

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК
Руководитель ООП
Д-р биол. наук, доцент
Д.С. Воробьев
подпись
« 2 » июня 20 23 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА БАКАЛАВРА
БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ МИЦЕЛИЯ
ГРИБОВ

Направление подготовки 06.03.01
Направленность (профиль) «Биология»
Мостовая Алина Константиновна

Руководитель ВКР
ст. преподаватель кафедры
ихтиологии и гидробиологии

Д.А. Ивасенко
подпись
« 2 » июня 20 23 г.

Автор работы
студент группы № 011902

А.К. Мостовая
подпись
« 2 » июня 20 23 г.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	3
1 Использование мицелия грибов в качестве основы для создания строительных биоматериалов	4
2 Характеристика дереворазрушающих грибов.....	10
3 Характеристика объектов исследования	12
4 Материалы и методы	15
4.1 Объекты исследования.....	15
4.2 Методы приготовления питательных сред	15
4.3 Методика посева.....	17
4.4 Методика измерения скорости роста штаммов	18
5 Результаты	20
5.1 Культивирование штаммов ксилотрофных грибов на плотных и сыпучих питательных средах.....	20
5.2 Определение скорости роста штаммов ксилотрофных грибов на плотных питательных средах.....	20
5.3 Результаты по культивированию и определению скорости роста на сыпучей питательной среде	23
6 Получение экспериментальных образцов блоков	26
6.1 Получение квадратных блоков Трутовика лакированного (штамм 1).....	26
6.2 Получение брикетов	30
6.3 Получение итоговых образцов блоков Трутовика лакированного (штамм 1)	32
ВЫВОДЫ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	43

ВВЕДЕНИЕ

Минимизация отрицательного влияния различных производств на окружающую среду является одним из самых актуальных вопросов последних десятилетий. Разработка строительных материалов на основе мицелия грибов является перспективным направлением, так как мицелий грибов является биоразлагаемым и безопасным для человека и животных сырьем (Романенко и др., 2020).

В качестве биоматериала для получения мицелия были выбраны грибы, способные перерабатывать субстраты на основе древесных опилок, различных растительных волокон (лен, хлопок, рис и т.д.) и прочих растительных отходов сельского хозяйства. Такие грибы называют ксилотрофными. Они способны разрушать лигноцеллюлозный комплекс и использовать продукты разложения для питания (Мухин, 2015). Подобные объекты были выбраны и в других работах, посвященных оценке биоматериалов на основе мицелия грибов, но как правило исследовались только один или несколько штаммов (*Pleurotus eryngii*, *Ganoderma lucidum*) на одном субстрате (опилки древесные) (Islam et al., 2017; Karana et al., 2018; Xing et al., 2018).

Выпускная квалификационная работа выполнялась в производственной лаборатории ООО «Дарвин».

Целью работы было получение образцов строительного биоматериала на основе мицелия грибов и подбор оптимальных условий для их культивирования.

Для достижения цели, были поставлены следующие задачи:

1. Освоение методов культивирования ксилотрофных грибов. Культивирование штаммов *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus djamor*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium echinus* на плотных и сыпучих питательных средах для выявления наиболее активных штаммов;
2. Определение скорости роста штаммов на различных питательных средах;
3. Получение экспериментальных образцов блоков.
4. Выбор оптимального для формирования блоков субстрата.
5. Получение итоговых образцов блоков и изучение их физических свойств.

1 Использование мицелия грибов в качестве основы для создания строительных биоматериалов

В последние годы разработка биоматериалов стала одной из главных концепций в строительстве, производстве тканей и архитектуре. Это связано с тем, что в настоящее время традиционные строительные материалы, созданные из полимеров, являются источниками загрязнения окружающей среды за счет увеличения оборотов их использования. В основном при разработке биоматериала используются: целлюлоза, бамбук, шелковый протеин и др. Но также существует возможность создания строительных биоматериалов из мицелия грибов (Islam et al., 2017).

Мицелий грибов обладает следующими свойствами:

- 1) Пористость. Гифы в норме достигают диаметра от 1 до 30 мкм и длины от нескольких нанометров до нескольких метров, а также имеют способность срастаться беспорядочно между собой (анастомоз), формируя длинные сети;
- 2) Внутренний слой стенки гифа содержит хитин (хитиновые микрофибриллы), которые обеспечивают механическую жесткость и прочность стенки;
- 3) Сети гифов обладают линейной упругостью при малом растяжении с деформационным упрочнением перед разрывом, что обуславливается топологическим расположением нитей в сети.

Перечисленные выше свойства дают нам понимание того, что мицелий грибов можно использовать в качестве основного компонента для разработки строительного биоматериала, который был бы подобен пористым строительным материалам (Islam et al., 2017).

Данные свойства мицелия уже изучались для использования полученного материала в качестве утеплителя для домов вместо традиционных утеплительных материалов, таких как минеральная вата (стекловата), базальтовая вата, полиуретан. При изучении данного вопроса подчеркивалась проблема выбора штамма грибов для выращивания, так как их скорость роста и теплоизоляционные возможности часто разительно отличаются друг от друга (Xing et al., 2018).

Материалы на основе мицелия выращивают двумя альтернативными методами.

Первый метод основывается на использовании способностей мицелия связывать другие вещества с образованием объемного материала (на твердых субстратах) (Рисунок 1).

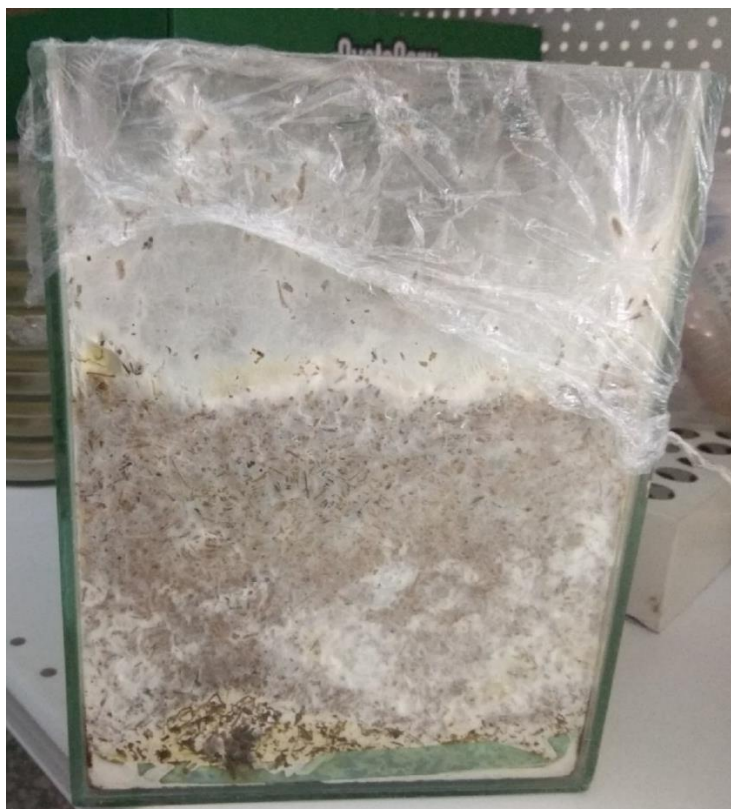


Рисунок 1 – Выращивание мицелия на твердом субстрате

Второй метод заключается в выращивании культуры мицелия на жидкой питательной среде и дальнейшем сборе ее с поверхности этой самой среды (получение собственно мицелия) (Рисунок 2).

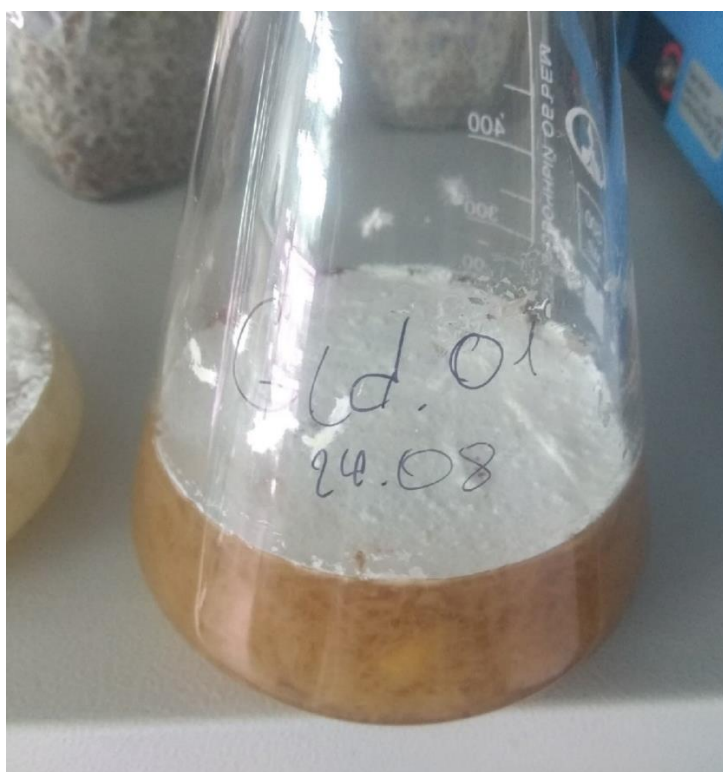


Рисунок 2 – Выращивание мицелия на жидкой питательной среде

Композиты на основе мицелия изготавливают путем инокуляции отдельного штамма грибов в субстрат из органических веществ (Holt et al., 2012; Jones et al., 2017).

Мицелий разлагает и колонизирует органический субстрат, используя ферменты для разложения субстрата, а в качестве элементов питания использует продукты разложения, таким образом увеличивая количество гиф и образуя плотную сеть (Pelkmans et al., 2016).

При этом стоит отметить, что субстрат должен полностью удовлетворять пищевые потребности выбранного для культивации вида. К таким веществам как правило относятся углерод, азот, минеральные вещества и витамины, вода. Для субстрата можно использовать как различные виды питательных сред, созданных искусственно, так и отходы сельского хозяйства и деревообрабатывающего производства (древесные опилки, пшеничная или рисовая солома, волокна льна, хлопка или любые другие волокна растительного происхождения) (Kavanagh, 2017).

В случае с культивацией на твердых субстратах, тип выбранного субстрата существенно влияет на технические и экспериментальные качества получаемого материала (Karana et al., 2018).

Проблему влияния выбранного субстрата на полученный материал решают уже упомянутой культивацией на жидкой питательной среде с получением чистого мицелия. Выращивание в жидкой питательной среде может производиться либо в статичном положении, либо при постоянном помешивании на орбитальных шейкерах. При статичном выращивании мицелий грибов образует «мат» на поверхности среды, который при высыхании может напоминать кожу, бумагу или пластик. Также допускается добавление в конце культивирования мицелия добавок (глицерин, этанол и др.) для изменения структуры, цвета, жесткости полученного материала (Karana et al., 2018).

При изготовлении материалов на основе мицелия, производители часто сталкиваются с проблемой появления конкурентной флоры в субстрате (Рисунок 3), прошедшем этап ферментации. Часто в качестве конкурентной флоры выступают плесневые грибы, появление метаболитов которых существенно ингибирует жизнедеятельность культивируемого мицелия (Сычев, 2000).

Поэтому для достижения положительных результатов, материалы на основе мицелия (в частности субстрат и среда, на которых будет производится культивация) требуют надлежащей стерилизации (Carlile et al., 1994; Jones et al., 2017).

После проведения процесса стерилизации культуру мицелия следует поддерживать при контролируемых условиях окружающей среды. Нужно поддерживать постоянный уровень освещенности, температуру и влажность, чтобы обеспечить стабильный рост на всем протяжении культивирования (Carlile et al., 1994).



Рисунок 3 – Заражение образца мицелия на твердом субстрате конкурентной флорой

Оптимальные условия температуры и влажности значительно различаются в зависимости от используемого штамма грибов, но большинство видов хорошо растут при:

- 1) температуре около 25–35 °С;
- 2) влажности около 60-65%;
- 3) условиях низкой освещенности (при низкой освещенности образование плодовых тел угнетается, а рост мицелия достигает своего максимума) (Carlile et al., 1994; Jones et al., 2017; Deacon, 1980).

Для получения готового материала мицелий высушивают при комнатной температуре (таким образом сохраняется жизнеспособность гриба для дальнейшего возобновления культивации, если потребуется) или при температуре не ниже 60 °С (таким образом жизнедеятельность мицелия полностью останавливается и дальнейшее развитие как мицелия, так и плодовых тел становится невозможным) (Kavanagh, 2017).

Уникальность получения такого материала заключается в том, что мицелий можно выращивать в форме конечного объекта (Рисунок 4, 5). Такие методы обработки, как лазерная резка, прессовка, распиловка, также могут применяться для придания требуемой формы и структуры выращенному материалу (Jiang et al., 2016). При этом распиловка и лазерная резка менее предпочтительны, поскольку они разрушают внешний слой мицелия (Karana et al., 2018).

Кожица, образованная на поверхности материала, культивированного на твердом субстрате, увеличивает прочность материала на сжатие и его водоотталкивающие свойства, а также повышает его эстетические свойства (делает визуально однородным и гладким) (Karana et al., 2018).

В качестве преимуществ композитных материалов на основе мицелия над чистым мицелием (Karana et al., 2018) выделяют следующие его характеристики:

- 1) используются отходы растительного происхождения, а не дополнительно созданные питательные среды;
- 2) легче получить большое количество материала при ограниченном количестве мицелия;
- 3) легче получить материал определенной формы;
- 4) композитные материалы более долговечны и менее затратны в производстве.

Не спрессованный композитный материал на основе мицелия имеет пенообразную структуру, напоминающую пенопласт. Такая структура не обладает высокой прочностью, но проявляет хорошие теплоизоляционные свойства (Xing, 2018). Если материал спрессовать при высокой температуре, то он приобретает свойства ОСП (ориентированно-стружечная плита), которая характеризуется прочностью и низкими теплоизоляционными свойствами (Karana et al., 2018).



Рисунок 4 – Пример выращивания мицелия в форме конечного продукта. Dutch Design Week 2019: The Growing Pavilion (URL: <https://companynewheroes.com/project/the-growing-pavilion/>)



Рисунок 5 - Пример выращивания мицелия в форме конечного продукта. Разработка Terreform ONE. Кресла были выращены на основе Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) (URL: <https://www.terreform.org/mycoform>)

2 Характеристика дереворазрушающих грибов

Из приведенной выше информации о производстве биоматериала на основе мицелия грибов можно сделать вывод, что для этих целей используются штаммы грибов, способный перерабатывать растительные волокна, в частности древесину.

В экосистемах, где в том или ином виде присутствует древесина, ключевой группой грибной биоты являются дереворазрушающие грибы. Несмотря на попытки изучения и систематизации дереворазрушающих грибов, однозначного ответа на их положение в систематике нет. К дереворазрушающим грибам как правило относят те грибы, которые прямо расщепляют лигноцеллюлозный комплекс древесины. Такие грибы как раз и называют ксилотрофными. Ксилотрофы стоят в начале детритной пищевой цепи. В более широком смысле к дереворазрушающим грибам относят все грибы, которые так или иначе способны к произрастанию на древесных субстратах, но не обязательно использующие их в качестве трофического ресурса. Такие грибы называют ксилобионтами. Ксилотрофы играют огромную роль в природных экосистемах. Так они участвуют в мобилизации депонированного в древесине углерода, разлагая ее (Мухин, 2015).

Также не стоит забывать о том, что ксилотрофы являются единственной группой организмов, которые способны полностью разлагать лигноцеллюлозный комплекс.

Разложение древесины делят на несколько стадий:

- 1) Разложение сумчатыми и несовершенными грибами, которые используют в основном содержимое паренхимных клеток, в незначительной степени целлюлозу и лигнин;
- 2) Разложение базидиальными грибами (как правило, трутовыми) древесины (лигноцеллюлозного комплекса);
- 3) Разложение почвенными сапротрофами.

Дереворазрушающие грибы обладают очень развитым ферментативным аппаратом. В частности, у трутовых грибов выделяют:

- 1) Целлюлазу – фермент, который способен расщеплять целлюлозу до глюкозы или дисахарида целлобиозы. Относится к классу гидролаз.
- 2) Пектиназу, амилазу, ксилоназу – это ферменты, которые участвуют в разложении углеводов;
- 3) Полифенолоксидазы – ответственны за расщепление лигнина, представляют собой комплекс окислительных ферментов.

Ферментативная активность аппарата ксилотрофов настолько велика, что они способны разлагать древесину в лабораторных условиях полностью за 180-360 суток (Бурова, 1991).

Из приведенного выше определения ксилотрофов можно также подчеркнуть, что основная их часть относится к Basidiomycota, к классу Агарикомицеты (*Agaricomycetes*).

Ксилотрофные базидиомицеты широко используются для биотехнологических исследований. В основном они используются в пищевой промышленности (получение пищевых белков и ферментов) и фармакологических исследованиях (разработка БАД и лекарственных препаратов). Для культивации в условиях лаборатории культуры выделяют из естественных мест обитания, помещая при этом в условия, в которых в природе не встречаются, в частности в виде чистой культуры, которая чаще всего и используется для исследований (Ильина, Ильин, 2013).

3 Характеристика объектов исследования

Вешенка королевская (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., 1872) (Рисунок 6) отличается от других представителей рода *Pleurotus* тем, что растет на корнях и подземных частях стебля некоторых растений. Появляются преимущественно группами с осени до поздней весны. Имеет шляпку коричневого или серого цвета. Вид распространен в пределах довольно четко очерченной области северного полушария, простирающейся на запад до атлантического побережья Франции и Марокко, а также вдоль зоны, лежащей в пределах 30–50 м с. ш. от Центральной Европы до средиземноморского побережья Африки и на восток до Казахстана и Индии (Zervakis et al., 2001).



Рисунок 6 – Внешний вид Вешенки королевской (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., 1872)
(URL: <https://uk.inaturalist.org/observations/65588473> // Дата обращения: 05.06.2023)

Вешенка розовая (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) (Рисунок 7) имеет шляпку от светло- до темно-розового цвета в зависимости от штамма и условий выращивания. Вид характеризуется быстротой роста мицелия и высокой сапрофитной колонизационной активностью на целлюлозных субстратах. Их плодовые тела имеют форму раковины или лопаточки розового цвета. При повышении температуры выше 32°C рост мицелия и плодовых тел заметно снижается (Hasan et al., 2015). Произрастает в тех же регионах, что и Вешенка королевская (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., 1872).



Рисунок 7 – Внешний вид Вешенки розовой (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) (URL: <https://uk.inaturalist.org/taxa/1352662-Pleurotus-djamor> // Дата обращения: 05.06.2023)

Трутовик лакированный (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) (Рисунок 8) представляет собой большой темный гриб с глянцевой поверхностью и древесной текстурой плодового тела. Род *Ganoderma* распространен по всему земному шару (Upton, 2000).



Рисунок 8 – Внешний вид Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) (URL: <https://uk.inaturalist.org/taxa/125932-Ganoderma-lucidum> // Дата обращения: 05.06.2023)

Ежовик гребенчатый (*Hericium echinus* (Scop.) Pers., 1797) (Рисунок 9) Съедобный гриб, имеющий большое значение в медицине. Он редко встречается в Европе и России (занесен в красную книгу), но распространен в Японии и Северной Америке. Образует сильно разветвленные плодовые тела, неправильной формы, с колючим гименофором.

Плодовое тело чаще всего прикрепляется к субстрату боком, с округлым или полушаровидным основанием, выступающим и неразветвленным (Gumińska, 1985).



Рисунок 9 – Внешний вид Ежовика гребенчатого (*Hericium echinus* (Scop.) Pers., 1797)
(URL: <https://macroid.ru/showphoto.php?photo=162612> // Дата обращения: 05.06.2023)

4 Материалы и методы

4.1 Объекты исследования

Объектами исследования являлись 4 вида грибов-сапрофитов:

-Вешенка королевская (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., 1872) (Рисунок 10 (а))

-Вешенка розовая (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) (Рисунок 10 (б))

-Трутовик лакированный (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881)

(Рисунок 10 (в))

-Ежовик гребенчатый (*Hericium echinus* (Scop.) Pers., 1797) (Рисунок 10 (г))

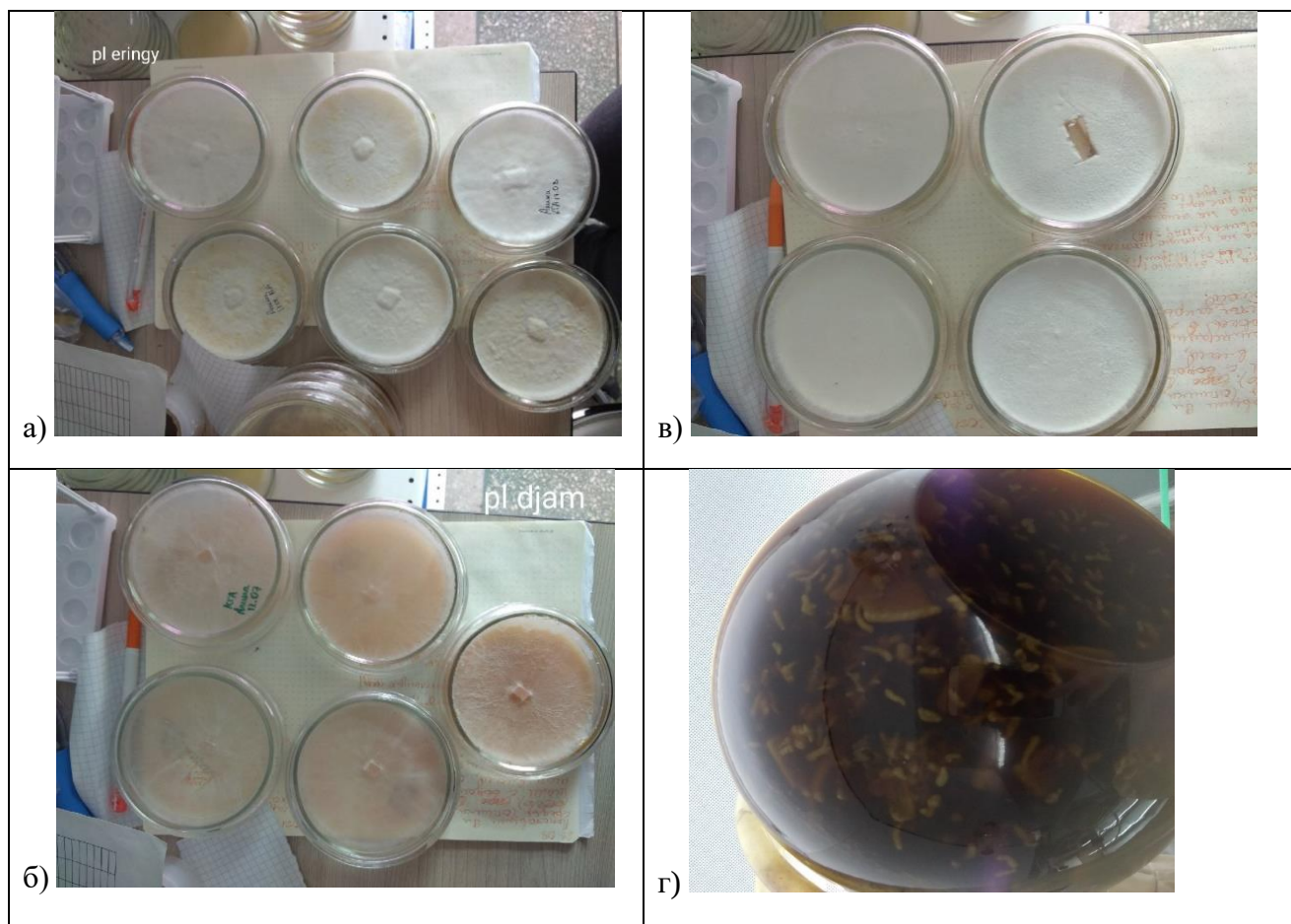


Рисунок 10 – Культуры исследуемых объектов: а) Вешенка королевская; б) Вешенка розовая; в) Трутовик лакированный (штамм 1); г) Глубинное культивирование, мальтозно-пептонная питательная среда, Ежовик гребенчатый

4.2 Методы приготовления питательных сред

Для культивирования использовались:

- плотные питательные среды (картофельный агар (далее КГА) и мальтозно-пептонный агар (далее МА));

- сыпучие питательные среды (пшеница, отсев, опилки лиственных пород деревьев (береза), смесь опилок и отсева).

- жидкие питательные среды (картофельная и мальтозно-пептонная).

Состав КГА (на 1 литр): 1 литр картофельного отвара (300 грамм картофеля на литр дистиллированной воды), 20 грамм глюкозы, 15 грамм агара (Благовещенская, 2017).

Приготовление картофельного агара: картофель белый очистили, предварительно промыв под проточной водой, мелко нарезали в количестве 300 грамм на 1 литр питательной среды, отварили до готовности в кипящей воде. Затем процедили через марлю (4 слоя) в чистую колбу и довели дистиллированной водой до 1 литра. В полученный отвар добавили из расчета 20 грамм на литр глюкозу и агар из расчета 15 грамм на литр. Полученный раствор интенсивно перемешали в колбе до полного растворения глюкозы.

После получения однородного раствора разлили его в конические колбы на 250 мл по 150 мл в каждую. Колбы закрыли ватно-марлевыми пробками и сверху надели колпачки из пергаментной бумаги. Автоклавировали при температуре 121 °С, 30 минут.

Состав МА (на 1 литр): 1 литр дистиллированной воды, 20 грамм мальтозного экстракта, 20 грамм глюкозы, 1 грамм пептона, 20 грамм агара.

Приготовление мальтозно-пептонного агара: смешали 1 литр дистиллированной воды, 20 грамм мальтозного экстракта, 20 грамм глюкозы, 1 грамм пептона, 20 грамм агара в колбе и тщательно перемешали до полного растворения мальтозного экстракта, пептона и глюкозы. (Благовещенская, 2017). Автоклавирование производилось по описанному выше методу.

Метод подготовки плотной питательной среды: после автоклавирования остудили питательную среду до 60 °С. Взяли правой рукой за среднюю часть и удерживали в наклонном положении. Мизинцем и безымянным пальцем левой руки сжали конец ватно-марлевой пробки, колбу поднесли к горелке и в пламени вынули пробку. Закрыли колбу в пламени горелки. Чашки Петри поставили в стопку в стерильной зоне пламени.левой рукой приподняли крышку чашки, налили среду, не касаясь горлышком колбы края чашки, закрыли чашку. В чашки разливали приблизительно 20 мл среды (то есть полностью заливая дно чашки).

После разлива закрыли все чашки и дождались застывания питательной среды, при этом (20-25 минут). После застывания питательной среды крышки чашек сдвинули на себя, приоткрывая для того, чтобы убрать капли конденсата. Оставили до полного высыхания конденсата (15-20 минут). Застывание происходило под ультрафиолетовой лампой в ламинарном шкафу. Далее в соответствии с правилами работы в асептических условиях, ламинарный шкаф дезинфицировали. Чашки на несколько дней убирали в закрытом виде из ламинарного шкафа. После 2-3 дней проверяли питательную среду на предмет наличия обрастания плесенью. Питательная среда, которая была заражена плесневыми грибами

должна была утилизирована. Питательная среда, которая не была заражена плесневыми грибами использовалась для дальнейшей работы (Анциферов и др., 2017).

Приготовление мальтозно-пептонной жидкой питательной среды (на 1 литр): смешали 1 литр дистиллированной воды, 20 грамм мальтозного экстракта, 20 грамм глюкозы, 1 грамм пептона в колбе и тщательно перемешали до полного растворения мальтозного экстракта, пептона и глюкозы.

После получения однородного раствора разлили в плоскодонные колбы объемом 2,5 литра по 1 литр жидкой питательной среды в каждую. Колбы закрывали колпачками из двух слоев алюминиевой фольги и двух слоев пергаментной бумаги, перетянули резинкой. Среду стерилизовали автоклавированием, в течение 30 минут при температуре 121 °С. Непосредственно перед посевом среду остужали.

Сыпучие среды: отсев, опилки березовые, пшено, смесь (50% опилки березовые и 50% отсева), мел (2% от общей массы сыпучей среды).

Приготовление сыпучей питательной среды из пшена: пшено варили в течение 10 минут после закипания. Брали навеску из расчета, что масса пшена увеличивается в 1,5 раза после варки. После варки воду сливали, к разваренному пшену добавляли необходимое количество мела (2% от массы пшена) и тщательно перемешивали. После перемешивания пшено распределили по емкостям (стеклянные банки, 0,5 литра), заполняя целиком и закрывали ватно-марлевой пробкой или колпачком из двух слоев алюминиевой фольги и двух слоев пергаментной бумаги, перетягивая резинкой. Также пшено помещали в чашки Петри (по 45 грамм в каждую), после чего чашки Петри упаковывались в пергаментную бумагу для автоклавирования.

Автоклавировали в течение 40 минут при температуре 121 °С.

Приготовление сыпучей питательной среды из березовых опилок и отсева: взяли березовые опилки и отсев нужного веса. Промыли горячей водой от пыли и грязи несколько раз, после чего тщательно отжали и остудили. Смешали в нужных пропорциях.

Расфасовали полученную среду в пакеты для запекания по 0,8-1,0 килограмм каждый. Закрыли пакеты ватно-марлевой пробкой, перетянув резинкой.

Автоклавировали в течение 40 минут при температуре 121 °С.

Метод подготовки сыпучей и жидкой питательной среды: специфическая подготовка не производилась, посев происходил в те же емкости, в которых находилась питательная среда.

4.3 Методика посева

Техника посева на плотную питательную среду: применялась техника посева «с чашки на чашку» при помощи скальпеля (Анциферов и др., 2017). С чашки Петри со

свежевыросшей культурой грибов в стерильных условиях с помощью скальпеля вырезали кусок питательной среды вместе с мицелием размером 5 мм на 5 мм. Вырезанный кусок питательной среды с мицелием переносили в середину новой чашки Петри с питательной средой.

После работы с каждым отдельным видом культуры выполняли обработку поверхности ламинарного бокса 70 % спиртом и ультрафиолетом в течение 10-15 минут. После завершения посева чашки Петри на стыке доньшка и крышки перематывали полиэтиленовой лентой для предотвращения пересыхания питательной среды.

Перед работой инструменты фламбировали. Скальпель погружали в 96 % спирт, поджигали в пламени горелки и оставляли на отдельной стерильной крышке чашки Петри. После того как весь спирт сгорал на поверхности скальпеля повторяли процедуру: трехкратно (перед началом работы и после завершения работы) или однократно (после каждого переноса питательной среды с мицелием).

Метод посева на сыпучую и жидкую питательные среды аналогичен методу «с чашки на чашку». Содержимое чашек Петри нарезали равномерно на мелкие части, после чего переносили в стерильной зоне пламени горелки полностью в пакет или емкость с питательной средой. Пакеты или емкости закрывали ватно-марлевыми пробками или колпачками из фольги и бумаги и их содержимое тщательно перемешивали для равномерного распределения кусочков питательной среды с мицелием.

Колпачки из фольги и бумаги, в случае с жидкой питательной средой, заменяются на резиновые пробки с фильтрами и трубками или на ватно-марлевые пробки. При необходимости автоклавировали 20 минут при температуре 121 °С трубки и фильтры с пробками для глубинной культивации. Для этого их оборачивали в пергаментную бумагу подобно чашкам Петри.

4.4 Методика измерения скорости роста штаммов

Для измерения скорости роста штаммов использовалась методика ежедневного измерения диаметра мицелия при помощи измерительной линейки (ц.д. 1мм). Первоначально измерения производились при посеве на плотную питательную среду (МА и КГА). Затем по аналогии было произведено измерение роста данных штаммов на сыпучей питательной среде (на чашках Петри, пшено и мел).

Ежедневно производились измерения диаметра мицелия Розовой вешенки и Трутовика лакированного (штамм 1). Затем по средним значениям были построены графики скорости роста (зависимости диаметра мицелия от прошедшего времени). По графикам были определены относительно линейные участки роста. По данным участкам были проведены соответствующие расчеты, по формуле:

$$V=(L2-L1)/(t2-t1) \quad (1)$$

, где L1 - диаметр мицелия в день начала линейного роста; L2 - диаметр мицелия в день окончания линейного роста; t1 - день начала линейного роста; t2 - день окончания линейного роста (Благовещенская, 2017).

5 Результаты

5.1 Культивирование штаммов ксилотрофных грибов на плотных и сыпучих питательных средах

В течение 6 месяцев производилось культивирование объектов исследования (*Pleurotus eryngii*, *Pleurotus djamor*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium echinus*) на плотных питательных средах (КГА и МА) и сыпучей питательной среде (пшеница+ мел 2 %) в чашках Петри и стеклянных банках объемом 0,5 литра и наблюдение за их ростом.

Культивирование происходило в плотно закрытых емкостях (чашки Петри закрывали по всему диаметру пленкой на стыке крышки с дном, банки закрывались колпачками из пергаментной бумаги и фольги) при комнатной температуре (не более 23 °С). При наблюдении за темпами и характером роста отмечалась также плотность роста мицелия.

Вешенка королевская (*Pleurotus eryngii*) и Ежовик гребенчатый (*Hericium echinus*) не отличились активностью роста (не более 1 – 2 мм в сутки). На субстрате с культурой Ежовика гребенчатого на ранних стадиях роста мицелия (около 5 мм) стали образовываться плодовые тела, сам мицелий при этом был не плотным.

Для измерения скорости роста штаммов были выбраны два вида грибов с наиболее активным ростом и наибольшей плотностью мицелия: Вешенка розовая (*Pleurotus djamor*) и Трутовик лакированный (*Ganoderma lucidum*) (штамм 1). Также на субстрате с данными культурами плодовые тела не образовывались спустя долгое время.

5.2 Определение скорости роста штаммов ксилотрофных грибов на плотных питательных средах

Определение скорости роста штаммов производили на картофельном агаре и мальтозно-пептонном агаре. Эксперимент длился 12 дней (1 день – начало культивации, включающее в себя подготовку питательной среды и посев, 11 дней – измерение скорости роста (для Трутовика лакированного (штамм 1) измерение скорости роста длилось 6 дней)).

В эксперименте с Розовой вешенкой на мальтозно-пептонном агаре измерения проводили в трех повторностях, с Розовой вешенкой на картофельном агаре – в одной повторности (стандартное отклонение на графике принято за 0).

Первые признаки роста Розовой вешенки на мальтозно-пептонном агаре были заметны уже через сутки культивирования (Рисунок 11). Прирост мицелия в первые 10 суток культивирования составлял от 3,7 до 5 мм/сутки.

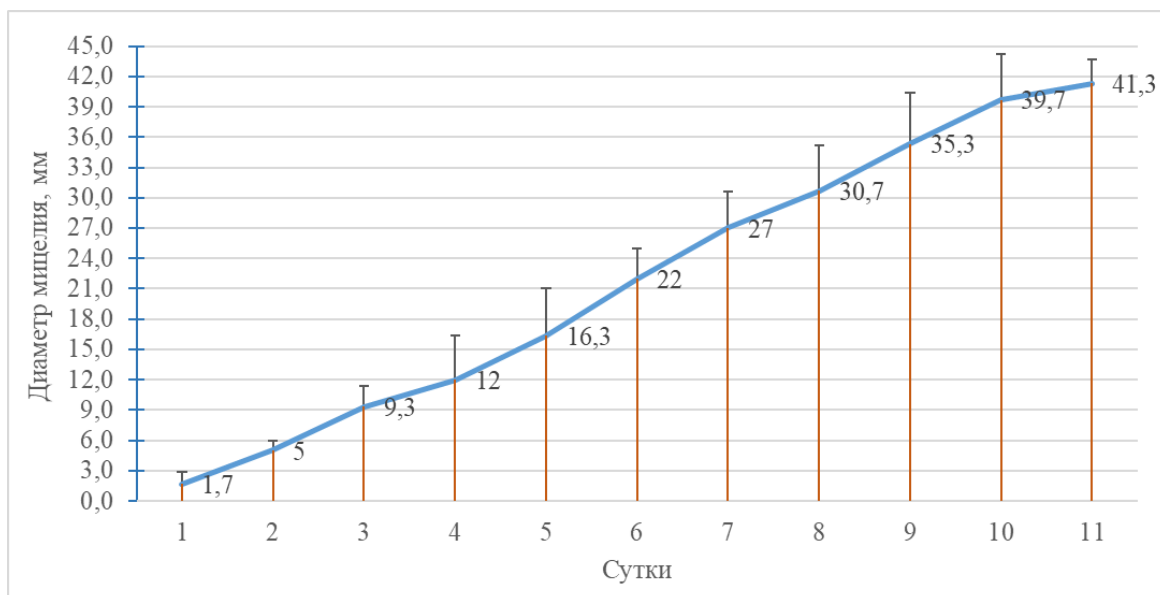


Рисунок 11 – График скорости роста Розовой вешенки (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) на МА

На одиннадцатые сутки прирост составил менее 2 мм, после чего эксперимент был остановлен. Средняя скорость роста в первые 10 суток культивирования составила 4,3 мм/сутки.

Скорость роста Розовой вешенки на картофельном агаре составила 3 мм/сутки (Рисунок 12). За линейный участок был принят промежуток с 6 по 8 день измерений. Первые признаки роста были заметны в первые сутки, с третьего по шестой день скорость была нелинейной, на шестые сутки скорость становится линейной (3 мм/сутки). С 8 по 9 сутки роста не наблюдалось, измерения были закончены на 8 сутки.

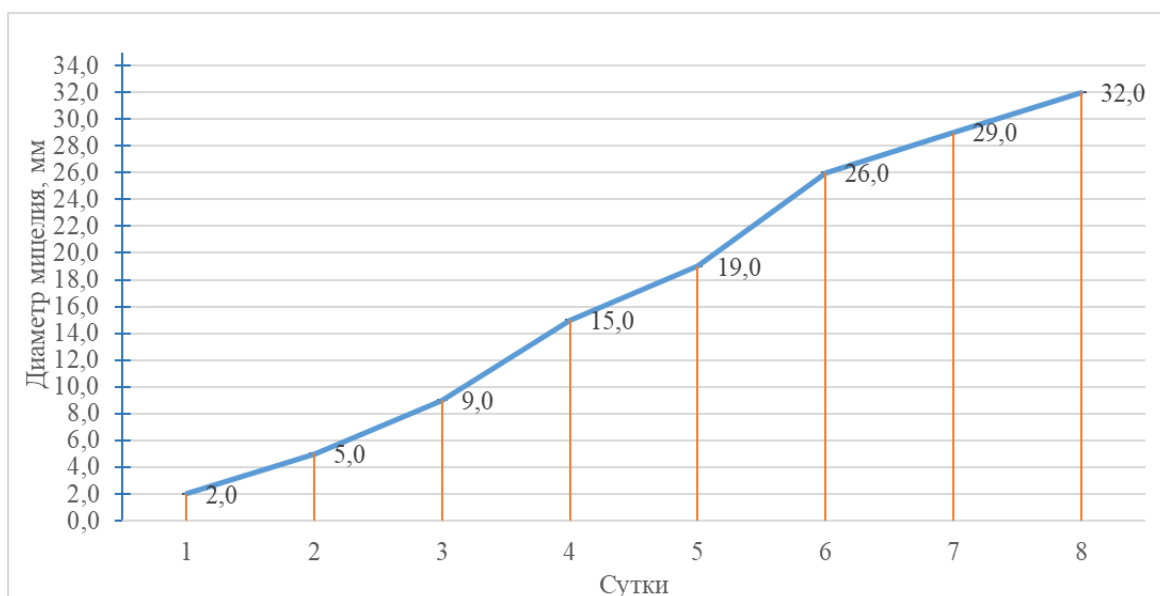


Рисунок 12 – График скорости роста Розовой вешенки (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) на КГА

Таким образом, наиболее высокая скорость роста Розовой вешенки отмечена при культивирования на мальтозно-пептонном агаре (4,43 мм/сутки).

В ходе эксперимента с Трутовиком лакированным (штамм 1) на мальтозно-пептонном агаре и картофельном агаре измерения проводились в двух повторностях.

Скорость роста Трутовика лакированного (штамм 1) на мальтозно-пептонном агаре составила 9 мм/сутки (Рисунок 13). За линейный участок был принят промежуток с 1 по 5 день измерений. Первые признаки роста были заметны в первые сутки, на первые сутки скорость становится линейной (9 мм/сутки), на шестые сутки скорость роста замедляется (4,5 мм/сутки).

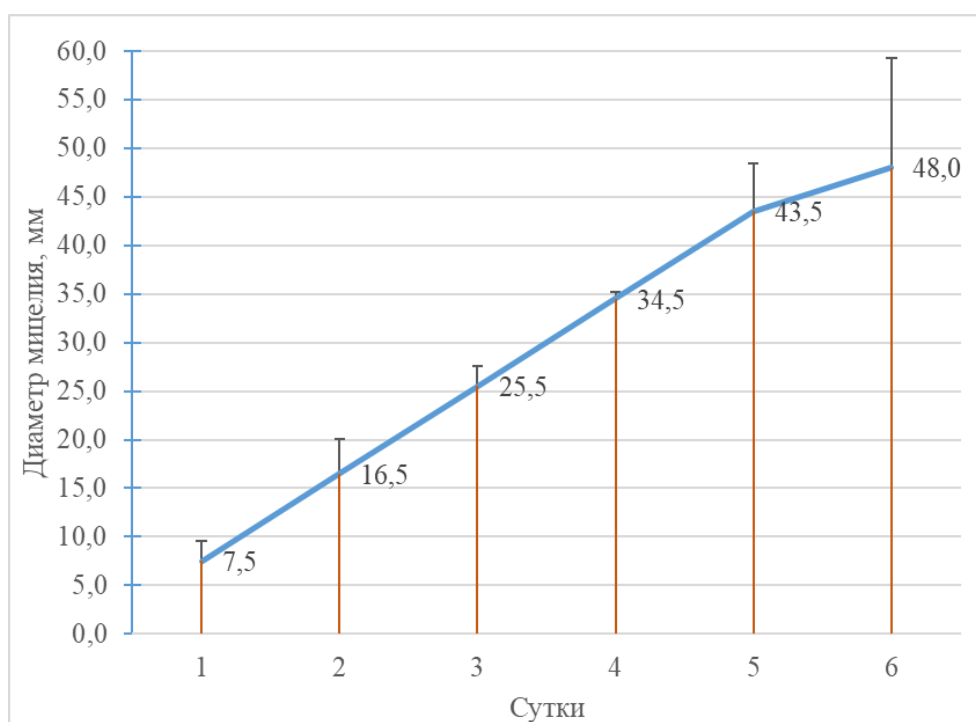


Рисунок 13 – График скорости роста Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на МА

Скорость роста Трутовика лакированного (штамм 1) на картофельном составила 6,75 мм/сутки (Рисунок 14). За линейный участок был принят промежуток с 3 по 5 день измерений. Первые признаки роста были заметны в первые сутки, на третьи сутки скорость становится близкой к линейной (6,5 и 7,5 мм/сутки), на шестые сутки скорость роста замедляется (3,5 мм/сутки).

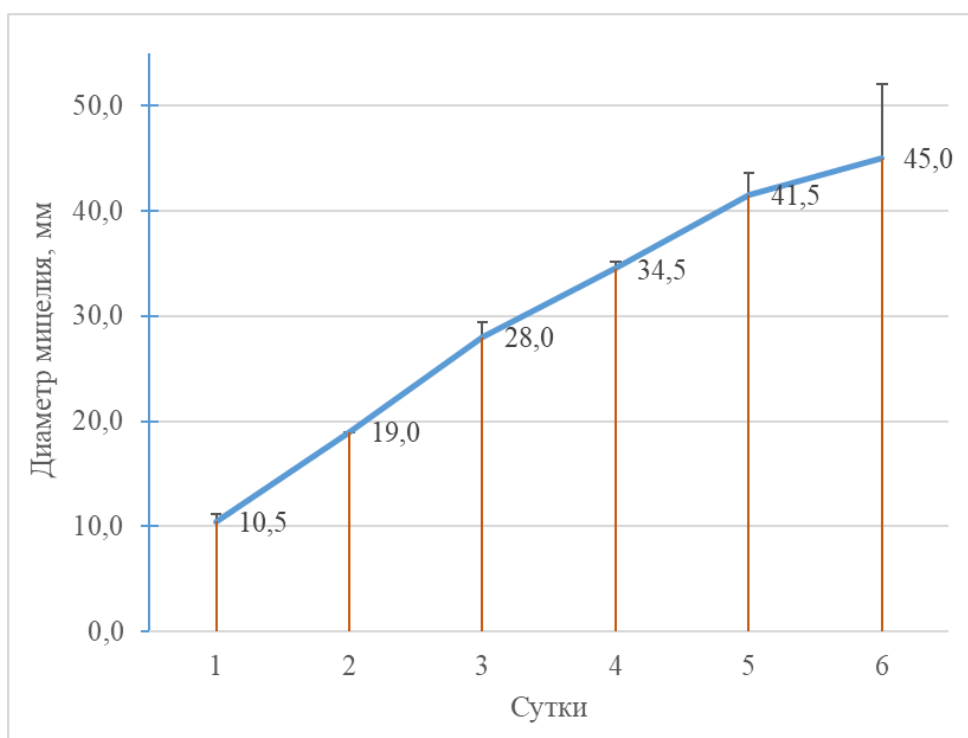


Рисунок 14 – График скорости роста Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на КГА

Таким образом, наибольшая скорость роста Трутовика лакированного (штамм 1), как и Розовой вешенки, наблюдалась при культивировании на мальтозно-пептонном агаре. При этом Трутовика лакированного (штамм 1) характеризовался более высокими значениями скорости роста (9 мм/сутки) по сравнению с Розовой вешенкой (4,3 мм/сут).

На картофельном агаре Трутовик лакированный (штамм 1) также показал более высокую скорость роста (6,75 мм/сутки) по сравнению с розовой вешенкой (3 мм/сут).

Обобщая полученные результаты (Таблица 1), можно сделать заключение о том, что наибольшей скоростью роста на плотной питательной среде обладает штамм Трутовика лакированного (штамм 1) на мальтозно-пептонном агаре (9 мм/сутки).

5.3 Результаты по культивированию и определению скорости роста на сыпучей питательной среде

Определение скорости роста штаммов производили на сыпучей питательной среде (пшеница+мел 2 %) после получения результатов эксперимента с плотной питательной средой. Эксперимент длился 7 дней (1 день – начало культивации, включающее в себя подготовку питательной среды и посев, 6 дней – измерение скорости роста (для Розовой вешенки измерение скорости роста длилось 6 дней в связи с ограничением по диаметру чашки Петри)).

Измерения прироста мицелия в эксперименте с Розовой вешенкой проводили в пяти повторностях. В результате проведенных измерений скорость роста Розовой вешенки на

сыпучей питательной среде составила 14,3 мм/сутки (Рисунок 15). За линейный участок был принят промежуток с 2 по 4 день измерений. Первые признаки роста были заметны в первые сутки, на вторые сутки скорость роста становится близкой к линейной (15,8 и 12,8 мм/сутки), на пятые сутки наблюдается резкое увеличение скорости роста (21,2 мм/сутки).

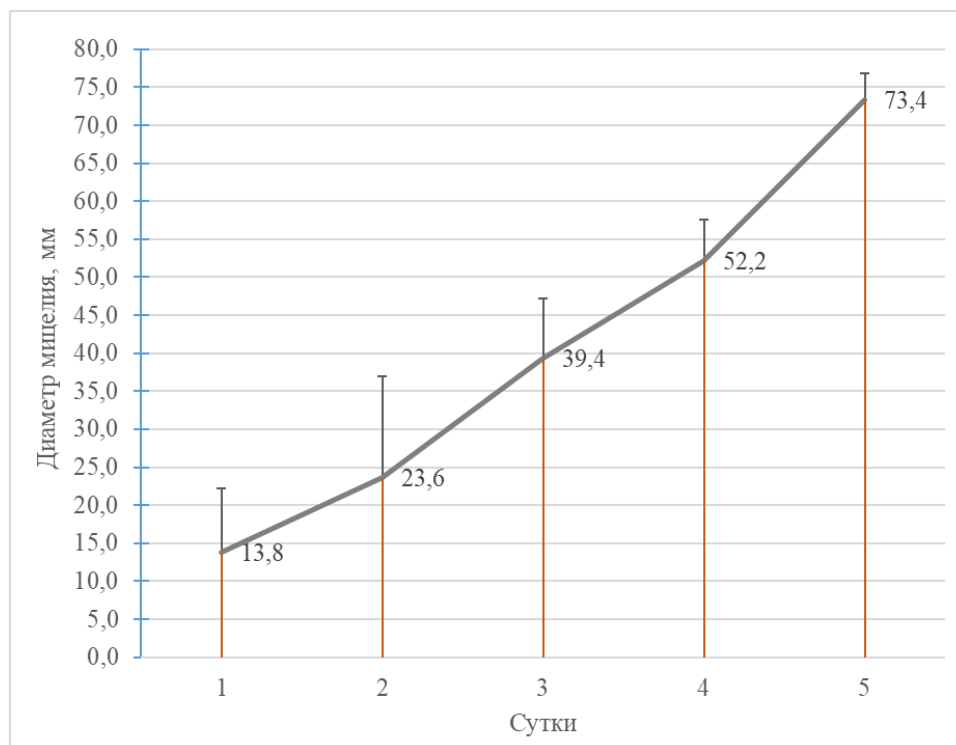


Рисунок 15 – График скорости роста Розовой вешенки (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) на сыпучей питательной среде

Эксперимент с Трутовиком лакированным (штамм 1) также проводился в пяти повторностях. Средняя скорость роста Трутовика лакированного (штамм 1) на сыпучей питательной среде составила 11,33 мм/сутки (Рисунок 16). За линейный участок был принят промежуток с 3 по 5 день измерений. Первые признаки роста были заметны в первые сутки, на четвертые сутки скорость роста становится близкой к линейной (7,2 и 10,8 мм/сутки), на третьи и шестые сутки наблюдается резкое увеличение скорости роста (21,2 и 16 мм/сутки).

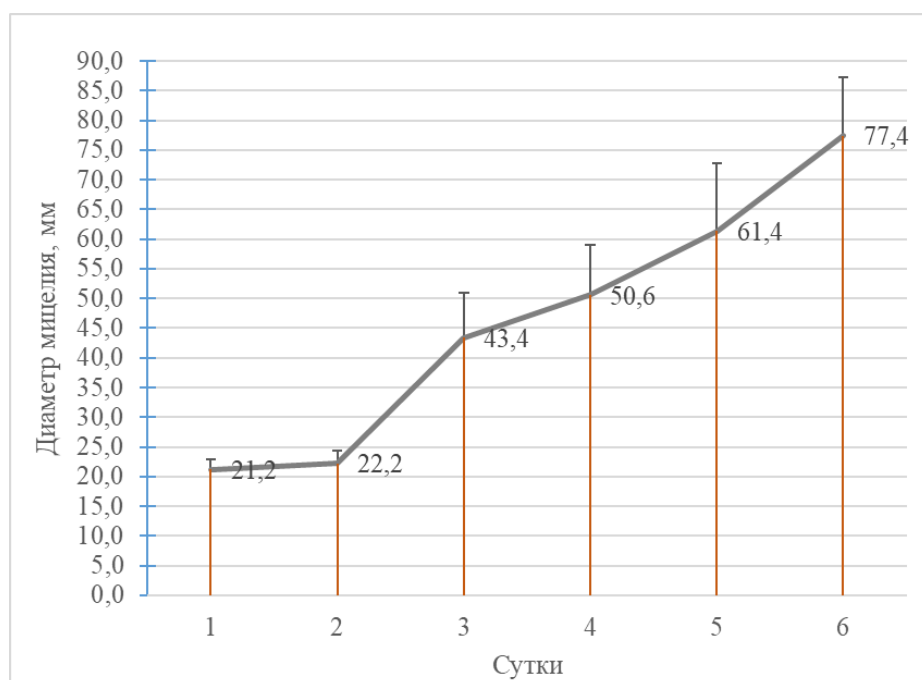


Рисунок 16 – График скорости роста Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на сыпучей питательной среде

Обобщая полученные результаты (Таблица 1), можно сделать заключение о том, что наибольшей скоростью роста на сыпучей питательной среде (пшеница+мел 2 %) обладает Розовая вешенка (14,3 мм/сутки).

Таблица 1 – Результаты измерения скорости роста штаммов на плотных и сыпучих питательных средах

Название штамма и питательной среды	Скорость роста (мм/сутки)		
	МА	КГА	сыпучая питательная среда
Розовая вешенка (<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959),	4,43	3	14,3
Трутовик лакированный (штамм 1) (<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P.Karst., 1881), МА	9	6,75	11,33

6 Получение экспериментальных образцов блоков

6.1 Получение квадратных блоков Трутовика лакированного (штамм 1)

Для получения квадратных блоков была использована культура Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на мальтозно-пептонном агаре. Этот штамм был выбран по результатам первого эксперимента по измерению скорости роста (на плотной питательной среде), где он показал наиболее быстрые темпы роста (9 мм/сутки).

Блоки квадратной формы были получены путем посева на сыпучую питательную среду. Было сделано три вида сыпучей питательной среды следующего состава:

- 1) Опилки березовые 100 %;
- 2) Отсев 100 %;
- 3) Смесь березовых опилок и отсева (1:1).

Среда была подготовлена и засеяна в соответствии с описанной в пункте 3.2 методикой культивирования на сыпучей питательной среде.

Подготовка формы для получения квадратных блоков: были взяты 3 аквариума стеклянных объемом по 4,5 литра каждый. Каждый аквариум обработали спиртом 70 %, после чего застелили дно пищевой пленкой и засыпали сыпучую питательную среду с посеянной на нее культурой. После этого аквариумы закрывались пищевой пленкой сверху и были оставлены для дальнейшего обрастания.

В течение всего времени обрастания субстрата мицелием производилась периодическая визуальная оценка (каждые 2-3 недели) роста мицелия. Отмечались такие изменения, как: прорастание мицелия в глубину субстрата и на поверхности, появление плесени на поверхности и в глубине и ее исчезновение, появление экссудата и любые другие изменения.

После полного прорастания мицелия как вглубь, так и на поверхности, кубы были извлечены из аквариумов. Далее их запекали при температуре 95 °С в течение 4 часов, после чего были извлечены, обернуты в пергамент и перенесены для дальнейшего остывания.

После полного остывания кубы были разрезаны пополам для визуальной оценки физических качеств (плотность обрастания мицелия, влажность, высота) и микроскопирования.

Качественная оценка:

- 1) опилки березовые 100% (Рисунок 17, 20 (2)): слегка влажный, плотный, мицелий пророс не через всю поверхность субстрата, в глубине слегка рыхлый, после разрезания не рассыпался;



Рисунок 17 – Экспериментальный образец блока кубического, березовые опилки 100 %, разрезан пополам

2) отсев 100 % (Рисунок 18, 20 (3)): снаружи плотный, внутри немного рыхлый, осыпается, влажный, самый низкий по высоте куб, мицелий пророс не через всю поверхность;



Рисунок 18 – Экспериментальный образец блока кубического, отсев 100 %, разрезан пополам

3) смесь березовых опилок и отсева (1:1) (Рисунок 19, 20 (1)): куб влажный, рыхлый, после разрезания рассыпался, мицелий пророс только местами, ближе к внешней поверхности куба.



Рисунок 19 – Экспериментальный образец блока кубического, смесь березовых опилок и отсева (1:1), разрезан пополам

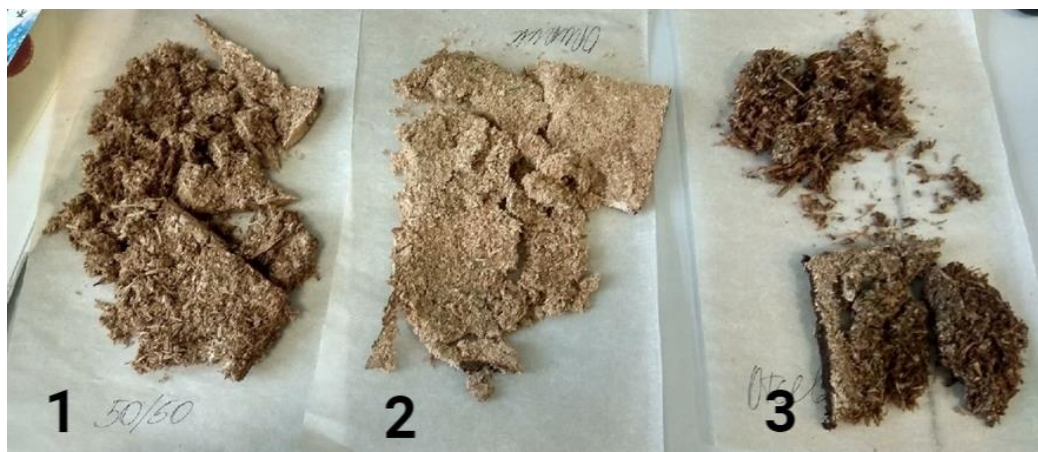


Рисунок 20 – Экспериментальные образцы блока кубического, срезы: 1 - смесь березовых опилок и отсева (1:1); 2 - березовые опилки 100%; 3 - отсев 100 %

Результаты микроскопирования:

- 1) отсев: мицелий редкий, в основном на стенках куба (Рисунок 21);



Рисунок 21 – Фрагмент мицелия Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881). Отсев 100 %

2) березовые опилки: мицелий плотный, практически по всей поверхности (Рисунок 22);



Рисунок 22 – Фрагмент мицелия Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881). Березовые опилки 100 %

3) смесь березовых опилок и отсева (1:1): мицелий плотный, расположен по всей поверхности отдельными островками (Рисунок 23).



Рисунок 23 – Фрагмент мицелия Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881). Смесь березовых опилок и отсева (1:1)

Таким образом, наиболее перспективными субстратами для получения блоков с помощью исследованного штамма Трутовика лакированного являются березовые опилки.

Однако также удовлетворительно себя проявил субстрат, состоящий из отсева 100%, так как верхние слои плотно обросли мицелием и куб после высушивания значительно потерял вес, а значит и влагу.

6.2 Получение брикетов

Для брикетов были использованы следующие штаммы грибов (Рисунок 24):

- Вешенка розовая (1 брикет);
- Трутовик лакированный (штамм 1) (2 брикета);
- Ежовик гребенчатый (2 брикета).

Субстрат для брикетов: березовые опилки (100 %).

Среда была подготовлена и засеяна в соответствии с описанной в пункте 3.2 методикой культивирования на сыпучей питательной среде.



Рисунок 24 – Брикеты на березовых опилках + мел 2 %

Качественная оценка:

- 1) Ежовик гребенчатый (*Hericium echinus* (Scop.) Pers., 1797) (Рисунок 25 (а,б): брикет мягкий, влажный на разломе, мицелий пророс не через всю поверхность;
- 2) Трутовик лакированный (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) (Рисунок 25 (в,г)): брикет плотный, сухой на разломе, не осыпается, разламывается с усилием (мицелий плотный);
- 3) Вешенка розовая (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) (Рисунок 25 (д)): брикет не плотный, зарос частями, осыпается.

Таким образом, для получения брикетов наиболее перспективным из исследованных штаммов является Трутовик лакированный (штамм 1).

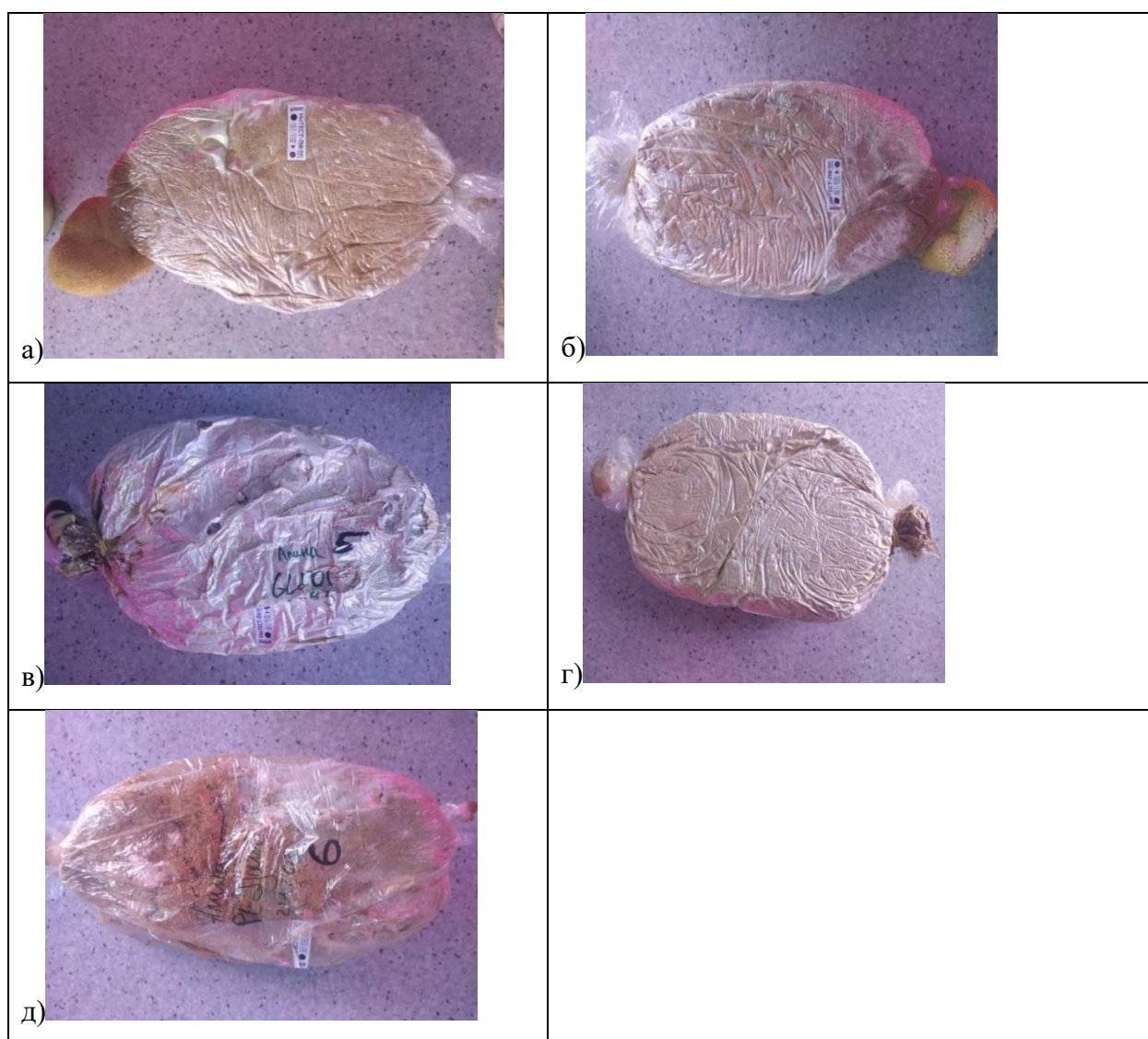


Рисунок 25 – Брикеты на березовых опилках + мел 2 %: а, б) Ежовик гребенчатый (*Hericium echinus* (Scop.) Pers., 1797); в, г) Трутовик лакированный (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881); д) Вешенка розовая (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959)

6.3 Получение итоговых образцов блоков Трутовика лакированного (штамм 1)

Для подготовки итоговых образцов была выбрана форма блока с высотой не более 10 сантиметров, длиной и шириной не более 25 сантиметров и субстрат, состоящий из соломы (фракция 3-5 сантиметров).

Подготовили зерновой мицелий в количестве 2,5 литров посадочного материала по вышеописанной методике. Использовался вид Трутовик лакированный. Время полного обрастания-10 дней.

Далее подготовили солому (фракция 3-5 сантиметров) объемом 20 литров, которая прошла подготовку и стерилизацию в пакетах для запекания путем автоклавирования (Рисунок 26).



Рисунок 26 – Солома после стерилизации

После стерилизации произвели контаминацию соломы подготовленным зерновым мицелием в стерильных условиях. На каждые 4 литра соломы – 0,5 литра зернового мицелия (Рисунок 27 (а, б)).

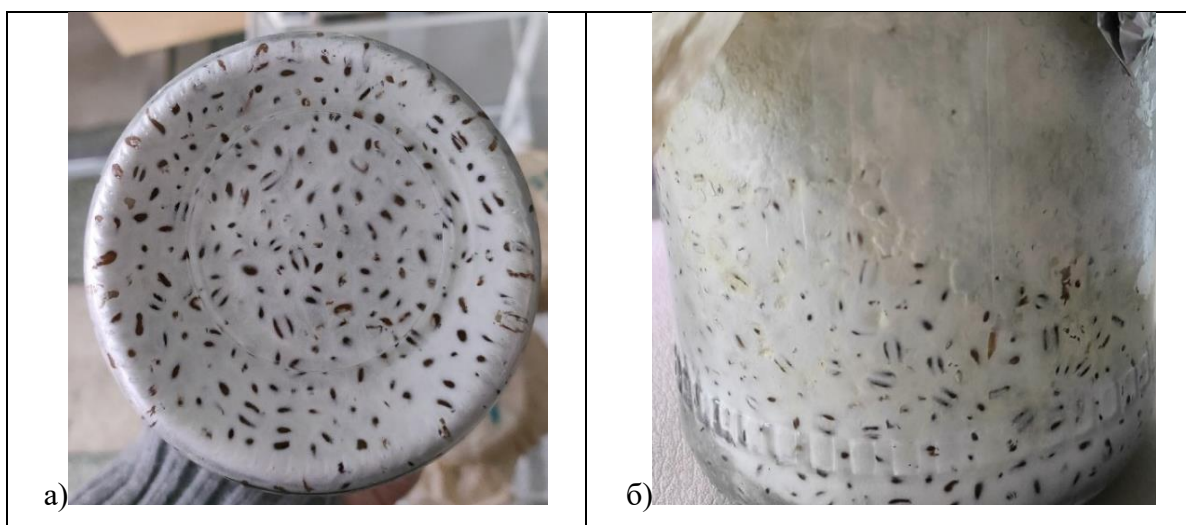


Рисунок 27– Зерновой мицелий Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis)

P.Karst., 1881): а) вид с нижней стороны банки; б) вид с боковой стороны банки

Поместили пакеты для запекания с соломой в деревянную форму, поделенную на три ячейки глубиной 40 сантиметров, общей длиной 130 сантиметров и шириной 25 сантиметров. Оставили в затененном помещении при комнатной температуре для обрастания и формовки (Рисунок 28 (а,б)). Срок выращивания: 3 недели.



Рисунок 28 – Форма для выращивания образцов материала: а) внешний вид ячейки для формирования блока; б) ячейки с помещенными в них пакетами с зерновым мицелием Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) и субстратом из солом

По истечении срока обрастания проводили измерения (Таблица 2) получившихся образцов, предварительно убедившись в отсутствии колоний плесневых грибов на поверхности. За длину принималась большая сторона, за ширину – меньшая. Измерения производились линейками с ценой деления и погрешностью 0,1 см.

Таблица 2 - Данные измерений образцов блоков Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания

Номер образца	Вес, г	Длина, см	Ширина, см	Высота, см
1	792,13	25	23	8
2	755,01	25	23	8
3	679,76	25	23	6
4	479,30	24	19	7
5	556,79	26	23	7

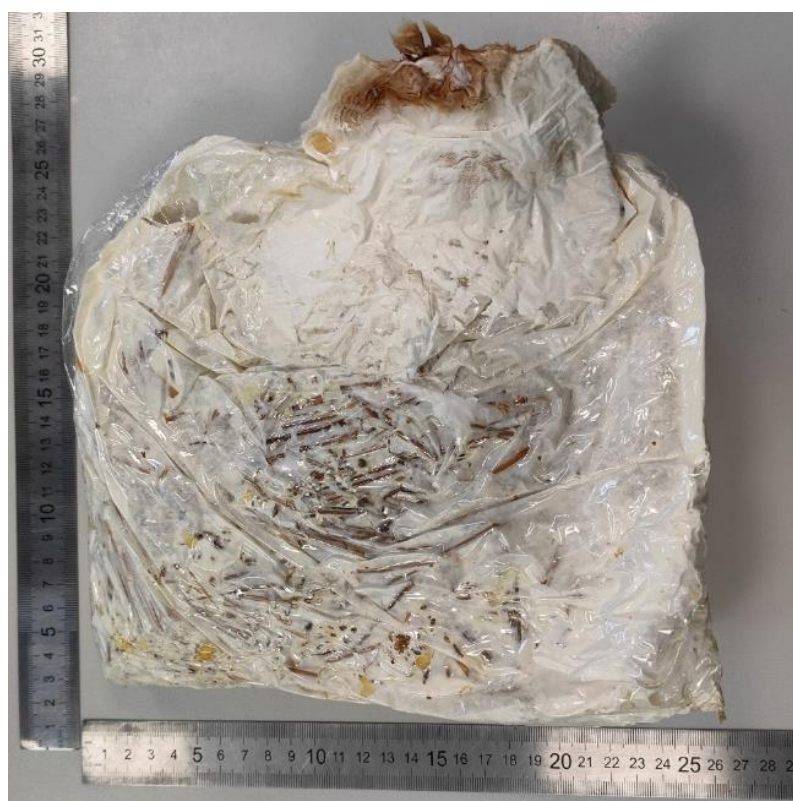


Рисунок 29 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания № 1

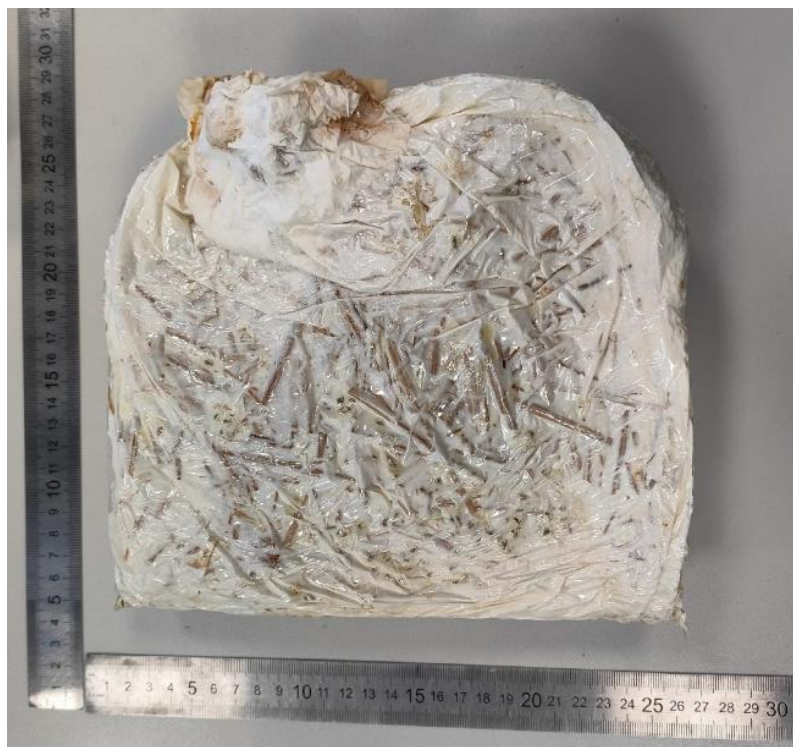


Рисунок 30 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания № 2

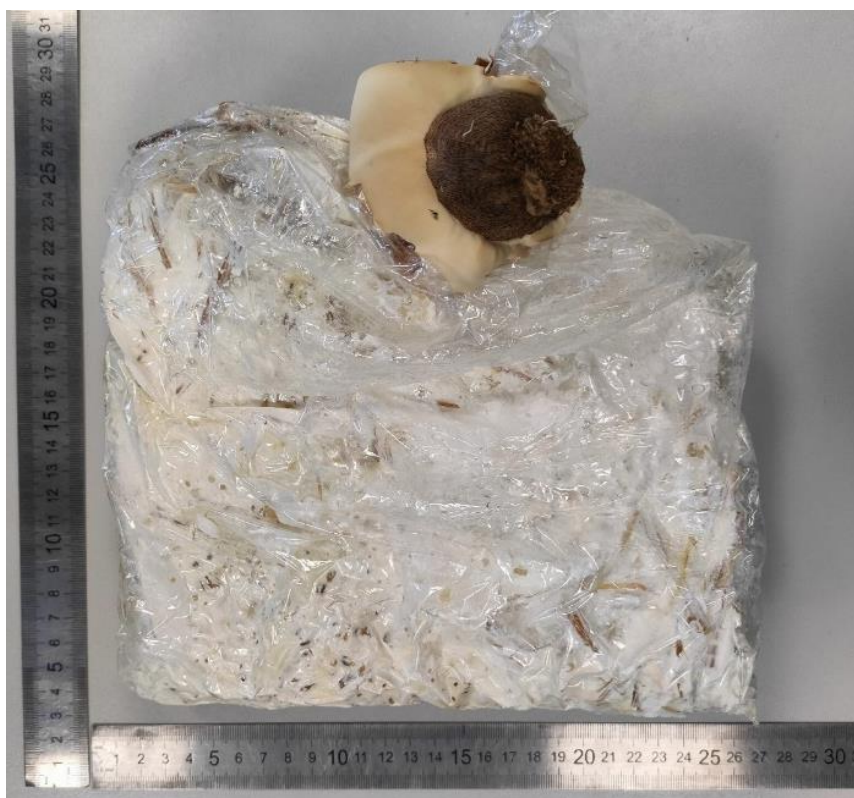


Рисунок 31 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания № 3



Рисунок 32 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания № 4



Рисунок 33 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы до запекания № 5

После измерения, образцы запекали при температуре 95 градусов Цельсия в течение 4 часов. Перед запеканием образцы достали из пакетов и промокнули марлей от лишней влаги. После запекания образцы оставили на просушивание в горизонтальном положении при комнатной температуре на неделю на подложке из пергаментной бумаги.

На двух из пяти образцов появились колонии плесневого гриба (рисунок 34). Все образцы были обработаны 70 % спиртом при помощи пульверизатора. Два блока, пораженных плесневым грибом, повторно запекали в течении еще 4 часов. Образцы снова поместили на чистую подложку из пекарской бумаги, поставив на ребро (таким образом пласты приняли вертикальное положение) (Рисунок 35) и оставили на просушивание при комнатной температуре на неделю.



Рисунок 34 – Колонии плесневого гриба на образцах после высушивания при комнатной температуре



Рисунок 35 – Образцы в вертикальном положении на просушивании при комнатной температуре

После полного просушивания убедились в отсутствии заражения материала плесневым грибом и произвели повторное измерение образцов (Таблица 3), а также рассчитали плотность по формуле:

$$P=m/V \quad (2)$$

, где P-плотность, г/см³; m-масса, г; V-объем, см³.

Процент потери влаги считали по формуле:

$$\text{Потеря влаги} = (1-(m_2/m_1))*100\% \quad (3)$$

, где m₁ – масса блока до высушивания, г; m₂ – масса блока после высушивания, г.

Таблица 3 - Данные измерений образцов блоков Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания и высушивания

Номер образца	Вес, г	Длина, см	Ширина, см	Высота, см	Плотность, г/см ³	Потеря влаги, %
1	307,32	23,0	20,0	8,0	0,084	61,20
2	279,13	22,0	20,0	5,5	0,115	63,02
3	228,58	20,0	23,0	6,5	0,076	66,37
4	134,88	22,5	15,0	7	0,057	71,85
5	162,90	21,0	17,5	5,5	0,081	70,74

Таким образом потеря влаги при высушивании в среднем составила 66,64 %.

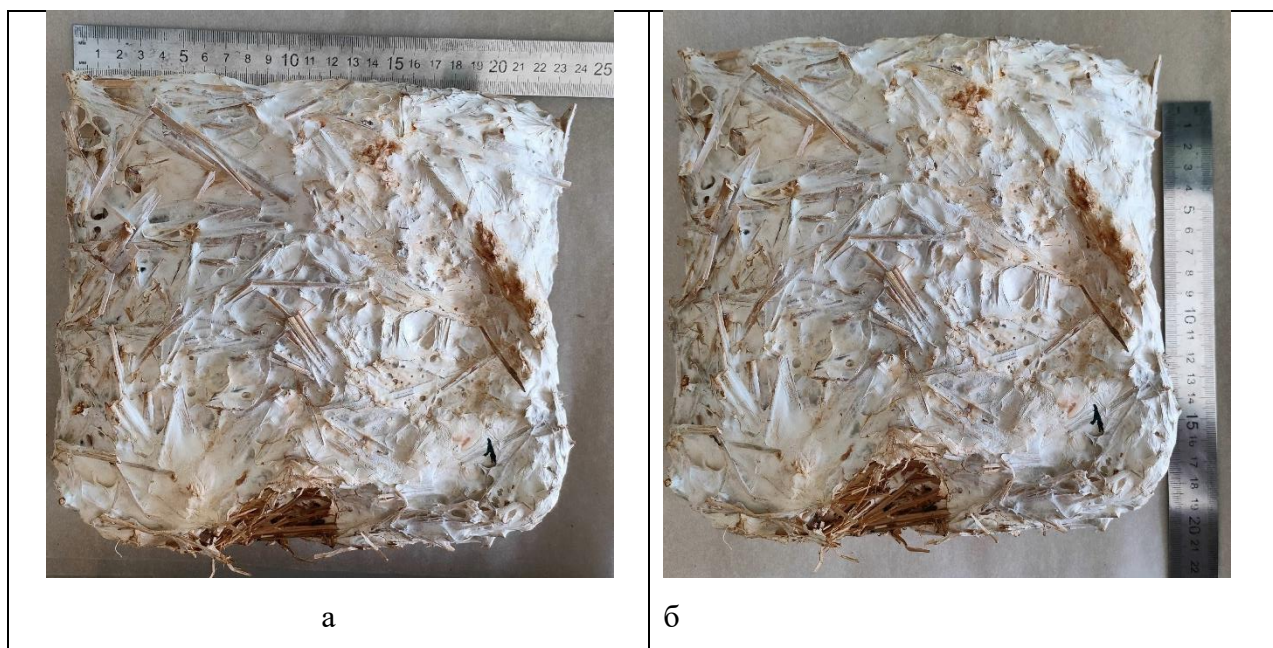


Рисунок 36 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания №1: а – длина; б – ширина.

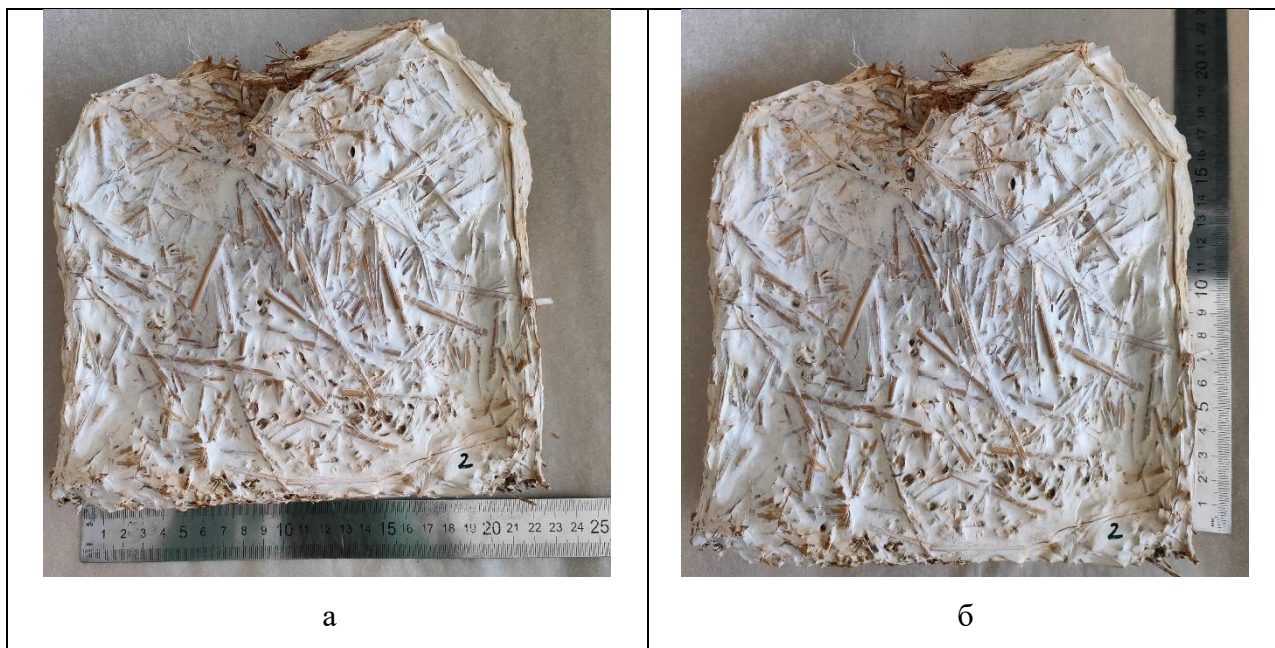


Рисунок 37 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания № 2: а – длина; б – ширина.



Рисунок 38 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания № 3: а – длина; б – ширина.



Рисунок 39 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания № 4: а – длина; б – ширина.

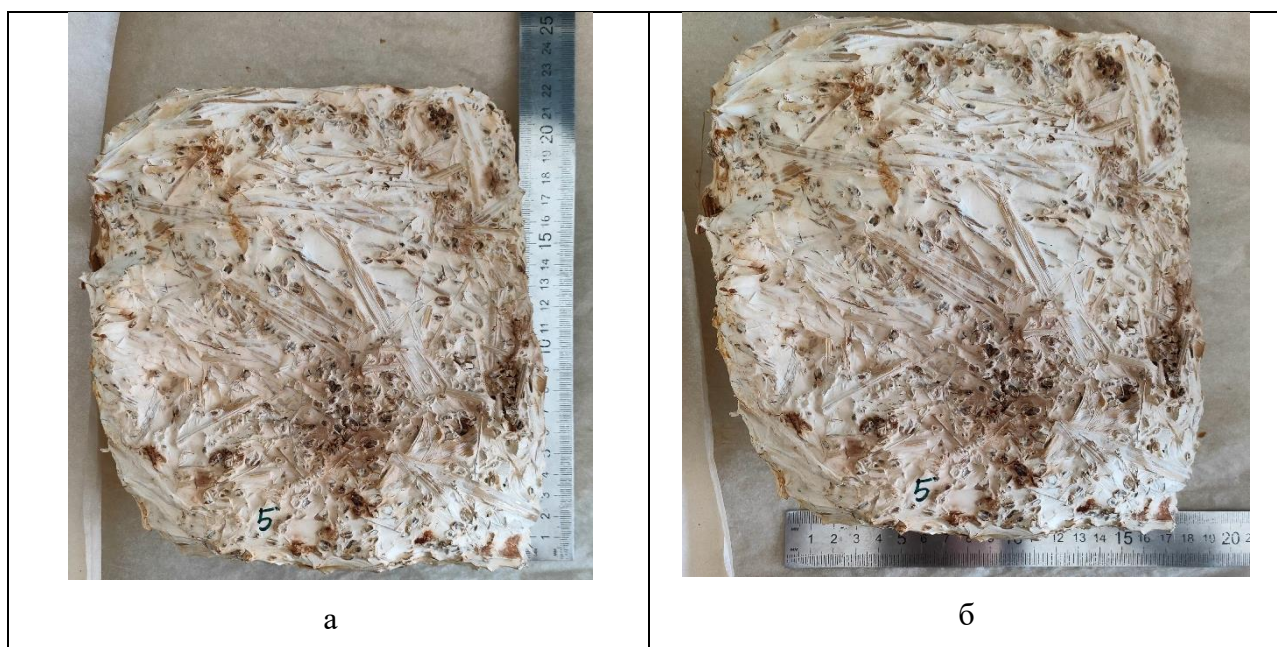


Рисунок 40 – Измерение образца блока Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на субстрате из соломы после запекания № 5: а – длина; б – ширина.

Далее был отделен фрагмент одного из блоков длиной и шириной около 5 сантиметров, высотой 6 сантиметров. Данный фрагмент был рассмотрен под микроскопом.

В результате микроскопирования не было обнаружено колоний плесневых грибов, мицелий плотно покрыл фракцию соломы (Рисунок 41, 42), признаков гниения и образования плодовых тел обнаружено не было.

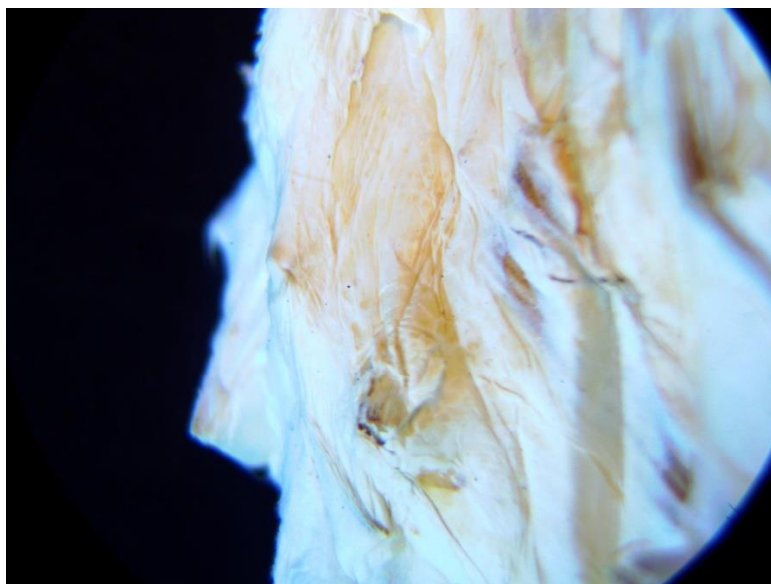


Рисунок 41 – Фрагмент мицелия Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881), внешняя поверхность среза



Рисунок 42 – Фрагмент мицелия Трутовика лакированного (штамм 1) (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881), внутренняя часть среза

ВЫВОДЫ

1. Для культивирования ксилотрофных грибов (*Pleurotus eryngii*, *Pleurotus djamor*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium echinus*) использовали плотные (картофельный агар и мальтозно-пептонный агар) и сыпучие (пшеница в смеси с мелом, березовые опилки, отсев и смесь березовых опилок и отсева 1:1) питательные среды. Для дальнейших исследований отобраны штаммы с наиболее активным ростом и наибольшей плотностью мицелия, а именно Вешенка розовая (*Pleurotus djamor*) и Трутовик лакированный (*Ganoderma lucidum*)).

2. Определены скорости роста для штаммов Розовой вешенки (*Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959) и Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на различных питательных средах. Наиболее высокой скоростью роста на мальтозно-пептонном и картофельном агаре обладает Трутовик лакированный (9 мм/сутки и 6,75 мм/сутки, соответственно), на сыпучей питательной среде – Вешенка розовая (14,3 мм/сутки).

3. Получены экспериментальные образцы блоков из мицелия Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на основе трех разных субстратов (березовые опилки, отсев, смесь березовых опилок и отсева) и проведена качественная оценка прорастания мицелия.

4. Наиболее подходящими по характеристикам для строительного материала оказались образцы блоков на субстратах из отсева и березовых опилок.

5. Итоговые образцы блоков получены и из мицелия Трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., 1881) на основе субстрата из соломы (фракция 3 – 5 сантиметров) и проведена качественная оценка прорастания мицелия. Степень обрастания была приближена к 100 % благодаря уменьшению высоты блока, по сравнению с ранее полученными экспериментальными образцами из березовых опилок и выбору материала в пользу соломы (фракция 3 – 5 сантиметров). В результате микроскопирования поражения колониями плесневых грибов обнаружено не было, плотность обрастания фракции соломы удовлетворительна. После запекания и высушивания не было обнаружено признаков разложения субстрата и образования плодовых тел, в связи с чем можно сделать вывод об эффективности данного метода обработки материала.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Благовещенская Е. Ю. Микологические исследования. Основы лабораторной техники / Е. Ю. Благовещенская; Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет. - Москва: URSS, 2017. - 89 с.
- 2) Бурова Л. Г. Загадочный мир грибов/Отв. ред. МВ Горленко; АН СССР. – 1991.
- 3) Гусев М. В. Микробиология: Учебник для студентов биологических специальностей университетов / М.В. Гусев - 3-е изд. - М.: Издательство Московского университета, 1992. - 448 с.: ил.
- 4) Г.В. Ильина, Д.Ю. Ильин Ксилотрофные базидиомицеты в чистой культуре: монография / Г.В. Ильина, Д.Ю. Ильин - Пенза: РИО ПГСХА, 2013 – 222 с.
- 5) Мухин В. А. Дереворазрушающие грибы—современная экологическая парадигма //Биоразнообразие и экология грибов и грибоподобных организмов северной Евразии.—Екатеринбург, 2015. – 2015. – С. 170-173.
- 6) Сычев П. А. Экофизиология высших грибов //Донецк: Кассиопея. – 2000. – С. 276.
- 7) Практикум по микробиологии: руководство к лабораторным занятиям / Д.В. Анциферов, Д.А. Ивасенко, О.В. Карначук, Ю.А. Франк. Томск: Издательство "Дельтаплан", 2017. 52 с.
- 8) Carlile, M. J., Watkinson, S. C., Gooday G. W. The Fungi. – 1994.
- 9) Deacon J. W. Introduction to Modern Mycology. JF Wilkinson, ed. – 1980.
- 10) Gumińska B., Wojewoda W. Grzyby i ich oznaczanie. – Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, – 1985.
- 11) Islam M. R. et al. Morphology and mechanics of fungal mycelium //Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 1-12.
- 12) Hasan M. T. et al. Effect of wheat bran supplement with sugarcane bagasse on growth, yield and proximate composition of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) //American Journal of Food Science and Technology. – 2015. – Т. 3. – №. 6. – С. 150-157.
- 13) Holt G. A. et al. Fungal mycelium and cotton plant materials in the manufacture of biodegradable molded packaging material: Evaluation study of select blends of cotton byproducts //Journal of Biobased Materials and Bioenergy. – 2012. – Т. 6. – №. 4. – С. 431-439.
- 14) Jiang L. et al. A new approach to manufacturing biocomposite sandwich structures: Mycelium-based cores //International Manufacturing Science and Engineering Conference. – American Society of Mechanical Engineers, 2016. – Т. 49897. – С. V001T02A025.

- 15) Jones M. et al. Mycelium composites: a review of engineering characteristics and growth kinetics //Journal of Bionanoscience. – 2017. – Т. 11. – №. 4. – С. 241-257.
- 16) Karana E. et al. When the material grows: A case study on designing (with) mycelium-based materials //International Journal of Design. – 2018. – Т. 12. – №. 2.
- 17) Kavanagh K. (ed.). Fungi: biology and applications. – John Wiley & Sons, 2017.
- 18) Upton R. American herbal pharmacopeia and therapeutic compendium: reishi mushroom, ganoderma lucidum //Standards of Analysis, Quality Control, and Therapeutics. USA Canada: Santa Cruz. – 2000. – С. 405-407.
- 19) Pelkmans J. F., Lugones L. G., Wösten H. A. B. 15 Fruiting Body Formation in Basidiomycetes //Growth, differentiation and sexuality. – Springer, Cham, 2016. – С. 387-405.
- 20) Xing Y. et al. Growing and testing mycelium bricks as building insulation materials //IOP conference series: earth and environmental science. – IOP Publishing, 2018. – Т. 121. – №. 2. – С. 022032.
- 21) Zervakis G. et al. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates //Folia microbiologica. – 2001. – Т. 46. – С. 231-234.
- 22) Company New Heroes. Company New Heroes, 2019. Project, the growing pavilion; 2019. // URL: <https://companynewheroes.com/project/the-growing-pavilion/> (дата обращения: 17.05.2022)
- 23) Terreform ONE, New Lab. Project, Mycoform, 2016. // URL: <https://www.terreform.org/mycoform> (дата обращения: 17.05.2022)

СПРАВКА

Томский Государственный Университет

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

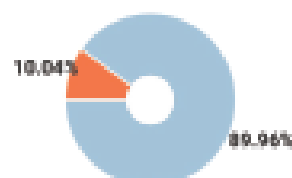
ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Мостовая Алина Константиновна
Самоцитирование
рассчитано для: Мостовая Алина Константиновна
Название работы: ВКР_МостоваяАК
Тип работы: Не указано
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

совпадения	10.04%
оригинальность	89.96%
цитирования	0%
самоцитирования	0%

дата последней проверки: 06.06.2023



Структура
документа:

Проверенные разделы: основная часть с.3-42

Модули поиска:

ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЗБС; Интернет Плюс*; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по коллекции Гарант; аналитика; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Переводные заимствования издательства Wiley; eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; аналитика; СПС ГАРАНТ; нормативно-правовая документация; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ; аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Перефразирования по коллекции

Работу проверил: Большакова Наталья Павловна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.