

УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА ПЕНЗЫ  
МУНИЦИПАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
СРЕДНЯЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ШКОЛА №47

«ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИЕ ГРИБЫ, БАЗИДИОМИЦЕТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В  
БИОТЕХНОЛОГИИ»

научная работа

Выполнил: ученик 10 А класса  
МБОУ СОШ №47 г. Пензы  
Ширяев Кирилл Александрович

Руководитель:  
Миронова Анна Андреевна

**Пенза**  
**2023 г.**

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>3</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Общая характеристика дереворазрушающих грибов</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Вешенка обыкновенная (<i>Pleurotus ostreatus</i>) и шиитаке (<i>Lentinula edodes</i>)</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Практическое применение дереворазрушающих грибов и их ферментов в биотехнологии</b>	<b>6</b>
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	<b>8</b>
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	<b>9</b>
<b>3.1. Практический опыт использования ферментов грибов-ксилотрофов</b>	<b>9</b>
<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>12</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>13</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

Грибы всегда вызывали интерес человека загадочностью своей природы. Их плодовые тела несущие миллиарды спор, появляются на почве, на деревьях, на травянистых растениях, включая культуры [1]. Они относятся к третьему царству природы Fungi или Mucota.

Основную роль в разложении и гумификации древесины безусловно играют различные грибы-ксилотрофы. На их долю приходится более 90% разлагаемой древесины. Несмотря на то, что бактерии обладают широким набором ферментов: целлюлаз, гемицеллюлаз и пектиназ, они в очень ограниченной степени разлагают лигнин [3].

Благодаря мощной внеклеточной ферментативной системе грибов-ксилотрофов (дереворазрушающих грибов) позволяют им утилизировать трудноразрушаемые полимеры клеточных стенок древесины вплоть до полного разложения. Это стимулирует интерес к их интенсивным исследованиям [4,11]. Традиционно ксилотрофы рассматриваются как источники разнообразных ферментов для трансформации древесины.

Выращивание ксилотрофов на лигноцеллюлозных отходах можно получать не только дополнительный источник белка, но и ценные компоненты для медицины, получаемые из плодовых тел, мицелия (полисахариды, стерины). При этом решается проблема загрязнения окружающей среды.

В связи с этим, была поставлена **цель** – рассмотреть представителей ксилотрофных базидиальных грибов, и их применение в промышленности.

Основные **задачи** исследования:

1. Изучить сведения о ксилотрофных грибах
2. Изучить представителей отдела Базидиомицеты
3. Изучить варианты их использования в биотехнологии
4. Провести практический опыт использования ферментов грибов-ксилотрофов

**Гипотеза исследования** - грибы-ксилотрофы имеют большое количество вариантов использования в биотехнологии. В том числе их можно использовать в сыроделии, заменив ими более дорогой аналог.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Общая характеристика дереворазрушающих грибов

На древесину в процессе эксплуатации воздействует целый ряд факторов окружающей среды, приводя к ее старению и разрушению. Среди них: климатические (УФ - излучение, влажность, ветровые нагрузки, кислород воздуха) и биологические (грибные поражения, поражения насекомыми, бактериями, водорослями). Процесс деструкции заложен самой природой для поддержания экологического равновесия, поэтому в естественных условиях древесина, с течением времени, разрушается до углекислого газа и воды. [4,13]. Грибы приспособлены к существованию в порах плотного субстрата, бедного питательными веществами, но содержащие трудноусваиваемые источники углерода - лигнин и кристаллическая целлюлоза [3].

Благодаря мощной внеклеточной ферментативной системе они утилизируют трудноразрушаемые полимеры клеточных стенок древесины вплоть до полного разложения. Традиционно ксилотрофы рассматриваются как источники разнообразных ферментов для трансформации древесины.

Грибы, развивающиеся на древесине (ксилофилы, ксилотрофы), практически все принадлежат к трем классам высших грибов, имеющие разделенные на клетки (септированные) гифы. Это аскомицеты (*Ascomycetes*, сумчатые грибы), дейтеромицеты или несовершенные грибы (*Deuteromycetes, Fungi imperfecti*), и базидиомицеты (*Basidiomycetes*) - наиболее сильные разрушители [1,2].

К экологической группе дереворазрушающих базидиомицетов относятся грибы отдела *Basidiomycota*, которые растут на древесине и используют ее в качестве питательного субстрата. Отличительной особенностью дереворазрушающих базидиомицетов является то, что они способны разрушать основные компоненты древесины: целлюлозу и лигнин. На основании этого дереворазрушающие базидиомицеты принято рассматривать в качестве главных дереворазрушителей, от деятельности которых зависит скорость разложения древесины, и которым поэтому принадлежит ключевая роль в круговороте веществ и потоке энергии в лесных экосистемах[9].

Дереворазрушающие грибы способны увлажнять древесину в процессе освоения за счет воды, образующейся при разложении целлюлозы. Возбудители биоповреждений древесины, относятся в основном к следующим группам грибов: *Coniophora, Tyromyces*,

*Zentinus, Serpula, Gloeophyllum, Trametes, Pleurotus, Schizophyllum* [5].

Способность грибов разрушать лигниновый компонент древесины известна давно. Наиболее активными деструкторами лигнина в природе являются грибы белой гнили. Так как в качестве лигнинолитиков изучены преимущественно базидиомицеты, то в узком смысле под грибами белой гнили обычно понимают лигнинолитические базидиомицеты. Наиболее подробно изучены *траметис разноцветный* и *вешенка обыкновенная*. [3,5]

## **1.2. Вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) и шиитаке (*Lentinula edodes*)**

Вёшенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) является самым культивируемым представителем рода вёшенок. Она чрезвычайно удобна для культивации из за своей неприхотливости к климатическим условиям и живучего мицелия, пригодного для хранения.

Это довольно крупный гриб. Шляпка имеет диаметр 5—15 (30) см, мясистая, сплошная, округлая, с тонким краем; форма уховидная. Цвет шляпки изменчивый, меняясь от тёмно-серого или буроватого до пепельно-серого с фиолетовым оттенком, а с течением времени выцветая до беловатого, сероватого или жёлтоватого. Ножка короткая (иногда практически незаметная), плотная. У старых грибов ножка становится очень жёсткой. Споровый порошок белый или розоватый. Вкус описывается как приятный, с привкусом аниса, благодаря присутствию бензальдегида. Гриб идеально распространённый в умеренной климатической зоне Северного полушария, от субтропиков до полярного круга.[2]

Шиитаке (*Lentinula edodes*) – один из самых культивируемых грибов в мире. Кроме лечебных целей, он широко используется в кулинарии. Шляпка в диаметре 5—20 см полусферической формы, выпуклая, уплощается по мере созревания. Окраска шляпки гриба тёмно-коричневая, светлеет по мере созревании. Края шляпки ровные, часто бывают волнистыми у зрелых грибов. Пластинки белого цвета, ровные. У зрелых грибов пластинки при повреждении приобретают коричневатый цвет. У молодых грибов пластинки защищены покрывалом — тонкой мембраной, распространяющейся от ножки до краёв шляпки. Во время периода созревания покрывало разрывается, а его остатки имеют вид бахромки по краям шляпки и на ножке. Ножка волокнистая, центральная либо несколько эксцентрическая. Мякоть плодового тела весьма толстая в середине шляпки, но несколько истончается к краям. При повреждениях мякоть коричневеет. В ножке мякоть волокнистая, белого цвета, у созревших — коричневого цвета, у перезрелых — тёмно коричневого цвета,

почти чёрная. Споры белые, размером 3х6 мкм, эллипсоидные или яйцевидные. Вид широко распространён в Японии, Китае, Корее и других странах Юго-Восточной Азии. [2]

### **1.3. Практическое применение дереворазрушающих грибов и их ферментов в биотехнологии**

Люди давно и широко используют грибы как продукт питания. Грибы богаты белками: в их сухом веществе 20-30% приходится на долю чистого белка. В них содержатся жиры, минеральные вещества, микроэлементы. К последним относят железо, кальций, цинк, йод, калий, фосфор.

В промышленных масштабах выращивают около 10 видов грибов, среди них такие как *вешенка обыкновенная*, *шиитаки*, и др. Грибы богаты витаминами и каротиноидами, содержат немного жиров и углеводов. Некоторые виды используются как продуценты биологически активных веществ, антибиотиков, ферментов [8,14,15].

Протеолитические ферменты базидиомицетов давно и успешно применяются в пищевой промышленности. Например, из культур *Ирпекса молочно-белого*, *Трутовика окаймленного* и *Сыроежки светло-желтой*, выделены и используются в сыроделии ферменты, заменяющие сычужный фермент. Также является перспективным использование протеиназы плодовых тел *вешенки обыкновенной* [8]. Сыроежка красная содержит фермент, способствующий свертыванию молока. [2, 8].

Инженерное воплощение получили биопластики, для склеивания которых используют культуральную среду гриба.

Еще одно применение дереворазрушающие грибы получили в бумажно-целлюлозной промышленности. Концепция применения биологических препаратов на основе дереворазрушающих грибов для улучшения качества древесных полуфабрикатов эксплуатируется в коммерческих целях уже более десяти лет. [7].

Из грибов выделяется фермент - лигнинпероксидаза, применяющаяся при делигнификации древесины и получение альтернативного источника топлива, а так же она используется для размягчения и отбеливания целлюлозы в бумажной индустрии, для удаления стойких органических соединений, при полимеризации в индустрии полимеров [7].

Большое значение имеет получение из грибов, биологически активных веществ - витаминов, ферментов, антиоксидантов, жирных кислот и аминокислот, микроэлементов и

др. Доказана возможность применения отходов пищевой промышленности для выращивания базидиомицетов, при этом не теряют их полезные свойства [14].

Также созданы активные комплекс грибных ферментов целлюлолитического и гемицеллюлазного действия, которые обеспечивают более глубокую степень мацерации растительной ткани при производстве вин. [6].

В настоящее время выращивают мицелий *вешенки* в глубинной культуре на средах с бумагой, древесиной дуба, кукурузными кочерыжками либо веточками от виноградных гроздьев. Для развития дереворазрушающих базидиомицетов в глубинной культуре можно использовать отходы растениеводства и животноводства: меласса, растительные отвары, молочная сыворотка, концентрат клеточного сока картофеля, водный экстракт солодки, растительное масло. Что значительно делает процесс экономически выгодным и позволяет утилизировать отходы производств [14].

В последнее десятилетие ферменты грибов-целлюлазы стали широко использоваться в текстильной промышленности, где они применяются для удаления ворсинок и микродефектов при биополировке хлопчатобумажных тканей. [6].

В настоящее время используемые кормовые ферменты на основе грибных целлюлаз для предварительной обработке сырья. [8].

Высшие базидиальные грибы служат источником биологически активных веществ, что их выдвигает на первый план в качестве дешевого сырья для получения фармакологически ценных компонентов [2, 14]. Гетерополисахариды и хитин-глюкановый комплекс *трутовика плоского*, *опенка зимнего*, *трутовика настоящего* обладают выраженным иммуностимулирующим эффектом [10]. Экстракты *полёвки (агроцибе) цилиндрической*, *ишитааки*, *трутовика серно-желтого* проявляют противоопухолевой активностью. Создаются различные композиции на основе экстрактов из плодовых тел, мицелия. Препарат Микотон на основе гриба *трутовик настоящий* проявляет активность к широкому спектру заболеваний [1,16].

Препараты из чаги - стерильная форма *трутовика ложного*, увеличивает сопротивляемость раку и используются для лечения язвенной болезни, гастритов и других желудочно-кишечных заболеваний. Вытяжки из плодовых тел некоторых видов маразмисусов (негниючников) подавляют рост туберкулезной палочки [16]. Показано что экстракт гриба *вешенки обыкновенной* обладает выраженной противовоспалительной активностью [1].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования эффективности ферментов ксилотрофных грибов базидиомицетов был проведен экспериментальный опыт.

Мы решили проверить действие протеиназы плодовых тел *вешенки обыкновенной* - фермента из группы пентидгидролаз, расщепляющие белок до пептидов, на казеин.

В качестве объекта для исследования мы взяли плодовые тела *вешенки обыкновенной*, приготовили водный экстракт и провели опыт по свертыванию белка молока. Выбор объекта обусловлен его широкой распространенностью.

Так же мы использовали метод сравнения, мы сравнили воздействие на белок казеин фермента из экстракта *вешенки обыкновенной* и сычужного фермента.

Работа выполнена на базе кафедры Общей биологии и биохимии Пензенского государственного университета (г.Пенза, ул. Красная, 40).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Практический опыт использования ферментов грибов-ксилотрофов

Коагуляция (свертывание) казеинов под действием сычужных ферментов является ключевым моментом при получении сыров и творога.

В связи с дефицитом сычужного фермента, и а также его высокой стоимостью и сложностью производства, стали широко использовать ферменты, близкие по своему действию к сычужному [12].

В качестве объекта для исследования мы взяли водный экстракт плодовых тел грибов *вешенки обыкновенной* и провели опыт по свертыванию белка молока. Выбор объекта обусловлен его широкой распространенностью в магазинах города. Опыт проводился на базе кафедры «Общая биология и биохимия» Пензенского государственного университета, потому проблемы с реактивами не возникло.

Водный экстракт готовится просто. плодовое тело гриба измельчили и залили дистиллированной водой и настаивали в течении суток.

Для своего опыта мы опирались на методику Пятницкого.

Использовали следующее оборудование и реактивы: пробирки; секундомер, баня водяная; смесь молочно-ацетатная; экстракт гриба.

Приготовили молочно-ацетатную смесь, для этого свежее цельное молоко смешивают пополам с ацетатным буфером при  $pH = 4,9$ . Приготовление ацетатного буфера: готовят два раствора - ацетат натрия (0,2 н) и уксусную кислоту (0,2 н); смешивают 480 мл 0,2 н раствора  $CH_3COONa$  и 520 мл 0,2 н раствора  $CH_3COOH$ , проверяют  $pH$  буфера ( $pH = 4,8-4,9$ ).

Далее в одну пробирку поместили 1 мл экстракт гриба, в другую - 1 мл молочно-ацетатной смеси (рис. 1). Обе пробирки поместили в водяную баню, нагрели примерно до  $25\text{ }^{\circ}C$  на 5 мин. Быстро перелили молочно-ацетатную смесь в пробирку с экстрактом. Пробирку встряхивали, оставляют в водяной бане, наклоняют ее и следили за появлением на ее стенках первых хлопьев казеина (рис.2). Это свидетельствует о коагуляции белка казеина.

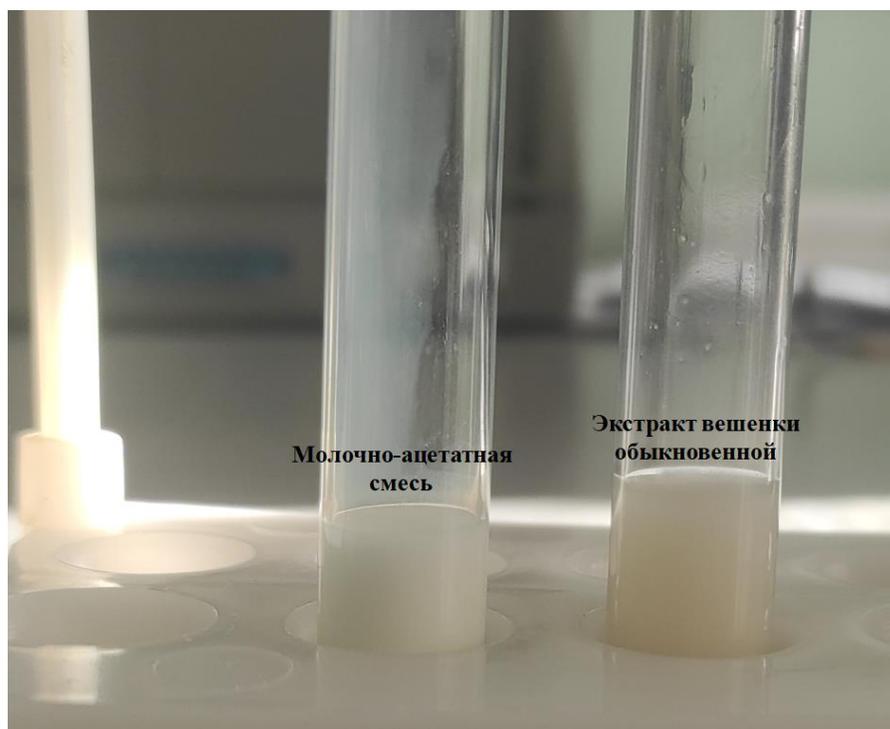


Рис.1. Ход опыта



Рис.2. Результат опыта

После удачного опыта по сворачиванию белка, мы решили сравнить скорость сворачивания белка при добавлении двух различных коагулянтов: сычужного фермента,

который используется в молочной промышленности, при изготовлении сыров, творога и др., а так же экстракта гриба (рис. 3). Проведя тот же опыт в двух вариациях и с замером скорости выпадения хлопьев.

Опыт проводился так же как в первом случае. Результат показал, что скорость коагуляции примерно равна (45 - 50 сек.) в обоих случаях. Потому мы решили, что ферменты грибов-ксилотрофов действительно могут иметь преимущества в биотехнологии.



Рис 3. Сравнение действия двух коагулянтов

## ВЫВОДЫ:

1. Грибы, развивающиеся на древесине (ксилофилы, ксилотрофы), практически все принадлежат к трем классам высших грибов. Это аскомицеты, дейтеромицеты и базидиомицеты, последние - наиболее сильные разрушители древесины.

2. Вёшенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) и Шиитаке (*Lentinula edodes*) – одни из самых культивируемых грибов в мире, не только потребляются в пищу, но и активно применяются различных отраслях промышленности: переработка отходов пищевой промышленности, сыроварении, фармакопеи и др.

3. Ксилотрофные базидиомицеты широко используются в биотехнологии. Некоторые виды используются как продуценты биологически активных веществ, антибиотиков, ферментов. Протеолитические ферменты базидиомицетов давно и успешно применяются в пищевой промышленности. Так же применяются в бумажно-целлюлозной промышленности. Для развития дереворазрушающих базидиомицетов в глубинной культуре можно использовать отходы растениеводства и животноводства, что позволяет утилизировать отходы производств. В последнее десятилетие ферменты грибов-целлюлазы стали широко использоваться в текстильной промышленности. Высшие базидиальные грибы служат источником биологически активных веществ, что их выдвигает на первый план в качестве дешевого сырья для получения фармакологически ценных компонентов.

4. В ходе лабораторного опыта было установлено, что фермент протеиназа содержащийся в плодовых телах вешенки обыкновенной может воздействовать на белок казеин содержащийся в молоке и приводит к коагуляции. Так же мы установили, что действие фермента гриба сопоставимо с действием сычужного фермента, который обычно применяется в молочной промышленности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авагян И.А. Противовоспалительная активность экстракта культуры гриба *P1. Ostreatus* / И.А. Авагян, С.Г. Нанагюлян, М.Г. Баласян, А.Г. Жамгарян // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – №1. – С. 236.
2. Атлас грибов [Электронный ресурс]: <https://atlasgribov.ru>
3. Гарибова Л.В. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов: учеб. пособие / Л.В. Гарибова, С.Н. Лекомцева. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 224 с.
4. Даниляк Н.И. Ферментные системы высших базидиомицетов / Н.И. Даниляк, В.Д. Семичаевский, Л.Г. Дудченко, И.А. Трутнева; под ред. Н.И. Даниляк. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 280 с.
5. Евтушенков А.Н. Введение в биотехнологию: курс лекций / А.Н. Евтушенков, Ю.К. Фомичев. – Минск.: Изд-во БГУ, 2002. – 105 с.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии: учеб. пособие / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина; под ред. Т.А. Егоровой. – 2-е изд. стер. – М.: Академия, 2005. – 208 с.
7. Загоскина Н.В. Биотехнология: теория и практика : учеб. пособие / Н.В. Загоскина, Л.В. Назаренко, Е.А. Калашникова, Е.А. Живухина; под ред. Н.В. Загоскиной. – М.: Оникс, 2009. – 496 с.
8. Заикина Н.В. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие для студ. обуч. по напр. Биология / Н.В. Заикина. – М.: Проспект науки, 2007. – 336 с.
9. Кожемякина Н.В. Иммуностимулирующая активность мицелия некоторых базидиомицетов / Н.В. Кожемякина, Е.П. Ананьева, С.В. Гурина // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – №1. – С. 253-254.
10. Кутафьева Н.П. Морфология грибов: учеб. пособие для студ. вузов, общ. по спец. Биология: доп. М-вом образцов. Р.Ф. / Н.П. Кутафьева. - 2-е изд. исп. и доп. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2003. - 215 с.
11. Лебедева Г.В. Очистка и характеристика молокосвертывающих ферментов вешенки обыкновенной / Г.В. Лебедева, М.Т. Проскуряков // Прикладная

- биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, №6. – С. 690-692.
12. Лукаткин А.С. Биология с основами экологии: учеб. для студ. высш. учеб. заведений / А.С. Лукаткин, А.Б. Ручин, Т.Б. Силаев; под ред. проф. А.С. Лукаткина. – М.: Академия, 2008. – 398 с.
  13. Морозов А.И. Современное промышленное грибоводство / А.И. Морозов. – М.: АСТ, Сталкер, 2007. – 224 с.
  14. Рабинович М.Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов: В 2 кн., Кн. I Древесина и разрушающие ее грибы. / М.Л. Рабинович, А.В. Болобова, В.И. Кондращенко; под ред. М.Л. Рабинович. – М.: Наука, 2001. – 264 с.
  15. Семенкова И.Г. Фитопатология. Дереворазрушающие грибы, гнили и патологические окраски древесины (определятельные таблицы): учеб. пособие / И.Г. Семенкова. – М.: ГОУВПОМГУЛ, 2008. – 72 с.
  16. Сенюк О.Ф. Использование грибного препарата микотон в лечении пациентов / О.Ф. Сенюк, Н.Ф. Курочко, Л.Ф. Горовой // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – №1. – С. 266-267.

## РЕЦЕНЗИЯ

на научную работу ученика МБОУ СОШ №47 г. Пензы  
Ширяева Кирилла «Дереворазрушающие грибы, базидиомицеты и их  
применение в биотехнологии»

Рецензируемая работа посвящена исследованию грибов-ксилотрофов  
отдела базидиомицеты и вариантам их применения в биотехнологии.

Актуальность данной темы очень высока, потому как грибы это  
организмы которые окружают нас с древности, но полноценных знаний о них  
и их свойствах мы не имеем до сих пор.

Работа выполнена учеником 10 класса и содержит большой объем  
обработанного материала о грибах базидиомицетах и вариантах их  
применения в промышленности.

Практический лабораторный эксперимент поможет автору получить  
реальный опыт работы с ферментами грибов-ксилотофов.

Работа, несомненно, имеет большое практическое значение и может  
быть масштабирована.

Доктор биологических наук, профессор,  
профессор кафедры селекции,  
семеноводства и биологии растений  
Пензенского государственного  
аграрного университета



Личную подпись *Иванова А. В.*  
удостоверяю  
Начальник управления кадров  
*Логин* Л.Е. Бычкова