

Wybrane aspekty biologii *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. w warunkach polskich

ŁUKASZ BRODZIAK

Instytut Ochrony Lasu i Drewna SGGW — Akademia Rolnicza w Warszawie

Brodziak Ł.: (Institute of Forest and Wood Protection, Rakowiecka 26/30, Warszawa, Poland). *Selected aspects of Lentinus edodes* (Berk.) Sing. biology in Poland, Acta Mycol. 16(1): 43-53, 1980.

Glucose, mannose, maltose and starck have been shown to be the optimal carbon sources for *Lentinus edodes*. The most intensive growth took place at 35°C and pH 3.5. The greatest increase in mass occurred at 25°C.

WSTĘP

W krajach Dalekiego Wschodu, głównie w Japonii, na szeroką skalę jest hodowany na drewnie grzyb, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. — shiitake. Owocniki tego gatunku, poza walorami smakowymi i odżywczymi, posiadają właściwości lecznicze. Dotychczas wyizolowano z nich związki o silnym działaniu antybiotycznym, antysklerotycznym i rakostatycznym (Chibata i in. 1969; Bew i in. 1966, Tokita i in. 1972; Chichara i in. 1969). Z tych względów obserwuje się ogromne zainteresowanie ewentualnym wprowadzeniem tego grzyba do innych rejonów świata. Podjęto również próbę jego hodowli w warunkach naszego kraju. Poznanie niektórych aspektów biologii *L. edodes* i jego wymagań w stosunku do środowiska miało na celu stworzenie podstaw naukowych do hodowli w naszych warunkach klimatycznych, a także umożliwić opracowanie ekonomicznie opłacalnych technologii uprawy tego grzyba na odpadach drewna i kory. Uzyskane w efekcie owocniki oraz rozłożone podłoże mogą stanowić bogate w białko produkty spożywcze i paszowe oraz surowiec dla przemysłu spożywczego i farmaceutycznego.

Badania nad biologią *L. edodes* były prowadzone w szerokim zakresie w Japonii (Kondo, Kasachara 1933; Matsuo, Hiroe 1960; Komatsu 1963; Nukumizu i in. 1959, 1960; Hashioka i in. 1961; Nagai i in. 1962; Ando, Nukumizu 1969 i inni). W

warunkach europejskich problemami tymi zajmowali się tylko nieliczni badacze (Molisch 1926; Passecker 1931; Zadražil i in. 1973).

MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzone badania obejmowały oznaczenie najkorzystniejszych źródeł węgla, azotu i witamin oraz wpływu odczynu podłoża, temperatury i światła. Wszystkie doświadczenia przeprowadzono stosując czystą kulturę *Lentinus edodes* — shiitake, szczep pochodzenia japońskiego.

W badaniach nad odżywianiem zastosowano jako podstawową pół-syntetyczną pożywkę glukozowo-asparaginową. W doświadczeniach zmierzających do znalezienia optymalnych źródeł węgla, obok glukozy do pożywki dodano: mannozę, fruktozę, galaktozę, sorbozę, arabinozę, ksylozę, maltozę, celobiozę, laktozę, sacharozę, celulozę, skrobię, alkaliligninę, rafinozę, glikogen, dekstrynę, brzeczke piwną i mączkę drzewną. Substancje te użyto w 3 stężeniach: 5, 10, 20 g/l pożywki.

Natomiast w poszukiwaniu optymalnych źródeł azotu, zamiast asparaginy do pożywki wprowadzono: tiaminę, siarczan amonu, chlorek amonu, azotan potasowy, azotan sodowy, azotan wapniowy, azotan amonu, ekstrakt mięsny, pepton, ekstrakt drożdżowy i mąkę kukurydzianą w stężeniach: 1, 2 i 4 g/l. Po wysterylizowaniu w autoklawie pożywki inokulowano krążkami grzybni *L. edodes* o średnicy 6 mm, wyhodowanej na pożywce agarowo-brzeczkowej. Kontrolę stanowiła pożywka nie zawierająca w swym składzie odpowiednio źródła węgla, względnie źródła azotu, oraz agar jałowy. Wzrost grzybni odbywał się w temp. 25°C, wilgotności względnej powietrza 80—90%, bez dostępu światła. Za miernik wzrostu przyjęto średnicę kolonii grzybni po upływie 10 dni od chwili inokulacji, gdy pokrywała już niemal całą pożywkę.

Wpływ witamin na wzrost grzybni *L. edodes* badano na płynnej pożywce glukozowo-asparaginowej. W celu wyeliminowania przypadkowej obecności innych witamin pożywkę przegotowano z węglem aktywowanym (Lilly, Barnett 1959). Po przesączeniu do pożywek dodawano: tiaminę, biotyne, inozytol, kwas nikotynowy, kwas pantotenowy, pirydoksynę, kwas p-aminobenzoesowy oraz ryboflawinę w stężeniach: 1, 10, 100 i 1000 µg/l. Zastosowano również kompleksy witamin zawierające od 2 do 8 typów. Pożywki inokulowano krążkami grzybni *L. edodes* wyhodowanej na stałej pożywce agarowo-brzeczkowej. Jako kontrolę zastosowano pożywkę bez witamin oraz wodę destylowaną. Wzrost grzybni odbywał się w temp. 25°C, przy wilgotności względnej powietrza 80-90%, bez dostępu światła. Grzybnię zdejmowano z pożywki po upły-

wie jednego miesiąca, suszono w temp. 80°C do stałego ciężaru i wazono.

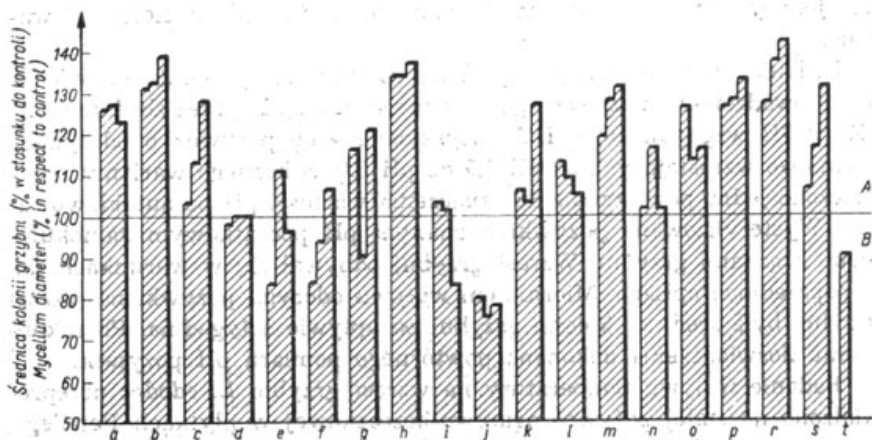
Badanie wpływu odczynu podłoża na wzrost grzybni *L. edodes* przeprowadzono na pożywce agarowo-brzeczkowej. Poprzez zbuforowanie 1M NaOH względnie 0,1n HCl, uzyskano szereg pożywek o odczynach stopniowo wzrastających od pH 1,5 do pH 8,0. Z każdego wariantu przeznaczono jedno powtórzenie do oznaczenia wartości pH po autoklawowaniu. Wysterylizowane pożywki o znanym pH początkowym zainokulowano krążkami grzybni. Wzrost grzybni odbywał się w warunkach jak w poprzednich opisach. Miernikiem wpływu odczynu pożywki na wzrost grzybni była średnica kolonii grzybni po upływie 1 tygodnia. Po zakończeniu doświadczenia dokonano powtórnego pomiaru pH pożywek.

Badanie wpływu temperatury na wzrost grzybni *L. edodes* przeprowadzono na stałej pożywce agarowo-brzeczkowej w płytkach Petri'ego. Pożywkę zainokulowano krążkami grzybni *L. edodes* i umieszczono w temp. 25°C, wilgotności względnej powietrza 80-90%, bez dostępu światła. Po dwóch dobach, kiedy grzybnia z inokulatów zaczęła przerastać na pożywkę, płytki przeniesiono do pomieszczeń o temperaturach: 0, 5, 10, 15, 20, 22, 25, 27, 30 i 35°C, przy czym pozostałe warunki nie zostały zmienione. Po tygodniu pomierzono przyrost grzybni w dwóch kierunkach.

Badanie wpływu oświetlenia na wzrost grzybni *L. edodes* przeprowadzono także na stałej pożywce agarowo-brzeczkowej. Zainokulowane pożywki umieszczono w temperaturze 25°C, wilgotności względnej powietrza 80-90%, bez dostępu światła. Po dwóch dobach płytki przeniesiono w następujące warunki: ciągle oświetlenie światłem sztucznym o natężeniu 1,0-1,2 klx, przerywane oświetlenie światłem sztucznym o natężeniu 1,0-1,2 klx, przerywane oświetlenie światłem słonecznym o natężeniu 1,2-1,5 klx, bez dostępu światła — przy zachowaniu pozostałych czynników w stanie nie zmienionym. W wariantach z oświetleniem przerywanym wykorzystano cykl dnia i nocy. Naświetlanie trwało 10 godz, ciemność — 14 godz. Za miernik oceny wpływu światła na wzrost grzybni przyjęto średnicę kolonii jednotygodniowej grzybni. We wszystkich typach doświadczeń zastosowano liczbę 5 powtórzeń.

WYNIKI BADAŃ

Na pożywkach zawierających badane węglowodany i inne substancje organiczne stanowiące źródła węgla uzyskiwano z reguły intensywniejszy wzrost grzybni (ryc.1). Stosując 3 stężenia substancji będących źródłami węgla w pożywce, w większości przypadków najlepsze wyniki uzyskiwano przy ilości 20 g/l. Najlepiej przyswajalnymi węglowodana-



Ryc. 1. Wzrost grzybnii *L. edodes* na pożywkach zawierających organiczne źródła węgla

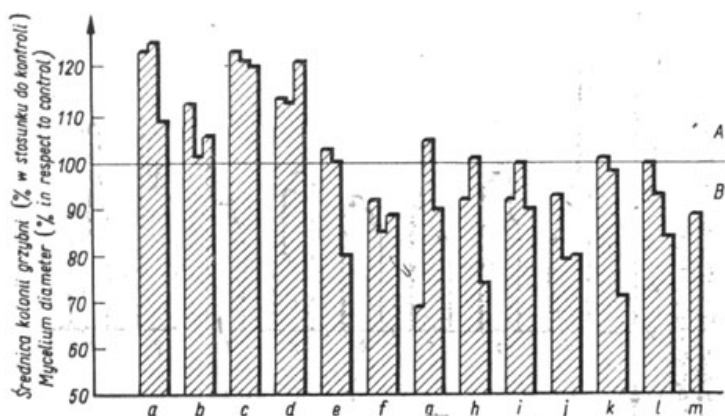
A — kontrola; B — bez dodatkowych źródeł węgla; a — glukoza; b — mannoza; c — fruktoza; d — galaktoza; e — sorboza; f — arabinoza; g — ksyloza; h — maltoza; i — celobioza; j — celobioza; k — sacharozą; l — celuloza; m — skrobia; n — rafinoza; o — glikogen; p — dekstryna; r — brzeczka piwna; s — mączka drzewna; t — agar jałowy.

Growth of *L. edodes* mycelium on media containing organic carbon sources

A — control; B — without additional carbon sources; a — glucose, b — mannose, c — fructose, d — galactose, e — sorbose, f — arabinose, g — xylose, h — maltose, i — celobiose, j — celobiose, k — saccharose, l — cellulose, m — starch, n — raffinose, o — glycogen, p — dextrin, r — beer wort, s — ground wood, t — sterile agar

mi okazały się: glukoza, mannoza, maltoza i skrobia. Świadczy to, że *L. edodes* posiada zdolność korzystania zarówno z mono- jak i polisacharydów. Zastosowany związek zbliżony do ligniny pod względem chemicznym — indulin C, okazał się nieprzyswajalny dla *L. edodes*, co jednak nie wyklucza faktu korzystania z ligniny przez ten grzyb w procesach metabolicznych, czego dowodem jest biały typ rozkładu drewna, jaki powoduje w naturze. Jednakże najszybszy wzrost grzybnii uzyskano na pożywce z brzeczka piwną, co należy tłumaczyć dużą zawartością cukrów, witamin i innych substancji wzrostowych. Dobre wyniki uzyskano także na mączce drzewnej i dekstrynie. *L. edodes* może więc korzystać z wielu źródeł węgla. Dzięki szerokim właściwościom troficznym w stosunku do związków węgla, grzyb ten może być hodowany na różnorodnych typach podłoża.

Badane substancje zawierające różne źródła azotu wykazywały różny stopień przyswajalności przez *L. edodes* (ryc. 2). Najintensywniejszy wzrost grzybnii odbywał się na organicznych źródłach azotu: na ekstrakcie mięsnym, ekstrakcie drożdżowym, peptonie i mące kukurydzianej.

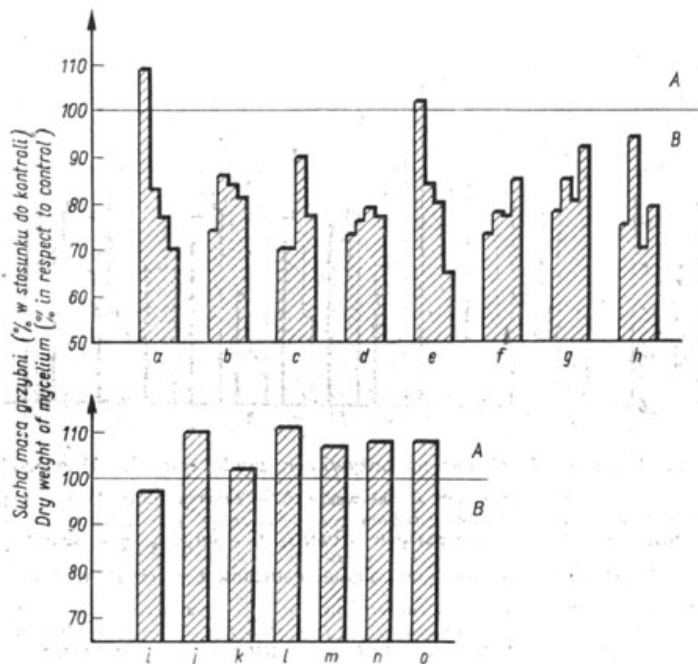


Ryc. 2. Wzrost grzybnia *L. edodes* na pożywkach zawierających różne źródła azotu
 A — kontrola; B — bez dodatkowych źródeł węgla; a — ekstrakt mięsny; b — pepton; c — ekstrakt drożdżowy; d — mąka kukurydziana; e — asparagina; f — tiamina; g — $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; h — NH_4Cl ; i — KNO_3 ; j — NaNO_3 ; k — CaNO_3 ; l — NH_4NO_3 ; m — agar jałowy

Growth of *L. edodes* mycelium on media containing various nitrogen sources
 A — control; B — without additional carbon sources; a — meat extract, b — peptone, c — yeast extract, d — cornflour, e — asparagine, f — thiamine, g — $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, h — NH_4Cl , i — KNO_3 ; j — NaNO_3 , k — CaNO_3 , l — NH_4NO_3 , m — sterile agar

O wiele wolniejszy wzrost grzybnia uzyskano na pożywkach zawierających nieorganiczne związki azotu. W wielu przypadkach grzybnia rozwijała się lepiej na pożywkach pozbawionych źródeł azotu. Należy przypuszczać, że w razie braku pewnych form azotu pobieranych z podłoża, *L. edodes* posiada zdolność bezpośredniego wiązania go z atmosfery. Być może wpływa to z niskiej zawartości tego pierwiastka w drewnie (Merrill, Cowling 1966: 0,3%; Prosiński 1969: 1,3%), które stanowi główną bazę pokarmową tego grzyba.

W badaniach nad wpływem witamin na wzrost grzybnia *L. edodes* wykazano, że obecność tych substancji w pożywce nie oddziałuje wyraźnie na intensywność wzrostu grzybnia (ryc. 3A). Jedynie tiamina i kwas pantotenowy użyte w stężeniu 1 $\mu\text{g/l}$ spowodowały większy wzrost grzybnia. W pozostałych wariantach doświadczenia wzrost grzybnia odbywał się wolniej niż na podłożach bez witamin. Badania oddziaływania zespołu witamin na wzrost grzybnia dały nieco lepsze wyniki (ryc. 3B). Uzyskano przyrost grzybnia o kilka procent wyższy w porównaniu z kontrolą. Dotyczy to zwłaszcza pożywek zawierających w swym składzie między innymi inozytol, kwas pantotenowy, pirydoksynę, kwas p-aminobenzoesowy i ryboflawinę. Biorąc pod uwagę fakt, że grzybnia *L. edodes* z powodzeniem rozwija się na pożywce pozbawionej witamin,



Ryc. 3. Wpływ badanych witamin na wzrost grzybni *L. edodes*

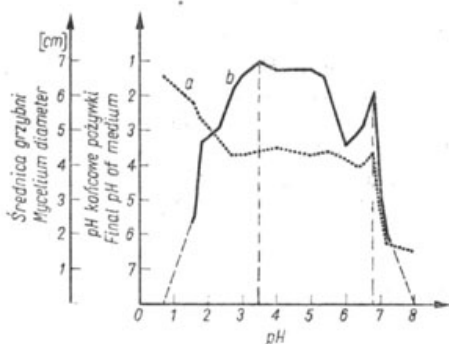
A — kontrola, B — pożywka bez witamin; a — tiamina; b — biotyna, c — inozytol, d — kwas nikotynowy, e — kwas pantotenowy, f — pirydoksyna, g — kwas p-aminobenzoesowy, h — ryboflawina, i — tiamina+biotyna, j — +inozytol, k — +kwas nikotynowy, l — +kwas pantotenowy, m — +pirydoksyna, n — +kwas p-aminobenzoesowy, o — +ryboflawina

Effect of the investigated vitamins on growth of *L. edodes* mycelium

A — control; B — medium without vitamins a — thiamine, b — biotin, c — inositol, d — nicotinic acid, e — panthotenic acid, f — piridoxine, g — p-aminobenzoic acid, h — riboflavin, i — thiamine+biotin, j — +inositol, k — +nicotinic acid, l — +panthotenic acid, m — +piridoxine, n — +p-aminobenzoic acid, o — +riboflavin

należy przypuszczać, że jest on gatunkiem autotroficznym w stosunku do witamin. Posiada więc zdolność do syntetyzowania ich z podłoża, na którym się rozwija.

Badania wpływu odczynu podłoża na wzrost grzybni *L. edodes* wykazały, że zakres pH dla wzrostu grzybni wynosi 1,6-7,2 (ryc. 4). Między tymi granicznymi wartościami pH występują dwa optima: jedno zawarte w przedziale 2,5-5,5, drugie zaś 6,5-7,0. Maksymalny wzrost grzybni odbywał się przy pH 3,5. Pomiarzy odczynu pożywek po zakończeniu doświadczenia wykazały powstanie poważnych zmian w ich kwasowości. Świadczy to, iż *L. edodes* posiada duże zdolności do buforowania podłoża, na którym się rozwija, w kierunku pH optymalnego.



Ryc. 4. Wpływ odczynu pożywki na wzrost grzybni *L. edodes* i zmiany pH zachodzące pod wpływem rozwijającej się grzybni

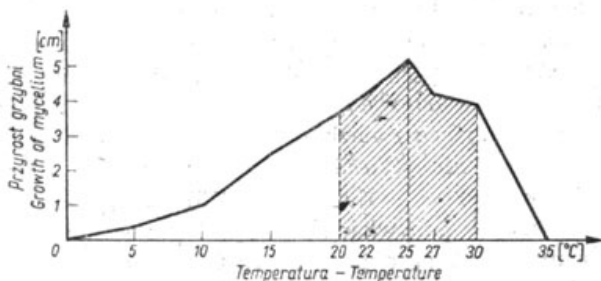
a — wpływ grzybni na pH pożywki; b — wpływ pH pożywki na wzrost grzybni

Effect of pH of medium on growth of *L. edodes* mycelium and changes in pH due to mycelium development

a — effect of mycelium on pH of medium, b — effect of pH of medium on growth of mycelium

Wpływ temperatury na wzrost *L. edodes* przedstawiono na ryc. 5. Wzrost grzybni odbywał się już przy temperaturze otoczenia od 0 do 5°C. Jego intensywność rosła wraz ze wzrostem temperatury, a przy 25°C osiągnęła wartość maksymalną. Optymalne warunki dla rozwoju grzybni występują w przedziale temperatury od 20 do 30°C. Wartości graniczne dla *L. edodes* stanowi temperatura 0 i 35°C.

Stwierdzono, że światło ma niewielki wpływ na rozwój grzybni *L. edodes*. Intensywność jej wzrostu w całkowitej ciemności oraz przy oświetleniu naturalnym (cykl dnia i nocy) jest jednakowa (tab. 1). Nieco wolniejszy wzrost grzybni (o 2-3%) nastąpił przy oświetleniu światłem



Ryc. 5. Wpływ temperatury na wzrost grzybni *L. edodes*

Effect of temperature on growth of mycelium of *L. edodes*

Tabela 1 — Table 1

Wpływ światła na wzrost grzybni *L. edodes*
Effect of light on growth of *L. edodes* mycelium

Wariant oświetlenia Variant of light	Natężenie światła Light intensity klx	Srednica kolonii grzybni Diameter of colony of colony cm
Sztuczne ciągłe Continuous artificial	1,0-1,2	5,4
Sztuczne przerywane Artificial interrupted	1,0-1,2	5,5
Naturalne przerywane Natural interrupted	1,2-1,5	5,6
Ciemność Darkness	0	5,6

sztucznym, zarówno ciągłym jak i przerywanym. Wynika z tego, że mimo zastosowania dużych różnic w natężeniu i czasie trwania oświetlenia, jego wpływ na wzrost grzybni był minimalny, co stwarza możliwość prowadzenia hodowli w różnych warunkach i pomieszczeniach.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że najkorzystniejsze źródła węgla dla wzrostu grzybni *L. edodes* stanowiły: glukoza, mannoza, maltoza i skrobia. Jest to potwierdzeniem wyników uzyskanych wcześniej przez Furuta i Okimoto (1970). *L. edodes* może więc pobierać węgiel zarówno w postaci prostych węglowodanów, jak i związków złożonych.

W badaniach nad znalezieniem optymalnych źródeł azotu dla *L. edodes* stwierdzono, że jedynie związki azotu zawarte w substancjach organicznych (w ekstrakcie mięsny, ekstrakcie drożdżowym, peptonie i mące kukurydzianej) spowodowały zwiększenie przyrostu grzybni. Natomiast obecność w pożywce związków zawierających amonowe bądź azotanowe formy azotu nie stymuluje wzrostu grzybni, a często proces ten hamuje. Tokimoto i Kawai (1975) podają, że niektóre związki azotowe zawarte w pożywkach mogą być przyswajane przez *L. edodes*, jednocześnie uważają oni, że wzrost grzybni może odbywać się także na podłożach całkowicie pozbawionych związków azotu. O inhibicyjnym oddziaływaniu związków azotu na *L. edodes* donosi Ando (1972). Dane te pozwalają twierdzić, że *L. edodes* do swojego rozwoju niekoniecznie wymaga obecności źródła azotu w podłożu.

L. edodes w małym stopniu reaguje na obecność witamin w pożywce. Z poddanych testom 8 witamin jedynie tiamina i kwas pantotenowy spowodowały nieznaczne zwiększenie przyrostu grzybni. Pewne pozytywne efekty uzyskano również przy kompleksowym działaniu witamin. W pozostałych przypadkach nie stwierdzono ich stymulującego oddziaływania na grzybnię. Jest to w znacznej mierze potwierdzeniem wyników uzyskanych przez Tokimoto i Kawai (1975). Badając wpływ witamin na przebieg różnych etapów procesu owocowania *L. edodes*, nie uzyskali oni wyraźnych zależności, stąd przypuszczają, że tiamina może być potrzebna tylko we wstępnej fazie wzrostu grzybni. Natomiast Hiroe i Ikuta (1960) oraz Ishikawa (1967) uważają, że grzyb ten jest gatunkiem wrażliwym jedynie na niedobór tiaminy. Można więc twierdzić, że *L. edodes* jest uniezależniony od obecności witamin w podłożu, na którym się rozwija, w czym jest podobny do wielu innych grzybów rozkładających drewno (Ainsworth, Sussman 1965).

L. edodes rozwija się w szerokim przedziale odczynu podłoża, od pH 1,6 do pH 7,2. Jednakże najbardziej intensywny wzrost grzybni odbywał się przy pH 3,5. Ishikawa (1967) podaje, że pH 3,5 jest dla *L. edodes* wartością optymalną zarówno w fazie wzrostu grzybni jak i owocowania, co potwierdza ogólną prawidłowość, gdyż optymalne pH dla większości grzybów rozkładających drewno wynosi około 3 (Mecham 1918).

Grzybnia *L. edodes* rozwija się w przedziale temperatury od 0 do 35°C. Optymalne warunki dla wzrostu występują w zakresie temperatury od 20 do 30°C. Maksymalny przyrost grzybni następuje w temp. 25°C. Jest to na ogół zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (Singer 1961; Ferri 1974; Tokimoto, Kawai 1975; Steineck 1976).

Brak dotychczas jednomyślności na temat wpływu światła na wzrost *L. edodes*. Howker (1950) uważa, że *L. edodes* jest gatunkiem wrażliwym na działanie światła we wczesnej fazie wzrostu. Jednakże wyniki badań własnych jak i wyniki innych badaczy wykazały, że światło nie odgrywa istotnej roli we wzroście grzybni i tworzeniu się owocników. (Singer 1961; Zdražil i in. 1973).

Uzyskane w efekcie badań wyniki pozwalają na wyciągnięcie pewnych wniosków praktycznych. Stwierdzono, że *L. edodes* jest grzybem o dość szerokich możliwościach troficznych, w związku z czym może on korzystać z różnorodnych źródeł węgla, posiada zdolność rozkładania podłoży pozbawionych związków azotu i witamin. Te stosunkowo niewielkie wymagania *L. edodes* stwarzają możliwości do wykorzystania go do utylizacji mało wartościowych odpadów drewna i kory. Niewątpliwą zaletą tego grzyba jest także duża tolerancja w stosunku do czynników

fizycznych środowiska. Powoduje to, że nie wymaga on do prowadzenia hodowli specjalnych pomieszczeń o regulowanej temperaturze, oświetleniu itp. Daje to możliwość taniej i ekonomicznie opłacalnej produkcji w naszych warunkach.

STRESZCZENIE

W związku z projektowanym podjęciem hodowli owocników *L. edodes* w warunkach polskich przeprowadzono badania nad jego biologią. Wykazały one, że optymalnymi źródłami węgla dla tego gatunku są: glukoza, mannoza, maltoza i skrobia. Stwierdzono, że najlepiej przyswajalnymi przez *L. edodes* źródłami azotu są związki organiczne zawarte w: ekstrakcie mięsnym, ekstrakcie drożdżowym, peptonie i mące kukurydzianej, natomiast azotanowe i amonowe formy azotu użyte w pożywkach nie stymulują wzrostu grzybní, a często proces ten inhibują. Obecność witamin w podłożu nie oddziałują wyrażnie na wzrost grzybní. Z badanych 8 witamin, jedynie tiamina i kwas pantotenowy spowodowały nieznaczne zwiększenie przyrostu grzybní. W wyniku zastosowania kompleksu witamin, uzyskano wzrost grzybní o kilka procent wyższy w porównaniu z kontrolą. Zakres pH dla wzrostu grzybní wynosił 1,6-7,2. Między tymi wartościami granicznymi występują dwa optima: jedno w przedziale 2,5-5,5, drugie 6,5-7,0. Najintensywniejszy wzrost grzybní odbywał się przy pH 3,5. *L. edodes* wykazywał duże zdolności buforowe. Wzrost grzybní odbywał się w przedziale temperatury od 0 do 35°C. Warunki optymalne występowały w zakresie temperatury od 20 do 30°C. Maksymalny przyrost grzybní uzyskano w temp. 25°C. Nie stwierdzono istotniejszego wpływu intensywności i czasu działania światła na wzrost grzybní. Niewielkie wymagania *L. edodes* zarówno w stosunku do zasobności podłoża, jak i czynników fizycznych środowiska, stwarzają możliwość w wykorzystaniu go na szeroką skalę do utylizacji odpadów drewna i kory.

LITERATURA

- Ainsworth G. C., Sussman A. S., 1965, The fungi. An advanced treatise. Academic Press. 491-513. New York, London.
- Ando M., 1972, The external factors for formation of basidiocarp in *Lentinus edodes*. J. Jap. Forest. Soc. 54: 311-314.
- Ando M., Nukumizu T., 1969, On the ecological and morphological characters of the strains of *Lentinus edodes*. Bull. For. Exp. Sta. Meguro 224: 1-38.
- Bew R., Cambie R., Jones E., Lowe G., 1966, J. Chem. Soc. C. 2: 129.
- Chibata I., Okamura K., Takeyama S., Kotera K., 1969, Experimentia 25: 1237.
- Chichara G., Maeda Y., Hamura J., Sasaki T., Fukuoka F., 1969, Nature 222: 687.
- Ferri F., 1974, Prove di coltivazione del *Lentinus edodes*. Micologia Ital. 2: 9-12.
- Furuta T., Okimoto Y., 1970, Studies on nutritional physiology of mushrooms. I. Bull. Fac. Agr. Tamagawa University 10: 127-133.

- Hashioka Y., Komatsu M., Arita I., 1961, Morphological and physiological characters of hybrid fruit-bodies in *Lentinus edodes*. Rep. Tottori Mycol. Inst. 1: 69-84.
- Hawker L. E., 1950, Physiologia of fungi, 195. Univ. London Press.
- Hiroe I., Ikuta J., 1960, Physiological and biological studies on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. IV. Trans. Tottori Soc. Agr. Sci. 12: 7-12.
- Ishikawa H., 1967, Physiological and ecological studies on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. J. Agr. Lab. 8: 1-57.
- Komatsu M., 1963, Morphogenesis of gill and sporulation in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing., with special reference to those influenced by light and temperature conditions. Rept. Tottori Mycol. Inst. 3: 6-20.
- Kondō M., Kasahara Y., 1933, Versuche bezüglich der Sporen von Shiitake, *Cortinellus shiitake* Schrot. Ber. Ohara Inst. 6: 28.
- Lilly V. G., Barnett H. L., 1959, Fizjologia grzybów. Warszawa.
- Matsuo A., Hiroe I., 1969, A spore germination promotor to *Agaricus campestris* produced by *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Trans. Tottori Soc. Agr. Sci. 12: 1-6.
- Meacham M. R., 1918, Note upon the hydrogen ion concentration necessary to inhibit the growth of four wood-destroying fungi. Science 48: 449-500.
- Merrill W., Cowling B., 1966, Role of nitrogen in wood deterioration: Amounts and distribution of nitrogen in tree stems. Can. J. Bot. 44: 1555-1580.
- Molisch H., 1926, Pflanzenbiologie in Japan.
- Nagai Y., Ito T., Nishimura H., 1962, On the yields, ecological and morphological characters of the strains of Shiitake (*Lentinus edodes* Sing.). Bull. Gov. For. Exp. Sta. Meguro 147: 79-118.
- Nukumizu T., Ando M., Dozono Y., 1959, On the ecological, physiological and morphological characters on the fruit body of Shiitake — *Cortinellus edodes* (Berk.) S. Ito et Imai. Bull. Gov. For. Exp. Sta. Meguro 116: 27-58.
- Nukumizu T., Ando M., Dozono Y., 1960, On the production and morphological characters of fruit bodies of hybrid F_1 of Shiitake — *Cortinellus edodes* (Berk.) S. Itō et Imai. Bull. Gov. For. Sta. Meguro 125: 57-60.
- Passecker F., 1968, Speisepilzkultur als wichtige Nahrungsquelle der Zukunft. Volksnahrungsmittel: Champignon und Shiitake. Zeitschrift für Pilzkunde 34 (1-2): 15-26.
- Prosiński S., 1969, Chemia drewna.
- Singer R., 1961, Mushrooms and truffles. London, New York.
- Steineck W., 1976, Pilze im Garten, Ed. E. Ulmer, Stuttgart.
- Tokimoto K., Kawai A., 1975, Nutritional aspects on fruit body development in replacement culture of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Rept. Tottori Mycol. Inst. 12: 25-30.
- Tokita F., Shibukawa N., Yasumoto T., Kaneda T., 1972, Isolation and chemical structure of the plasmocholesterol reducing substance from shiitake mushroom. Mushroom Science 8.
- Zadražil F., Schneidereit M., Pump G., Kusters H., 1973, Ein Beitrag zur Domestikation von Wildpilzen. Der Champignon 13: 138.