

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Živa KALAN

**UGOTAVLJANJE PRIMERNOSTI MEŠANICE
PIŠČANČJEGA GNOJA IN BIOMASE HITRO
RASTOČIH RASTLIN ZA RAST MICELIJA LESNIH
GLIV**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Živa KALAN

**UGOTAVLJANJE PRIMERNOSTI MEŠANICE PIŠČANČJEGA
GNOJA IN BIOMASE HITRO RASTOČIH RASTLIN ZA RAST
MICELIJA LESNIH GLIV**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**DETERMING ELIGIBILITY OF CHICKEN MANURE AND BIOMAS
OF ENERGY PLANTS AS SUBSTRATE FOR GROWTH OF
LIGNINOLITYC FUNGI**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na Katedri za Patologijo in zaščito lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Po sklepu Komisije za dodiplomski študij oddelka za agronomijo z dne 12. 06. 2008 je bil za mentorja diplomskega dela imenovan prof. dr. Franc Pohleven.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Katja Vadnal

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franc Pohleven

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo

Član: prof. dr. Franci Celar

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Živa Kalan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 602.3: 582.284(043.2)
- KG piščančji gnoj/hitro rastoče rastline/lignoceluloza/glive bele trohnobe/
- KK AGRIS A50
- AV KALAN, Živa
- SA POHLEVEN, Franc (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2010
- IN UGOTAVLJANJE PRIMERNOSTI MEŠANICE PIŠČANČJEGA GNOJA IN BIOMASE HITRO RASTOČIH RASTLIN ZA RAST MICELIJA LESNIH GLIV
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP X, 40 [5] str., 7 pregl., 21 sl., 2 pril., 52 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Proučevali smo katera hitro rastoča rastlina je najprimernejša za predhodno obdelavo z glivami bele trohnobe in pri katerem masnem razmerju, hitro rastoče rastline in piščančjega gnoja, micelij gliv bele trohnobe najhitreje prerašča. Pripravili smo različna masna razmerja substrata iz piščančjega gnoja in različnih vrst hitro rastočih rastlin. Uporabili smo konopljo, japonski dresnik, trstikovec, sirek in koruzo. Substrat smo inokulirali z glivama bele trohnobe, *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus*. Najhitreje je priraščal micelij na substratu iz 100 % hitro rastoče rastline in 0 % piščančjega gnoja ter na substratu iz 80 % hitro rastoče rastline in 20 % piščančjega gnoja. Na substratu iz 0 % hitro rastoče rastline in 100 % piščančjega gnoja, micelij ni priraščal. Pri inokulaciji z glivo *Trametes versicolor* je najhitreje priraščal micelij na substratu iz koruze in piščančjega gnoja, pri inokulaciji z glivo *Pleurotus ostreatus*, pa micelij na substratu iz trstikovca in piščančjega gnoja. Dokazali smo, da najhitreje prirašča micelij na substratu iz 60 % trstikovca in 40 % piščančjega gnoja pri inokulaciji z glivo *Pleurotus ostreatus*.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 602.3: 582.284(043.2)
- CX chicken manure/energy plants/lignocellulose/white rot fungi/
- CC AGRIS A50
- AU KALAN, Živa
- AA POHLEVEN, Franc (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2010
- TI DETERMING ELIGIBILITY OF CHICKEN MANURE AND BIOMAS OF ENERGY PLANTS AS SUBSTRATE FOR GROWTH OF LIGNINOLITYC FUNGI
- DT Graduation Thesis (University Studies)
- NO X, 40 [5] p., 7 tab., 21 fig., 2 ann., 52 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The effect of biological pretreatment of different species of energy plants using two white-rot fungi were evaluated and on which mass ratio of energy plant and chicken manure the mycelium of white-rot fungi grew the fastest. We prepared different mass ratio substrates from chicken manure and different energy plants. We used *Cannabis sativa*, *Fallopia japonica*, *Miscanthus* sp., *Sorghum* sp., *Zea mays*. Substrates were inoculated with *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus*. On substrate of 100 % energy plant and 0 % chicken manure and on substrate of 80 % energy plant and 20 % chicken manure we evaluated the fastest growth of mycelium. There was no growth of mycelium on substrate of 0 % energy plant and 100 % chicken manure. When inoculated with *Trametes versicolor* we find the fastest growth of mycelium on substrate of *Zea mays* and chicken manure and when inoculated with *Pleurotus ostreatus* on substrate of *Miscanthus* sp. and chicken manure. We determine that substrate of 60 % *Miscanthus* sp. and 40 % chicken manure inoculated with *Pleurotus ostreatus* was the most successful.

KAZALO VSEBINE

Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	XIII
Kazalo slik	IX
Okrajšave in simboli	X
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 BIOPLIN	2
2.2 PIŠČANČJI GNOJ	2
2.3 HITRO RASTOČE RASTLINE (HRR)	3
2.3.1 Konoplja	4
2.3.1.1 Morfološke značilnosti	4
2.3.1.2 Konoplja kot energetska rastlina	4
2.3.2 Japonski dresnik	5
2.3.2.1 Morfološke značilnosti	5
2.3.2.2 Japonski dresnik kot energetska rastlina	5
2.3.3 Koruza	6
2.3.3.1 Morfološke značilnosti	6
2.3.3.2 Koruza kot energetska rastlina	6
2.3.4 Sirek	7
2.3.4.1 Morfološke značilnosti	7
2.3.4.2 Sirek kot energetska rastlina	7
2.3.5 Trstikovec	7
2.3.5.1 Morfološke značilnosti	8
2.3.5.2 Trstikovec kot energetska rastlina	8
2.4 HIDROLIZA LIGNOCELULOZE	8
2.4.1 Obdelava substrata z ligninolitičnimi glivami	9

2.4.2 Glive bele trohnobe	9
2.4.2.1 <i>Trametes versicolor</i>	9
2.4.2.2 <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
2.4.3 Lignin	10
3 MATERIAL IN METODE	11
3.1 MATERIAL	11
3.1.1 Vrste gliv	11
3.1.2 Izvor piščančjega gnoja	11
3.1.3 Hitro rastoče rastline	11
3.2 METODE	12
3.2.1 Meritve rasti micelija	12
3.2.2 Priprava substrata	12
3.2.3 Meritve vlažnosti	13
3.2.4 Polnjenje epruvet	14
3.2.5 Avtoklaviranje	14
3.2.6 Inokulacija	14
3.2.7 Meritve rasti micelija	14
3.2.8 Meritve vlažnosti preraščenega in nepreraščenega substrata	14
3.2.9 Meritve C/N razmerja	15
4 REZULTATI	16
4.1 RAST MICELIJA	16
4.2 <i>TRAMETES VERSICOLOR</i>	17
4.2.1 Konoplja	17
4.2.2 Japonski dresnik	18
4.2.3 Koruza	19
4.2.4 Trstikovec	20
4.2.5 Sirek	21
4.3 <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	22
4.3.1 Konoplja	22
4.3.2 Japonski dresnik	23
4.3.3 Koruza	24
4.3.4 Trstikovec	25
4.3.5 Sirek	26
4.4 PRIMERJAVA RASTI <i>TRAMETES VERSICOLOR</i> IN <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	27

4.4.1 Konoplja	27
4.4.2 Japonski dresnik	27
4.4.3 Koruza	28
4.4.4 Trstikovec	28
4.4.5 Sirek	29
4.5 MERITVE VLAŽNOSTI	32
4.6 MERITVE C/N RAZMERJA	33
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	34
5.1 RAZPRAVA	34
5.1.1 Rast micelija	34
5.1.2 Primerjava gliv <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i>	34
5.1.2.1 <i>Trametes versicolor</i>	34
5.1.2.2 <i>Pleurotus ostreatus</i>	34
5.1.3 Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu	36
5.1.4 Meritve C/N razmerja	36
5.2 SKLEPI	36
6 POVZETEK	37
7 VIRI	38
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Vrednosti hranil, organske snovi in vode v piščančjem gnoju.	2
Preglednica 2: Vrste lesnih gliv.	11
Preglednica 3: Vrste hitro rastočih rastlin.	11
Preglednica 4: Različna masna razmerja piščančjega gnoja in hitro rastočih rastlin.	12
Preglednica 5: Okrajšave imen hitro rastočih rastlin.	13
Preglednica 6: Meritve vlažnosti.	13
Preglednica 7: Meritve C/N razmerja.	33

KAZALO SLIK

Slika 1: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih masnih razmerjih konoplje in piščančjega gnoja.	17
Slika 2: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih masnih razmerjih japonskega dresnika in piščančjega gnoja.	18
Slika 3: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih masnih razmerjih koruze in piščančjega gnoja.	19
Slika 4: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih masnih razmerjih trstikovca in piščančjega gnoja.	20
Slika 5: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih masnih razmerjih sirka in piščančjega gnoja.	21
Slika 6: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> na različnih masnih razmerjih konoplje in piščančjega gnoja.	22
Slika 7: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> na različnih masnih razmerjih japonskega dresnika in piščančjega gnoja.	23
Slika 8: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> na različnih masnih razmerjih koruze in piščančjega gnoja.	24
Slika 9: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> , na različnih masnih razmerjih trstikovca in piščančjega gnoja.	25
Slika 10: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> na različnih masnih razmerjih sirka in piščančjega gnoja.	26
Slika 11: Prirast micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> , pri različnih mešanicah konoplje in piščančjega gnoja.	27
Slika 12: Prirast micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> pri različnih mešanicah japonskega dresnika in piščančjega gnoja.	27
Slika 13: Prirast micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> pri različnih mešanicah koruze in piščančjega gnoja.	28
Slika 14: Prirast micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> pri različnih mešanicah trstikovca in piščančjega gnoja.	28
Slika 15: Prirast micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> pri različnih mešanicah sirka in piščančjega gnoja.	29
Slika 16: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> na različnih HRR pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG.	30
Slika 17: Hitrost priraščanja micelija <i>Pleurotus ostreatus</i> na različnih HRR pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG.	31
Slika 18: Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu, pri različnih masnih razmerjih koruze in PG inokuliranih s Tv.	32
Slika 19: Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu, pri različnih masnih razmerjih trstikovca in PG inokuliranih s Plo5.	32
Slika 20: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> na substratu iz 60 % japonskega dresnika in 40 % piščančjeg gnoja.	35
Slika 21: Hitrost priraščanja micelija <i>Trametes versicolor</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i> na substratu iz 60 % trstikovca in 40 % piščančjeg gnoja.	35

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

- HRR hitro rastoče rastline
PG piščančji gnoj
Plo5 bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*)
Tv pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*)

1 UVOD

Odpadki, ki nastajajo v obratih živilsko-predelovalne industrije, predstavljajo okoljski problem. Potrebno jih je čimprej razgraditi in vključiti v krogotok življenja. S tem ciljem jih je mogoče uporabiti kot obnovljiv vir energije. Zato se razvijajo nove tehnologije za proizvodnjo bioplina in bio-goriv. Ena izmed možnosti je razgradnja rastlinske biomase, pomešane z živalskim gnojem.

V Perutnini Ptuj d.d. predstavlja piščančji gnoj resen okoljski problem. Gnoj bi bilo mogoče koristno uporabiti za proizvodnjo bioplina v kombinaciji z rastlinsko biomaso.

Pri vzreji piščancev v Perutnini Ptuj d.d. uporabljajo za nastiljanje lesne oblance in žagovino. Takšna oblika stelje je bolj zdrava, ker les deluje zavirajoče na bakterije (Council Directive 2007/43/EC, 2007). Vendar pa je zaradi tega slabša razgradnja, saj je bakterijski razkroj otežen zaradi vsebnosti oblancev, ki vsebujejo lignocelulozo.

Glive bele trohnobe so edini organizmi sposobni hitre in popolne razgradnje lignina. Z glivami bi predhodno delignificirali substrat in tako izboljšali produkcijo metana. S predhodno obdelavo biomase z glivami razkrojevalkami lesa (aerobni proces), postane material bolj dostopen bakterijam in zato bo proces fermentacije bolj intenziven in celovit.

Ker je v piščančjem gnoju neustrezno razmerje med ogljikom in dušikom, smo piščančji gnoj mešali s hitro rastočimi energetske rastlinami. V svetu se kot hitro rastoče energetske rastline uporablja koruzo, sladkorno peso in sladkorni trs. Zato prihaja do konkurence med prehrabenim in energetske sektorjem, kar ima za posledico hitro in nezadržno rast cen hrane. Posvetiti bi se morali izboru alternativnih energetskih rastlin, ki jih ni v prehrabeni verigi, s čimer ne bi vplivali na neugodne učinke rasti cen hrane.

V diplomskem delu smo proučevali hitrost priraščanja micelija gliv bele trohnobe na substratih iz različnih mešanic hitro rastočih rastlin in piščančjega gnoja.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BIOPLIN

Biogoriva so v direktivi EU o biogorivih iz leta 2003 opredeljena kot tekoča ali plinasta pogonska goriva, ki so proizvedena iz biološko razgradljivih poljščin in organskih ostankov ter odpadkov iz kmetijske proizvodnje in gozdarstva (Čergan in sod., 2008).

Pri bioplinu gre za proizvodnjo energetskega vira, ki je stranski produkt anaerobne razgradnje organskih odpadkov. Fermentacija metana je raznolik biotehnološki proces, s katerim je mogoče v anaerobnih razmerah razgraditi skoraj vsak organski polimer do metana in CO₂. Pri procesu anaerobne razgradnje sodelujejo strogo anaerobne hidrolitične in acetogene ter metanogene bakterije, ki skrbijo za stabilno okolje pri različnih stopnjah metanogene fermentacije (Miyamoto, 1997; Polprasert, 2007). Proces anaerobne razgradnje poteka v treh stopnjah (Miyamoto, 1997; Kumar in sod., 2009; Sanchez, 2009):

- razgradnja, hidroliza polimerov do osnovnih molekul-monomer (heksoz in pentoz),
- nastajanje organskih kislin, CO₂ in vodika,
- nastajanje metana, separacija in purifikacija.

Sestava bioplina iz piščančjega gnoja: metan (CH₄) 58-69 %, ogljikov dioksid (CO₂), dušik (N₂), amoniak (NH₃) in ostali plini v sledovih (Polprasert, 2007).

2.2 PIŠČANČJI GNOJ

Piščančji gnoj (PG) je po vsebnosti dušika (N) 3-krat do 4-krat močnejši od govejega hlevskega gnoja, po vsebnosti fosforja (P₂O₅) 5-krat do 10-krat in po vsebnosti kalija (K₂O) 2-krat do 3-krat (Holcman, 1988; Leskošek, 1993). Konsistenca in sestav gnoja sta odvisna predvsem od: vrste perutnine, starosti gnoja in zunanje temperature (Holcman, 1988). V PG so izločki živali, perje, voda in krmila, odpadna voda in nastil (Moore in sod., 1995; Sakar in sod., 2009). Pri predelavi in uporabi gnoja je treba razlikovati gnoj izpod baterij, ki je čist kokošji gnoj in gnoj z nastilom, ki ima zelo različno vrednost, kot je različen nastil (Ločniškar, 1983; Holcman, 1988). Zato ima več organske snovi (lignoceluloze), kot gnoj izpod baterij (Klasson in sod., 2009). Pravtako je potrebno razlikovati med svežim in zrelim piščančjim gnojem, ker vsebujeta zelo različne količine hranil (preglednica 1).

Preglednica 1: Vrednosti hranil, organske snovi in vode v piščančjem gnoju (%) (Leskošek, 1988: 40).

Vrsta gnoja	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Org. snov	Voda
Svež piščančji gnoj	1,70	1,60	0,90	2,00	-	35,0	56,0
Zrel piščančji gnoj	3,80	2,60	3,90	5,20	0,66	57,0	20,0

Kokoši nesnice izločijo pri povprečni temperaturi 15 °C 175 g kokošjega gnoja na dan (Ločniškar, 1983; Holcman, 1988). Letno se s prirejo perutnine pridela milijone ton perutninskega gnoja. Tako prihaja do težav pri odstranitvi le-tega. Pojavlja se estetski

problem, možnost razlitja, površinsko onesnaženje vode, kontaminiranje podtalnice, razvoj živalskih patogenov, neprijeten vonj in pojav virusov (Moore in sod., 1995; Atuanya in Aigbirior, 2002; Nelson in Lamb, 2002).

Tradicionalno se PG zaradi visoke vrednosti dušika, fosforja in kalija uporablja kot gnojilo. Vendar pa vsebuje več fosforja, kot ga potrebujejo rastline za rast in razvoj, zato obstaja možnost spiranja le-tega v podtalnico, poleg tega lahko pri gnojenju s PG pride do kontaminacije z nitrati. Da bi to preprečili se razvijajo alternativne možnosti odstranitve PG, kot so kompostiranje, direktno izgorevanje, fermentacija (Moore in sod., 1995; Kelleher in sod., 2002) in druge. Klasson in sodelavci (2009) navajajo, da aktiven ogljik, pridelan iz perutninskega gnoja, lahko odstrani elementarno živo srebro iz zraka in je pri tem bolj učinkovit, kot pogosto uporabljeni komercialni adsorbenti.

PG se že dolgo uporablja za pridobivanje bioplina, ki je mešanica plinov, med katerimi je gorljiv metan (Ločniškar, 1983; Holcman, 1988). Pridetek bioplina iz perutninskega gnoja je dvakrat večji od pridelka bioplina iz govejega gnoja (Sakar in sod., 2009).

Metanogene bakterije pri proizvodnji bioplina porabljajo ogljik 25-30 krat hitreje kot dušik (Polprasert, 2007). Nizko C/N razmerje deluje toksično na metanogene bakterije, kar povzroči nizko proizvodnjo bioplina (Sakar in sod., 2009). Zato je za optimalno bioplinsko proizvodnjo potrebno pravo mešanje surovin, da dobimo primerno C/N razmerje. Ker ima živalski gnoj nižje C/N razmerje, kot je potrebno za delovanje metanogenih bakterij, ga je potrebno mešati z drugimi organskimi odpadki oziroma biomaso, s čimer se omogoči višje C/N razmerje. Pri proizvodnji bioplina moramo zagotoviti pravo kombinacijo živalskega gnoja in hitro rastočih rastlin ter primerno C/N razmerje (Polprasert, 2007).

2.3 HITRO RASTOČE RASTLINE (HRR)

Iz vsake rastline ali organske snovi (biomase) je moč narediti gorivo. Gorivu, ki ga proizvajamo iz biomase rečemo biogorivo in ima nekaj odločilnih prednosti pred fosilnimi gorivi (Robinson, 2000):

- rastline skoraj ne vsebujejo žvepla ali drugih, okolju škodljivih snovi, ki povzročajo onesnaževanje zraka,
- gorivo pridelujemo iz poljščin določenega območja; energija postane dostopnejša,
- enoletne rastline so obnavljajoči se energetski vir.

Kvalitetna hitro rastoča rastlina (HRR) ima ugodno energetsko ravnovesje, kar pomeni, da naj bi bil energetski vnos, ki je potreben, da se rastlina uspešno razvija in raste, manjši od končnega pridelka biomase. Energetski vnosi so ponavadi v obliki fosilnih goriv, fitofarmaceutskih sredstev in kultivacije. Zato so za HRR primerne trajnice, ki v primerjavi z enoletnicami, potrebujejo samo prvi del kultivacije, priprava na setev in majhne količine gnojil. HRR mora imeti velik energijski potencial biomase (Heaton in sod., 2004). Rastline v naših podnebnih razmerah v času poletne vegetacije nakopičijo na 1 m² kmetijske površine 5 do 6 Kw h energije, ki je v rastlinskih maščobah, ogljikovih hidratih in beljakovinah (Čergan in sod., 2008). Pri kopičenju sončne energije in proizvodnji biomase so še posebej učinkovite C4 rastline, saj v primerjavi s C3 rastlinam pri fotosintezi izločijo manj učinkovit proces fotorespiracije (Heaton in sod., 2004). C4 rastline vežejo CO₂ v snov s štirimi C atomi (malat). Vezavo CO₂ v malat omogoča poseben encim, ki je zelo občutljiv za CO₂ in ga lahko veže tudi, ko ga je v listu zelo malo (Gogala, 1995). Primerna

HRR mora učinkovito uporabiti dušik in razpoložljivo vodo. Visoko produktivne rastline so velikokrat invazivne, pri čemer moramo paziti, da s pridelovanjem takih rastlin ne porušimo biotske pestrosti v naravi (Heaton in sod., 2004).

2.3.1 Konoplja

Konoplja spada v družino konopljevok (Cannabaceae), vrsta navadna konoplja (*Cannabis sativa*). Izhaja iz območja severozahodnega dela Himalaje do Aralskega jezera in Kaspijskega morja (Kocjan Ačko, 1999a; 1999b).

Spada med najstarejše in najbolj uporabne kulturne rastline. Konoplja je bila nekaj tisočletij pred našim štetjem in vse do konca 18. stoletja zelo pomembna kmetijska rastlina. Dajala je osnovo za vlakna, sukno, svetilno olje, papir, kadilo, zdravila. Seme je bilo pomembna hrana za ljudi in živali. Zemljišča pod konopljo so se začele manjšati v 18. stoletju, ko so razvili stroj za obdelavo bombaža. K zmanjševanju pomena konoplje je prispeval tudi razvoj papirne industrije iz lesne celuloze. Danes se konoplja uporablja za posebne namene, cigaretni papir, filter papir za čajne vrečke, tesnilni material za vodovodne napeljave, za specialne delovne obleke in za vrvi (Rengeo, 1995).

2.3.1.1 Morfološke značilnosti

Konoplja ima vretenasto korenino, ki oblikuje nekaj stranskih korenin. Steblo je pokončno, zelnato in se lahko razveji. V višino doseže od 0,5 m do 5 m. S starostjo se deblo odebeli in oleseni. Rastlina ima pecljate, dlanaste liste s 3 do 13 kopjastimi, po robovih nazobčanimi in živo zelenimi lističi. Konoplja je dvodomna rastlina. Moške rastline imajo latasto, ženske pa klasasto socvetje. Je rastlina kratkega dne. Cveti ko se dan manjša (Kocjan Ačko, 1999a).

Rastlina je zelo enostavna za pridelovanje, saj zaradi hitre in goste rasti ne dopušča razraščanja plevelom, zato je ni potrebno izdatno škropiti s herbicidi (Robinson, 2000). Med pleveli sta najnevarnejša predenica (*Cuscuta epilinum*) in pojalnik (*Orobanche ramosa*). Od bolezni jo okužuje konopljina pegavost (*Septoria cannabis*), ki jo zatiramo s fungicidom, in virusna pegavost konopljenih listov, katere zatiranje je mogoče le s setvijo zdravega semena. Napadajo jo tudi škodljivci: bolhači (*Psyllioides attenuata*), sovke (*Agrotis*), koruzna vešča (*Ostrinia nubilalis*) in stebelna ogorčica (*Ditylenchus dipsaci*) (Kocjan Ačko, 1999a).

2.3.1.2 Konoplja kot energetska rastlina

Iz rastlin konoplje lahko pridelujemo dve vrsti biogoriv, in sicer olje iz semen in bioplin iz listov ter stebel. Pri pridelovanju bioplina celulozo ali hemicelulozo rastline z encimi ali bakterijami razgradimo v škrob, ki ga s fermentacijo spremenimo v alkoholno gorivo in naprej v metanol, etanol in metan (Robinson, 2000).

Rastline konoplje bi lahko uporabili za pridelavo vlaken in celuloze, odpadki pa bi služili kot energetski vir za pridelavo biogoriva. Robinson (2000) navaja, da je konoplja globalno gledano najboljša energetska rastlina, če pri izračunih upoštevamo okoljska merila:

- odstranitev vseh pesticidov, herbicidov, gnojil,
- gojenje poljščin z naravnimi, organskimi procesi,
- vključitev pomožnih zemljišč za pridelavo konoplje,
- možnost kolobarjenja, ki ohranja rodovitnost prsti in hkrati nadzoruje bolezni ter škodljivce.

2.3.2 Japonski dresnik

Japonski dresnik (*Fallopia japonica*) spada v družino dresnovk (Polygonaceae). Lahko ga najdemo pod različnimi sinonimi: *Polygonum cuspidatum*, *Pleuropterus cuspidatus*, *Reynoutria japonica* in *Tiniaria japonica*. Izvira iz Vzhodne Azije: Japonske, Koreje, Tajske, Kitajske. Nizozemci so ga leta 1823 prinesli v Evropo kot okrasno rastlino. V Evropi se je v naravi prvič pojavil leta 1892, v Sloveniji leta 1908 (Frajman, 2008).

Kot smo že omenili, se japonski dresnovec uporablja kot okrasna rastlina. Sadili so ga tudi za utrjevanje brežin in preprečevanje erozije, saj ima izjemno močne in dolge korenine. Uporabljal se je kot krmna oziroma medonosna rastlina, njegovi ekstrakti pa se uporabljajo v kitajski in japonski tradicionalni medicini (Frajman, 2008; Invading ..., 2009).

Japonski dresnik tvori goste sestoje, ki izpodrivajo naravno rastje ter tako spreminjajo videz krajine in negativno vplivajo na biotsko pestrost (Frajman, 2008; Invading ..., 2009; Non-native ..., 2009).

2.3.2.1 Morfološke značilnosti

Japonski dresnik je trajnica. Zanj je značilno kolenčasto členjeno steblo, ki je votlo in pogosto rdečkasto lisasto. Zaradi kolenčaste členjenosti je steblo podobno bambusu. Rastlina ima značilno grmičasto razrast. Grmi zrastejo od 2-4 m v višino. Listi so premenjalno nameščeni, široko jajčasti. Zrastejo 5-15 cm v dolžino in so široki 10 cm. Pri nas rastlina cveti konec julija. Cvetovi so belkasti do zelenkasti, združeni v pokončna latasta socvetja in so enospolni. Podzemne korenike so zelo razrasle in lahko segajo nekaj metrov od materinske rastline. Korenine pozimi prezimijo, medtem ko nadzemni deli odmrejo, spomladi pa iz podzemnih delov odženejo nova stebila (Frajman, 2008).

Japonski dresnik je rastlina, ki jo uvrščamo med plevela in je zelo invazivna rastlina, z močnim potencialom razraščanja (Frajman, 2008; Invading ..., 2009; Non-native ..., 2009). Ker sodi med plevela, v literaturi ni podatkov o tem, da bi za rast in razvoj rastlina potrebovala kakršnokoli obliko kultivacije, niti da bi jo napadali škodljivci ali okuževale bolezni.

2.3.2.2 Japonski dresnik kot energetska rastlina

Japonski dresnik je alternativna rastlina za pridobivanje biogoriva iz biomase. V literaturi se ne omenja kot potencialna rastlina za pridelavo bioplina (Bernik in Zver, 2006), vendar pa Bernik in Zver (2006) v članku navajata, da se je v poskusih za pridelavo bioplina, v primerjavi z nekaterimi hitro rastočimi rastlinami, zelo dobro odrezal in, da je primerna rastlina za pridobivanje biogoriva.

2.3.3 Koruza

Koruza (*Zea mays*) spada v družino trav (Poaceae), natančneje v poddružino prosastih trav. Izvira iz srednje in južne Amerike. Zahodne civilizacije so jo spoznale, ko je Krištof Kolumb leta 1492 odkril Ameriko. Kolumb naj bi seme koruze prinesel v Španijo. Prvi pisni viri o posevku koruze izhajajo iz leta 1494 iz Italije. Pridelovanje koruze se je začelo širiti in konec 16. stoletja je koruza postala pomembna poljščina v Evropi, Aziji in Afriki (Čergan in sod., 2008).

Na mnogih območjih pridelujejo koruzo za prehrano ljudi, na razvitejših območjih pa predvsem za prehrano živali, za industrijsko predelavo in v zadnjem obdobju tudi za pridelavo biogoriv. Pšenica, riž in koruza predstavljajo 86 % pridelave vseh žit v svetovnem merilu in koruza ima vodilno vlogo (Čergan in sod., 2008).

2.3.3.1 Morfološke značilnosti

Korenina se v večjem obsegu razvije v globini do 30 cm. Iz primarne korenine poženejo dve do štiri stranske korenine s koreninskimi laski, ki pomagajo pri utrditvi rastline v zemlji. Podzemni internodiji so kratki (0,5-2,0 cm), nadzemni pa mnogo daljši. Razvije se lahko 14 do 20 internodijev in na vsakem požene en list. Višina stebela je predvsem genetsko pogojena, deloma pa tudi s tehnologijo pridelave. Koruznica predstavlja velik del pridelka nadzemne mase. Dolžina listov je zelo različna, od 30 do 150 cm, širina pa od 5 do 25 cm, odvisno od hibrida. Listna ploskev ima vzporedne listne žile. Koruza je enoletna, enodomna, C4 rastlina. Ima ločena moška in ženska socvetja. Moška socvetja so metlice, ženska pa storži (Čergan in sod., 2008).

Kot rastlina je koruza zahtevna za pridelovanje. Zaradi vedno večjih potreb prebivalstva po živežu, se poskuša intenzivirati pridelavo koruze. Razvijajo se novejši hibridi, ki potrebujejo vedno več namakanja. Za pridelek 10 ton zrnja na hektar, koruza porabi vsaj 7000 ton vode. Potrebe koruze po hranilih so relativno velike. Gnojiti moramo osnovno, pod čimer razumemo: jesensko gnojenje z živinskimi gnojili in založno gnojenje s fosforjem in kalijem, gnojenje pri spomladanski pripravi tal in gnojenje ob setvi. Nato pa še dognojujemo s KAN (27 % N) ali sečnino/UREO (46 % N) in pa z gnojevko in gnojnico (Čergan in sod., 2008).

V koruzi se širijo okopavinski pleveli, ki so se prilagodili tehniki pridelovanja koruze. Nekateri med njimi so: bela metlika (*Chenopodium album*), mnogosemenska metlika (*Chenopodium polyspermum*), srhkodlakavi ščir (*Amaranthus retroflexus*), breskovolistna dresen (*Polygonum persicaria*), slakolistna dresen (*Fallopia (Polygonum)*), sivo zeleni muhvič (*Setaria glauca*), njivski osat (*Cirsium arvense*) in mnogi drugi. Zatirati jih moramo s številnimi herbicidi (Čergan in sod., 2008).

Pravtako jo napadajo škodljivci. Najpomembnejši med njimi so: strune (*Elateridae*), sovke (*Noctuidae*), koruzni hrošč (*Diabrotica virgifera virgifera*), koruzna večča (*Ostrinia nubilalis*). Zatirati jih moramo z insekticidi. Koruzo parazitirajo glive, bakterije in virusi (Čergan in sod., 2008).

2.3.3.2 Koruza kot energetska rastlina

Pri koruzi se za proizvodnjo energije največ uporabljajo žetveni ostanki, ki jih imenujemo koruznica. Ta ima podobne lastnosti kot oleseneli rastlinski ostanki. Ker se koruznica uporablja tudi v druge namene (za prehrano živali, zaoravanje na njivi), naj bi za

proizvodnjo energije porabili le 20 do 25 % vse koruznice. V ZDA je koruza glavna rastlina za proizvodnjo bioetanola.

Obstaja več postopkov proizvodnje energije iz koruze (Čergan in sod., 2008):

- sežiganje, uplinjanje, utekočinjanje koruznice,
- digestija (bioplin) koruzne silaže,
- sežiganje koruznih storžev brez zrnja,
- fermentacija koruznice ali koruznega zrnja.

2.3.4 Sirek

Sirek (*Sorghum* sp.) spada v družino trav (Poaceae). Izvira iz Azije in Afrike. Kitajci so ga sejali že 5.000 let pr. n. š.. V Sredozemlje so ga prinesli Arabci. Največ sirka se pridelava v Aziji, Afriki in Ameriki, gojijo pa ga tudi v Evropi (Kocjan Ačko, 1999c).

Njegova uporaba je zelo raznolika. Prideluje se za zrnje (*Sorghum bicolor*), za krmo (*Sorghum vulgare*), kot sudanska trava (*Sorghum sudanense*) in tudi za seno ter pašo. Uporablja se kot sladkorni sirek (*Sorghum saccharatum*) ali kot tehnični sirek (*Sorghum technicum*) za proizvodnjo metlic (Osvald, 1988).

2.3.4.1 Morfološke značilnosti

Sirek ima koreninski sistem podoben koruzi. Korenina je šopasta in ima močno sesalno moč za vodo. Tudi steblo in listi spominjajo na koruzo. Steblo je členkovito, gladko, izpolnjeno s strženom in zraste od 1 do 4 m. Pri običajnem razraščanju se razvije približno 4-5 stebel. Listi so dolgi 40 do 80 cm in široki 5 do 14 cm. So modro zelene barve in prekriti z voščeno prevleko (Osvald, 1988; Kocjan Ačko, 1999c).

Sirek je enoletna C4 rastlina. Ima lat ali metlico na kateri so dvospolni, večinoma samoprašni cvetovi (Sadar, 1949; Kocjan Ačko, 1999c).

Potrebe sirka po namakanju so manjše zaradi dobro razvitega koreninskega sistema. Sirek sejemo na nezapleveljeno njivo, ker mlade rastline počasi rastejo v zemlji, ki smo jo predhodno pognojili z organskimi ali mineralnimi gnojili. Najnevarnejši plevel je divji sirek (*Sorghum halepense*) in sorodni pleveli iz rodu sirkov. Z boleznimi sirek nima težav, pač pa jih ima s pticami, ki rade jedo sirkova semena. Energetska vlaganja v pridelavo sirka so veliko manjša od vlaganj v pridelavo koruze (Kocjan Ačko, 1999c).

2.3.4.2 Sirek kot energetska rastlina

Tudi sirek lahko uporabljamo za proizvodnjo energije. Suha stebela so uporabna za kurjavo in ogrevanje prostorov. Tudi sirkovo zrnje in zelinje spadata med obnovljive vire energije. Iz ene tone sirkovega zrnja se dobi od 300 do 400 l bioetanola, to je približno 2000 do 4000 l bioetanola/ha. Brazilija iz sirka proizvede 70 % svetovne proizvodnje bioetanola, ki ga uporabijo v različne namene (Kocjan Ačko, 1999c).

2.3.5 Trstikovec

Trstikovec ali miskant (*Miscanthus* sp.) spada v družino trav (Poaceae). Je trajnica in C4 rastlina. Izhaja iz tropskega in subtropskega pasu, vendar različne sorte izhajajo iz raznolikega klimatskega območja vzhodne Azije. V Evropi se je prvič pojavil v 30tih letih

19. stoletja. Danes je poznanih veliko različnih okrasnih sort *Miscanthusa* sp. (Strgar, 1994; Lewandowski in sod., 2000).

2.3.5.1 Morfološke značilnosti

Trstikovci so veličastne in elegantne visoke trave. So šopasto rastoči, pokončne ali nekoliko povešene rasti. Listi so ozki in imajo ostre robove. Iz šopa listov izraščajo cvetna stebela. Na njih se odpirajo ščetinasto dlakavi cvetni klaski v latastih socvetjih (Strgar Satler, 2007). Zrastejo tudi do 4 m visoko. V dveh do treh letih se dokončno izoblikujejo korenine in velika večina jih je na globini od 0-40 cm, posamezne korenine pa prodrejo tudi do 250 cm in še globlje.

Rastlina se uporablja kot konstrukcijski material, vir celuloze in kot trdo gorivo (Lewandowski in sod., 2000).

Trstikovec ne potrebuje veliko gnojil, ker se ob koncu rastne sezone hranila translocirajo v prezimitveni organ (rizom), spomladi pa le-ta potujejo iz rizoma v poganjke, kjer se pričinja rast (Lewandowski in sod., 2000).

V prvem letu rasti je potrebno mehansko ali kemično varstvo proti plevelom. Po drugem do tretjem letu se rastlina dobro uveljavi in varstvo ni več potrebno. Do danes še ni znanih škodljivcev ali bolezni, ki bi resno ogrozile proizvodnjo biomase. Lahko pa se pojavi fuzarioza, rumena pritlikavosti ječmena in *Leptosphaeria* sp. (Lewandowski in sod., 2000).

2.3.5.2 Trstikovec kot energetska rastlina

Trstikovec je alternativna energetska rastlina. Zaradi neverjetne sposobnosti prilagajanja na različne klimatske razmere, je primeren kot energetska rastlina (Lewandowski in sod., 2000).

V EU je za namene energetske rastline najbolj preučevan križanec *M. ×giganteus*, katerega starševski liniji sta *M. sacchariflorus* in *M. sinensis*. *M. ×giganteus* je sterilni hibrid, ki se razmnožuje vegetativno. Njegove največje odlike so veliki pridelki biomase in nizka potreba po gnojilih ter fitofarmaceutskih sredstvih (Heaton in sod., 2004).

Trstikovec je izjemno primeren kot trdo gorivo in večinoma se uporablja v ta namen, a je kljub temu primeren tudi za fermentacijo (Heaton in sod., 2004). Kemična sestava biomase trstikovca je primerna za izgorevanje. Pepel vsebuje več hranil in manj težkih kovin kot pepel lesa (Lewandowski in sod., 2000).

2.4 HIDROLIZA LIGNOCELULOZE

Les je sestavljen pretežno iz lignoceluloze, ki je sestavljena iz treh polimerov: celuloze, hemiceluloze in lignina (Sánchez, 2009). Suhi les vsebuje v povprečju 30 % lignina, 40 % celuloze in 30 % hemiceluloze (Kirk in Farrell, 1987). Lignin je druga za celulozo najbolj razširjena organska snov v naravi z letno produkcijo 2×10^{10} ton, medtem ko je letna produkcija celuloze 10^{12} ton (Krajncič, 2001).

Hidroliza lignoceluloze je prvi korak pri sintezi bioplina, njeni produkti so ponavadi reducirani sladkorji, tudi glukoza (Sun in Cheng, 2002). Hidrolizo katalizirajo celulaze, ki so mešanice več različnih encimov (Krajncič, 2001; Sun in Cheng, 2002). Učinkovitost hidrolize je odvisna od vsebine lignina in hemiceluloze, kristaliničnosti celuloze in poroznosti materiala (Sun in Cheng, 2002). Vendar je zaradi visoke odpornosti lignoceluloze oz. lignina na bakterijski razkroj, encimska hidroliza lignoceluloze brez

predhodne obdelave slabša (Taherzadeh in Karimi, 2008). Zaradi vsebnosti lignina in hemiceluloze je celuloza manj učinkovita in uspešnost hidrolize se zmanjša. S pomočjo predhodne obdelave pa lahko znižamo količino lignina, hemiceluloze in kristalichnost celuloze v substratu ter obenem povečamo poroznost materiala in tako se razkroj močno izboljša (Sun in Cheng, 2001).

Kar nekaj organizmov je sposobnih razgraditi in uporabiti celulozo in hemicelulozo kot vir ogljika in energije. Zelo malo pa je organizmov, ki so sposobni razgraditi lignin. Tega so zmožne glive bele trohnobe, ki imajo edinstveno sposobnost razgraditi lignin do ogljikovega dioksida. Lignocelulozo so sposobne razgraditi zaradi izjemno učinkovitega, nespecifičnega encimskega sistema presnove (Aust, 1995; Rayner in Boddy, 1995; Pérez in sod., 2002; Martínez in sod., 2005). Vendar tudi glive bele trohnobe ne uporabljajo lignina kot edinega vira energije in ogljika. Zato je splošno mnenje, da glive bele trohnobe razgrajujejo lignin, da bi prišle do celuloze in hemiceluloze (Kirk in Farrell, 1987; Zabel in Morrell, 1992; Hammel, 1997; Sánchez, 2009).

2.4.1 Obdelava substrata z ligninolitičnimi glivami

Predhodno obdelavo z glivami odlikujejo nizki stroški in nezahtevni pogoji obdelave, poleg tega je metoda varna in okolju prijazna. Kljub temu, da je stopnja hidrolize pri večini bioloških predhodnih obdelav zelo nizka (Sun in Cheng, 2002; Taniguchi in sod., 2005; Taherzadeh in Karimi, 2008), s predhodno obdelavo biomase omogočimo pripravljenost celuloze na hidrolizo za pridelavo bioplina (Kumar in sod., 2009). Z biološko predhodno obdelavo naj bi povzročili delignifikacijo, delno hidrolizo hemiceluloze in zmanjšanje stopnje polimerizacije celuloze (Taherzadeh in Karimi, 2008). Taniguchi s sodelavci (2005) navaja, da je riževa slama, predhodno obdelana s *Pleurotus ostreatus*, bolj dovzetna za encimsko hidrolizo kot neobdelana biomasa. Podobno poročata Ghosh in Bhattacharyya (1999), da se s predhodno obdelavo z glivami bele trohnobe odstrani lignin iz biomase, zato je celuloza bolj dostopna metanogenim bakterijam in posledično se poveča količina proizvedenega bioplina v primerjavi s količino proizvedenega bioplina iz neobdelane biomase.

2.4.2 Glive bele trohnobe

Bela trohnoba je vrsta razkroja lesa, ki se kaže kot posvetlitev lesa. Razkrajajo se celuloza, hemiceluloza in lignin. Razkrojeni les je svetlejši in izgleda kot da bi bil pobeljen (Eaton in Hale, 1993; Rayner in Boddy, 1995). Glive bele trohnobe delimo na simultane in selektivne. Simultane ali neselektivne glive bele trohnobe razgrajujejo vse komponente celične stene hkrati, lignin, celulozo in hemicelulozo ter povzročajo simultano belo trohno. Selektivne glive bele trohnobe pa najprej razgradijo lignin in hemicelulozo in šele nato celulozo in tako povzročajo selektivno belo trohno (Zabel in Morrell, 1992; Eaton in Hale, 1993). Taniguchi s sodelavci (2005) navaja, da je ostrigar selektivno razgradil ligninske dele riževe slame pred celuloznimi komponentami. Pravtako piše Blanchette (1984), da je 26 različnih vrst gliv na različnih substratih povzročilo selektivno delignifikacijo različnih vrst lesa. Razkroj je bil specifičen glede na vrsto lesa in ne na vrsto glive.

2.4.2.1 Trametes versicolor

Pisana ploskocevka je ena najbolj pogostih lesnih gliv pri nas in tudi v svetu. Razširjena je v listnatih in mešanih gozdovih po vseh kontinentih. Pojavlja se na lesu listavcev, še

posebej rada razkroja bukovino (*Fagus sylvatica*). Glivo najdemo na poškodovanih ali odmrlih drevesih, zelo pogosto se pojavlja na hlodih in štorih listavcev, včasih tudi na štorih zimzelenih dreves. Zaradi žilave zgradbe goba ni užitna, primerna pa je za kuhanje čaja. Pripisujejo ji številne zdravilne učinke: od izboljšanja imunskega sistema do delovanja proti prehladu in drugim virusom. Najbolj znan je njen učinek proti raku (Pohleven, 2008). Optimalna temperatura rasti je 30 °C, maksimum je pri 36 °C. Obseg razkroja lesa pri temperaturi 25-30 °C je 14-15 mm dnevno. Optimalna vlažnost lesa za maksimalni razkroj je pri 40-45 %, razkroj poteka tudi pri višji vlažnosti (Eaton in Hale, 1993).

2.4.2.2 *Pleurotus ostreatus*

Gliva je tipičen saprofit, ki ga najdemo predvsem na lesu listavcev, najpogosteje na bukovini (*Fagus sylvatica*), zelo redko pa tudi na iglavcih. Bukov ostrigar je razširjen v zmernem in subtropskem podnebnem pasu severne poloble. Optimalna temperatura rasti je okoli 27 °C ter vlažnost lesa med 60 in 80 %. V teh razmerah lahko gliva priraste tudi 7,5 mm dnevno (Humar, 2008). Bukov ostrigar je jedilna goba, ki se jo goji v prehrabene namene, zato njena kultivacija v svetu strmo narašča (Eaton in Hale, 1993).

Tako Pohleven (2008) kot Humar (2008) navajata, da se glivi *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* uporabljata tudi pri razstrupljanju zemlje okužene z odpadnimi olji, pesticidi ali biocidi, proces se imenuje mikoremediacija.

2.4.3 Lignin

Lignin je aromatski, hidrofoben polimer, netopen v vodi, sestavljen iz fenilpropanskih podenot, ki so povezane s kisikovimi mostički. S hemicelulozo je povezan s celulozo in predstavlja mehansko oporo rastlinski celici. Na celulozne molekule se veže z močnimi kovalentnimi vezmi, kar naredi sekundarno celično steno podobno železobetону. Je zelo odporen proti kemični in biološki razgradnji (Martínez in sod., 2005). Lignin v steni skrbi za strukturno podporo in odpornost proti mikrobnemu okužbi ter oksidativnemu stresu (Zabel in Morrell, 1992; Eaton in Hale, 1993; Rayner in Boddy, 1995; Tuor in sod., 1995; Hammel, 1997; Krajncič, 2001; Dermastia, 2007; Sánchez, 2009).

Razgradnja lignina z glivami bele trohnobe je aerobni proces, ki ga uravnavajo trije ekstracelularni encimi: lignin peroksidaza (Lip), mangan peroksidaza (MnP) in lakaza (Lac) (Zabel in Morrell, 1992; Eaton in Hale, 1993; Rayner in Boddy, 1995; Tuor in sod., 1995; Pérez in sod., 2002; Sánchez, 2009). Razgradnja je lahko tudi posledica sekundarnega metabolizma in pomanjkanja dušika (Rayner in Boddy, 1995). Ker je lignin velika razvejana molekula, morajo lignolitični mehanizmi potekati ekstracelularno (Kirk in Farrell, 1987; Hammel, 1997; Perez in sod., 2002). Različne vrste gliv bele trohnobe, uporabljajo različne kombinacije peroksidaz in oksidaz pri razgradnji lignina, pravzaprav nobeden od encimov (Lip, MnP, Lac) posamezno ni bistven za razkroj lignina (Tuor in sod., 1995). Lignoliza je popolnoma drugačna od hidrolitične razgradnje celuloze in hemiceluloze. Ključni del razgradnje lignina je oksidacija ogljikovih in eterskih vezi med določenimi fenilpropanskimi enotami s peroksidazam, za kar je potreben vir peroksida (Kirk in Farrell, 1987; Zabel in Morrell, 1992; Rayner in Boddy, 1995; Hammel, 1997; Martínez in sod., 2005). Pri lignolizi se ne sprosti zadostna količina energije, ki je potrebna za rast gliv bele trohnobe, zato so potrebni še drugi viri energije (Rayner in Boddy, 1995), kar potrjuje dejstvo, da glive bele trohnobe razkrajajo lignin, da bi prišle do celuloze in hemiceluloze (Zabel in Morrell, 1992; Sánchez, 2009).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Vrste gliv

Uporabili smo dve vrsti lesnih gliv, ki jih hranijo na Katedri za patologijo in zaščito lesa oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. V preglednici sta podani vrsti gliv, ki smo jih uporabili pri inokulaciji piščančjega gnoja in hitro rastočih rastlin (preglednica 2).

Preglednica 2: Vrste lesnih gliv.

Latinsko ime	Slovensko ime	Okrajšava*	Trohnoba
<i>Trametes versicolor</i>	pisana ploskocevka	Tv	bela
<i>Pleurotus ostreatus</i>	bukov ostrigar	Plo5	bela

* Oznaka Oddelka za lesarstvo, BF

3.1.2 Izvor piščančjega gnoja

Uporabili smo piščančji vzrejni gnoj z lesnimi oblanci, ki smo ga dobili v Perutnini Ptuj d.d

3.1.3 Hitro rastoče rastline

Uporabili smo različne vrste HRR (preglednica 3). Večino rastlin, sirek, koruza in miskant smo dobili iz raziskovalnega poskusa na Dravskem polju, japonski dresnik smo nabrali v Ljubljani ob Cesti IV. v Rožni dolini, pri Fakulteti za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire, konopljo pa smo dobili od Zavoda za informacijsko dejavnost in alternativno kulturo v Celju.

Preglednica 3: Vrste hitro rastočih rastlin.

Latinsko ime	Slovensko ime
<i>Cannabis sativa</i>	konoplja
<i>Fallopia japonica</i>	japonski dresnik
<i>Zea mays</i>	koruza
<i>Sorghum</i> sp.	sirek
<i>Miscanthus</i> sp.	trstikovec

3.2 METODE

3.2.1. Meritve rasti micelija

Za meritve rasti micelija lesnih gliv smo vzeli epruvete z odrezanim dnom. Epruvete smo polnili s substratom, ki smo ga predhodno navlažili. Napolnjene epruvete smo zaprli z dvema pokrovčkoma in jih sterilizirali v avtoklavu. Substrat smo inokulirali z lesnima glivama. Epruvete z nacepljenim substratom smo postavili v rastne komore in jih pustili toliko časa, da je micelij gliv začel preraščati substrat. Ko smo opazili prvi prirast micelija, smo ga označili. Rast smo označili vsak drugi oz. tretji dan. Poskus je bil končan, ko je prvi micelij prerasel celotno dolžino epruvete.

3.2.2 Priprava substrata

Za substrat smo uporabili različna masna razmerja PG in HRR (preglednica 4). Polnili smo 10 epruvet za vsako masno razmerje pri vsaki HRR (5 epruvet za inokulacijo s Plo5 in 5 epruvet za inokulacijo s Tv).

Preglednica 4: Različna masna razmerja piščančjega gnoja in hitro rastočih rastlin.

Oznaka	Substrat
Ko1T	100 % koruza, 0 % PG, inokulirano s Tv
Ko2T	80 % koruza, 20 % PG, inokulirano s Tv
KoT3	60 % koruza, 40 % PG, inokulirano s Tv
KoT4	40 % koruza, 60 % PG, inokulirano s Tv
KoT5	20 % koruza, 80 % PG, inokulirano s Tv
KoT6	0 % koruza, 100 % PG, inokulirano s Tv
Ko1P	100 % koruza, 0 % PG, inokulirano s Plo5
Ko2P	80 % koruza, 20 % PG, inokulirano s Plo5
Ko3P	60 % koruza, 40 % PG, inokulirano s Plo5
Ko4P	40 % koruza, 60 % PG, inokulirano s Plo5
Ko5P	20 % koruza, 80 % PG, inokulirano s Plo5
Ko6P	0 % koruza, 100 % PG, inokulirano s Plo5

Prav tako velja za ostale HRR, le da se pri oznakah spreminja prva črka, ki označuje vrsto HRR (preglednica 5).

Preglednica 5: Okrajšave imen hitro rastočih rastlin.

Hitro rastoča rastlina	Okrajšava
Koruza	Ko
Sirek	S
<i>Miscantus</i> sp.	M
Konoplja	K
Japonski dresnik	D

Svež PG smo razprostili, da se je posušil in pazili, da ni izgubil prvotne strukture. Nato smo ga presejali skozi sito velikosti 5×5 mm.

HRR smo zmleli na Katedri za lepljenje, lesne kompozite in obdelavo površin Oddelka za lesarstvo, Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, pri doc. dr. Sergej Medvedu. Iverjenje je bilo opravljeno na stroju za pomlevanje znamke Condux. Uporabljen je bil križni mlin s siti na obodu. Zmleto rastlinsko maso smo presejali skozi sito velikosti 5×5 mm.

3.2.3 Meritve vlažnosti

Vlažnost PG in HRR smo merili tako, da smo z vsakim substratom napolnili po štiri petrijevke, ki smo jih predhodno stehali. Nato smo stehali svežo maso substrata in postavili petrijevke v sušilnik za 24 ur na 103 °C. Po 24 urah smo stehali petrijevke s suho maso. Iz dobljenih rezultatov smo izračunali masne deleže vode po naslednjih formulah:

$$W_{(trdne\ snovi)} = m_{(suhe\ snovi)} / m_{(vlažne\ snovi)} \quad \dots (1)$$

$$W(H_2O) = 1 - W_{(trdne\ snovi)} \quad \dots (2)$$

Najmanj vlage vsebuje trstikovec, medtem ko sta sirek in piščančji gnoj 1 najbolj vlažna (preglednica 6).

Preglednica 6: Meritve vlažnosti.

Substrat	Piščančji gnoj 1	Japonski dresnik	Konoplja	Piščančji gnoj 2	Koruza	Sirek	Trstikovec
W(H ₂ O)%	17,8	13,0	7,0	14,6	11,1	17,0	4,5

3.2.4 Polnjenje epruvet

Pred polnjenjem epruvet smo ocenili povprečno maso substrata v epruveti. Naredili smo mešanico 40 % HRR in 60 % vode, da smo videli, kako se obnaša substrat pri 65 % vlage in koliko mešanice gre v epruveto, da je struktura substrata enakomerna in primerna za rast gliv. Določili smo, da naj bo v epruveti 30 g mešanice.

V program računalnika smo vnesli določene parametre, 65 % vlago, masni odstotek vode posamezne HRR in PG in količina substrata, ki jo želimo, 330 g (300 g za 10 epruvet in 30 g rezerve). Dobili smo količine PG, HRR in vode, ki jih moramo zmešati, da dobimo različna masna razmerja. V šestih različnih plastičnih posodah smo zmešali različna masna razmerja substrata in ga dobro premešali. Najtežje se je mešala konoplja, ker je z mletjem dobila zelo kosmičasto (predivno) strukturo, ki se je zelo težko enakomerno razporedila. Ko se je substrat enakomerno razporedil, smo napolnili 10 epruvet za vsako masno razmerje pri vsaki HRR (5 epruvet za inokulacijo s Plo5 in 5 epruvet za inokulacijo s Tv). Polnili smo epruvete z odrezanim dnom, odprtini smo zaprli s pokrovčkoma.

3.2.5 Avtoklaviranje

S substratom napolnjene epruvete smo zložili v vrečke za avtoklaviranje. Vsako vrečko smo označili, da smo kasneje vedeli, kateri substrati so v epruvetah. Vrečke smo dali v avtoklav in po 1 uri avtoklaviranja pri 121 °C smo avtoklav ugasnili in odvili ventil, da je para počasi izhajala. Z avtoklaviranjem smo dosegli sterilnost epruvet in substrata v njih. Vsebinsko smo pustili 24 ur, da so se epruvete v vrečkah ohladile.

3.2.6 Inokulacija

Vrečke z epruvetami smo vzeli iz avtoklava in jih postavili v brezprašno komoro pod ultravijolično luč, da so ostale sterilne. V brezprašni komori smo sterilno inokulirali epruvete z glivama pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*) in bukov ostrigar (*Pleurotes ostreatus*). Po cepljenju smo epruvete zaprli s pokrovčkoma. Vsaki epruveti smo s prozorno folijo ovili zgornji in spodnji pokrovček, da ni prihajalo do okužb. Inokulirane epruvete smo položili v plastične zaboje in jih odnesli v rastno komoro s temperaturo 25 °C in 75 % zračno vlago, kjer je kultura micelija preraščala substrat.

3.2.7 Meritve rasti micelija

Po določenem času je v epruvetah začel priraščati micelij, ki je bil različne gostote in barve, glede na masno razmerje in različne HRR. Prirast micelija smo ugotavljali z rednimi meritvami. Ko so bile prve epruvete preraščene, smo zaključili poskus. Pri substratu iz PG in konoplje ter japonskega dresnika smo opravili meritve 11., 13., 15., 18., 20., 22., 25., 27., 29., in 32. dan od inokulacije. Pri substratu iz PG in koruze, trstikovca ter sirka pa smo opravili meritve 11., 13., 15., 18., 20., 22., 25. dan po inokulaciji z glivama. Dobljene vrednosti smo odčitali in iz meritev izračunali povprečne priraste micelija v cm.

3.2.8 Meritve vlažnosti preraščenega in nepreraščenega substrata

Po končanem poskusu smo ponovno izmerili vlažnost preraščenemu in nepreraščenemu substratu. Iz epruvet smo za vsako masno razmerje in za vsako hitro rastočo rastlino odvzeli po dva vzorca preraščenega in nepreraščenega substrata in jih stehali. Dali smo jih v petrijevke in postavili v sušilnik za 24 ur na 103 °C. Po 24 urah smo jih vzeli iz sušilnika in jih ponovno stehali.

Iz rezultatov smo izračunali masne deleže vode in masne deleže trdne snovi, po naslednjih enačbah:

$$W_{(\text{trdne snovi})} = \frac{m_{(\text{suhe snovi})}}{m_{(\text{vlažne snovi})}} \quad \dots (3)$$

$$W(\text{H}_2\text{O}) = 1 - W_{(\text{trdne snovi})} \quad \dots (4)$$

3.2.9 Meritve C/N razmerja

PG in HRR smo pred in po poskusu zmleli v ročnem mlinčku v prah. Vzorce smo poslali na C/N analizo na Gozdarski inštitut Slovenije, Laboratorij za gozdno ekologijo.

4 REZULTATI

4.1 RAST MICELIJA

V prvem delu poskusa, kjer smo uporabili konopljo in japonski dresnik, smo nastavili vsa masna razmerja, od 0 % do 100 %. Micelij sploh ni prerasel epruvel, ki so vsebovale 100 % PG. Pravtako niso bile preraščene epruvel, ki so vsebovale 20 % HRR in 80 % PG in so bile inokulirane s Tv. Pri masnih razmerjih, ki so bili inokulirani Tv, je bil substrat slabo preraščen tudi še pri razmerju 40 % HRR in 60 % PG.

Ker so bila masna razmerja, kjer je bil velik delež PG, slabo preraščena že v prvem delu poskusa, smo se za drugi del poskusa, kjer smo uporabili koruzo, sirek in trstikovec odločili, da nastavimo samo masna razmerja, pri katerih je delež HRR večji od 40 %.

Prvi prirast micelija smo izmerili po 11. dneh od inokulacije, PG in HRR, s Tv in Plo5. Z meritvami smo nadaljevali, dokler niso bile prve epruvel preraščene do konca, kljub temu, da jih ostala večina še ni bila preraščena.

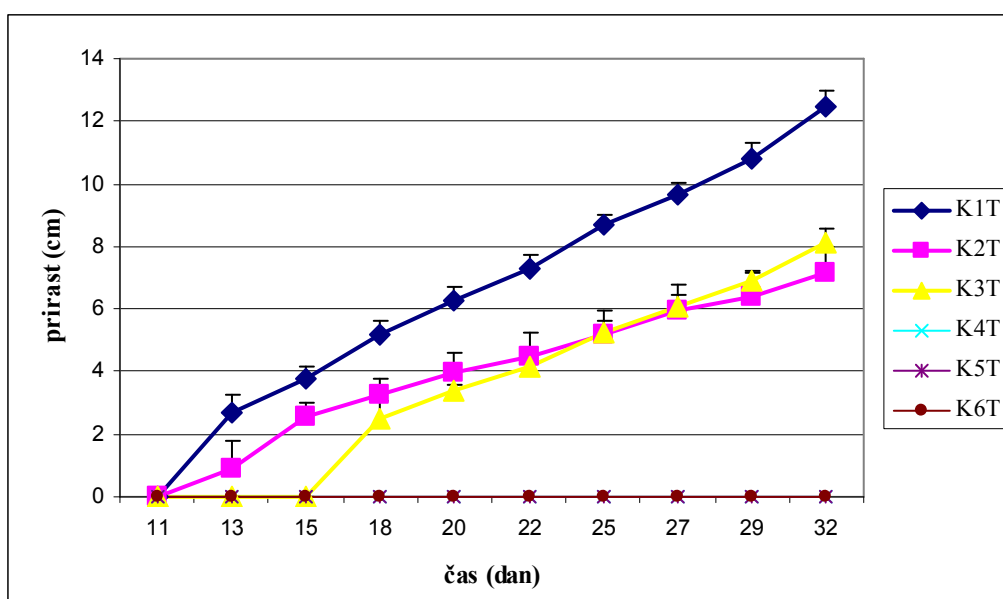
Rast micelija smo merili z rednimi meritvami. Micelij pri različnih HRR se je razlikoval po gostoti prepleta hif. Pri substratu iz konoplje in PG ter koruze in PG je bil micelij gost, močne bele barve, medtem ko je bil pri ostalih mešanicah HRR in PG prosojen, svetel in sivkasto-bele barve.

Pri dveh epruvelah je prišlo do okužbe, pri eni so se pojavili temno-sivi plesnivi krogi, pri drugi pa je micelij preraščal iz obeh strani epruvel. Najbrž je prišlo do okužbe substrata med inokulacijo.

4.2 TRAMETES VERSICOLOR

4.2.1 Konoplja

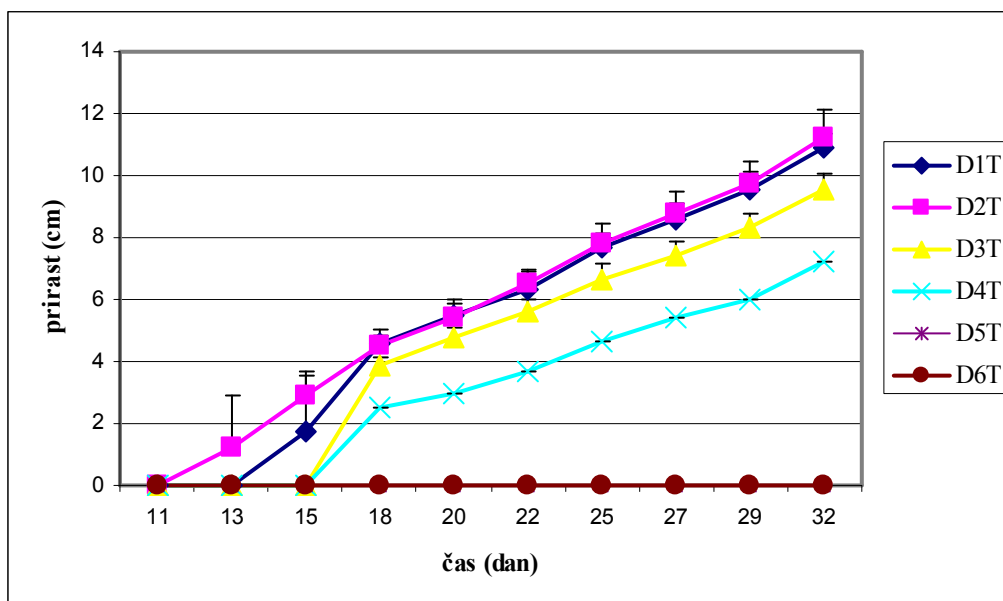
Na 11. dan po inokulaciji nismo izmerili prirasta micelija pri nobenem masnem razmerju konoplje (K) in PG. Na K1T in K2T smo opazili prirast 13. dan. Na K3T je micelij začel rasti 18. dan. Na K4T, K5T in K6T se v času poskusa micelij ni razvil. Najbolje je priraščal micelij na substratu iz čiste konoplje in je v času poskusa prirasel do 12,5 cm. Kljub temu, da je micelij na K3T začel slabše priraščati kot micelij na K2T, sta bili rasti na obeh masnih razmerjih 25. dan že izenačeni. V nadaljevanju je micelij na K3T prirasel do 8,2 cm, medtem ko je micelij na K2T prirasel do 7,2 cm (slika 1).



Slika 1: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih masnih razmerjih konoplje in piščančjega gnoja.

4.2.2 Japonski dresnik

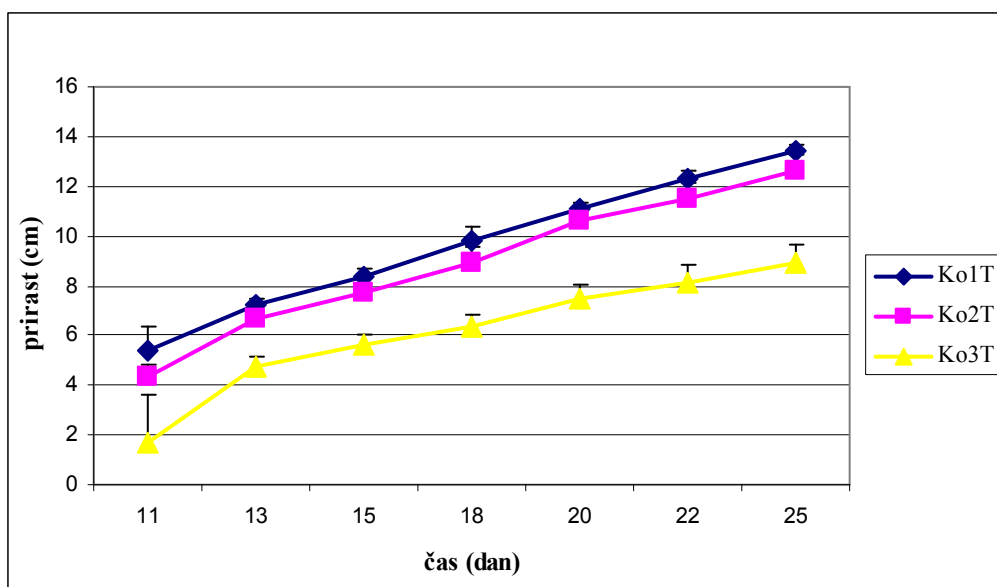
Pri mešanicah japonskega dresnika (D) in PG je bil na 11. dan po inokulaciji viden micelij le pri D2T. Na D1T je bil micelij viden 15. dan. Na D3T in D4T pa šele 18. dan. Na D5T in na D6T ni prišlo do rasti. 18. dan sta se prirasta micelija na D1T in D2T izenačila in sta bila do konca poskusa skoraj izenačena, vendar pa je micelij na D2T na koncu poskusa prirasel 11,2 cm, micelij na D1T pa 10,9 cm (slika 2).



Slika 2: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih masnih razmerjih japonskega dresnika in piščančjega gnoja.

4.2.3 Koruza

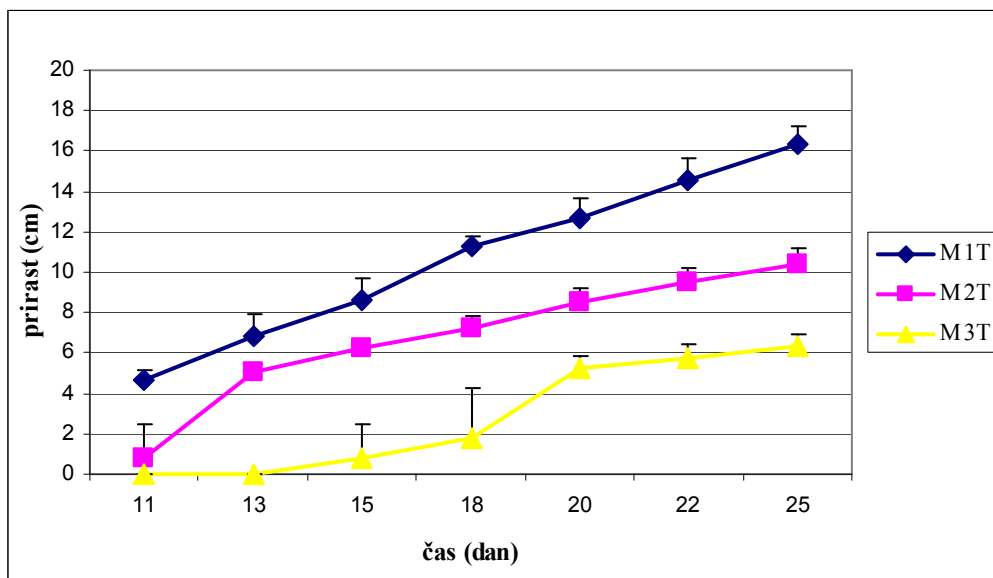
Pri mešanicah kornuže (Ko) in PG smo nastavili samo prva tri masna razmerja. V substratih je bilo 100, 80 in 60 % kornuže. Na vseh treh substratih je micelij na 11. dan po inokulaciji že priraščal. Micelij glive je najhitreje rasteł na Ko1T, nato na Ko2T in najslabše na Ko3T. Micelij na Ko1T je prirašel do 13,5 cm, na Ko2T 12,6 cm in na Ko3T 9,0 cm (slika 3).



Slika 3: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih masnih razmerjih kornuže in piščančjega gnoja.

4.2.4 Trstikovec

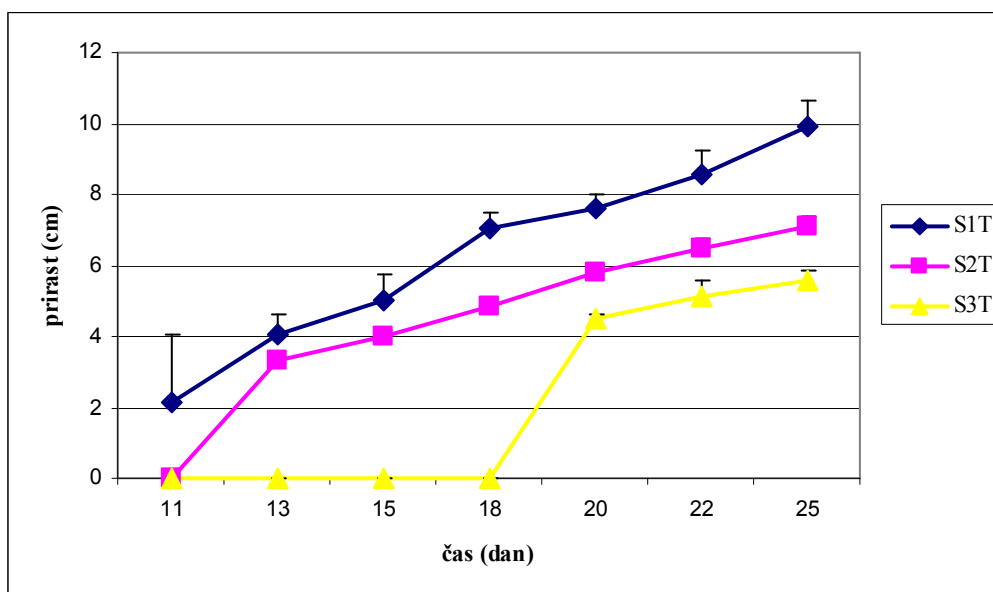
Na 11. dan merjenja po inokulaciji smo na substratu iz *Miscanthusa* sp. (M) in PG, izmerili rast micelija na M1T in na M2T. Na M3T je bil micelij viden 13. dan. Micelij na M1T je tudi ob koncu poskusa priraščal najbolj; izmerili smo 16,4 cm (slika 4).



Slika 4: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih masnih razmerjih trstikovca in piščančjega gnoja.

4.2.5 Sirek

Pri sirku (S) smo 11. dan po inokulaciji izmerili rast micelija le na substratu iz čistega sirka. Na S2T smo micelij izmerili 13. dan. Na S3T se je micelij pojavil šele 20. dan. Najbolje je priraščal micelij na sirkovem substratu brez PG in 25. dan rasti dosegel 9,9 cm (slika 5).

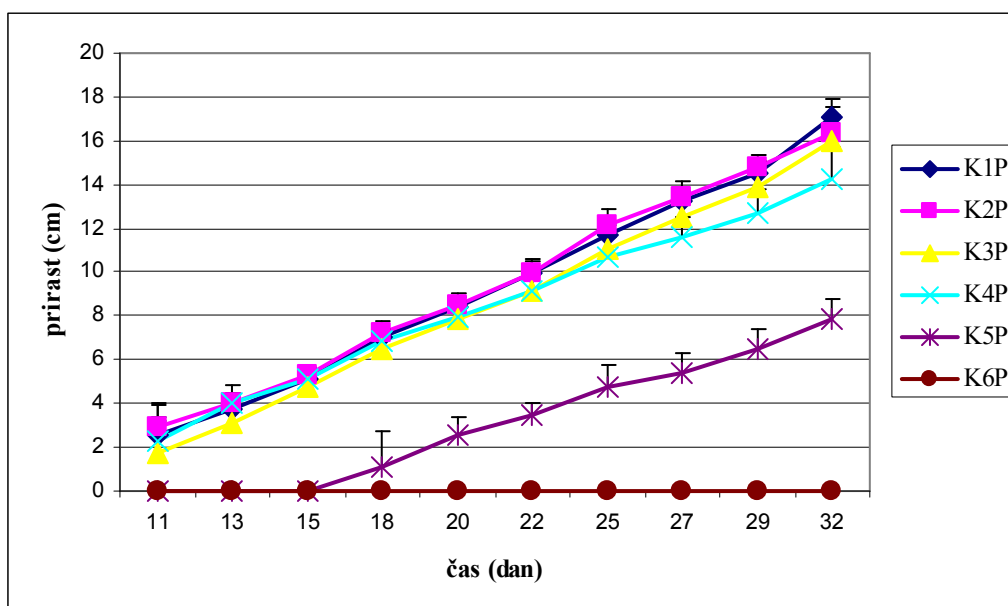


Slika 5: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih masnih razmerjih sirka in piščančjega gnoja.

4.3 PLEUROTUS OSTREATUS

4.3.1 Konoplja

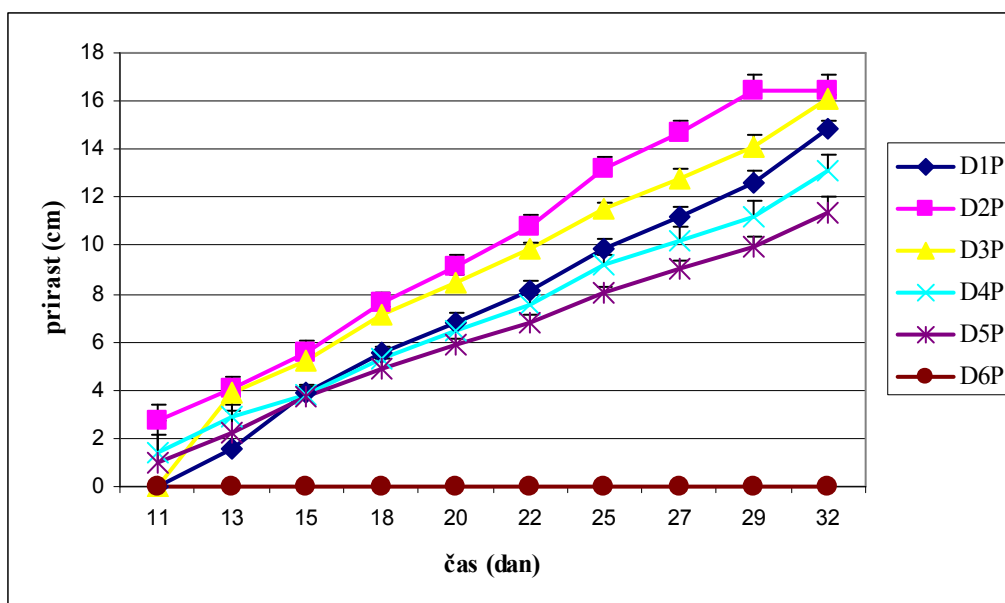
Na substratu iz konoplje (K) je bila 11. dan po inokulaciji vidna rast na K1P, K2P, K3P in na K4P. V času poskusa je micelij na teh substratih priraščal podobno hitro. Na koncu poskusa je najbolje priraščal micelij na K1P. Na K5P je micelij začel rasti šele 18. dan po inokulaciji in je na koncu poskusa dosegel slabih 8 cm. Micelij na substratu iz 100 % PG ni rasel (slika 6).



Slika 6: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus* na različnih masnih razmerjih konoplje in piščančjega gnoja.

4.3.2 Japonski dresnik

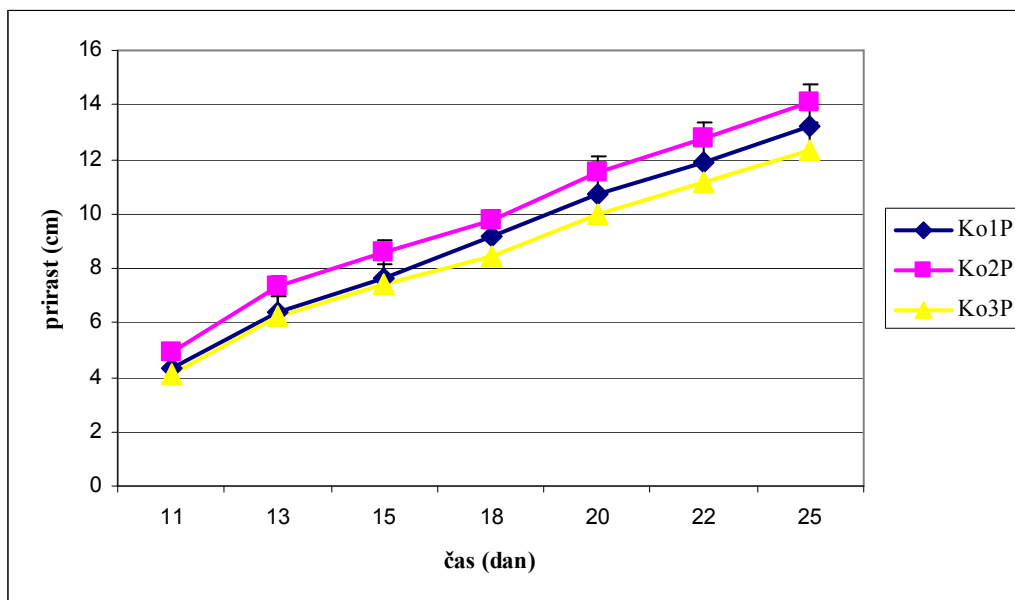
Micelij glive je dobro preraščal substrate D1P, D2P, D3P, D4P in D5P. Ob koncu poskusa je dosegel med 10 in 16,5 cm. Najbolje ste priraščala micelija na D2P in D3P, tudi na koncu poskusa na 32. dan. Najintenzivneje je rasel micelij na D2P. Na substratu iz 100 % PG micelij ni rasel (slika 7).



Slika 7: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus* na različnih masnih razmerjih japonskega dresnika in piščančjega gnoja.

4.3.3 Koruza

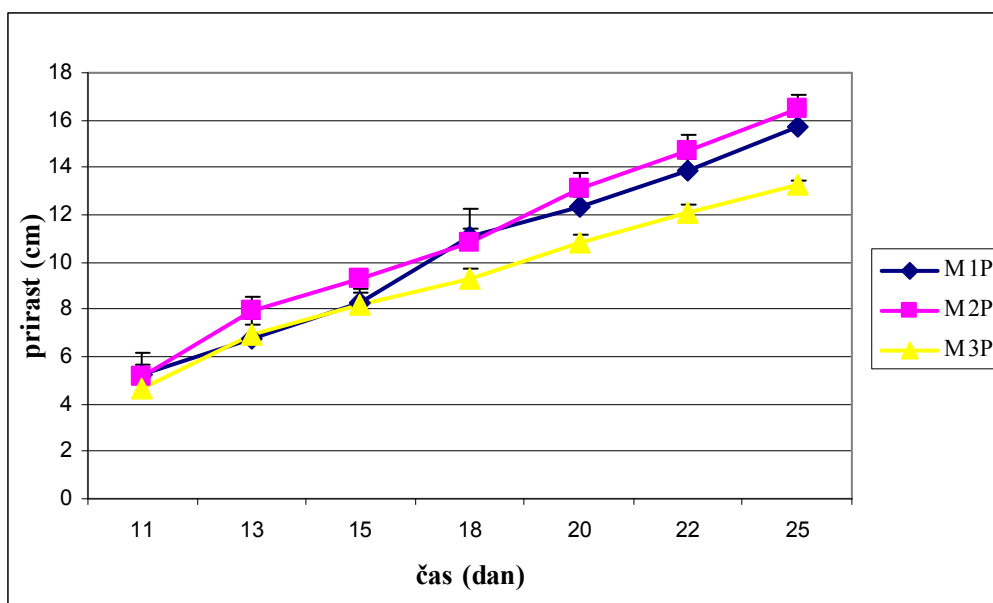
Na vseh substratih je micelij priraščal s podobno intenziteto. Najboljšo rast smo zabeležili na K2P, kjer je micelij 25. dan prirasel do 14,1 cm. Micelij na K1P je priraščal hitreje kot micelij na K3P (slika 8).



Slika 8: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus* na različnih masnih razmerjih koruze in piščančjega gnoja.

4.3.4 Trstikovec

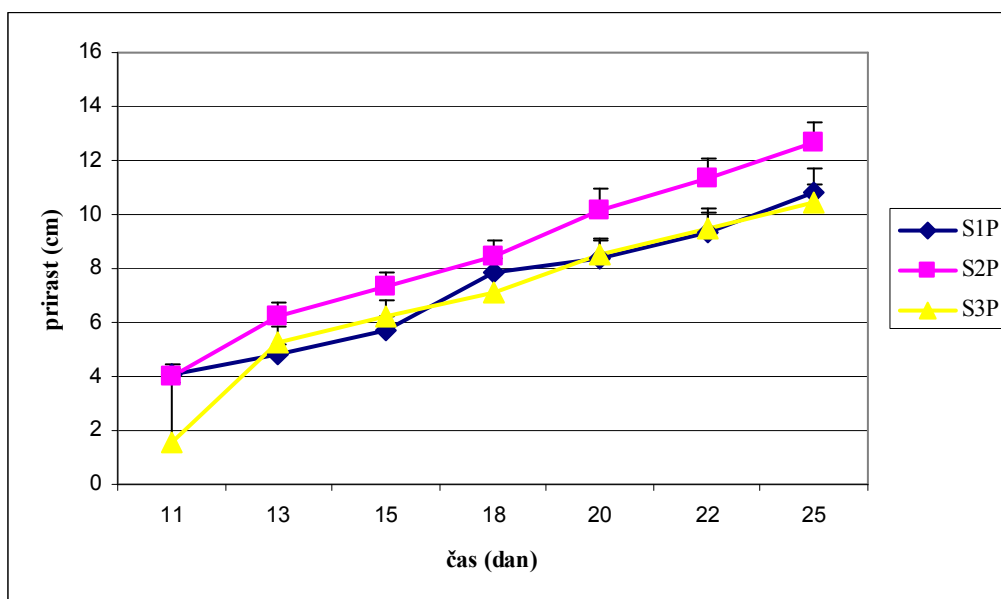
Micelij Plo5 je dobro preraščal vse tri substrate in to že 11. dan rasti. Na M1P in M2P je bila rast na začetku poskusa popolnoma izenačena, vendar je na koncu poskusa micelij na M2P rasel intenzivneje in dosegel 16,5 cm. Micelij na M3P je priraščal najpočasneje (slika 9).



Slika 9: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus*, na različnih masnih razmerjih trstikovca in piščančjega gnoja.

4.3.5 Sirek

Micelij ostrigarja je sorazmerno hitro začel preraščati substrate sirka, saj smo na 11. dan po inokulaciji že zabeležili 4,0 cm prirasta na S1P in na S2P. V nadaljevanju poskusa je micelij na S1P in na S3P priraščal podobno hitro, medtem ko je na S2P rasel najhitreje in ob koncu poskusa dosegel 12,7 cm (slika 10).

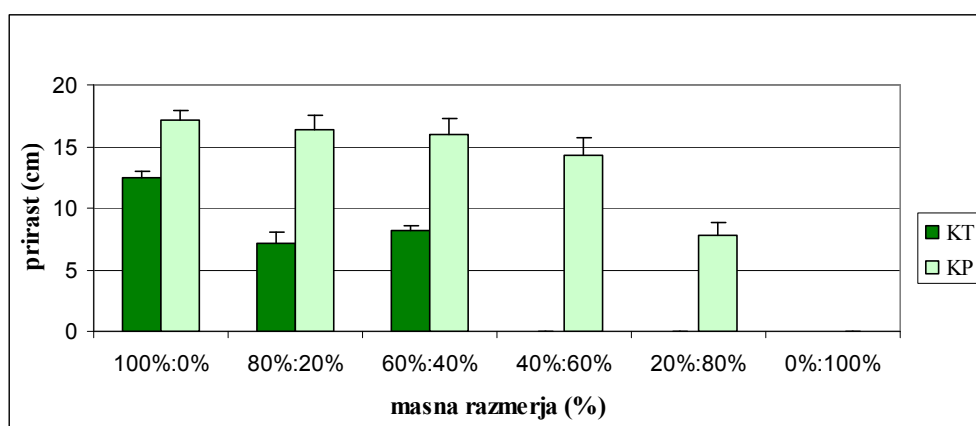


Slika 10: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus* na različnih masnih razmerjih sirka in piščančjega gnoja.

4.4 PRIMERJAVA RASTI *TRAMETES VERSICOLOR* IN *PLEUROTUS OSTREATUS*

4.4.1 Konoplja

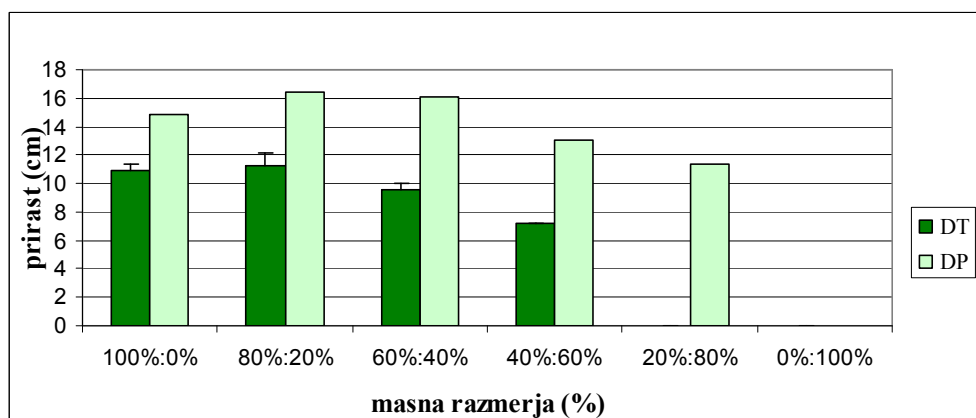
32. dan smo primerjali prirast obeh gliv, Tv in Plo5, na različnih substratih konoplje in PG. Micelij na substratih, inokuliranih s Tv, je priraščal le na K1T, K2T in na K3T, medtem ko je micelij Plo5 poleg K1P, K2P in K3P priraščal tudi na K4P in K5P. Iz slike 11 je razvidno, da je micelij glive Tv priraščal počasneje in slabše kot micelij glive Plo5. Na K6T in na K6P ni bilo rasti micelija (slika 11).



Slika 11: Prirast micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus*, pri različnih mešanicah konoplje in piščančjega gnoja.

4.4.2 Japonski dresnik

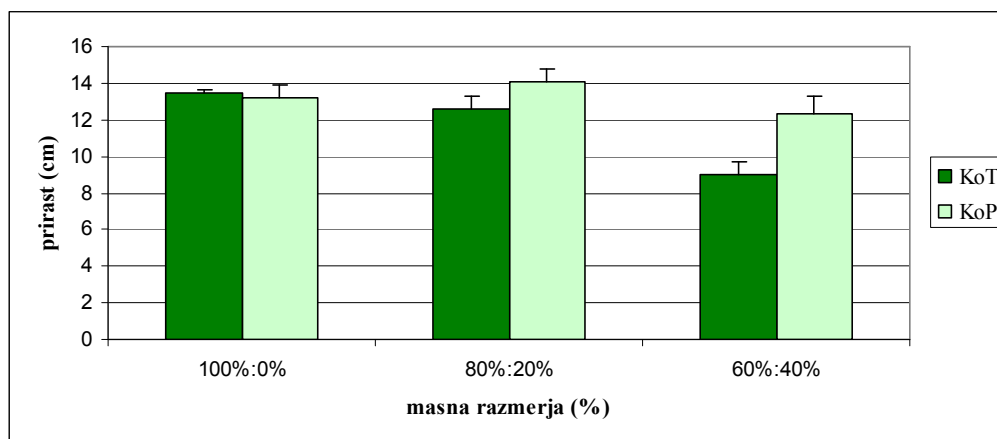
Micelij Tv je priraščal le na D1T, D2T, D3T in na D4T, medtem ko je micelij Plo5 priraščal tudi na D5P. Micelij glive Tv je priraščal počasneje in slabše, kot micelij glive Plo5. Na D6T in na D6P ni bilo prirasta micelija (slika 12).



Slika 12: Prirast micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* pri različnih mešanicah japonskega dresnika in piščančjega gnoja.

4.4.3 Koruza

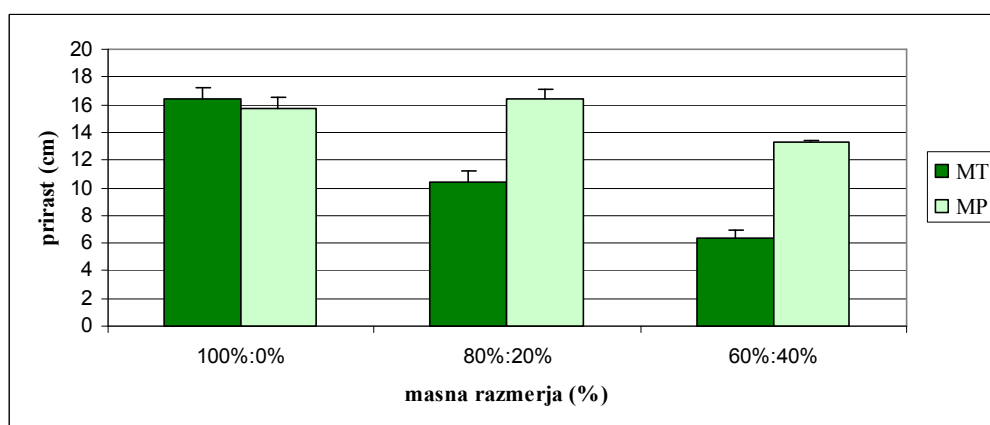
Na substratih iz čiste korusa sta kulturi micelija Tv in Plo5 priraščali podobno. Na substratih z masnim razmerjem 80 % Ko in 20 % PG ter na 60 % Ko in 40 % PG je micelij Plo5 priraščal hitreje kot micelij Tv (slika 13).



Slika 13: Prirast micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* pri različnih mešanicah korusa in piščančjega gnoja.

4.4.4 Trstikovec

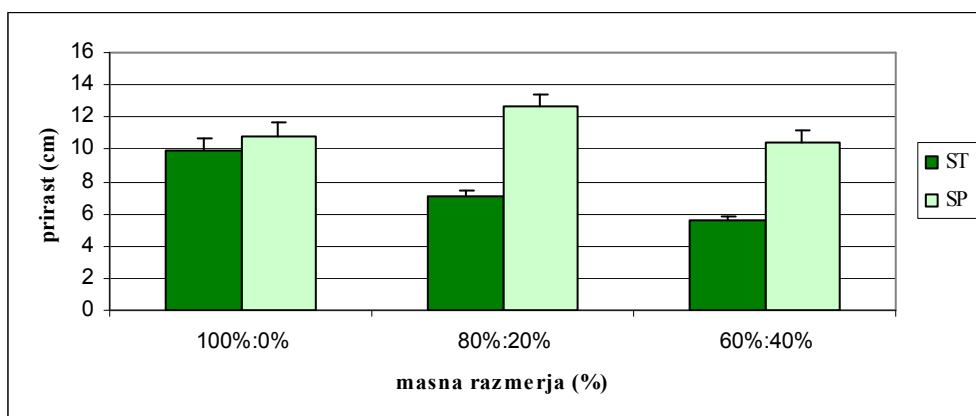
Obe glivi sta podobno preraščali substrat iz čistega trstikovca. Na substratih z masnim razmerjem 80 % M in 20 % PG ter na 60 % M in 40 % PG je micelij Plo5 priraščal intenzivneje kot micelij Tv (slika 14).



Slika 14: Prirast micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* pri različnih mešanicah trstikovca in piščančjega gnoja.

4.4.5 Sirek

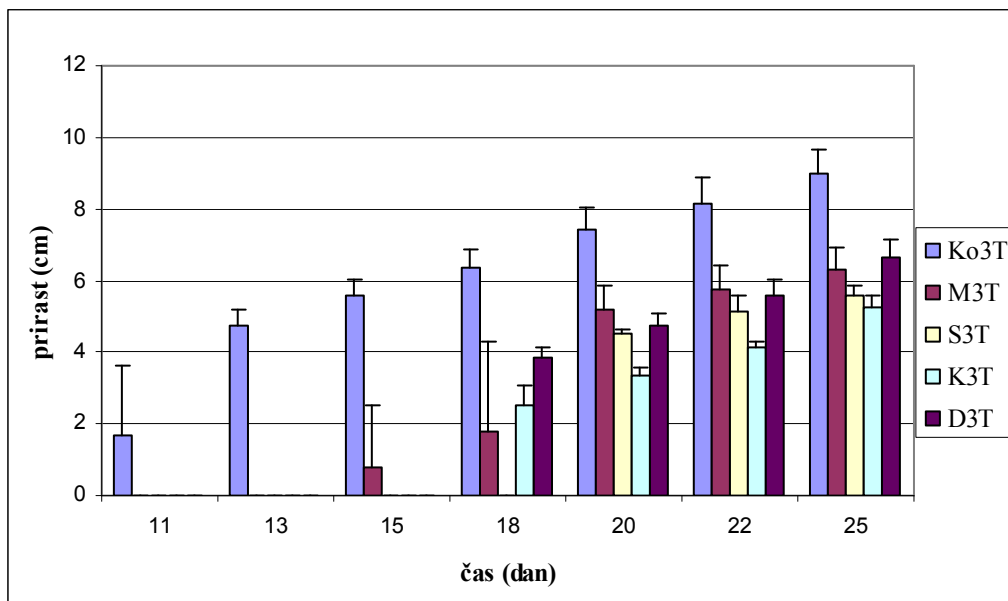
Micelij na substratih inokuliranih s Plo5 prirašča hitreje kot micelij na substratih inokuliranih s Tv. Po intenzivnosti rasti izstopa kultura micelija ostrigarja, ki je na substratu z masnim razmerjem 80 % S in 20 % PG dosegel največjo rast. Na splošno pa več kot je v substratu PG, počasnejša je rast glive Tv (slika 15).



Slika 15: Prirast micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* pri različnih mešanicah sirka in piščančjega gnoja.

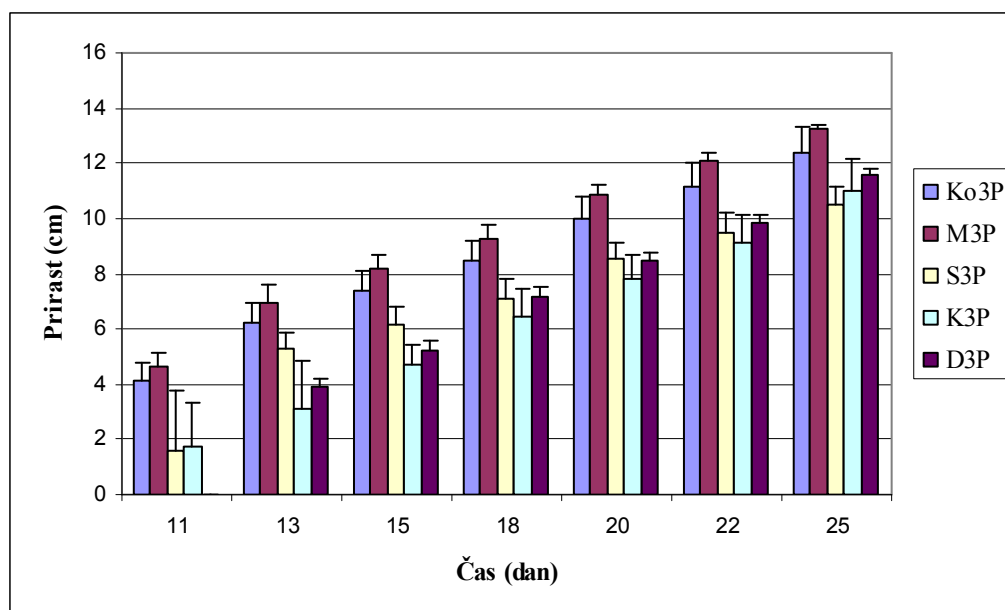
Glede na rezultate smo kot optimalno razmerje izbrali 60 % HRR in 40 % PG. Želimo, da bi pri proizvodnji bioplina uporabljali substrat, pri katerem bi porabili čimveč PG in na katerem bi micelij gliv še vedno zadovoljivo priraščal.

Pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG je micelij Tv najhitreje preraščal substrat mešanice koruze in PG. Koruzi sledita trstikovec in japonski dresnik. Najpočasneje pa je micelij priraščal na substratih iz sirka in konoplje (slika 16).



Slika 16: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* na različnih HRR pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG.

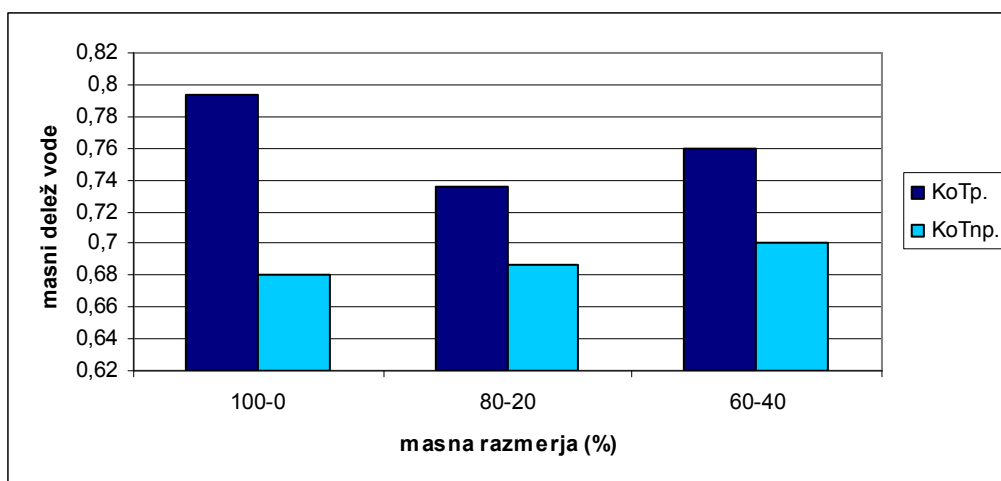
Pri inokulaciji s Plo5 je micelij preraščal hitreje vse substrate HRR kot micelij Tv. Ostrigar je najhitreje preraščal substratne mešanice trstikovca in PG ter koruze in PG. Koruzi sledijo japonski dresnik, konoplja in sirek. Kljub temu, da je micelij na substratu iz japonskega dresnika in PG začel priraščati kasneje kot micelij na substratih iz sirka in PG ter konoplje in PG, je na koncu poskusa dosegel boljše rezultate (slika 17).



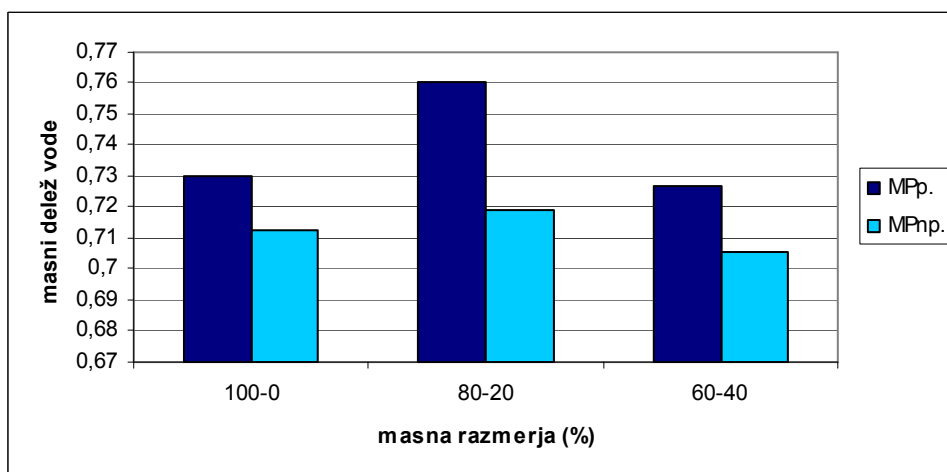
Slika 17: Hitrost priraščanja micelija *Pleurotus ostreatus* na različnih HRR pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG.

4.5 MERITVE VLAŽNOSTI

Vlažnost preraščenega in nepreraščenega substrata pri različnih masnih razmerjih je bila pri vseh HRR zelo podobna, ne glede na vrsto glive, s katero je bil inokuliran substrat. Masni delež vode v preraščenem substratu je bil med 0,70 in 0,80, v nepreraščenem substratu pa med 0,65 in 0,72 (sliki 18 in 19).



Slika 18: Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu, pri različnih masnih razmerjih koruze in PG inokuliranih s Tv.



Slika 19: Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu, pri različnih masnih razmerjih trstikovca in PG inokuliranih s Plo5.

4.6 MERITVE C/N RAZMERJA

Z mineralizacijo ogljika glive dobijo potrebno energijo za rast in razvoj, dušik pa vgradijo v organska tkiva (Jenkins, 2005). Pri merjenju C/N razmerja substrata pred in po preraščanju smo ugotovili, da se je delež ogljika zmanjšal, delež dušika pa povečal, ne glede na to, s katero vrsto glive je bil inokuliran substrat (preglednica 7).

Preglednica 7: Meritve C/N razmerja.

Zap. št.	Substrat	Začetno razmerje		Substrat preraščen s <i>Trametes versicolor</i>		Substrat preraščen s <i>Pleurotus ostreatus</i>	
		C	N	C	N	C	N
1	japonski dresnik	46,30	0,19	41,30	0,70	42,50	0,33
2	sirek	46,00	0,10	41,00	0,89	41,70	0,89
3	konoplja	44,90	0,39	40,90	1,26	40,10	0,35
4	<i>Miscanthus sp.</i>	45,90	0,17	44,90	0,35	44,40	0,22
5	koruza	42,90	0,54	41,7	0,69	41,60	0,74
6	piščančji gnoj	41,00	1,46	/	/	/	/

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Rast micelija

Rast micelija smo merili z merilom. Ker je micelij v epruveti priraščal neenakomerno, smo pri vsaki meritvi označili minimum in maksimum priraščenega micelija. Micelij pri različnih HRR je bil različnega videza. Pri konoplji in koruzi je bil micelij gost, kompakten ter bel preplet hif. Kultura micelija pri drugih HRR je bila prosojna, svetlo siva in včasih komaj zaznavna.

Pri meritvah rasti micelija nismo imeli večjih težav. Pazljivi smo morali biti le na to, da nismo odvijali ali kako drugače poškodovali folije, ki je utrdila pokrovčke na koncih epruvet, saj bi sicer prišlo do okužbe. Na substratu iz 100 % PG nismo opazili rasti micelija. Mešanice HRR in PG je Plo5 preraščal hitreje kot Tv. Sicer pa je Tv najhitreje preraščal substrate koruze in PG, Plo5 pa substrate trstikovca in PG.

Za nadaljne raziskave pridelave bioplina iz PG smo se odločili, da uporabimo optimalno masno razmerje HRR in PG. Pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG se uporabi zadostna količina PG in te substrate glivi še zadovoljivo preraščata. V interesu raziskave je, da uporabimo masno razmerje s čim večjim deležem PG. Za substrat naj bi se poleg PG uporabljala tista HRR, ki ima optimalne razmere za rast, ne potrebuje veliko gnojenja, namakanja, varstva pred boleznimi in škodljivci ter se ne uporablja v prehrani ljudi in živali. Zato kljub temu, da je Tv najhitreje preraščal na mešanici koruze in PG, za nadaljne raziskave produkcije bioplina ne bi uporabili koruze. Koruza potrebuje za dobro in hitro rast velik vložek energije in zato ne pride v poštev za optimalno pridelavo bioplina. Poleg tega je koruza pomembna kulturna rastlina, ki je v samem vrhu proizvodnje hrane. Uporaba kulturnih rastlin za pridelavo energetskih virov lahko privede do dviga cen hrane. V mešanicah substratov sta se najboljše odrezala trstikovec in japonski dresnik. Preraščena sta bila hitreje od ostalih HRR in pridelujemo ju lahko brez visokih stroškov. Prav tako nista prisotna v prehrani ljudi, trstikovec je trajnica, japonski dresnik pa kot trajnico uvrščamo med plevele.

5.1.2. Primerjava gliv *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus*

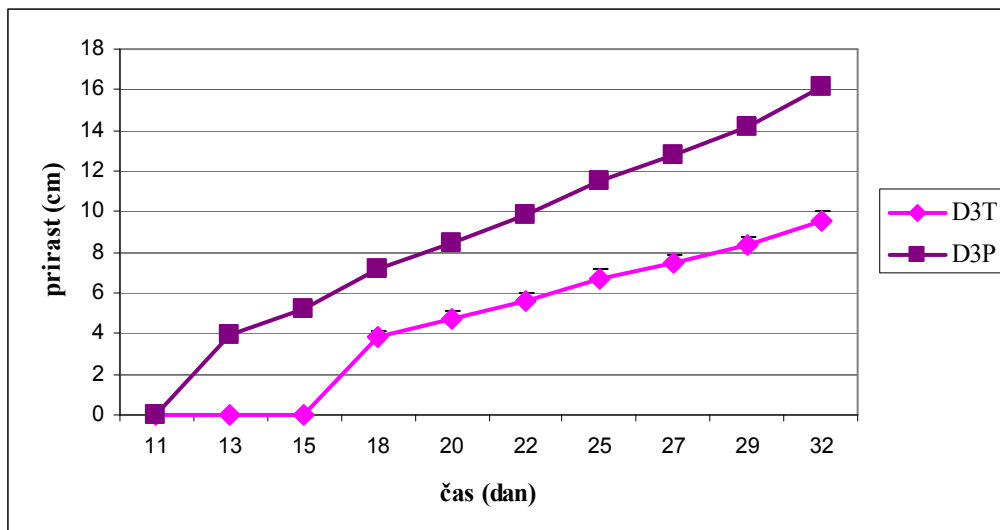
5.1.2.1. *Trametes versicolor*

Primerjava pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG kaže, da je najhitreje priraščal micelij na substratu iz koruze in PG. Vendar pa koruza ni primerna za proizvodnjo energije, ker je prisotna v prehrani ljudi, poleg tega je rastlina energetsko zahtevna za pridelavo. Takoj za koruzo je gliva najhitreje preraščala japonski dresnik. Japonski dresnik je primerna HRR, saj se ne uporablja v prehrani ljudi in ni zahtevna za pridelavo. Za nadaljne raziskave z glivo Tv bi uporabili substrat iz 60 % japonskega dresnika in 40 % PG. Sicer je micelij Tv priraščal počasneje kot micelij na substratih, inokuliranih s Plo5.

5.1.2.2 *Pleurotus ostreatus*

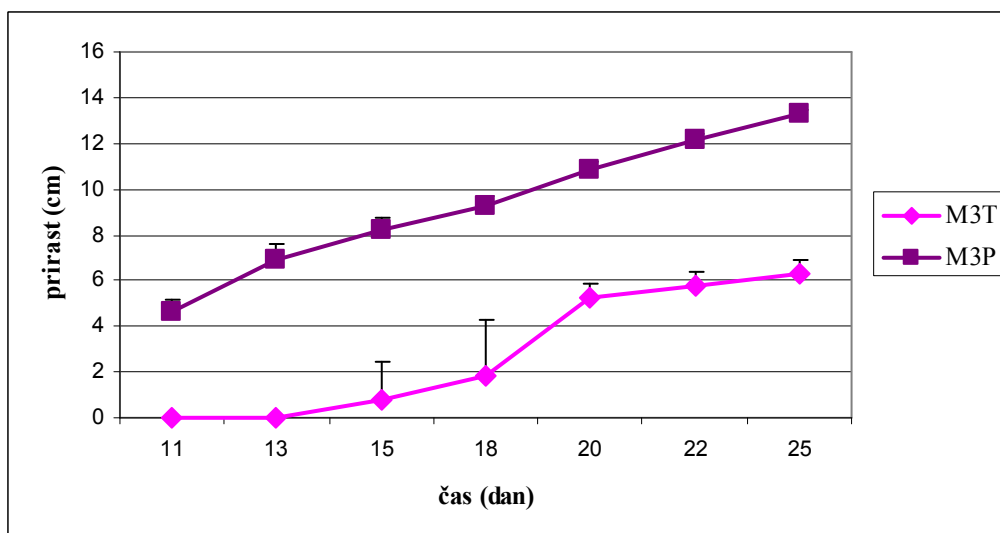
Primerjava pri masnem razmerju 60 % HRR in 40 % PG kaže, da je Plo5 najhitreje priraščal na substratu iz trstikovca in PG. Trstikovec je C4 rastlina, trajnica in se ne uporablja v prehrani ljudi ter je nezahtevna za pridelavo. Zato je primerna za uporabo v energetske namene. Micelij Plo5 je dobro priraščal tudi na substratu iz koruze in PG ter na

substratu iz japonskega dresnika in PG, vendar koruza ni primerna za pridelavo energije. Plo5 je substrate preraščal hitreje kot Tv. Takoj za koruzo je micelij Tv najintenzivneje priraščal na mešanici z japonskim dresnikom, a v primerjavi s Plo5 je micelij Tv japonski dresnik preraščal slabše (slika 20).



Slika 20: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* na substratu iz 60 % japonskega dresnika in 40 % piščančjega gnoja.

Glivi sta dobro preraščali tudi substrat iz trstikovca in PG. V primerjavi s Tv je micelij Plo5 preraščal trstikovce občutno hitreje (slika 21).



Slika 21: Hitrost priraščanja micelija *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* na substratu iz 60 % trstikovca in 40 % piščančjega gnoja.

5.1.3 Masni delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu

Z meritvami masnega delež vode v preraščenem in nepreraščenem substratu smo ugotovili, da je masni delež vode večji v preraščenem substratu zaradi osmotskega delovanja. V nepreraščenem delu substrata so večji delci snovi, po inokulaciji pa glive razgradijo makromolekule v manjše, njihovo število se poveča in zaradi povečane osmotske aktivnosti vlaga prehaja v preraščeni del substrata, na kar kaže večja vsebnost vode v preraščenem substratu. Tudi poroznost substrata po preraščanju je večja, kar pripomore k hitrejši in bolj učinkoviti hidrolizi (Sun in Cheng, 2002).

5.1.4 Meritve C/N razmerja

Z mineralizacijo ogljika glive dobijo potrebno energijo za rast in razvoj, dušik pa vgradijo v organska tkiva (Jenkins, 2005). Pri merjenju C/N razmerja substrata pred in po preraščanju smo ugotovili, da se je delež ogljika zmanjšal, delež dušika pa povečal ne glede na vrsto glive (preglednica 7). C/N razmerje se je zmanjšalo, ker pri mineralizaciji ogljika nastaja CO₂, ki zapušča sistem, dušik pa se z asimilacijo vgradi v organsko osnov (Osnovni ..., 2009). Spremenjeno C/N razmerje bo ugodno vplivalo na bakterije, ki sodelujejo pri proizvodnji bioplina.

Glede na kriterije pridelave hrane in glede na hitrost priraščanja micelija lesnih gliv, smo izmed HRR izbrali trstikovec kot najprimernejšo rastlino za pridelovanje energije ter substrat iz 60 % trstikovca in 40 % PG. Med testiranima glivama je bil najprimernejši ostrigar. Biološka obdelava organskih odpadkov z glivami bele trohnobe je za potrebe pridelave bioplina cenovno najugodnejša, saj ni zahtevna glede gojenja (Sun in Cheng, 2002; Taherzadeh in Karimi, 2008). 60 % HRR in 40 % PG je zelo optimalno razmerje, pri katerem se porabi zadostna količina PG in micelij lesne glive še zadovoljivo prerašča substrat, kar je bil namen ugotoviti v naši raziskavi.

5.2 SKLEPI

Glivi bele trohnobe *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus* sta preraščali na vseh uporabljenih HRR. Najintenzivnejšo rast smo ugotovili na trstikovcu, koruzi in japonskem dresniku, najpočasnejšo pa na konoplji in sirku.

Micelij je najhitreje priraščal pri masnem razmerju 100 % HRR in 0 % PG ter pri 80 % HRR in 20 % PG. Hitrost priraščanja je padala z večanjem deleža PG v substratu. Na substratu iz čistega PG glivi nista rastli.

Micelij glive *Pleurotus ostreatus* je, ne glede na vrsto hitro rastoče rastline v substratu in ne glede na masno razmerje v substratu, priraščal hitreje kot micelij glive *Trametes versicolor*.

Pri hitrosti priraščanja je najbolj učinkovita mešanica substrata iz trstikovca in piščančjega gnoja, inokuliranega s *Pleurotus ostreatus*.

Optimalno masno razmerje hitro rastoče rastline in piščančjega gnoja je 60 % HRR in 40 % PG. Pri tem masnem razmerju micelij glive še dovolj hitro prirašča, pri pripravi substrata pa se porabi zadostna količina PG.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, katera HRR je najprimernejša za mešanje s PG in pri katerem masnem razmerju hitro rastoče rastline in piščančjega gnoja, micelij gliv bele trohnobe najhitreje prirašča. Prav tako smo ugotavljali, katera gliva bele trohnobe je za priraščanje primernejša.

Pri vzreji piščancev v Perutnini Ptuj d.d. uporabljajo za nastiljanje lesne oblance in žagovino. Glive bele trohnobe so edini organizmi, ki so sposobni razgraditi lignin v oleseneli celični steni. S predhodno obdelavo PG z glivami bele trohnobe bi povzročili delignifikacijo, večjo poroznost materiala in delno razgradnjo kristalinične celuloze, kar bi pospešilo in povečalo produkcijo bioplina.

Pripravili smo različna masna razmerja mešanic HRR in PG. Za HRR smo uporabili konopljo, japonski dresnik, koruzo, sirek in trstikovec. Pripravljene mešanice substratov smo inokulirali z glivama *Trametes versicolor* in *Pleurotus ostreatus*.

Micelij je najhitreje preraščal substrat, mešan s trstikovcem, koruzo in japonskim dresnikom, najpočasneje pa substrat, mešan s konopljo in sirkom. Najhitreje je priraščal pri masnem razmerju 100 % HRR in 0 % PG ter pri 80 % HRR in 20 % PG. Hitrost priraščanja se je upočasnila z večanjem deleža PG v substratu. Micelij glive Plo5 je priraščal intenzivneje kot micelij glive Tv. Pri masnem razmerju 0 % HRR in 100 % PG micelij Tv in Plo5 ni rasel.

Dokazali smo, da je za rast micelija lesnih gliv najbolj učinkovita mešanica substrata trstikovca in PG, inokuliranega s Plo5. Optimalno masno razmerje substrata je 60 % HRR in 40 % PG. Pri tem masnem razmerju micelij glive še dovolj hitro prirašča, pri pripravi substrata pa se porabi zadostna količina PG.

7 VIRI

- Atuanya E.I., Aigbirior M. 2002. Mesophilic biomethanation and treatment of poultry waste-water using pilot scale UASB reactor. *Environmental Monitoring and Assessment*, 77: 139-147
- Aust S.D. 1995. Mechanisms of degradation by white rot fungi. *Environmental Health Perspectives*, 103: 59-61
- Bernik R., Zver A. 2006. Rastlina kot obnovljiv vir energije (OVE). *Acta agriculturae Slovenica*, 87, 2: 355-364
- Blanchette R.A. 1984. Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 48, 3: 647-653
- Council Directive 2007/43/EC of 28 June 2007 laying down minimum rules for the protection of chickens kept for meat production.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:182:0019:0028:EN:PDF>
(13. dec. 2008)
- Čergan Z., Jejčič V., Knapič M., Modic Š., Moljk B., Poje T., Simončič A., Sušin J., Urek G., Verbič J., Vrščaj B., Žerjav M. 2008. Koruza. Ljubljana, Kmečki glas: 314 str.
- Dermastia M. 2007. Celica. V: Pogled v rastline. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo: 1-63
- Eaton R.A., Hale M.D.C. 1993. Microbial decay of wood. V: Wood: decay, pests and protection. 1. izdaja. London, Chapman in Hall: 41-205
- Frajman B. 2008 Japonski dresnik *Fallopia japonica*. Informativni list 1, projekt Thuja
<http://www.tujerodne-vrste.info/informativni-listi/INF1-japonski-dresnik.pdf>
(20. nov. 2009)
- Ghosh A., Bhattacharyya B.C. 1999. Biomethanation of white rotted and brown rotted rice straw. *Bioprocess Engineering*, 20: 297-302
- Gogala N. 1995. Fiziologija presnove. V: Iz življenja rastlin. 1. izdaja. Ljubljana, DZS: 15-41
- Hammel K.E. 1997. Fungal degradation of lignin. V: Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition. Cadisch G., Giller K.E. (eds.). London, Cab International: 33-47
<http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1997/hamme97a.pdf> (12. Feb. 2010)
- Heaton E.A., Clifton-Brown J., Voigt T.B., Jones M.B., Long S.P. 2004. *Miscanthus* for renewable energy generation: European union experience and projections for Illinois. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 9: 433-451
- Holcman T. 1988. Prireja. V: Perutninarstvo. 1. izdaja. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 65-72
- Humar M. 2008 Bukov ostrigar. *Les*, 60, 9: 353
- Invading Weed Alert! The Weber river. Cooperative weed management area.
<http://www.weberrivercwma.org/invading.html> (20. sep. 2009)
- Jenkins J. 2005. Microhusbandry V: The humanure handbook: a guide to composting human manure. 3. Edition. Grove City, Joseph Jenkins Inc.: 25-69
http://weblife.org/humanure/pdf/humanure_handbook_third_edition.pdf (22. Dec. 2009)
- Kelleher B.P., Leahy J.J., Henihan A.M., O'Dwyer T.F., Sutton D., Leahy M.J. 2002. Advances in poultry litter disposal technology: a review. *Bioresource Technology*, 83: 27-36
- Kirk T.K., Farrell R.L. 1987. Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*, 41: 465-505

- Klasson K.T., Lima I.M., Boihem Jr. L.L. 2009. Poultry manure as raw material for mercury adsorbents in gass applications. *Journal of Applied Poultry Research*, 18:562-569
- Kocjan Ačko D. 1999a. Poljščine: konoplja. *Naša žena*, 99, 4: 99-100
- Kocjan Ačko D. 1999b. Konoplja. V: *Pozabljene poljščine*. Ljubljana, Kmečki glas: 101-118
- Kocjan Ačko D. 1999c. Poljščine: sirek. *Naša žena*, 99, 7: 91-92
- Krajncič B. 2001. Sestavni deli celic. V: *Botanika: Razvojna in funkcionalna morfologija z anatomijo*. 3. izpopolnjena izdaja. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo: 4-142
- Kumar P., Barrett D.M., Delwiche M.J., Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. 2009. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, (26. Mar. 2009)
<http://postharvest.ucdavis.edu/datastorefiles/234-1388.pdf> (12. Feb. 2010)
- Leskošek M. 1988. Organska gnojila. V: *Gnojila in gnojenje*. Ljubljana, Kmečki glas: 34-51
- Leskošek M. 1993. Kurji gnoj za travnike: vi sprašujete- mi odgovarjamo. *Kmečki glas*, 50, 28: 11
- Lewandowski I., Clifton-Brown J.C., Scurlock J.M.O., Huisman H. 2000. Miscanthus: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, 19: 209-227
- Ločniškar F. 1983. Kokošji gnoj. V: *Reja perutnine*. Ljubljana, Kmečki glas: 107-110
- Martínez A.T., Speranza M., Ruiz-Dueñas F.J., Ferreira P., Camarero S., Guillén F., Martínez M.J., Gutiérrez A., del Río J.C. 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Research review. International Microbiology*, 8, 3: 195-204
- Miyamoto K. 1997. Renewable biological systems for alternative sustainable energy production (FAO- agricultural services bulletin). vol. 128
http://www.fao.org/ag/portal/index_en.html (12. jan. 2010)
- Moore Jr.P.A., Daniel T.C., Sharpley A.N., Wood C.V. 1995. Poultry manure and management: Environmentally sound options. *Journal of Soil and Water Conservation*, 50, 3: 321-327
- Nelson C., Lamb J. 2002. Final report: Haubenschild farms anaerobic digester updated! The Minnesota project.
<http://www.mnproject.org/pdf/Haubyrptupdated.pdf> (19. Nov. 2010)
- Non-native Invasive Freshwater Plants. Department of ecology. State of Washington.
<http://www.ecy.wa.gov/Programs/wq/plants/weeds/aqua015.html> (20. sep. 2009)
- Osnovni ekološki principi.
<http://web.bf.uni-lj.si/zt/mikro//homepage/biorazgradnja.pdf> (22. Dec. 2009)
- Osvald J. 1988. Primerjava krmnih vrednosti nekaterih kultivarjev koruze (*Zea mays* L.) in sirka (*Sorghum* spp.) v Vipavski dolini- Doktorska disertacija. Ljubljana BF: 92 str.
- Pérez J., Muñoz-Dorado J., de la Rubia T., Martínez J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology*, 5: 53-63
- Pohleven F. 2008. Pisana ploskocevka: najbolj pogosta lesna goba. *Les*, 60, 3: 115
- Polprasert C. 2007. Biofuel production. V: *Organic waste recycling. Tehnology and management*. 3. Izdaja. London, IWA Publishing: 145-215
<http://books.google.com/books?q=Organic+Waste+Recycling&btnG=Iskanje+knjig&hl=sl> (15. Feb. 2010)

- Rayner A.D.M., Boddy L. 1995. Fungal decomposition of wood: its biology and ecology. 2. izdaja. Chichester, Wiley-Interscience Publication: 587 str.
- Rengeo D. 1995. Konoplja. V: Konoplja in lan. Bujraški dnevi 1995, Ižakovci, samozaložba Dejan Rengeo: 6-33
- Robinson R. 2000. Velika knjiga o konoplji: popoln vodič po okoljski, komercialni, medicinski in duhovni rabi ene od najbolj izjemnih rastlin na zemlji. Ljubljana, samozaložba Aleksander Urbančič: 248 str.
- Sadar V. 1949. Sirek. V: Naše žito. Ljubljana, Kmečki glas: 227-231
- Sakar S., Yetilmezsoy K., Kocak E. 2009. Anaerobic digestion technology in poultry and livestock waste treatment a literature review. Waste Management & Research, 27: 3-18
- Sánchez C. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnology Advances, 27, 2: 185-194
- Strgar J. 1994. Opis trajnic. V: Trajnice v vrtu in parku. Ljubljana, Kmečki glas: 42-206
- Strgar Satler B. 2007. Miscanthus. V: Sto trajnic na Slovenskem. 1. izdaja. Ljubljana, Prešernova družba: 152-153
- Sun Y., Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology, 83: 1-11
- Taherzadeh M.J., Karimi K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. International Journal of Molecular Sciences, 9: 1621-1651
- Taniguchi M., Suzuki H., Watanabe D., Sakai K., Hoshino K., Tananka T. 2005. Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. Journal of Bioscience and Bioengineering, 100, 6: 637-643
- Tuor U., Winterhalter K., Fiechter A. 1995. Enzymes of whit-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. Journal of Biotechnology, 41: 1-17
- Zabel R.A., Morrell J.J. 1992. Wood microbiology: decay and its prevention. San Diego, Academic press, Inc.: 476 str.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Francu Pohlevnu za mentorstvo in pregled dela.

Andreju Gregori se zahvaljujem za pomoč pri negotovih začetkih in za začetni zagon.

Zahvaljujem se osebju Katedre za patologijo in zaščito lesa. Maji Vaukner za vso neskončno pomoč, Andreji Žagar za pomoč pri laboratorijskem delu in pomoč pri vseh tehničnih težavah, Boštjanu Lesarju za napotke pri avtoklaviranju, za prijazne in vzpodbudne besede, doc. dr. Mihi Humarju se zahvaljujem za strokovne nasvete.

Doc. dr. Sergeju Medvedu iz Katedre za lepljenje, lesne kompozite in obdelavo površin oddelka za lesarstvo, se zahvaljujem za mletje hitro rastočih rastlin.

Za C/N meritve se zahvaljujem g. Danijelu Žlindri iz Laboratorija za gozdno ekologijo-Gozdarski inštitut Slovenije.

Družini, sestri, predvsem pa staršema se neskončno zahvaljujem za pomoč pri nastajanju diplomske naloge, za vso podporo med študijem in nasploh v življenju, predvsem pa za potrpežljivost in neomajno zaupanje, da mi bo uspelo!

Alegri in Kepici, za družbo med pisanjem.

Darji za vse gune stvari!

PRILOGA A

Meritve hitrosti priraščanja micelija Tv in Pl05 na substratih različnih masnih razmerij koruze, trstikovca in sirka ter pripadajoči standardni odkloni.

	11.dan	13.dan	15.dan	18.dan	20.dan	22.dan	25.dan
Ko1T							
AVERAGE	5,4	7,266667	8,366667	9,816667	11,13333	12,28333	13,46667
STDEV	0,983616	0,189297	0,321455	0,557524	0,225462	0,301386	0,189297
Ko2T							
AVERAGE	4,35	6,66	7,72	8,96	10,61	11,5	12,62
STDEV	0,483477	0,595189	0,687023	0,580302	0,49295	0,61441	0,675093
Ko3T							
AVERAGE	1,6875	4,75	5,6	6,35	7,4375	8,1375	8,9625
STDEV	1,951228	0,416333	0,441588	0,511534	0,596343	0,71923	0,701635
Ko1P							
AVERAGE	4,35	6,366667	7,616667	9,15	10,73333	11,86667	13,2
STDEV	0,492443	0,802081	0,971253	0,540833	1,172959	1,053961	0,69282
Ko2P							
AVERAGE	4,91	7,31	8,61	9,74	11,54	12,79	14,07
STDEV	0,178185	0,378153	0,429244	0,397492	0,549318	0,571621	0,698749
Ko3P							
AVERAGE	4,12	6,23	7,4	8,47	10,01	11,15	12,36
STDEV	0,631071	0,744648	0,731437	0,746324	0,780545	0,842615	0,966566
M1T							
AVERAGE	4,62	6,82	8,6	11,25	12,71	14,54	16,36
STDEV	0,576194	1,117251	1,058891	0,573367	0,993353	1,081319	0,832466
M2T							
AVERAGE	0,8375	5,075	6,2	7,2375	8,5125	9,5	10,4375
STDEV	1,675	0,352373	0,404145	0,548293	0,739792	0,669577	0,779289
M3T							
AVERAGE	0	0	0,77	1,81	5,21	5,77	6,33
STDEV	0	0	1,721772	2,483546	0,668394	0,640898	0,572931
M1P							
AVERAGE	5,2	6,77	8,3	11,08	12,38	13,82	15,71
STDEV	1,001873	0,569649	0,564579	1,198749	0,414729	0,582666	0,791675
M2P							
AVERAGE	5,18	7,95	9,29	10,79	13,07	14,71	16,45
STDEV	0,446654	0,557898	0,345326	0,594138	0,718157	0,634823	0,635413
M3P							
AVERAGE	4,65	6,95	8,175	9,2625	10,85	12,1125	13,2625
STDEV	0,496655	0,644205	0,533073	0,481966	0,339116	0,280995	0,160078
S1T							
AVERAGE	2,166667	4,066667	5,033333	7,033333	7,6	8,566667	9,9
STDEV	1,892969	0,548483	0,702377	0,464579	0,396863	0,678847	0,736546
S2T							
AVERAGE	0	3,3125	4	4,8375	5,8	6,4875	7,1125
STDEV	0	0,125	0,147196	0,239357	0,234521	0,268871	0,286865

S3T							
AVERAGE	0	0	0	0	4,525	5,15	5,6
STDEV	0	0	0	0	0,106066	0,424264	0,282843
S1P							
AVERAGE	4,083333	4,85	5,683333	7,866667	8,4	9,316667	10,78333
STDEV	0,202073	0,304138	0,5058	0,529937	0,626498	0,725144	0,91697
S2P							
AVERAGE	4,03	6,23	7,3	8,44	10,18	11,37	12,68
STDEV	0,413219	0,526308	0,545436	0,619879	0,781505	0,73024	0,72163
S3P							
AVERAGE	1,58	5,25	6,19	7,1	8,52	9,51	10,48
STDEV	2,168121	0,58843	0,605599	0,687386	0,623097	0,695881	0,659166

PRILOGA B

Meritve hitrosti priraščanja micelija Tv in Pl05 na substratih različnih masnih razmerij konoplje in japonskega dresnika ter pripadajoči standardni odkloni.

	11.dan	13.dan	15.dan	18.dan	20.dan	22.dan	25.dan	27.dan	29.dan	32.dan
K1T										
AVERAGE	0	2,6875	3,8	5,2	6,275	7,3125	8,6625	9,675	10,8	12,475
STDEV	0	0,56771	0,38297	0,40208	0,46278	0,42696	0,3497	0,36629	0,52599	0,5172
K2T										
AVERAGE	0	0,91667	2,53333	3,26667	3,95	4,48333	5,2	5,93333	6,4	7,15
STDEV	0	0,85781	0,47522	0,47522	0,6265	0,76376	0,75498	0,81445	0,78581	0,8544
K3T										
AVERAGE	0	0	0	2,5	3,375	4,15	5,25	6,075	6,9	8,15
STDEV	0	0	0	0,56569	0,17678	0,14142	0,35355	0,38891	0,35355	0,42426
K4T										
AVERAGE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STDEV										
K5T										
AVERAGE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STDEV										
K6T										
AVERAGE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STDEV										
K1P										
AVERAGE	2,57	3,78	5,13	7,05	8,44	9,99	11,72	13,2	14,56	17,08
STDEV	1,45327	0,30537	0,18574	0,27613	0,37815	0,50299	0,52749	0,42573	0,48657	0,84083
K2P										
AVERAGE	2,96	3,99	5,28	7,17	8,48	9,95	12,12	13,42	14,82	16,34
STDEV	0,26315	0,2485	0,34928	0,55857	0,55745	0,65479	0,7775	0,74128	0,54153	1,23612
K3P										
AVERAGE	1,73	3,09	4,74	6,44	7,84	9,12	11,01	12,47	13,92	15,94
STDEV	1,61694	1,78164	0,68866	0,98831	0,87636	1,00162	1,11882	1,21583	1,1405	1,27004
K4P										
AVERAGE	2,2875	3,9875	5,15	6,825	7,9	9,15	10,7	11,6	12,6875	14,2875
STDEV	1,59602	0,52022	0,44535	0,56199	0,63377	0,74944	0,88694	0,89536	1,08041	1,38346
K5P										
AVERAGE	0	0	0	1,125	2,6	3,45	4,725	5,375	6,45	7,85
STDEV	0	0	0	1,59099	0,77782	0,56569	1,0253	0,88388	0,98995	0,91924
K6P										
AVERAGE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STDEV										
D1T										
AVERAGE	0	0	1,7125	4,55	5,5125	6,3375	7,675	8,6	9,5375	10,9
STDEV	0	0	1,98006	0,49666	0,46435	0,54524	0,44441	0,47081	0,56624	0,43012
D2T										
AVERAGE	0	1,2	2,9	4,525	5,45	6,5	7,8	8,75	9,75	11,225
STDEV	0	1,69706	0,6364	0,3182	0,42426	0,49497	0,6364	0,70711	0,70711	0,88388

