να διατίθενται προς πώληση καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Η ξήρανση είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος μεταποίησής τους, αν και η λυοφιλίωση και η κονσερβοποίηση χρησιμοποιούνται επίσης.

Κατά τη ξήρανση, αφαιρείται τέτοια ποσότητα νερού, ώστε να αδρανοποιούνται τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί. Το μανιτάρι *L. edodes* συνήθως αποξηραίνεται με αέρα και αποκτά τελική περιεκτικότητα σε υγρασία περίπου 13%, το μέγεθος του συρρικνώνεται σχεδόν το μισό από ό,τι το φρέσκο και υφίσταται απώλεια βάρους κατά 85% (Tanaka κ.α. 1976). Τα αποξηραμένα μανιτάρια διατηρούν το χρώμα τους και την φυσικότητα που είχαν όταν ήταν νωπά, παρ'όλο που μπορεί να είναι λίγο πιο σκληρά. Επίσης έχουν πιο έντονη γεύση και άρωμα, που οφείλεται στην ουσία guanosine-5-πονοφosphate (Yasumoto κ.α. 1971). Το χαρακτηριστικό άρωμα των μανιταριών *L. edodes* οφείλεται στην περιεκτικότητα της ουσίας την λενθιονίνη (lenthionine), η οποία δημιουργείται ενζυματικά από το λεντινικό οξύ (Maga 1981). Πιθανώς επικίνδυνες ουσίες, όπως δισουλφίδιο του άνθρακα (Ito κ.α. 1978, Toyoda 1978) και φορμαλδεύδη (Fugimoto κ.α. 1976, Yasumoto κ.α. 1976, Yamazaki κ.α. 1980) αποτελούν παραπροϊόντα της παραπάνω διαδικασίας. Παρότι οι συγκεντρώσεις αυτών των συστατικών αυξάνονται κατά την διάρκεια της ξήρανσης, ευτυχώς χάνονται κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος καθώς είναι εξαιρετικά πτητικά (Fugimoto κ.α. 1976).

Το μανιτάρι *L. edodes* πριν αποξηρανθεί πρέπει καταρχήν, να κοπεί και να χωριστεί σε κατηγορίες. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η ανομοιομορφία του και δημιουργούνται καλές συνθήκες αποξήρανσης. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής τα ελάσματα πρέπει να τοποθετούνται με φορά προς τα κάτω (Shinkonsa 1981).

Ξήρανση από τον ήλιο

Αυτή η μέθοδος είναι η πιο οικονομική. Ωστόσο, τα μανιτάρια είναι χαμηλότερης ποιότητας σε σύγκριση με αυτά που αποξηραίνονται σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμού αέρα. Η γεύση και το άρωμα τους δεν είναι έντονα και το μέγεθος τους έχει συρρικνωθεί σημαντικά. Ένα πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι στον ήλιο μετατρέπεται η εργοστερόλη (ergosterol) σε βιταμίνη D (Ono κ.α. 1976).

Ξήρανση με αέρα

Σύμφωνα με αυτή την μέθοδο χρησιμοποιείται ζεστός αέρας για την ξήρανση του *L. edodes*. Δύο τύποι ξηραντήρων χρησιμοποιούνται: με φυσική και δυναμική κίνηση αέρα. Η φυσική κίνηση του αέρα γίνεται σε ειδικά σχεδιασμένα κτίρια, όπου η κυκλοφορία του αέρα εξασφαλίζεται από τη διαφορετική θερμοκρασία που επικρατεί εντός και εκτός του κτιρίου. Στα ξηραντήρια με δυναμική μεταφορά του αέρα χρησιμοποιούνται ανεμιστήρες. Οι υψηλές θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται κατά την αποξηρανση αλλοιώνουν τα ένζυμα και σκοτώνουν τα βακτήρια (Tanaka κ.α. 1976). Η διάρκεια της ξήρανσης ελέγχεται προσεκτικά για την επίτευξη της χαρακτηριστικής εμφάνισης και γεύσης του μανιταριού *L. edodes*.

Υπάρχουν τέσσερα στάδια κατά τη διάρκεια της ξήρανσης με αέρα: η αρχική περίοδος ξήρανσης, η βασική περίοδος, η τελική περίοδος και το τελικό στάδιο (τελείωμα). Σε κάθε στάδιο η θερμοκρασία είναι διαφορετική και ελέγχεται προσεκτικά, ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη ποιότητα με την μικρότερη απώλεια βάρους των μανιταριών. Στο αρχικό στάδιο υπάρχει απώλεια νερού, περίπου 12% ανά ώρα, και η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 40-50 °C. Διαρκεί μία με τέσσερις ώρες ανάλογα την περιεκτικότητα υγρασίας του μανιταριού (Shinkonsa 1981). Η τελική υγρασία κυμαίνεται περίπου στο 75%. Η βασική περίοδο ξήρανσης χαρακτηρίζεται από σταθερή εξάτμιση νερού περίπου 6% με 7% ανά ώρα. Ο αερισμός μειώνεται, η θερμοκρασία πέφτει στους 40 °C, στη συνέχεια όμως αυξάνεται 1-2 °C ανά ώρα, για να διατηρήσει (συνεχιστεί) την εξάτμιση. Η θερμοκρασία δεν θα πρέπει να υπερβεί τους 55 °C. Το στάδιο αυτό διαρκεί 8-12 ώρες. Η τελική περίοδο ξήρανσης ξεκινάει όταν ο ρυθμός εξάτμισης πέσει στο 4-5 % σε απώλεια βάρους ανά ώρα. Η θερμοκρασία αυξάνεται στους 55 °C και διατηρείται σε αυτά τα επίπεδα μέχρι τα μανιτάρια να γίνουν σκληρά και να αποξηρανθούν. Στο σημείο εκείνο η θερμοκρασία αυξάνεται στους 60 °C για το τελευταίο στάδιο της ξήρανσης. Μετά από μια ώρα τα χαρακτηριστικά του αρώματος και του πύλου είναι πολύ έντονα.

Μια τεχνική που έχει ήδη αναφερθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η ακτινοβολήση του μανιταριού *L. edodes* με ακτίνες U.V. κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, η οποία αυξάνει την περιεκτικότητα της βιταμίνης D (Fujita κ.α. 1969, Ono κ.α. 1976, Takeuchi κ.α. 1984).

Η μεταποίηση των μανιταριών *L. edodes* μέσω της ξήρανσης είναι η πιο κοινή μέθοδος. Κονσερβοποίηση και λυοφιλοποίηση χρησιμοποιούνται επίσης, αλλά σε μικρότερη κλίμακα. Και αυτό συμβαίνει γιατί με την κονσερβοποίηση τα μανιτάρια *L. edodes* αλλοιώνονται ως προς την υφή, τη γεύση, το χρώμα τους και την εμφάνισή τους.

Ωστόσο με τη λεύκανση και τη χρήση μικροκυμάτων περιορίζονται ως ένα βαθμό οι αλλοιώσεις. Όσο αναφορά στην λυοφιλιωποίηση, στην αρχή ταμανιτάρια *L. edodes* καταψύχονται βαθιά και στη συνέχεια ξηραίνονται υπό κενό μεταξύ 4% και 6% MC. Κατά τη διαδικασία αυτή συμβαίνει μια μικρή αλλαγή στο σχήμα και το χρώμα, αλλά η υφή και το άρωμα του *L. edodes* είναι παρόμοια με αυτές των φρέσκωνμανιταριών.

1.5.4. Τάσεις στην παραγωγή και κατανάλωση τωνμανιταριών *L. edodes*

Τομανιτάρι *L. edodes* κατέχει τη δεύτερη θέση στην παγκόσμια παραγωγήμανιταριών μετά ταμανιτάρια του γένους *Agaricus*. Περίπου το 80% της παραγωγής τωνμανιταριών αυτών διατίθεται σε αποξηραμένη μορφή, ενώ μόνο το 20% πωλούνται νωπά. Παγκοσμίως, η παραγωγή του *L. edodes* αυξήθηκε από 10.000 mt (μετρικός τόνος) το 1946 πάνω από 300.000 mt το 1986. Κατά την ίδια χρονική περίοδο, τομανιτάρι *Agaricus* αυξήθηκε από 100.000 mt σε 1.226.640 (Chang 1987, Roysse κ.α. 1985).

Η Ασία παραδοσιακά αποτελεί περιοχή παραγωγής τουμανιταριού *L. edodes*. Οι κύριες όμως, χώρες παραγωγής του συγκεκριμένουμανιταριού είναι η Κίνα και η Ιαπωνία. Ιστορικά η Ιαπωνία ήταν η πρώτη χώρα παραγωγής του *L. edodes*, με ποσοστό 83% της παγκόσμιας παραγωγής το 1983, με την Κίνα να έχει παραγωγή μόλις 9%. Στη συνέχεια (Πίνακας 10) η παραγωγή άρχισε να σημειώνει πτωτικές τάσεις για την Ιαπωνία (32% το 1991, 21% το 1994 και 7% το 1997), ενώ ανοδικές για την Κίνα, με ποσοστά να κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα (57% το 1991, 71% το 1994 και 89% το 1997). Οι ρόλοι όπως φαίνεται αντιστράφηκαν και η Κίνα έγινε πλέον η κύρια χώρα παραγωγής τουμανιταριού *L. edodes* (www.hri.ac.uk/isms/article6.htm, Chang 1999).

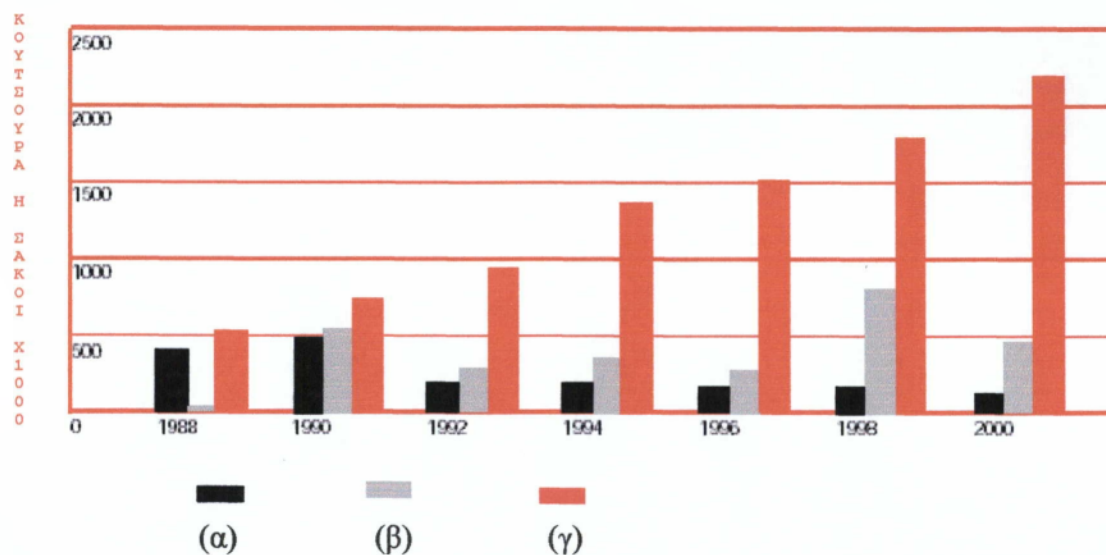
Πίνακας 10: Κατανομή της παγκόσμιας παραγωγής τουμανιταριού *L. edodes* (%) (www.hri.ac.uk/isms/article6.htm).

Χώρες / έτος	Παραγωγή (%)			
	1983	1991	1994	1997
Κίνα	9,4	57,4	71,0	88,8
Ιαπωνία	82,8	32,2	21,5	7,3
Ταϊβάν	3,6	5,6	3,3	2,2
Κορέα	2,4	2,6	2,5	0,8
Άλλες χώρες	1,8	2,2	1,9	0,9
Σύνολο	100	100	100	100

Αξίζει να σημειωθεί ότι σήμερα στην Κίνα και την Ιαπωνία η καλλιέργεια των μανιταριών *L. edodes* γίνεται κυρίως με τον παραδοσιακό τρόπο σε κορμούς δένδρων, ενώ στις άλλες χώρες γίνεται τόσο σε κορμούς όσο και σε σάκους με συνθετικά υλικά. Οικονομικοί και πολιτικοί παράγοντες ενθάρρυναν την ανάπτυξη του μανιταριού *L. edodes* και στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής. Στις αρχές του 1970, η ανάγκη για φθηνό κονσερβοποιημένο μανιτάρι από την Ασία είχε σαν αποτέλεσμα την απότομη μείωση της παραγωγής του στις Η.Π.Α. Αυτό είχε σαν συνέπεια οι καλλιεργητές να αναζητήσουν καινούργια είδη μανιταριών, όπως το μανιτάρι *L. edodes* που καλλιεργείται σε κορμούς δένδρων και πριονίδι (Πίνακας 11).

Σήμερα, φαίνεται ότι το μανιτάρι *L. edodes* έχει την καλύτερη δυνατή αποδοχή από τους καταναλωτές στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, αλλά και σε άλλες δυτικές χώρες. Οι καταναλωτές αρχίζουν να γνωρίζουν τόσο τις εδεσματολογικές όσο και τις φαρμακευτικές του ιδιότητες και καθώς μπορεί να συντηρηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα και διατίθεται σε λογικές τιμές, η ζήτηση του *L. edodes* αυξάνεται διαρκώς.

Πίνακας 11: Παραγωγή του μανιταριού *L. edodes* στις Η.Π.Α. από το 1988 μέχρι το 2000 (Roysse 2001) από α) κορμούς δένδρων που καλλιεργήθηκαν σε εξωτερικές συνθήκες (μαύρη στήλη), β) κορμούς δένδρων που καλλιεργήθηκαν σε θερμοκήπιο (γκρι στήλη) και γ) από συνθετικό υπόστρωμα (κόκκινη στήλη).



ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ)

2.1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη παρουσιάζεται η διερεύνηση της καταλληλότητας χρησιμοποίησης δύο ειδών εμβολίου (εμβόλιο στερεής και εμβόλιο υγρής καλλιέργειας) για την καλλιέργεια του μύκητα *L. edodes* S4080 σε λιγνοκυτταρινούχα γεωργικά υπολείμματα (άχυρο σίτου, σπάδικες καλαμποκιού και πριονίδι βελανιδιάς). Στα πειράματα που έγιναν στο Εργαστήριο Εδώδιμων Μυκήτων του ΕΘΙΑΓΕ/ΓΕΜΚ, χρησιμοποιήθηκαν οι αναλογίες: ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 30:35:15 και ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 50:25:5 ως υποστρώματα για την καλλιέργεια του εξωτικού μανιταριού *L. edodes*. Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές καλλιερειών. Στην πρώτη έγινε σύγκριση των δύο αναλογιών των μγμάτων άχρου, καλαμποκιού, βελανιδιάς όπου οι σακούλες εμβολιάστηκαν με τη παραδοσιακή μέθοδο του σπόρου σε κεχρί. Επιλέχθηκε η αναλογία που έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα (ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 30:35:15) τόσο σε ποσοτικές όσο και σε ποιοτικές παραμέτρους, και στη συνέχεια, εξετάστηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης υγρής καλλιέργειας μυκηλίου ως εμβόλιο για την καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes* σε πιλοτικές συνθήκες και τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν σε σύγκριση με την παραδοσιακή μέθοδο εμβολιασμού με σπόρο σε κεχρί.

Για την αξιολόγηση των υποστρωμάτων και των τύπων εμβολίου (ΕΣΚ και ΕΥΚ) καταγράφηκαν παράμετροι που αφορούσαν τη διάρκεια των φάσεων του παραγωγικού κύκλου (επώαση, πρωϊμότητα, συγκομιδή) και διαπιστώθηκε ότι το εμβόλιο υγρής καλλιέργειας ευνοεί ιδιαίτερα την ανάπτυξη των *L. edodes*. Στη συνέχεια, έγινε καταγραφή τόσο των ποσοτικών (ΒΑ%, αριθμός καρποφοριών) όσο και των ποιοτικών χαρακτηριστικών των καρποφοριών (μέσο βάρος καρποφορίας, διάμετρος πύλου/στίπου, διάμετρος και ύψος στίπου). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο μύκητας *L. edodes* εμφάνισε τις μεγαλύτερες αποδόσεις στο εμβόλιο υγρής καλλιέργειας, ενώ οι καρποφορίες όλων των καλλιερειών παρουσίασαν υψηλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.

Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για την αξιοποίηση του σπόρου υγρής φάσης (ΕΥΚ), διότι δεν υστερεί σε σχέση με τον παραδοσιακό σπόρο στερεής φάσης (ΕΣΚ), αντίθετα μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική πρόταση στην καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes*.

2.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1 Βιολογικό υλικό

Στα πειράματα της παρούσας πτυχιακής μελέτης χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό στέλεχος S4080 (Somycel) του μανιταριού *Lentinula edodes*. Ο μύκητας για την φύλαξή του επί μακρόν διατηρήθηκε σε θρεπτικό υλικό potato dextrose agar (PDA, Merck) στους 25 °C.

2.2.2 Παρασκευή εμβολίου μύκητα *L. edodes* ('σπόρου' μανιταριού)

α) Παρασκευή 'σπόρου' σε κόκκους κεχριού

Για την παρασκευή 'σπόρου' μανιταριού *L. edodes* σε κεχρί, δηλ. εμβολίου με καθαρό, ζωντανό μυκήλιο αναπτυγμένο σε κόκκους κεχριού, ορισμένη ποσότητα κεχριού απαλλαγμένου από ξένα σώματα έβρασε για 20 λεπτά, διαβρέχτηκε για άλλα 15 λεπτά (υγρασία 70%), στραγγίστηκε και τέλος αναμίχθηκε με γύψο ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1,5% και CaCO_3 3% επί ξ.β. σπόρου. Κωνικές φιάλες Erlenmeyer 500 ml πληρώθηκαν με 180-200 g σπόρου, πωματίστηκαν με βαμβάκι και αποστειρώθηκαν στους 121 °C για 1,5 ώρα. Όταν οι φιάλες κρύωσαν, έγινε εμβολιασμός τους με ροδέλες διαμέτρου 5 mm καθαρής ανανεωμένης καλλιέργειας μύκητα, αναπτυγμένης σε τρυβλεία πέτρι. Ακολούθησε επώαση των κωνικών σε θάλαμο με θερμοκρασία 25 °C. Μετά από διάστημα 3 περίπου εβδομάδων και με κατά διαστήματα ανακίνηση των φιαλών, το μυκήλιο αποίκισε πλήρως το κεχρί και ο 'σπόρος' ήταν έτοιμος για εμβολιασμό των υποστρωμάτων.

β) Παρασκευή 'σπόρου' σε υγρό θρεπτικό μέσο

Για την παρασκευή υγρής καλλιέργειας μυκηλίου *L. edodes* αρχικά δημιουργήθηκε το υγρό θρεπτικό μέσο, το οποίο περιείχε τα παρακάτω υλικά, σύμφωνα με τον Πίνακα 12 (Paranikolaou κ.α. 2001). Κωνικές φιάλες Erlenmeyer 500 ml πληρώθηκαν με 200 ml υγρού θρεπτικού μέσου, πωματίστηκαν με βαμβάκι και αποστειρώθηκαν στους 121 °C για 15 λεπτά. Όταν οι φιάλες κρύωσαν, έγινε εμβολιασμός τους με ροδέλες διαμέτρου 5 mm καθαρής ανανεωμένης καλλιέργειας μύκητα, αναπτυγμένης σε τρυβλεία πέτρι. Ακολούθησε επώαση των κωνικών σε θάλαμο με θερμοκρασία 25 °C. Οι κωνικές φιάλες μια φορά την ημέρα ανακινούνταν σε shaker M 301-OR για 2 ώρες σε 180 rpm/min, έτσι ώστε να διασπαστεί το μυκήλιο. Το εμβόλιο σε υγρό θρεπτικό μέσο ήταν έτοιμο για εμβολιασμό των υποστρωμάτων μετά από διάστημα 3 περίπου εβδομάδων.

Πίνακας 12: Σύσταση θρεπτικού μέσου Synthetic Medium (SM) που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη του μυκηλίου *L. edodes*.

Συστατικά	(g/l)
KH ₂ PO ₄	7,0
Na ₂ HPO ₄	2,5
MgSO ₄ 7H ₂ O	1,5
CaCl ₂	0,15
FeCl ₃ 6H ₂ O	0,15
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,02
MnSO ₄ H ₂ O	0,06
(NH ₄) ₂ SO ₄	5,0
Yeast extract	1,0
Γλυκόζη	35,0

2.2.3. Προσδιορισμός μυκηλιακής βιομάζας από εμβόλιο στερεάς ή υγρής φάσης

Για την καλύτερη αξιολόγηση της επίδρασης των δύο ειδών εμβολίου του μύκητα στην τελική απόδοση της καλλιέργειας παραγματοποιήθηκε ένα πείραμα μέτρησης της ξηράς ουσίας μυκηλίου που δημιουργήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε εμβόλιο α) από ροδέλα αποικίας μύκητα αναπτυγμένης για 3 εβδομάδες σε καλλιέργεια στερεής φάσης PDA (ΕΣΚ) είτε β) από καλλιέργεια μυκηλίου υγρής φάσης (ΕΥΚ). Συγκεκριμένα, 3 κωνικές φιάλες Erlenmeyer 500 ml με 200 ml αποστειρωμένου υγρού θρεπτικού μέσου εμβολιάστηκαν με μία ροδέλλα μύκητα *L. edodes* διαμέτρου 5 mm και άλλες 3 κωνικές εμβολιάστηκαν με 100 ml υγρής καλλιέργειας μυκηλίου ηλικίας 3 εβδομάδων. Ακολούθησε επώαση των κωνικών φιαλών σε θάλαμο θερμοκρασίας 25 °C, στο τέλος της οποίας όλο το περιεχόμενο των κωνικών ξηράνθηκε στους 105 °C/24 h από όπου υπολογίστηκε και η ξηρά ουσία του μυκηλίου σε κάθε περίπτωση.

2.2.4. Παρασκευή υποστρωμάτων – εμβολιασμός σάκων

Τα αγροτικά υπολείμματα που δοκιμάστηκαν στη παρούσα μελέτη για την δυνατότητά τους να χρησιμοποιηθούν ως υποστρώματα καλλιέργειας του εξωτικού μανιταριού *L. edodes* ήταν άχυρο σίτου (ΑΧ), σπάδικες καλαμποκιού (ΚΑΛ) και πριονίδι βελανιδιάς (ΒΕΛ) στις εξής δύο αναλογίες: ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 30:35:15 και ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 50:25:5 (κατά βάρος επί ξ.β.). Οι αναλογίες των υλικών στα υποστρώματα υπολογίστηκαν με βάση

την διαθεσιμότητα των γεωργικών υπολειμμάτων τη στιγμή των πειραμάτων και την περιεκτικότητά τους σε C και N, ούτως ώστε ο τελικός λόγος C:N των υποστρώματων να είναι 30-55:1. Στα παραπάνω κύρια υλικά προστέθηκαν σε μικρές αναλογίες πίτουρο και σογιάλευρο (12% και 7% αντίστοιχα), ενώ για ρύθμιση του pH στο 6,4-7,0 στα μίγματα προστέθηκε CaCO₃ 1% κ.β.

Για να αποκτήσουν τα υποστρώματα τελική υγρασία 70-75%, τα υλικά εμβλαπτίστηκαν σε νερό για 24h και στη συνέχεια παρέμειναν για στράγγιση άλλες 24h. Χρησιμοποιήθηκαν σακούλες πολυπροπυλενίου 30x50cm, οι οποίες πληρώθηκαν με 2500g μίγματος (12 επαναλήψεις ανά αναλογία υποστρώματος και είδος εμβολίου) και αποστειρώθηκαν στους 121°C για 2 ώρες. Όταν οι σάκοι απέκτησαν θερμοκρασία περιβάλλοντος ακολούθησε ο εμβολιασμός τους με ασηπτικές συνθήκες μέσα σε θάλαμο νηματικής ροής. Στην περίπτωση χρησιμοποίησης 'σπόρου' κεχριού, στον κεντρικό άξονα της σακούλας δημιουργήθηκε κενός χώρος όπου εισήχθησαν 125 g στερεού εμβολίου. Στον εμβολιασμό με υγρό εμβόλιο, 125 ml διασπάρθηκαν σε σύριγγα στην άνω επιφάνεια του υποστρώματος στο εσωτερικό της σακούλας.

Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές καλλιέργειών. Στην πρώτη έγινε σύγκριση των δύο αναλογιών των μιγμάτων ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ 30:35:15 και 50:25:5 όταν οι σακούλες εμβολιάστηκαν με τη κλασική μέθοδο του σπόρου σε κεχρί (ΕΣΚ). Αφού επιλέχθηκε η αναλογία που έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα τόσο σε ποσοτικές όσο και σε ποιοτικές παραμέτρους, πραγματοποιήθηκε δεύτερη καλλιέργεια όπου για εμβόλιο χρησιμοποιήθηκε υγρή καλλιέργεια μυκηλίου (ΕΥΚ), μέθοδος που από όσο γνωρίζουμε βρίσκεται σε πειραματικό στάδιο και δεν χρησιμοποιείται στην πράξη κατά την καλλιέργεια όχι μόνο του μανιταριού *L. edodes*, αλλά και των υπόλοιπων καλλιεργούμενων μανιταριών.

2.2.5. Συνθήκες καλλιέργειας και μετρήσεις

Μετά τον εμβολιασμό τους, οι σακούλες μεταφέρθηκαν για επώαση σε θάλαμο με θερμοκρασία 26°C και σχ. υγρασία 85%. Η επώαση έγινε σε χαμηλό φωτισμό 50-100 lux. Κάθε εβδομάδα καταγράφονταν η μυκηλιακή ανάπτυξη (ποσοστό % του συνολικού όγκου της σακούλας που καταλαμβάνει ο μύκητας) και όταν αυτή έφτασε 100%, οι σακούλες αφαιρέθηκαν και τα επωασμένα υποστρώματα μεταφέρθηκαν για καρποφορία σε θαλάμους με συνθήκες 17,5°C, συνεχές φως 300 lux με λαμπτήρες φθορισμού ενώ η υγρασία των θαλάμων ρυθμίστηκε σε 85% με υδρονέφωση διάρκειας 1-3min/h. Οι καρποφορίες συγκομίστηκαν με το χέρι κατά τα 3 πρώτα κύματα παραγωγής (έως 3,5

μήνες), όταν ο πύλος των μανιταριών ήταν 50% ανοιχτός και ο αριθμός καθώς και το βάρος τους καταγράφονταν σε κάθε συγκομιδή.

Με αφετηρία την ημέρα σποράς, καταγράφηκε η χρονική διάρκεια (ημέρες) στα ακόλουθα στάδια του παραγωγικού κύκλου:

1. στάδιο επώασης,
2. στάδιο επαγωγής (διάστημα έως την εμφάνιση των καταβολών). Το χρονικό διάστημα από την έναρξη της επώασης μέχρι την εμφάνιση της πρώτης ώριμης καρποφορίας ορίζεται ως πρωϊμότητα.
3. στάδιο συγκομιδής των καρποφοριών σε τρία διαδοχικά κύματα.

Οι ποσοτικές αποδόσεις των καλλιεργειών και οι ποιοτικοί χαρακτήρες των καρποφοριών αξιολογήθηκαν με βάση τις ακόλουθες παραμέτρους:

1. συνολικός αριθμός καρποφοριών
2. νωπό βάρος, το συνολικό βάρος των παραγόμενων καρποφοριών (g)
3. βιολογική αποδοτικότητα % (BA%) της καλλιέργειας: το πηλίκο του νωπού βάρους των παραγόμενων καρποφοριών προς το ξηρό βάρος του υποστρώματος ($\times 100$)
4. μέσο βάρος καρποφορίας: το πηλίκο του νωπού βάρους προς τον συνολικό αριθμό των καρποφοριών
5. διάμετρος πύλου, πάχος πύλου και ύψος στίπου.

2.2.6. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Στα δεδομένα των πειραμάτων υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (TA). Οι πίνακες με τα αποτελέσματα και την στατιστική επεξεργασία τους παρατίθενται στο τέλος στο Παράρτημα Δεδομένων.

2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη εξετάστηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης υγρής καλλιέργειας μυκηλίου ως εμβόλιο για την καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes* σε πιλοτικές συνθήκες και τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν σε σύγκριση με την παραδοσιακή μέθοδο εμβολιασμού με σπόρο σε κεχρί. Θέλοντας να εξασφαλιστεί η καταλληλότερη σύνθεση του υποστρώματος καλλιέργειας, αρχικά δοκιμάστηκαν τα γεωργικά υπολείμματα άχυρο, καλαμπόκι και βελανιδιά σε αναλογίες 30:35:15 και 50:25:5 αντίστοιχα, τα οποία εμβολιάστηκαν με σπόρο κεχριού και το υπόστρωμα που ευνόησε την παραγωγικότητα και έδωσε μανιτάρια με τα καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για την αξιολόγηση του εμβολίου σε υγρή μορφή.

Για την αξιολόγηση υποστρωμάτων και τύπου εμβολίου καταγράφηκαν παράμετροι που αφορούσαν (α) τη διάρκεια των φάσεων του παραγωγικού κύκλου (επώαση, πρωϊμότητα, συγκομιδή) και (β) τα ποσοτικά (BA%, αριθμός καρποφοριών) και ποιοτικά (μέσο βάρος καρποφορίας, διάμετρος πύλου/στίπου, διάμετρος και ύψος στίπου) χαρακτηριστικά των καρποφοριών.

2.3.1. Μέτρηση ξηράς ουσίας υγρής καλλιέργειας μύκητα μετά από εμβολιασμό με εμβόλιο α) από καλλιέργεια υγρής φάσης (ΕΥΚ) και β) από καλλιέργεια στερεής φάσης (ΕΣΚ)

Από τα αποτελέσματα του προκαταρκτικού αυτού πειράματος που δίνονται στον Πίνακα 13 φαίνεται ότι το ΕΥΚ του *L. edodes* όταν εμβολιάστηκε σε 100 ml θρεπτικού μέσου, μετά την ανάπτυξη και ξήρανση της στους 105 °C/24 h, είχε ξηρά ουσία (%) μικρότερη από τη ξηρά ουσία της αποικίας του μύκητα *L. edodes*, η οποία είχε αναπτυχθεί με αφετηρία το ΕΣΚ (6,75% έναντι 7,48%). Κάνοντας αναγωγή σε συνθήκες καλλιέργειας σε σάκους, μπορούμε να υποθέσουμε ότι τα υποστρώματα που εμβολιάστηκαν με υγρή καλλιέργεια μυκηλίου δέχτηκαν μικρότερη ποσότητα εμβολίου σε σχέση με αυτά που εμβολιάστηκαν με σπόρο κεχριού.

Ωστόσο, αξιολογώντας τα στοιχεία που αφορούν στον παραγωγικό κύκλο και στην παραγωγικότητα της καλλιέργειας που παραθέτονται στα παρακάτω κεφάλαια (2.3.2. και 2.3.4.), μπορούμε να διατυπώσουμε την άποψη ότι το υγρό εμβόλιο εισχώρησε και

αποίκισε γρηγορότερα στο υπόστρωμα των σάκων από ό,τι το εμβόλιο σε σπόρο κεχριού, με αποτέλεσμα την γρηγορότερη εμφάνιση των καρποφοριών και την καλύτερη απόδοση της καλλιέργειας.

Πίνακας 13: Επίδραση του είδους του εμβολίου στην μυκηλιακή βιομάζα (ξ.ο.) αποικίας 3 εβδομάδων ξηρά ουσία καλλιέργειας υγρής φάσης μύκητα *L. edodes*.

Είδος εμβολίου	Προ ξήρανσης	Μετά ξήρανσης	Ξηρά
	Δείγμα (g)	Δείγμα (g)	ουσία (%)
Υγρή καλ/γεια*	9,32	0,66	7,08
	10,40	0,69	6,63
	11,04	0,72	6,52
	MO	10,25	6,75
Ροδέλα PDA**	8,67	0,61	7,04
	8,64	0,68	7,87
	7,56	0,57	7,54
	MO	8,29	7,48

* Αποικία 3 εβδομάδων ανεπτυγμένη σε 100ml υγρή καλ/γεια *L. edodes* ως εμβόλιο σε 100ml θρεπτικού μέσου SM.

** Μία ροδέλα 0,55 mm μύκητα *L. edodes* ανεπτυγμένου για 3 εβδομάδες σε PDA ως εμβόλιο σε 100ml θρεπτικού μέσο SM.

2.3.2. Παραγωγικός κύκλος μανιταριών *L. edodes*

Κατά την φάση της επώασης, στον παραγωγικό κύκλο των μανιταριών *L. edodes*, το στέλεχος S4080 αναπτύχθηκε στο υπόστρωμα άχυρο, καλαμπόκι και βελανιδιά και στις δύο αναλογίες που χρησιμοποιήθηκαν στα παρόντα πειράματα σε διάστημα 67-76 ημερών όταν χρησιμοποιήθηκε ο παραδοσιακός σπόρος κεχριού και μόνο 33 ημέρες στην περίπτωση της υγρής καλλιέργειας μύκητα (Πίνακας 14, Διάγραμμα 1), ανεξάρτητα από τη σύσταση του υποστρώματος.

Κατά τη δεύτερη φάση του παραγωγικού κύκλου, την επαγωγή, εμφανίστηκαν καταβολές του *L. edodes* S4080 σε όλα τα υποστρώματα των 3 καλλιεργειών που πραγματοποιήθηκαν ανεξάρτητα του είδους του εμβολίου (σπόρου) που χρησιμοποιήθηκε. Παρατηρείται όμως ότι το υπόστρωμα με την μεγαλύτερη ποσότητα άχυρου (I), ευνόησε την εμφάνιση των πρώτων καρποφοριών, καθώς αυτές εμφανίστηκαν μόλις 64 ημέρες μετά τη σπορά.

Από την άλλη πλευρά, φαίνεται ότι η μείωση της ποσότητας του άχυρου σε συνδυασμό με τις αυξημένες ποσότητες καλαμποκιού και βελανιδιάς (υπόστρωμα II) προκάλεσαν καθυστέρηση στην πρωιμότητα των καλλιεργειών, καθώς οι καρποφορίες εμφανίστηκαν 20 ημέρες αργότερα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί επίσης ότι αν και ο σπόρος υγρής καλλιέργειας είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική ελαχιστοποίηση του χρόνου επώασης της καλλιέργειας, δεν συνέβη κάτι ανάλογο και για το διάστημα της επαγωγής, αφού για την εμφάνιση της 1^{ης} καρποφορίας καταγράφηκε ένα προβάδισμα 3 μόνο ημερών (Πίνακας 14, Διάγραμμα 1).

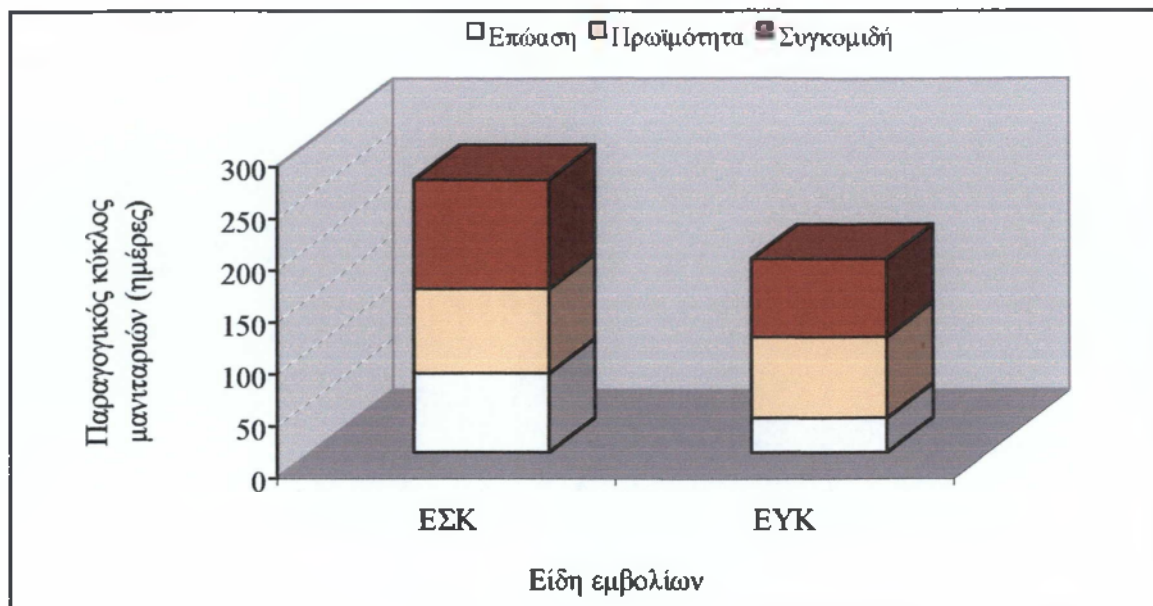
Τέλος, αναφορικά με το χρονικό διάστημα που απαιτήθηκε για την συγκομιδή των 3 πρώτων κυμάτων των μανιταριών *L. edodes* S4080 (Πίνακας 14, Διάγραμμα 1), φαίνεται ότι η σύσταση του υποστρώματος όπως και το είδος του σπόρου μανιταριού είχαν σημαντική επίδραση. Σημαντικά λιγότερος χρόνος για την ολοκλήρωση της συλλογής των μανιταριών απαιτήθηκε στο υπόστρωμα I (45 ημέρες) σε σχέση με το υπόστρωμα II (75 έως 105), ενώ παρουσία υγρού σπόρου στη ίδια σύσταση υποστρώματος (υπόστρωμα II) η συγκομιδή των 3 κυμάτων πραγματοποιήθηκε 30 ημέρες γρηγορότερα από ό,τι με τον σπόρο κεχριού.

Πίνακας 14: Επίδραση της σύστασης του υποστρώματος και του είδους του εμβολίου (ΕΣΚ: εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης, ΕΥΚ: εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης) στον παραγωγικό κύκλο του μανιταριού *L. edodes*.

Υποστρώματα	Εμβόλιο	Επώαση (ημέρες)	Πρωιμότητα (ημέρες)	Συγκομιδή (ημέρες)	Παραγωγικός κύκλος (ημέρες)
I*	ΕΣΚ	67	64	45	176
II**	ΕΣΚ	76	81	105	262
II	ΕΥΚ	33	78	75	186

* υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 50:25:5

** υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 30:35:15



Διάγραμμα 1: Επίδραση της σύστασης του υποστρώματος και του είδους του εμβολίου (ΕΣΚ: εμβόλιο στερεής καλλιέργειας, ΕΥΚ: εμβόλιο υγρής καλλιέργειας, σε υπόστρωμα άχυρο, καλαμιπόκι, βελανιδιά 30:35:15) στον παραγωγικό κύκλο του μανιταριού *L. edodes*.

2.3.3. Αξιολόγηση ποσοτικών αποδόσεων κατά την καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes* (BA%, αριθμός καρποφοριών)

Στον παρακάτω Πίνακα 14 παρουσιάζεται η βιολογική αποδοτικότητα (BA%) του μανιταριού *L. edodes* στις δύο συνθέσεις του υποστρώματος άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά (I, II) και με την χρησιμοποίηση σπόρου κεχριού (ΕΣΚ) και εμβολίου υγρής καλλιέργειας μυκηλίου (ΕΥΚ). Αρχικά παρατηρείται ότι το υπόστρωμα II, το οποίο περιείχε λιγότερη ποσότητα άχυρου και περισσότερη καλαμποκιού και βελανιδιάς έδωσε τις μεγαλύτερες αποδόσεις με τετραπλάσια διαφορά σε σύγκριση με το υπόστρωμα I (BA 54,51% και 58,97% έναντι 9,69%). Αντίστοιχη εικόνα παρουσιάζουν και τα αποτελέσματα που αφορούν τον αριθμό των παραγόμενων καρποφοριών (Πίνακας 15). Εξετάζοντας την επίδραση του είδους του σπόρου στα ποσοτικά χαρακτηριστικά της καλλιέργειας *L. edodes* βλέπουμε ότι καλύτερα αποτελέσματα καταγράφηκαν όταν τα υποστρώματα εμβολιάστηκαν με υγρό σπόρο (ΕΥΚ). Η βιολογική αποδοτικότητα ήταν στην περίπτωση αυτή 58,97%, τιμή λίγο υψηλότερη από αυτή που έδωσε ο παραδοσιακός σπόρος από κεχρί (54,51%), ενώ ο αριθμός των μανιταριών ήταν σημαντικά αυξημένος (105 έναντι 86).

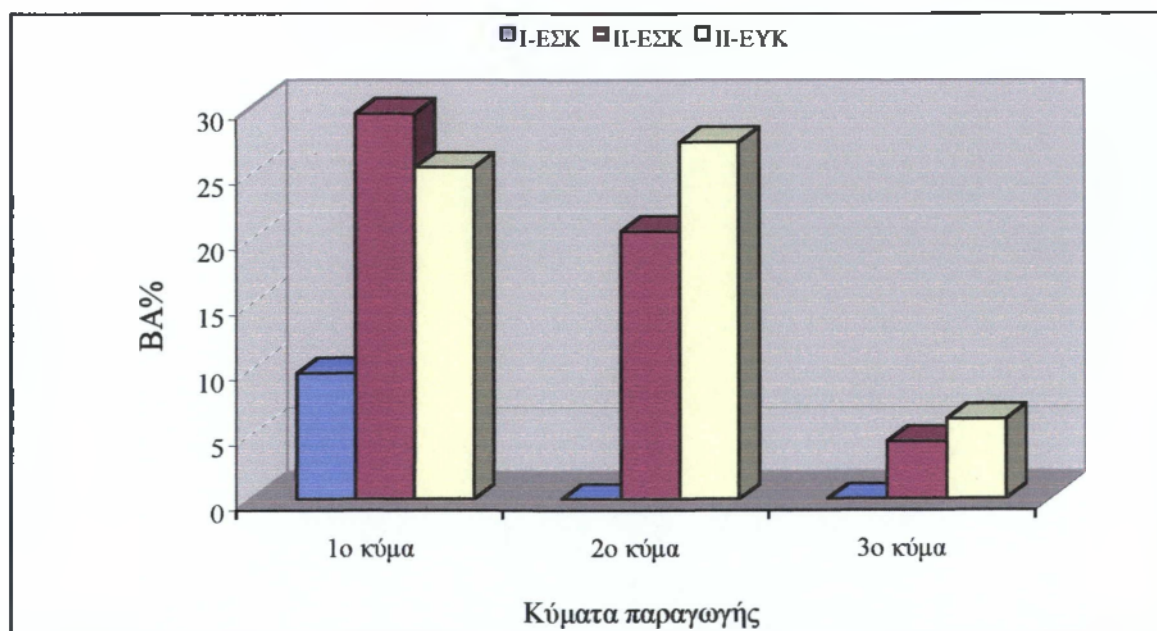
Πίνακας 15: Επίδραση της σύστασης του υποστρώματος και του είδους του εμβολίου (ΕΣΚ: εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης, ΕΥΚ: εμβόλιο από καλλιέργεια υγρής φάσης) στην βιολογική αποδοτικότητα (ΒΑ%) και τον αριθμό του μανιταριού *L. edodes* S4080.

Υποστρώματα	Εμβόλιο	ΒΑ (%)	Αριθμός μανιταριών
I*	ΕΣΚ	9,69±1,64	14
II**	ΕΣΚ	54,51±5,68	86
II	ΕΥΚ	58,97±13,47	105

* υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 50:25:5.

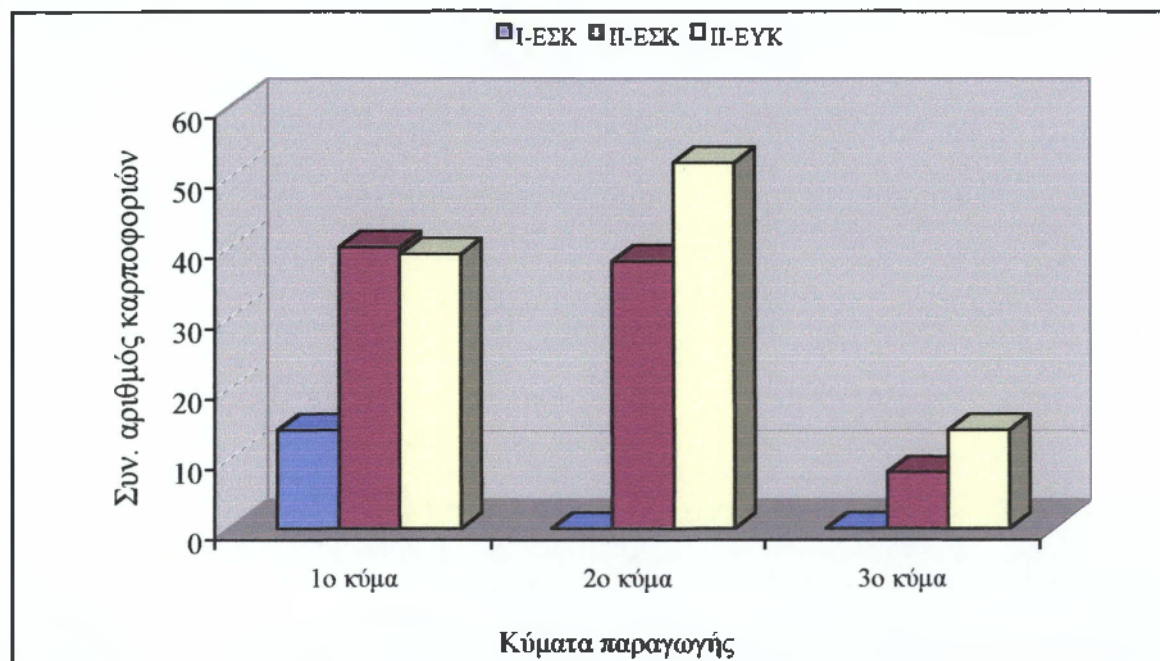
** υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 30:35:15.

Αναλύοντας τα αποτελέσματα στα 3 κύματα παραγωγής του μανιταριού *L. edodes* (Διάγραμμα 2), γίνεται φανερό ότι το μεγαλύτερο ποσοστό της παραγωγής της καλλιέργειας συλλέχτηκε νωρίς στο πρώτο κύμα, ακολούθησε το δεύτερο κύμα, ενώ πολύ μικρή ήταν η συμβολή του τρίτου κύματος στην συνολική παραγωγικότητα της καλλιέργειας.



Διάγραμμα 2: Επίδραση της σύστασης του υποστρώματος και του είδους σπόρου (I: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 50:25:5, II-EΣΚ: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 30:35:15 και εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης, II-EΥΚ: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 30:35:15 και εμβόλιο από καλλιέργεια υγρής φάσης) στην βιολογική αποδοτικότητα (ΒΑ%) του μανιταριού *L. edodes* S4080 στα 3 κύματα παραγωγής.

Όσον αφορά στην κατανομή του αριθμού των καρποφοριών στα 3 κύματα (Διάγραμμα 3), είναι φανερό ότι τα δύο πρώτα κύματα είχαν παρόμοιο συνολικό αριθμό καρποφοριών, σε αντίθεση με το τρίτο κύμα όπου η συμβολή του στη συνολική παραγωγή ήταν πολύ μικρή. Επιπλέον, το υπόστρωμα (II-ΕΥΚ) που είναι εμβολιασμένο με την υγρή καλλιέργεια μυκηλίου παράγαγε το μεγαλύτερο συνολικό αριθμό καρποφοριών.



Διάγραμμα 3: Επίδραση της σύστασης του υποστρώματος και του είδους σπόρου (I: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 50:25:5, II-ΕΣΚ: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 30:35:15 και εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης, II-ΕΥΚ: άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά 30:35:15 και εμβόλιο από καλλιέργεια υγρής φάσης) στον αριθμό των μανιταριών *L. edodes* S4080 στα 3 κύματα παραγωγής.

2.3.4. Ποιοτικά χαρακτηριστικά μανιταριών *L. edodes* (μέσο βάρος, διάμετρος πύλου/στίπου, πάχος πύλου, ύψος στίπου)

Οι ποιοτικοί χαρακτήρες των καρποφοριών του μύκητα *L. edodes*, παρουσιάζονται στον Πίνακα 16. Κατά τη μέτρηση του μέσου βάρους και της διαμέτρου του πύλου διαπιστώθηκε ότι το υπόστρωμα άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά ανεξάρτητα την αναλογία των υπολειμμάτων και είτε εμβολιάστηκε με σπόρο κεχριού, είτε με υγρή καλλιέργεια εμβολίου, έδωσε μανιτάρια μεγάλου μεγέθους και βάρους. Οι τιμές του μέσου βάρους των καρποφοριών δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, όμως φάνηκε ότι ο εμβολιασμός με

υγρή καλλιέργεια μυκηλίου ευνόησε την παραγωγή λίγο βαρύτερων μανιταριών. Δεδομένου του γεγονότος ότι τα μανιτάρια συλλέχτηκαν όταν ο πύλος ήταν κατά 50% ανοιχτός (Kawai κ.α. 1996), με βάρος καρποφοριών μεγαλύτερο από 20 g, όλα τα μανιτάρια *L. edodes* που συλλέχτηκαν κατατάσσονται στην κατηγορία ‘μεγάλα’ (Kawai κ.α. 1996). Επίσης, τα καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρποφοριών διακρίνονται και από τον συνδυασμό των αποτελεσμάτων διάμετρος πύλου – ύψος στίπου, αλλά και από το πάχος του πύλου και τη διάμετρο του στίπου, όπου γίνεται φανερό ότι το είδος του σπόρου που χρησιμοποιήθηκε δεν επηρέασε την ποιότητα των παραγόμενων μανιταριών.

Πίνακας 16: Ποιοτικοί χαρακτήρες καρποφοριών που παράχθηκαν κατά την καλλιέργεια του μύκητα *L. edodes* σε υπόστρωμα από άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά και εμβολιάστηκαν με εμβόλιο από καλλιέργεια στερεής φάσης (ΕΣΚ) και εμβόλιο από καλλιέργεια υγρής φάσης (ΕΥΚ).

Υποστρώματα	Εμβόλιο	Μέσο βάρος (g)	Διάμετρος πύλου (g)	Πάχος πύλου (g)	Ύψος στίπου (g)	Διάμετρος στίπου (g)
I*	ΕΣΚ	26,64±3,25	6,04	1,26	4,28	1,24
II**	ΕΣΚ	26,55±9,66	5,97	1,12	5,02	1,56
II	ΕΥΚ	30,97±5,04	6,39	1,16	4,39	1,23

* υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 50:25:5.

** υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 30:35:15.

2.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν, κατά την καλλιέργεια του εμπορικού στελέχους του εξωτικού μανιταριού *L. edodes* σε λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα (άχυρο, καλαμπόκι, βελανιδιά) να συγκριθούν δύο είδη σπόρου, ο παραδοσιακός σπόρος κεχριού και το νέο εμβόλιο με υγρή καλλιέργεια μυκηλίου και να αξιολογηθεί η επίδρασή τους σε συγκεκριμένες παραμέτρους, όπως ο παραγωγικός κύκλος, ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της καρποφορίας. Η αξιολόγηση και η σύγκριση των δύο ειδών σπόρου έγινε μετά από έλεγχο της καταλληλότητας των διαθέσιμων υπολειμμάτων (μέσω συγκεκριμένων αναλογιών που εξετάστηκαν) και κάτω από την εφαρμογή ανάλογων καλλιεργητικών τεχνικών.

Από την διερεύνηση των αποτελεσμάτων που αναφέρονται στη διάρκεια των φάσεων του παραγωγικού κύκλου διαπιστώθηκε ότι με ίδιας ηλικίας εμβόλια (3 εβδομάδων) ο σπόρος από υγρή καλλιέργεια μυκηλίου επιτάχυνε κατά πολύ τη διάρκεια της επώασης σε σύγκριση με τον σπόρο κεχριού, καθώς τα υποστρώματα που εμβολιάστηκαν με υγρό σπόρο ολοκλήρωσαν την επώαση τους στο μισό χρονικό διάστημα από αυτά με τον σπόρο κεχριού (30 μέρες αντί 60). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι το μυκήλιο σε υγρή μορφή διασκορπίζεται ευκολότερα μέσα στο υπόστρωμα, το οποίο και πιθανώς αποικίζεται γρηγορότερα από ό,τι το υπόστρωμα που είναι εμβολιασμένο με σπόρο κεχριού.

Ακόμα, στην εργασία όπου χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα από πριονίδι οξιάς και εμβολιάστηκε με υγρή καλλιέργεια μυκηλίου και σπόρο πριονιδιού παρατηρήθηκε από τους Kínugawa και Tanasaka (1990) ότι η ανάπτυξη των σάκων με σπόρο πριονιδιού ήταν αρχικά γρηγορότερη από αυτόν με σπόρο υγρής φάσης, αλλά μετά από τις 6 πρώτες ημέρες επώασης όταν άρχισε η απελευθέρωση του διοξειδίου του άνθρακα από τον μύκητα η εικόνα αντιστράφηκε. Οι ερευνητές πρότειναν λοιπόν ότι η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα συνδέεται άμεσα με την περιοχή του νεοσχηματιζόμενου μυκηλίου και ότι η υγρή καλλιέργεια σπόρου μπορεί να εμφανίζει υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης μειώνοντας έτσι την περίοδο επώασης που χρειάζεται για φυσιολογική καρποφορία. Ακόμη, όπως σημειώνουν οι Wuest (1989) και Jong (1992) η περίοδος επώασης λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων εμβολιασμένων με *L. edodes* κυμαίνεται από 60 μέχρι 160 μέρες εξαρτώμενη από τον μύκητα, το υπόστρωμα, την θερμοκρασία, την υγρασία και το διοξείδιο του άνθρακα, με τον σπόρο κεχριού να χρειάζεται περισσότερο από 120 μέρες για πλήρη εξάπλωση. Οι Kawai κ.α. (1996) αναφέρουν επίσης ότι σε υπόστρωμα με

πριονίδι, η επώαση σε σάκους εμβολιασμένους με σπόρο κεχριού διαρκεί 120 ημέρες, ενώ με υγρή καλλιέργεια εμβολίου μόνο 90 ημέρες.

Σε ό,τι αφορά την πρωϊμότητα της καλλιέργειας, η πρώτη ώριμη καρποφορία εμφανίστηκε λίγες μέρες νωρίτερα στους σάκους με την υγρή καλλιέργεια εμβολίου σε σχέση με αυτούς με το κεχρί (78 μέρες έναντι 81). Οι έρευνες των Song κ.α. (1987) έδειξαν ότι η συγκομιδή των πρώτων καρποφοριών έγινε σε ακόμα λιγότερο χρόνο (69 ημέρες) όταν χρησιμοποιήθηκε υγρός σπόρος, αντί του στερεού σπόρου από φλοιούς σπόρων βαμβακιού ηλικίας 2 εβδομάδων (114 ημέρες). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι ο σπόρος μανιταριών σε υγρή μορφή έχει το πλεονέκτημα να διασπείρεται ομοιόμορφα στο υπόστρωμα καλλιέργειας περισσότερο από ό,τι ο σπόρος των δημητριακών ή του πριονιδιού και έτσι ο χρόνος που απαιτείται για την παραγωγή της πρώτης καρποφορίας ελαττώνεται. Επιπλέον, η γρήγορη αποίκιση του υποστρώματος από τον μύκητα *L. edodes* μπορεί να καταστείλει τις μολύνσεις από άλλους μικροοργανισμούς. Από την άλλη πλευρά όμως, η υγρή φύση του σπόρου απαιτεί περισσότερο ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό των υποστρωμάτων, κάτι που είναι απαραίτητο σε μη εκλεκτικά υποστρώματα.

Όσο αναφορά στη συγκομιδή των τριών πρώτων κυμάτων παραγωγής μανιταριών, για τον υγρό σπόρο χρειάστηκαν 75 μέρες, ενώ στο κεχρί περίπου 105 μέρες, καθώς το στέλεχος του *L. edodes* S4080 που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι εμπορικό και προφανώς πρώιμο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι η περίοδος καρποφορίας είχε διάρκεια 105 ημέρες (Kirchhof και Lelly 1991), 120 ημέρες (Jong 1992) και 200 ημέρες (Diehle και Royse 1991) ανάλογα με τον αριθμό των κυμάτων που συλλέχτηκαν. Όπως αναφέρουν και οι Kawai κ.α. (1996), για να ολοκληρωθεί η συλλογή οκτώ κυμάτων μανιταριών *L. edodes* που αναπτύσσονταν σε πριονίδι οξιάς (από σπόρο υγρής και στερεής φάσης) απαιτήθηκε μεγάλο χρονικό διάστημα από 200 μέχρι και 250 μέρες.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων των ποσοτικών παραμέτρων της καλλιέργειας, φάνηκε ότι μεγαλύτερες τιμές βιολογικής αποδοτικότητας (BA) εμφάνισαν οι καλλιέργειες που είχαν εμβολιαστεί με υγρή καλλιέργεια του μύκητα *L. edodes* S4080 (58,97%), τιμή που δεν διέφερε σημαντικά από αυτή που καταγράφηκε στις καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκε μυκήλιο αναπτυγμένο σε σπόρο κεχριού (54,51%). Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με αντίστοιχα των Song κ.α. (1987), οι οποίοι ανέφεραν ότι η συνολική απόδοση της καλλιέργειας σε μανιτάρια ήταν λίγο υψηλότερη στην περίπτωση του σπόρου υγρής φάσης από ό,τι στην περίπτωση του σπόρου στερεής φάσης ανεπτυγμένου σε πριονίδι. Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η βιολογική απόδοση

μιας καλλιέργειας *L. edodes* σε συνθετικά υλικά είναι σημαντικά υψηλότερη όταν έχει χρησιμοποιηθεί σπόρος από μυκήλιο σε υγρή μορφή αντί του παραδοσιακού σπόρου στερεής φάσης από δημητριακά ή πριονίδι. Για παράδειγμα, οι Kawai κ.α. (1996) κατέγραψαν τιμές BA 160% με εμβόλιο υγρής καλλιέργειας μύκητα έναντι 135% με σπόρο μυκηλίου ανεπτυγμένο σε πριονίδι.

Γενικά, κατά την καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes* σε σάκους με γεωργικά υπολείμματα έχουν αναφερθεί υψηλές αποδόσεις, όπως 85 με 135% ανάλογα το στέλεχος (Royses 1989), ακόμα και 154% (Diehle και Royses 1991). Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης (BA% 54,51-58,97) είναι πολύ χαμηλότερα, αλλά αναφέρονται στη συγκομιδή μόνο των τριών πρώτων κυμάτων, ενώ στις προαναφερθείσες εργασίες η συγκομιδή ολοκληρώθηκε έως και σε 10 κύματα. Αντίθετα, τιμές BA αντίστοιχες ή και χαμηλότερες από τις παρούσες (19,44 έως 54,17% ανάλογα τη σύσταση του υποστρώματος) σε ανάλογες συνθήκες καλλιέργειας έχουν καταγραφεί στην εργασία των Philiproussis κ.α. (2003). Είναι κοινώς αποδεκτό ωστόσο ότι η σύσταση του υποστρώματος της καλλιέργειας, το χρησιμοποιούμενο στέλεχος μύκητα, η ποσότητα του σπόρου και η καλλιεργητική τεχνική (Zadrazil 1993) είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες που, εκτός από το είδος του σπόρου που θα χρησιμοποιηθεί (υγρής ή στερεής φάσης) επιδρούν όχι μόνο στην παραγωγικότητα της καλλιέργειας, αλλά και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρποφοριών.

Αναφορικά με τα αποτελέσματα των ποσοτικών χαρακτηριστικών των καρποφοριών, τα μανιτάρια που συλλέχθηκαν και από τα δύο είδη εμβολίων είχαν πολύ καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Όσον αφορά στο μέγεθος (διάμετρος πύλου) και το βάρος (μέσο βάρος) των βασιδιοκαρπίων τα μέγιστα παρατηρήθηκαν στο εμβόλιο καλλιέργειας υγρής φάσης (EYK) με όχι σημαντική διαφορά από το εμβόλιο στερεής φάσης (ΕΣΚ). Ανεξάρτητα από τις τιμές της αποδοτικότητας, ο μύκητας *L. edodes* S4080 έδωσε σε όλες τις καλλιέργειες ιδιαίτερα ευμεγέθεις καρποφορίες, οι οποίες καθώς ζύγιζαν κατά μέσο όρο περισσότερο από 20 g κατατάχθηκαν στην κατηγορία 'μεγάλα μανιτάρια' ('large') σύμφωνα με τους Kawai κ.α. (1996).

Λαμβάνοντας υπόψη τα δεδομένα των ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών των μανιταριών στις καλλιέργειες που εμβολιάστηκαν με τα δύο είδη σπόρου συμπεραίνεται ότι ο σπόρος υγρής φάσης (EYK) δεν υστερεί σε σχέση με τον παραδοσιακό σπόρο στερεής φάσης (ΕΣΚ). Αντίθετα καθώς ελαττώνει σημαντικά το χρόνο επώασης του εμβολιασμένου υποστρώματος μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική πρόταση στην καλλιέργεια του μανιταριού *L. edodes*, με την προϋπόθεση ότι ορισμένα πρακτικά ζητήματα, όπως η ασφαλής μεταφορά του σπόρου, η εξασφάλιση στειρών

συνθηκών και η απλοποίηση των χειρισμών που χρειάζονται για τον εμβολιασμό του να επιλυθούν, επιτρέποντας την ευρεία χρησιμοποίηση του.

2.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alexander, M. (1977). Introduction to Soil Microbiology (2nd ed). *Microbiology of cellulose* pp. 148-162, *Lignin decomposition* pp. 174-185. Academic Press, New York.
- Ander, P. and Eriksson, K. (1976). The importance of phenol oxidase activity in lignin degradation by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Arch. Microb.* 109: 1-8.
- Ando, M. (1976). Fruit-body formation of *Lentinus edodes* on artificial media. *Mush. Sci.* 9 (1): 415-422.
- Arias, L., Contreras, J., Losada, H., Grande, D., Soriano, R., Vieyra, J., Cortés, J. and Rivera, J. (2003). A note on the chemical composition and in vitro digestibility of common vegetables utilised in urban dairy systems of the east of Mexico City. University Metropolitan-Iztapalapa.
- Beelman, R.B., Okereki, A. and Guthrie, B. (1986). Evaluation of textural changes related to post harvest quality and shelf life of fresh mushrooms. In *Cultivating Edible Fungi: Proceedings of the International Symposiums on Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi*. Eds Weust, P.J., Royse, D.J. and Beelman, R.B. Elsevier Science Publisher. N.Y.
- Bis'ko, N.A., and Bilay V.T. (1996). Some physiological aspects of the cultivation of *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. In *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Ed. Royse, D.J. Pennsylvania State University. USA, pp. 381-386.
- Campbell, J.D. (1968). Gamma irradiation mushrooms. *J.Food Sci.* 33: 540- 542.
- Campbell, A.C. and Rajan, M. (1998). The commercial exploitation of the white rot fungus *Lentinula edodes*. *Int. Biot. Biod.*
- Chang, S.T. (1980). Mushrooms and food. *Biosci.* 30: 399-401.
- Chang, S.T. (1987). World production of cultivated edible mushroom in 1986. *Mush. J. Tropics.* 7 (4): 117-120.
- Chang, S.T. and Miles, P.G. (1987). Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press Inc.
- Chang, S.T. and Miles, P. G. (1989). Edible mushrooms and their cultivation, CRC Press, Florida.
- Chang, S. T. (1999). World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China. *Int. J. Med. Mush.* 1: 291-300.
- Chen, A.W. (2001). Cultivation of *Lentinula edodes* on synthetic logs. Newsletter Reprinted.
- Crisan, E.V. and Sands, A. (1978). Nutritional value. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Ed. Chang, S.T. and Hayes, W.A. Academic Press. New York. p. 137-165.
- Delpech, P. Olivier, J.M. (1991). Cultivation of Shiitake on straw pasteurized substrates. *Mush. Sci.* 13: 523-528.
- Diehle, D.A. and Royse, D.J. (1986). Shiitake cultivation on sawdust: Evaluation of selected genotypes for biological and mushroom size. *Mycologia.* 78: 929-933.
- Diehle, D. A. and Royse, D. J. (1991). Effect of substrate heat treatment on biological efficiency (BE) and size of a selected line of *Lentinula edodes*. *Mush. Sci.* 13: 517-521.

- Donogue, J.D. and Denison, W.C. (1995). Shiitake cultivation: Gas phase during incubation influences productivity. *Mycologia* 87 (2), pp. 239-244.
- Doores, S. Kramer, M., Beelman, R. (1986). Evaluation of bacterial population associated with fresh mushrooms (*A. bisporus*) In *Cultivating Edible Fungi: Proceedings of the International Symposium on* and Beelman, R.B. Elsevier Science Publisher. N.Y.
- Fugimoto, T., Tsurumi, T., Watori, M., Akama, K. and Kaneda, T. (1976). The mechanism of formaldehyde formation in shii-take mushroom. *Mush. Sci.* 9 (1): 385-390.
- Fujita, A., Tokuhisa, S., Michinaka, K., Ono, T. and Sugujara, W. (1969). Determination of vitamin D by thin layer chromatography. II. Determination of vitamin D in shiitake, *Lentinula edodes*. *Vitamins* 40: 129-135.
- Goodenough, P.W. and Ricketts, V. (1977). The effects of different storage conditions on the enzymatic marker of senescence in mushrooms (*Agaricus bisporous*). *Ann. Appl. Biol.* 85 : 447-450.
- Gormley, R. (1975). Chill storage *Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi*. Eds. Weust, P.J. and Royse, D.J. *J. Sci. Food Arg.* 26: 401-411.
- Han, Y.H., Yeng, W.T., Chen, L.C. and Chang, S. (1981). Physiology and ecology of *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. *Mush. Sci.* 11: 623-658.
- Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima, K. and Takada, K. (1999). Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *Int. J. Antimic. Ag.* 11: 151-157.
- Iizuka, C. and Takeuchi, M. (1978). Method of artificial growing edible fungi U.S. Patent # 4,071,973.
- Ito, Y. Toyoda, M., Suzuki H. and Iwaida, M. (1978). Gas-liquid chromatographic determination of lenthionine in shiitaki mushroom (*Lentinula edodes*) with special reference to the relationship between carbon disulfide and lenthionine. *J. Food. Sci.* 43: 1287-1289.
- Jablonsky, I. (1981). The influence of environmental factors on yields and fryitbody development of *Lentinus edodes*. *Zeitsch. Mykol.* 47 (2): 291-300.
- Jong, S. C. (1992). An overview of the shiitake industry in the United States with emphasis on syntetic log cultivation. In *Proccedings of the international shiitake mushroom system in Oita*, pp. 148-156. Executive Committee for the International Shiitake Mushroom Symposium in Oita, Oita.
- Kalberer, P.P. (1987). The cultivation of Shiitake (*Lentinula edodes*) on supplemented sawdust. *Mush. Sci.* 12: 317-325.
- Kalberer, P.P. (1995). An investigation of the incubation phase of a shiitake (*Lentinus edodes*) culture. *Mush Sci.* 14: 375-383.
- Kaur, M.J. (1945). Cultivation of Japanese mushroom, Shiitake (*Lentinula edodes*) in India. *Indian J. Microb.* 35: 339-342.

- Kautter, D.A., Lilly, T. and Lynt, R. (1978). Evaluation of the botulism hazard in fresh mushroom wrapped in commercial polyvinylchloride film. *J. Food Prot.* 41: 120-121.
- Kawai, G., Koboyshi, H., Fukushima, Y. and Ohsaki, K. (1996). Effect of liquid mucelial culture used as a spawn on sawdust cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*). *Mycosci.* 37: 201-207.
- Kirchhoff, B. and Lelley, J. (1991). Investigations of Shiitake (*Lentinula edodes* [Berg] Sing.) bag-log cultivation to increase the yield in Germany. *Mush. Sci.* 13: 509-516.
- Ko, M.K. and Kim, H.J. (1995). Deveropment of techniques for the cultivation of *Lentinus lepideus*. *J. Fores. Sci.* 51, 96-100.
- Komatsu, M. (1961). Morphological characters of the hyphae of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. grow under fluctuated temperatures and those during fruiting. *Rept. Tottori Myc. Inst.* 1: 45-49.
- Kramer, M.E. (1988). Radiation processing mushrooms. *Food Sci. & Techn.* 20: 135.
- Kinugawa, K. and Tanesaka, E. (1990). Changes in the rate of CO₂ release from cultures of three basidiomycetes during cultivation. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 31: 489-500
- Lai, C. L., Yang, J. S. and Liu, M. S. (1994). Effects of gamma-radiation on the flavour of dry Shiitake (*Lentinula edodes*). *J. Sci. Food Agric.* 64 (1): 19-22.
- Langerak, D. (1972). The influence of irradiation and packing upon the keeping quality of fresh mushrooms. *Mush. Sci.* 8: 221-230.
- Leatham, G.F. and Stahmann, M.A. (1987). Effect of light and aeration on fruiting of *Lentinula edodes*. *Mycol. Soc.* 88 (1): 9-20.
- Lutz, J.M. and Hardenburg, R.E. (1968). *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stocks*. Agri. Handbook #66, UISDA, Washington, D.C.
- Maga, J.A. (1981). Mushroom flavor. *J. Agric. Food. Chem.* 29: 1-4.
- Miller, M.W. and Jong, S.C. (1986). Commercial cultivation of shiitake in sawdust field plastic bags. In *Cultivating Edible Fungi: Proceedings of the International Symposiums on Scientific and Techical Aspects of Cultivating Edible Fungi*. Ed. Wuest, P.J., Royse, D.L. and Beelman, R.B. Elsevier Publisher. NY.
- Mizuno, T. (1995). Shiitake, *Lentinula edodes*: fuctional properties for a medicinal and food purpose. *Food Rew. Int.* 11: 111-128.
- Murr, D.P. and Morris, L. (1975). Effects of storage temprature on postharvest changes in mushrooms. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100: 16-19.
- Nichols, R. (1985). Post-harvest physiology and storage. In *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Ed. Flegg, P.B., Spencer, D.M., Wood, D.A., Wiley, J. and Sons, New York.
- Nichols, R. and Hammond, J.B. (1973). Storage of mushrooms in pre-packs: the effects of changes in carbon dioxide and oxygen on quality. *J. Sci. Food Arg.* 24: 1371-1381.
- Nichols, R. and Hammond, J.B. (1975). The relationship between respiration, atmosphere and quality of intactand perforated mushroom prepacks. *J. Food Sci.* 40: 422-435.

- Nisikado, Y. and Yamauti, K. (1935). Studies on the heterothallism of *Cortinellus berkeleyanus* Ito et Imai, an economically important edible mushroom in Japan. *Ber. Ohara Inst. Landw. Forsch.* 7: 115-128.
- Oei, P. (1993). *La culture des champignons*. Eddition Gret. Paris, France.
- Ono, T., Arimoto, K., Kano, Matsuoka, K., Sugiura, W., Sabone, H. and Mori, K. (1976). Vitamin D₂ formation in *Lentinus edodes* (shiitake) by irradiation with fluorescent sunlamp. *Mush. Sci.* 9 (1): 435-443.
- Papanikolaou, S. I. Chevalot, M. Komaitis, G. Aggelis and I. Marc, (2001). Kinetic profile of the cellular lipid composition in an oleaginous *Yarrowia lipolytica* capable of producing a cocoa-butter substitute from industrial fats. *Ant. Van. Leeuwn.* 80: 215-224.
- Pegler, DN. (1983). The genus *Lentinula* (Tricholomataceae tribe Cllybiaceae). *Sydonia* 36: 227-239.
- Pellinen, M., Malkki, Y. and Niskanen, A. (1987). Method of growing edible mushroom. U.S. Patent # 4,637,163.
- Pettipher, G.L. (1983). Cultivation of the Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) on lignocellulosic wastes. *J. Sci. Food Arg.* 42: 195-198.
- Philippoussis, A., Diamantopoulou, P. & Zervakis G. (2003). Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shiitake mushroom *Lentinus edodes*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 19(6): 551-557.
- Philippoussis, A., Diamantopoulou, P. & Israilides, C. (2005). Mushroom production of the medicinal fungus *Lentinula edodes* through solid-state fermentation of agricultural residues. *Int. Biot. Biod.* (in press).
- Przybylowicz, P. and Donoghue J. (1990). *Shiitake Growers Handbook, the art and science of mushrooms cultivation*. Kendal/Hunt Publishing Company.
- Pujantoro, L., Shiga, T., Saito T. and Iba Y. (1995). The effect of controlled atmosphere conditions during storage on quality preservation of fresh Shiitake (*Lentinula edodes*). *J. Soc. Agric. Struc.* 25(4): 191-199.
- Roaska, L. (1992). The growth of Shiitake (*Lentinula edodes*) mycelium on alder (*Alonus incana*) and birch wood logs. *Mater. Organism.* 27: 117-134.
- Royse, D.J. and Schisler, L.C. (1980). Mushrooms, their consumption, production and culture development. *Intredisc. Sci. Rev.* 5 (4): 324-332.
- Royse, D.J., Schisler, L.C. and Diehle, D.A. (1985). Shiitake mushrooms consumption, production and cultivation. *Interdisc. Sci. Rev.* 10 (4): 329-335.
- Royse, D.J. (1985). Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. *Mycologia.* 77 (5): 756-762.
- Royse, D.J. and Bahler, C.C. (1986). Effects of genotype, spawn run time, and substrate formulation on biological efficiency of Shiitake. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 1425-1427.

- Royle, D.J. (2001). Cultivation of Shiitake on natural and synthetic logs. The Pennsylvania State University. pp. 11.
- Rubbo, S.D. and Gardner, J.F. (1965). A Review of Sterilization and Disinfection. Lloyd-Luke Ltd. London, England.
- Shieh, J.C., Hwang, S.G. and Suminoto, M. (1991). Cultivation of Shiitake on coniferous sawdust. *Mokuzai Gakkaishi* 37: 1193-1199.
- Shinkosha, S. (1981). *Illustrated Encyclopedia of Mushroom Cultivation*. Chioda-Ku. Tokyo-To. Japan.
- Skou, J.P., Bech, K. and Lunsten, K. (1974). Effects of ionizing irradiation on mushrooms as influenced by physiological and environmental conditions. *Rad. Bot.* 14: 287-299.
- Skou, J.P. (1975). Effects of ionising radiation on mushrooms etc. *Food Sci. Techn.* 7: 1613.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. (1987). A synthetic medium for the production of submerge cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*. 79 (6): 866-876.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. (1991). Effect of low temperature shock treatment on sporophore initiation, lipid profile and nutrient transport in *Lentinula edodes*. *Mycologia*. 83 (1): 24-29.
- Stamets P., (2000). Growing gourmet and medical mushrooms. Ten Speed Press. Berkely, CA. p: 553.
- Taguchi, I. (1987). Clinical efficacy of lentinan on patients with stomach cancer; End point results of a four-year-follow-up survey. *Can. Det. Prev. Suppl.* 1: 333-349.
- Takemaru, T. (1961). Genetical studies on fungi IX. The mating system in *Lentinus edodes*. (Berg.) Sing. Rept. Tottori *Myc. Inst.* 61-68.
- Takeuchi, A., Okano, T., Teroaka, S., Murakami, Y., Sayamoto, M., Sawamura, S., Kobayashi, T. (1984). Identification and determination of vitamin D-2 in *L. edodes*. *Vitamins*. 58: 439-448.
- Tanaka, F., Saito, S. and Esashi, T. (1976). On the difference of the quality and composition of shiitake according to different processing methods. *Mush. Soc. Japan*. 21(1): 137-140.
- Tatsuziro I., (1978). Cultivation of *Lentinula edodes*. In *Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Eds. Chang S.T. and Hayes W.A. Academic Press INC.
- Tokimoto, K. and Komatsu, M. (1978). Biological nature of *Lentinus edodes*. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Ed. Chang, S.T. and Hayes, W.A. Academic Press. New York. pp: 445-459.
- Tokimoto, K. and Komatsu, M. (1982). Influence of temperature on mycelial growth and primordium formation in *Lentinus edodes*. *Trans. Myc. Soc. Japan*. 23: 385-390.
- Tomkins, R.C. (1966). Refrigerated stores for the storage of mushrooms. *MGA Bull.* 201: 477-478.
- Toyoda, M., Suzuki, H., Ito, Y. and Iwaida, M. (1978). Gas liquid chromatographic determination of carbon disulfide in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *J. Food. Sci.* 43 (4): 1290-1292.

- Wantabe, K. (1995). Effects of physical properties of cultures on flussing patterns of fruiting bodies in sawdust based cultivation of Shiitake, *Lentinula edodes*. *Mokuzai Gakkaishi* 41: 767-775.
- Wasser, S. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microb. Biotech.* 60: 258-274.
- Worall, J.J. and Yang, C.S. (1992). Shiitake and oyster mushroom production on apple pomace and sawdust. *HortSci.* 27: 1131-1133.
- Wu, L.C. and Stahman, M.A., (1975). Fungal Protein. Papers from a Workshop on Unconventional Sources of Protein. *University of Wisconsin*. Press.
- Wuest, P. J. (1989). Shiitake growing in sawdust. In: Shiitake mushrooms, pp. 47 – 52. University of Minesota, Minesota.
- ohioline.osu.edu/for-fact
- www.hri.ac.uk/isms/article6.htm
- www.lsbu.ac.uk/water/hycel
- www.xhmikos.gr/Maios 98
- www.cipav.org.co/Irrd/Irrd15/2/2aria52.htm
- www.homedistiler.org/oak.pdf
- www.fao.org/wairdas/ILRI/x5490E/x5490eOt.htm
- Yamazaki, H., Ogasawara, Y., Sakai, C., Yoshiki, M., Makino, K., Kishi, T. and Kakiuchi, Y. (1980). Formaldehyde in *Lentinus edodes*. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 21(3): 165-170.
- Yasumoto, K.K., Iwami, K. and Mitsuda, H. (1971). A new sulfur-containing peptide from *Lentinus edodes* acting as a precursor for lenthionine. *Agric. Biol. Chem.* 35: 2059-2069.
- Yasumoto, K.K., Iwami, K. and Mitsuda, H. (1976). Enzymatic formation of shiitake aroma from non-volatile precursor(s) lenthionine from lenticinic acid. *Mush. Sci.* 9 (1): 371-383.
- Zadrazil, F. (1993). *Lentinula (=Lentinus) edodes*: Physiology and conditions of industrial production). *Mush. Inf.* 87 (6): 16-27.
- Zervakis G. & Philippoussis, A. (2000). Management of agro-industrial wastes through the cultivation of edible mushrooms. In Proceedings of IV European Waste Forum 'Innovation in waste management'. C.I.P.A., Milan, Italy, pp. 87-90.
- Przybylowicz P. and Donoghue J. (1990). Shiitake Growers Handbook, the art and science of mushrooms cultivation. Kendal/Hunt Publishing Company.
- Γαλιώτου-Παναγιώτου, Μ. (2002). Ενζυμολογία Τροφίμων. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. σελ. 181.
- Γιατράς, Π. (1996). Μελέτη της βιολογίας εδώδιμων μανιταριών. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. σελ. 77.
- Ισραηλίδης, Κ. και Κωδούνης, Μ. (1982). Αξιοποίηση γεωργικών υπολειμμάτων και παραπροϊόντων για τροφές και ενέργεια. *Γεωργική Έρευνα* 6: 243-253.

- Καλαϊσάκης, Π. (1986). Πίνακες χημικής συστάσεως θρεπτικής αξίας των ζωοτροφών που κυκλοφορούν στην Ελλάδα.
- Καραμάνος, Α. (1999). Τα Σιτηρά των Εύκρατων Κλημάτων. Εκδόσεις Παπαζήση. Αθήνα.
- Καραταγλής, Σ. (1999). Φυσιολογία Φυτών. Εκδόσεις Art of Text. Θεσσαλονίκη.
- Ο.Π.Ε.Κ.Ε.Π.Ε. (2005). Στατιστικά στοιχεία που αφορούν τις εκτάσεις (σε στρέμματα) ενίσχυσης στην παραγωγή αραβοσίτου ανά νομό για τα οικονομικά έτη 1999-2004 (προσωπική επικοινωνία).
- Παντέρα, Α., Παπαδόπουλος, Α., και Βελτισίστας, Θ. (2002). Δάση Βαλανιδιάς: Παρελθόν, Παρόν και Μέλλον. Πρακτικά Ημερίδας, Μεσολόγγι.
- Σαμαρά, Μ. (1988). Συγκριτική μελέτη της αυξησεως και των φυσιολογικών χαρακτήρων απομονώσεων του γένους *Pleurotus*. Ανώτατη Γεωπονική σχολή Αθηνών. σελ. 156.
- Φραντζεσκάκης Ι. (1990). Βιολογία και καλλιέργεια των βρώσιμων μανιταριών. Εκδόσεις Γαρταγάνη. Θεσσαλονίκη. σελ. 239.
- Χριστιάς, Χ. (1999). Μυκητολογία. Αθήνα, Εκδόσεις Αγρότυπος Α.Ε.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
ΠΙΝΑΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΠΙΝΑΚΕΣ 14 – 15

Υποστρώ- Ματα	Εμβόλιο	ΒΑ (%)			Μέσο βάρος (g)		
		Επαναλήψεις	ΜΟ	ΤΑ	Επαναλήψεις	ΜΟ	ΤΑ
I*	ΕΣΚ	10,38			29,62		
		7,41			21,67		
		9,51	9,69	1,64	27,82	26,64	3,25
		10,50			26,08		
		11,98			30,21		
		8,36			24,46		
Π**	ΕΣΚ	56.60			16.54		
		54.31			21.82		
		62.92	54,51	5,68	44.94	26,55	9,66
		56.90			24.38		
		48.00			25.71		
		48.35			25.90		
II	ΕΥΚ	72.91			27.01		
		55.70			27.90		
		60.15	58,97	13,47	28.41	30,97	5,04
		75.76			30.43		
		46.59			31.36		
		42.68			40.72		

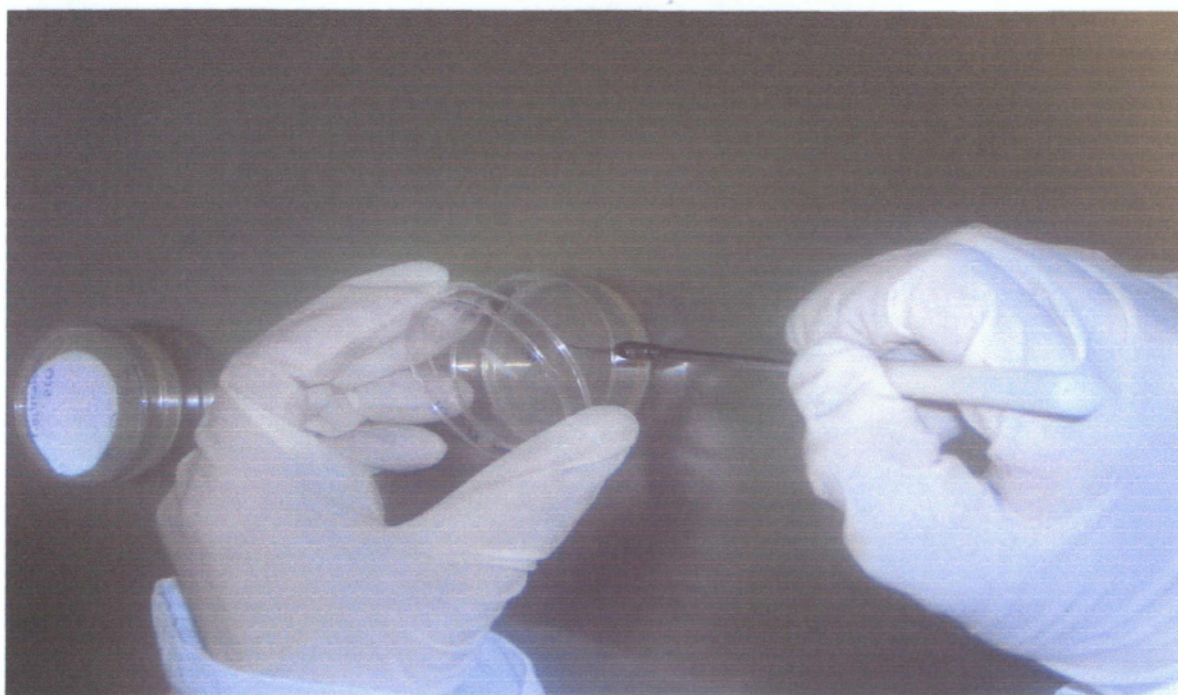
* υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 50:25:5.

** υπόστρωμα ΑΧ:ΚΑΛ:ΒΕΛ σε αναλογία 30:35:15.

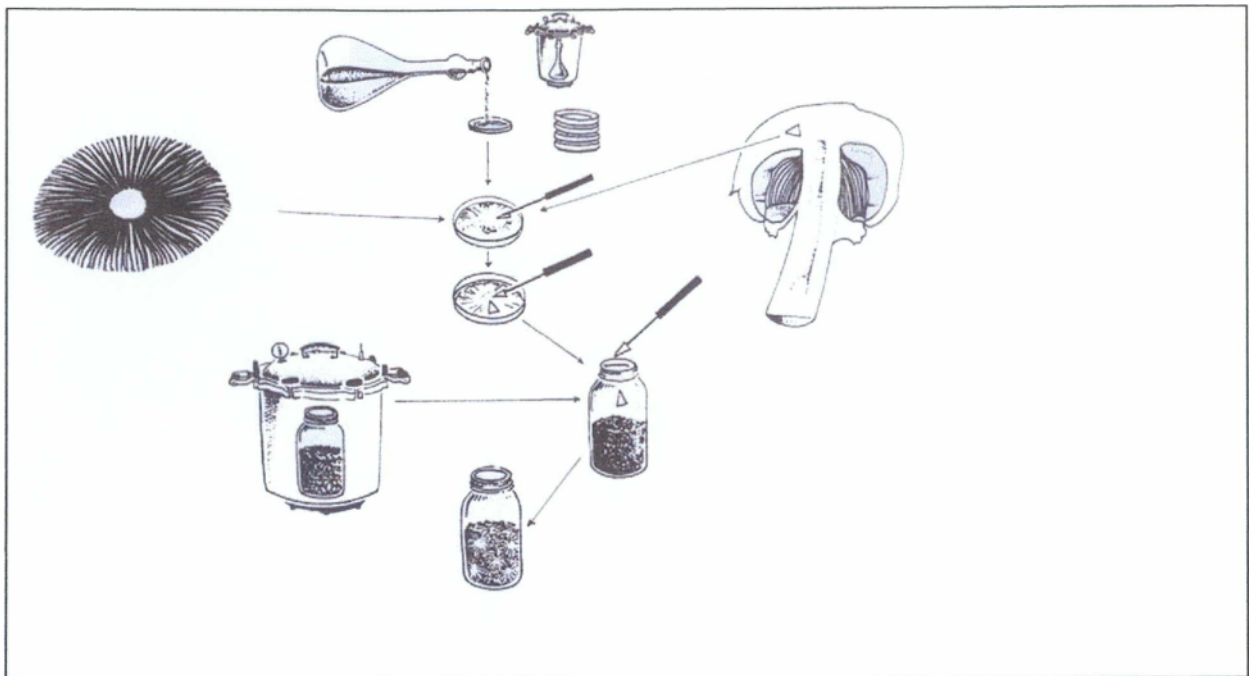
**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ**



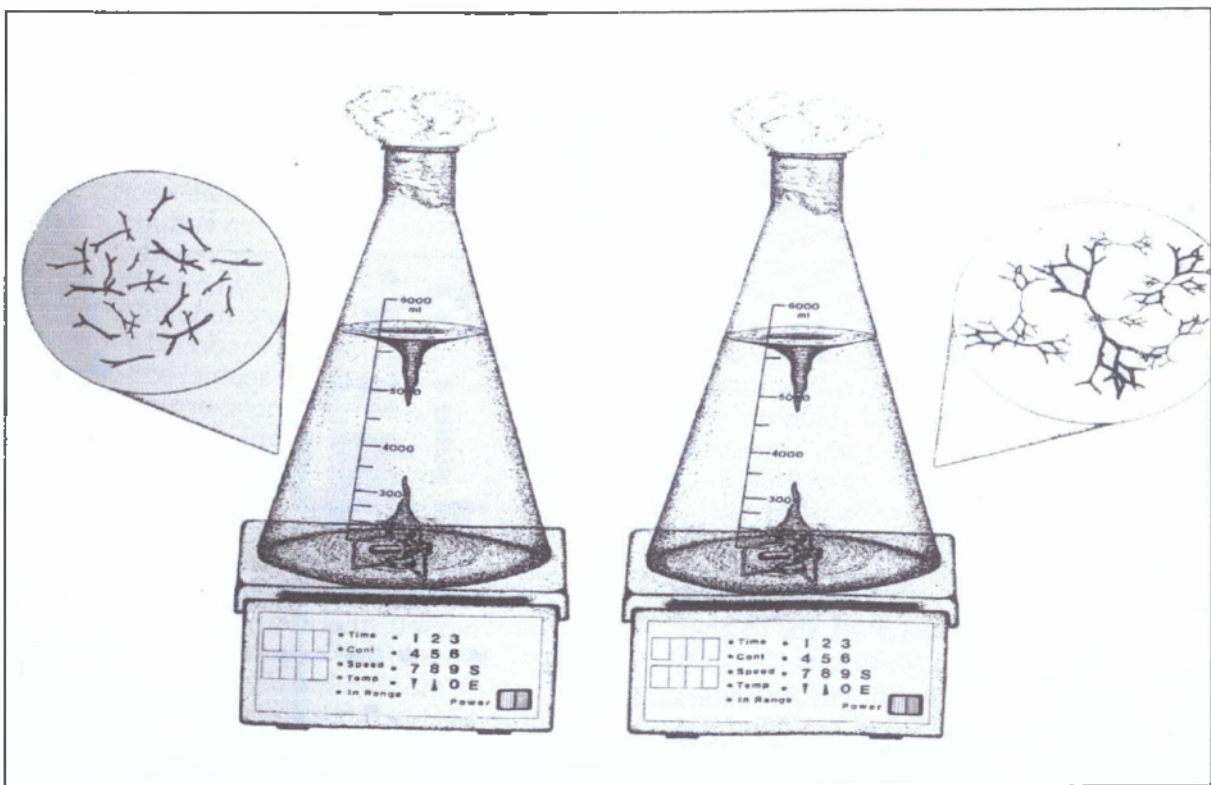
Εικόνα 1. Παραγωγή καρποφοριών του *Lentinula edodes* σε σάκκους με υπόστρωμα γεωργικά υπολείμματα.



Εικόνα 2. Χρήση της ασηπτικής τεχνικής κατά την παρασκευή του εμβολίου (spawn) για τη καλλιέργεια του μύκητα *Lentinula edodes* στο ΕΡΓ. ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ του ΕΘΙΑΓΕ / ΙΓΕΜΚ.



Εικόνα 3. Διάγραμμα διαδικασίας παρασκευής του εμβολίου στερεής καλλιέργειας (ΕΣΚ) σε κόκκους κεχριού για τη καλλιέργεια του μύκητα *Lentinula edodes*.



Εικόνα 4. Παρασκευή του εμβολίου υγρής καλλιέργειας (ΕΥΚ) σε κωνικές φιάλες για τη καλλιέργεια του μύκητα *Lentinula edodes*.



Εικόνα 5. Παραγωγή καρποφοριών του *Lentinula edodes* σε γεωργικά υπολείμματα εμβολιασμένα με εμβόλιο στερεής καλλιέργειας (ΕΣΚ) στο ΕΡΓ. ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ του ΕΘΙΑΓΕ / ΙΓΕΜΚ.



Εικόνα 6. Παραγωγή καρποφοριών του *Lentinula edodes* σε γεωργικά υπολείμματα εμβολιασμένα με εμβόλιο υγρής καλλιέργειας (ΕΥΚ) στο ΕΡΓ. ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ του ΕΘΙΑΓΕ / ΙΓΕΜΚ.