

ПРОБЛЕМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК 582.284.3+681.3

Л.О. Антоненко, І.Р. Клечак,
О.І. Нишпорська

ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ ДЛЯ КУЛЬТУР РОДУ *CORIOLUS QUEL (TRAMETES FR.)*

Вступ

Інтерес біотехнологів до грибів викликаний не лише їх здатністю утворювати майже 70–80 % біологічно активних речовин, які отримують у наш час, але й тим, що грибні виробництва можна зробити високотехнологічними, оскільки їм властивий повний контроль біотехнологічного процесу, використання дешевої сировини, наприклад лігно-целюлозних відходів, висока швидкість ферментації. Безвідходність сучасних грибних біотехнологій означає багаточільове використання міцелію та культуральної рідини для отримання кількох (до 10) кінцевих продуктів, наприклад ферментів, ліпідів, білків, пігментів та інших структурних компонентів клітинної стінки грибів полісахаридної природи [1–5].

Біотехнологічне застосування вищих базидіальних грибів роду *Coriolus* поєднує в собі поряд із традиційним використанням плодових тіл для отримання харчових добавок з лікувально-профілактичними властивостями і широко впроваджуване культивування міцелію та використання культурального фільтрату. Біологічно активні речовини отримують екстракцією з вегетативного міцелію або ж осадженням з культурального фільтрату [5]. Так, культуральна рідина та міцеліальна біомаса є добрими джерелами внутрішньо- та позаклітинних ферментів [6], а також фізіологічно активних екзо- та ендополісахаридів [1, 2, 4].

Дереворуйнівні гриби роду *Coriolus* не вимогливі до складу поживних середовищ і характеризуються високою швидкістю росту, зокрема в глибинній культурі, що робить їх перспективними як штами-продуценти в промисловій біотехнології, а також дає можливість використовувати як поживні середовища відходи промисловості [1] та сільського господарства, такі, наприклад, як мелясу (нехарчовий відход переробки буряка), молочну сироватку (відходи молочної промисловості), екстракт з

виноградних вичавок (вторинний матеріальний ресурс виноробної галузі) [2, 4, 5].

У цьому плані велике значення мають дослідження, спрямовані на оптимізацію умов культивування, в тому числі якісного та кількісного складу поживного середовища. Оптимізація окремих факторів культивування та компонентів поживних середовищ може значно покращити показники росту та біохімічного складу міцелію. Застосування методів математичного планування може прискорити й полегшити вирішення цього питання, зокрема зменшити кількість необхідних дослідів.

У ході попереднього дослідження для визначення особливостей росту та біосинтетичної активності вищих базидіоміцетів роду *Coriolus* були використані різні поживні середовища: природні, комплексні, синтетичні [7–9]. Результати дослідів показали, що при вирощуванні на глюкозо-пептонному середовищі ймовірність зараження сторонньою мікрофлорою значно нижча, ніж на інших досліджуваних середовищах. Завдяки своєму постійному складу дане середовище є більш економічно вигідним і сприятливим для росту відібраних штамів. Беручи це до уваги, необхідно було підібрати оптимальний склад комплексного глюкозо-пептонного середовища, який дійсно б забезпечував максимальний приріст біомаси відібраних культур. Крім того, з аналізу літератури [10–13] видно, що саме основні компоненти даного середовища (глюкоза та пептон) є найкращими, тобто легкодоступними та сприятливими джерелами відповідно вуглецевого та азотного живлення.

Постановка задачі

Мета дослідження – оптимізація концентрації глюкози, пептону, водневих іонів (pH) у поживному середовищі.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були чотири штами базидіальних грибів роду *Coriolus* Quel (*Trametes* Fr.). Культури *Coriolus zonatus* (Fr.) Quel 5302, *C. versicolor* (L.:Fr.) Quel 353, *C. villosus* (Fr.) M.Bond et S.Herrera 1009, *C. hirsutus* (Fr.) Quel 5137, отримані з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Оптимізація проводилася методом математичного планування з використанням плану дробно-факторного експерименту “напіврепліка 2^{3-1} ” [14]. Матриця планування експерименту наведена в табл. 1. Оцінювались лінійні ефекти впливу концентрації джерела вуглецю (x_1 (глюкози), г/дм³), джерела азоту (x_2 (пептону), г/дм³) та рН (x_3) на кінцеву концентрацію біомаси (y , г/дм³).

Для перевірки однорідності дисперсій вихідного параметра (концентрація біомаси) проводили три паралельних досліди (на кожний склад середовища, який відповідає рядку матриці планування експерименту). Умови дослідів для кодованих значень факторів записані в табл. 1.

Таблиця 1. Дані планування експерименту з оптимізації середовища

Дані експерименту	x_0	Фактори		
		x_1 , г/дм ³	x_2 , г/дм ³	x_3
Основний рівень		10	3	5,0
Інтервал варіювання		5	2	1,0
Верхній рівень		15	5	6,0
Нижній рівень		5	1	4,0
Досліди	Кодовані значення факторів			
1	+	+	+	+
2	+	-	+	-
3	+	+	-	-
4	+	-	-	+

Примітка. “+” – значення фактора за верхнім рівнем; “-” – значення фактора за нижнім рівнем.

Значення факторів (концентрація глюкози та пептону, рН) основного рівня (див. табл. 1) відповідає таким, при яких проводився скринінг базидіальних грибів роду *Coriolus* на глюкозо-пептонному середовищі [7–10]. Вирішуючи питання про інтервал варіювання факторів, ми орієнтувались на результати аналізу праць [1, 10–12].

Як вихідне середовище для оптимізації використовувались глюкозо-пептонні середовища. Крім джерела вуглецю (глюкози) та азоту (пептон), до складу експериментального середовища входили K_2HPO_4 (1 г/дм³), KH_2PO_4 (1 г/дм³), $MgSO_4$ (0,25 г/дм³), дріжджовий екстракт (5 г/дм³). Кислотність середовищ доводи-

лась до вихідного значення за допомогою розчину 0,1N HCl.

Посівний матеріал отримувався у глибинних умовах на середовищах відповідного складу в колбах Ерленмейера місткістю 250 мл у двох повторностях протягом семи діб. Інокулюм вносився в кількості 10 % (об’ємних) на 50 мл середовища. Культивування проводилось у трьох повторностях у колбах 250 мл протягом п’яти діб, на качалках ЛАБ-ПУ-01 при 120 об/хв, $t = 30$ °С.

Проби для визначення характеристик росту культури (рН, концентрація біомаси) відбирались наприкінці культивування. Концентрація біомаси визначалась ваговим методом [13].

Результати і їх обговорення

На попередньому етапі роботи за результатами скринінгу [7–9] було відібрано чотири штами – представники видів *C. versicolor*, *C. zonatus*, *C. hirsutus* і *C. villosus* :

- штам 353 *C. versicolor* продемонстрував високі показники росту на природних поживних середовищах (8,21 г/дм³ (ПС) та 16,27 г/дм³ (МС)) та на глюкозо-пептонному середовищі (3,71 г/дм³), а також відзначився високою стійкістю до зараження сторонньою мікрофлорою [7, 9];

- штам 5302 *C. zonatus* показав максимальне значення концентрації біомаси та економічного коефіцієнта при культивуванні на глюкозо-пептонному середовищі (5,47 г/дм³ і 45 %, відповідно); характеризувався високою стійкістю до зараження сторонньою мікрофлорою [8];

- штам 5137 *C. hirsutus* хоча і не відзначався максимальним значенням концентрації біомаси при вирощуванні на комплексних середовищах, проте висока стійкість до зараження та потенційні можливості даного штаму дають змогу використовувати його для подальших досліджень, що і було помічено при культивуванні на глюкозо-пептонному середовищі, де економічний коефіцієнт становив 28 %;

- штам 1009 *C. villosus* продемонстрував максимальне значення концентрації біомаси при вирощуванні на глюкозо-пептонному та на картопляно-глюкозному середовищі (2,23 г/дм³ і 1,82 г/дм³, відповідно), а також відзначився високою стійкістю до зараження сторонньою мікрофлорою [15].

Таким чином, як основу для проведення досліджень з оптимізації за результатами скри-

нінгу вибрано комплексне глюкозо-пептонне середовище [9].

Результати експерименту подано в табл. 2–5 відповідно для кожного штаму.

Властивості матриці планування для штаму 353 *C. versicolor* (табл. 2) дають можливість обчислювати коефіцієнти регресії незалежно один від одного за результатами всіх досліджень.

Для штаму 353 *C. versicolor* значення розрахованих коефіцієнтів лінійної регресії були такими: $b_0 = 1,419$, $b_1 = -0,038$, $b_2 = 0,283$, $b_3 = -0,062$.

Оцінювання їх за критерієм Стьюдента показало, що вони значимі.

Підставивши знайдені значимі коефіцієнти в лінійне рівняння, отримали рівняння математичної моделі для штаму 353 *C. Versicolor*:

$$\bar{y} = 1,419 - 0,038x_1 + 0,283x_2 - 0,062x_3.$$

Перевірку адекватності отриманої моделі здійснили, порівнявши значення дисперсії адекватності $s_{\text{кін}}^2 = 4 \cdot 10^{-32}$ та помилки досліду $s_0^2 = 0,0028$. Співвідношення $s_{\text{кін}}^2 \ll s_0^2$ підтвердило виконання умови

$$F_p = \frac{s_{\text{кін}}^2}{s_0^2} < F_{T(f_1, f_2)}, \quad (1)$$

де F_p – розрахований критерій Фішера;

$F_{T(f_1, f_2)}$ – табличне значення критерію Фішера для ступенів свободи $f_1 = N - 1$, $f_2 = N(m - 1)$ при рівні значимості $q = 5\%$.

Оскільки умова (1) виконується, то рівняння лінійної регресії для штаму 353 *C. versicolor* є адекватним.

Згідно з матрицею планування для штаму 5302 *C. zonatus* (табл. 3) розраховані коефіцієнти лінійної регресії були значимі і становили: $b_0 = 2,0425$, $b_1 = 0,7812$, $b_2 = 0,3608$, $b_3 = 0,2108$.

Підставивши знайдені значимі коефіцієнти в лінійне рівняння, отримали рівняння математичної моделі для штаму 5302 *C. zonatus*, що має вигляд кількісної залежності відгуку \bar{y}_u від досліджуваних факторів:

$$\bar{y}_u = 2,043 + 0,781x_1 + 0,361x_2 + 0,211x_3.$$

Перевірку адекватності отриманої моделі здійснили, порівнявши значення дисперсії адекватності ($s_{\text{кін}}^2 = 9 \cdot 10^{-32}$) та помилки досліду ($s_0^2 = 0,0136$) для штаму 5302 *C. zonatus*, що підтвердило виконання умови (1).

Отже, якщо умова (1) виконується, то рівняння математичної моделі для штаму 5302 *C. zonatus* є адекватним. Отримане рівняння дає змогу передбачати значення функції відгуку (в даному випадку – концентрації біомаси) від зміни факторів: концентрації джерела вуглецю, джерела азоту та рН.

Результати експерименту для штаму 5137

Таблиця 2. Матриця планування експерименту з оптимізації середовища культивування *C. versicolor* 353

Досліди	x_0	Фактори			Вихідний параметр				Розрахункові значення	
		x_1	x_2	x_3	y_{u1}	y_{u2}	y_{u3}	\bar{y}_u	s_u^2	\bar{Y}_u
1	+	+	+	+	1,554	1,612	1,638	1,601	0,0018	1,601
2	+	-	+	-	1,798	1,748	1,858	1,801	0,003	1,801
3	+	+	-	-	1,196	1,214	1,072	1,161	0,006	1,161
4	+	-	-	+	1,124	1,124	1,088	1,112	0,0004	1,112

Таблиця 3. Матриця планування експерименту з оптимізації середовища культивування *C. zonatus* 5302

Досліди	x_0	Фактори			Вихідний параметр				Розрахункові значення	
		x_1	x_2	x_3	y_{u1}	y_{u2}	y_{u3}	\bar{y}_u	s_u^2	\bar{Y}_u
1	+	+	+	+	3,628	3,302	3,256	3,395	0,0411	3,395
2	+	-	+	-	1,432	1,434	1,368	1,411	0,0014	1,411
3	+	+	-	-	2,354	2,194	2,208	2,252	0,0079	2,252
4	+	-	-	+	1,15	1,038	1,146	1,111	0,004	1,111

C. hirsutus наведено в табл. 4, за якою було розраховано коефіцієнти лінійної регресії: $b_0 = 1,708$, $b_1 = 0,566$, $b_2 = 0,342$, $b_3 = -0,152$.

Для оцінки впливу факторів на змінну систему було використано перевірку значимості кожного коефіцієнта за критерієм Стюдента. Всі коефіцієнти виявились значимі, тому результати оптимізації для досліджуваного штаму було подано у вигляді такого рівняння регресії:

$$\bar{y} = 1,708 + 0,566x_1 + 0,342x_2 - 0,152x_3.$$

Адекватність рівняння регресії перевірялась методом порівняння значення помилки досліду та значення дисперсії адекватності. Для штаму 5137 *C. hirsutus* ці значення становили відповідно $s_0^2 = 0,029$ і $s_{\text{кін}}^2 = 4 \cdot 10^{-31}$. Оскільки $s_{\text{кін}}^2 \ll s_0^2$, то умова (1) виконується, а отже, рівняння лінійної регресії для досліджуваного штаму є адекватним і дає змогу передбачувати значення функції відгуку.

Матрицю планування і результати експерименту для штаму 1009 *C. villosus* наведено в табл. 5. Розраховані коефіцієнти лінійної регресії для цього штаму такі: $b_0 = 1,293$, $b_1 = 0,331$, $b_2 = 0,257$, $b_3 = 0,313$.

Оскільки всі розраховані коефіцієнти значимі, тобто всі досліджувані фактори впливають на функцію відгуку, то рівняння математичної моделі росту для штаму 1009 *C. villosus* має такий вигляд:

$$\bar{y} = 1,293 + 0,331x_1 + 0,257x_2 - 0,313x_3.$$

Перевірка адекватності отриманої моделі здійснювалась порівнянням значення дисперсії адекватності ($s_{\text{кін}}^2 = 4 \cdot 10^{-32}$) та помилки досліду ($s_0^2 = 0,015$), що підтвердило виконання умови (1). Отже, рівняння регресії адекватно описує експериментальні дані для штаму 1009 *C. villosus*.

Таким чином, в результаті проведених досліджень отримано адекватні математичні моделі росту відібраних штамів:

C. hirsutus 5137

$$\bar{y} = 1,708 + 0,566x_1 + 0,342x_2 - 0,152x_3,$$

C. villosus 1009

$$\bar{y} = 1,293 + 0,331x_1 + 0,257x_2 - 0,313x_3,$$

C. versicolor 353

$$\bar{y} = 1,419 - 0,038x_1 + 0,283x_2 - 0,062x_3,$$

C. zonatus 5302

$$\bar{y} = 2,043 + 0,781x_1 + 0,361x_2 + 0,211x_3.$$

Ці моделі росту показують, що на значення концентрації біомаси штамів *C. hirsutus* 5137, *C. villosus* 1009, *C. versicolor* 353 і *C. zonatus* 5302 впливають усі три фактори, а саме концентрація вуглецю і азоту в середовищі культивування та кислотність середовища. При цьому для штамів *C. hirsutus* 5137, *C. villosus*

Таблиця 4. Матриця планування експерименту з оптимізації середовища культивування *C. hirsutus* 5137

Досліди	x_0	Фактори			Вихідний параметр				Розрахункові значення	
		x_1	x_2	x_3	y_{u1}	y_{u2}	y_{u3}	\bar{y}_u	s_u^2	\bar{Y}_u
1	+	+	+	+	2,404	2,364	2,62	2,463	0,019	2,463
2	+	-	+	-	1,754	1,386	1,768	1,636	0,047	1,636
3	+	+	-	-	1,966	2,31	1,976	2,084	0,038	2,084
4	+	-	-	+	0,56	0,62	0,764	0,648	0,011	0,648

Таблиця 5. Матриця планування експерименту з оптимізації середовища культивування *C. villosus* 1009

Досліди	x_0	Фактори			Вихідний параметр				Розрахункові значення	
		x_1	x_2	x_3	y_{u1}	y_{u2}	y_{u3}	\bar{y}_u	s_u^2	\bar{Y}_u
1	+	+	+	+	2,168	2,158	2,256	2,194	0,003	2,194
2	+	-	+	-	0,946	0,886	0,886	0,906	0,001	0,906
3	+	+	-	-	1,212	0,924	1,024	1,053	0,021	1,053
4	+	-	-	+	0,99	1,216	0,846	1,017	0,035	1,017

1009 і *C. zonatus* 5302 для забезпечення максимальної концентрації біомаси необхідні максимально можливі концентрації вуглецю й азоту, тоді як для штаму *C. versicolor* 353 поряд із максимальною концентрацією азоту необхідна мінімальна кількість вуглецю. У випадку *C. hirsutus* 5137 і *C. versicolor* 353 інгібуючим фактором виявилась кислотність середовища, в той час як для *C. villosus* 1009 і *C. zonatus* 5302 цей параметр є лімітуючим.

Досить чітко простежується ступінь впливу того чи іншого досліджуваного фактора на кінцеву концентрацію біомаси досліджуваних культур. Так, для *C. hirsutus* 5137 і *C. zonatus* 5302 вплив концентрації вуглецю в середовищі на кінцеві показники біомаси значно більший, ніж вплив інших факторів. Для *C. versicolor* 353 концентрація вуглецю та рН середовища хоча і чинять інгібуючу дію на концентрацію біомаси, проте рівень їх впливу на даний показник набагато менший, ніж вплив концентрації азоту. Для *C. villosus* 1009 спостерігається практично однаковий рівень впливу всіх досліджуваних факторів.

Використовуючи стандартні програми з оптимізації, ми визначили оптимальний склад поживних середовищ для відібраних штамів (табл. 6).

Таблиця 6. Оптимізований склад середовищ культивування грибів видів *C. hirsutus*, *C. villosus*, *C. versicolor* і *C. zonatus*

Компоненти середовища і рН	<i>C. hirsutus</i>	<i>C. villosus</i> , <i>C. versicolor</i> і <i>C. zonatus</i>
Глюкоза, г/дм ³	15	10
Пептон, г/дм ³	5	3
К ₂ НРО ₄ , г/дм ³	1	1
КН ₂ РО ₄ , г/дм ³	1	1
МgSO ₄ , г/дм ³	0,25	0,25
Дріжджовий екстракт, г/дм ³	5	5
рН	4,0	6,4

Для штаму *C. hirsutus* оптимізоване середовище забезпечує у два рази більший вихід біомаси порівняно з основним середовищем. Для штамів *C. villosus*, *C. Versicolor* і *C. Zonatus*

оптимальним виявився склад основного середовища, що забезпечувало концентрації біомаси 2,24, 2,79 і 4,5 г/дм³ відповідно на п'яту добу культивування.

Знайдені моделі адекватні і в результаті оптимізації процесу на їх основі визначено оптимальне значення вихідного параметра (концентрації біомаси), тому можна вважати, що дані моделі є статичними математичними моделями процесу культивування грибів роду *Coriolus* в умовах глибинної культури. Такі моделі можуть бути основою як для створення лабораторної або напівпромислової установки, так і для автоматизації процесу. Дійсно, маючи статичну модель, можна підібрати схему автоматичного регулювання, а область статичного оптимуму є вихідною областю для вивчення динаміки процесу.

Висновки

Встановлено, що процес культивування штамів 5137 *C. hirsutus*, 1009 *C. villosus*, 353 *C. versicolor* і 5302 *C. zonatus* описується рівнянням регресії. Аналіз отриманих рівнянь показав, що всі три досліджені фактори, тобто концентрація глюкози, пептону, водневих іонів (рН) в середовищі культивування, впливають на значення концентрації біомаси.

Досягнення оптимального співвідношення джерел живлення в середовищі передбачає підвищення концентрації азоту та вуглецю для штамів 5137 *C. hirsutus*, 1009 *C. villosus* і 5302 *C. zonatus*, тоді як для штаму *C. versicolor* 353 поряд із максимальною концентрацією азоту необхідна мінімальна кількість вуглецю. Кислотність середовища є інгібуючим фактором для росту штамів 5137 *C. hirsutus* та 353 *C. versicolor*, тоді як підвищення рівня даного параметра сприяє кращому росту штамів 1009 *C. villosus* та 5302 *C. zonatus*.

Визначено оптимальний склад середовищ для глибинного культивування штамів *C. hirsutus*, *C. villosus*, *C. zonatus* і *C. versicolor*, які забезпечують концентрацію біомаси відповідно 2,46, 2,23, 4,5 і 2,79 г/дм³ на п'яту добу культивування.

У перспективі буде вивчено вплив інших компонентів поживного середовища на ріст досліджуваних грибів.

Л.А. Антоненко, І.Р. Клечак, О.І. Нишпорская

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ КУЛЬТУР РОДА *CORIOLUS* QUEL (*TRAMETES* FR.)

Проведена оптимізація концентрацій глюкози, пептона і водородних іонів (рН) в питательной среде для глубинного культивирования четырех штаммов базидиальных грибов рода *Coriolus*. Определены концентрации глюкозы, пептона и рН, которые обеспечивают наибольший прирост биомассы.

L.O. Antonenko, I.R. Klechak, O.I. Nyshporska

THE OPTIMIZATION OF COMPOSITION MEDIUM FOR CULTIVATION OF *CORIOLUS* QUEL (*TRAMETES* FR.)

In this paper, we optimize the concentration of glucose, peptone, hydrogen ions (pH) in a nourishing medium for deep cultivation of 4 strains of basidiomycetes of genus *Coriolus*. We propose the value of concentrations of glucose, peptone, pH in a nourishing medium, which provide the maximal biomass.

1. Горшина Е.С. Биотехнологические препараты лекарственных грибов рода *Trametes* // Усп. медицинской микологии / Под общ. ред. Ю.В. Сергеева. – М.: Нац. академия микологии, 2005. – Т.V. – С. 246–249.
2. Горшина Е.С. Грибы рода *Trametes* Fr. как объекты биотехнологии // Современная микология в России. II съезд микологов России: Тез. докл. – М.: Нац. академия микологии, 2008. – С. 328–329.
3. Гаврилова В.П., Шамолина И.И., Белова Н.В. Возможности нетрадиционного использования базидиомицетов в кожевенном и текстильном производстве // Биотехнология. – 2002. – № 5. – С. 74–79.
4. Гончарова И.А., Щерба В.В., Бабицкая В.Г. Полисахариды клеточной стенки базидиомицета *Coriolus hirsutus* // Прикл. биохимия и микробиология. – 1996. – 32, № 4. – С. 434–437.
5. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в культуре // Микология и фитопатология. – 2004. – 38, вып. 2. – С. 1–5.
6. Гаврилова В.П., Григорьева Н.К. Рост и образование окислительных ферментов дереворазрушающими грибами из рода *Coriolus* Quel // Там же. – 1983. – 17, № 2. – С. 127–130.
7. Клечак І.Р., Митропольська Н.Ю., Антоненко Л.О., Нишпорська О.І. Особливості росту *Coriolus versicolor* в глибинній культурі // Наукові вісті НТУУ “КПІ”. – 2009. – № 1. – С. 128–133.
8. Антоненко Л.А., Клечак І.Р., Нишпорская О.И. Отбор культур базидиальных грибов *Coriolus zonatus* (*Trametes ochracea*) на жидких питательных средах // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2009. – № 2. – С. 159–160.
9. Нишпорська О.І., Клечак І.Р., Антоненко Л.О. Порівняльна оцінка росту базидіомицетів роду *Coriolus* на середовищах різного складу // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології: Матер. I міжнародної наук. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, м. Донецьк, 23–26 лютого 2009. – Донецьк, 2009. – С. 382.
10. Маслова Р.А. Рост афиллофоровых грибов на средах с различными источниками углеродного питания // Микология и фитопатология. – 1973. – 7, вып. 2. – С. 95–100.
11. Ганбаров Х.Г. Эколого-физиологические особенности дереворазрушающих высших базидиальных грибов. – Баку: Элм, 1989. – 200 с.
12. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубокой культуре / Н.А. Бисько, А.С. Бухало, С.П. Вассер и др. – К.: Наук. думка, 1983. – 312 с.
13. Методы экспериментальной микологии: Справочник / Под ред. В.И. Билай. – К.: Наук. думка, 1982. – 550 с.
14. Бондарь А.Г. Математическое моделирование в химической технологии. – К.: Вища шк., 1973. – 280 с.
15. Нишпорська О.І., Антоненко Л.О. Оптимізація складу середовища культивування базидіомицетів *Coriolus hirsutus* та *Coriolus villosus* в умовах глибинної культури // Дні науки ФБТ НТУУ “КПІ” “Біотехнологія ХХІ століття”: III наук.-практ. конф. студентів та аспірантів, м. Київ, 22–24 квітня 2009. – К.: НТУУ “КПІ”. – С. 6.

Рекомендована Радою факультету біотехнології і біотехніки НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції 21 травня 2009 року