

СКРИНИНГ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ КОРМОВОГО БЕЛКА

Балабанова Л.А.^{1,2}, Пивкин М.В.¹, Худякова Ю.В.¹, Подволоцкая А.Б.², Сон О.М.²,
Текутьева Л.А.², Киричук Н.Н.^{1,2}

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова, Владивосток, e-mail: anna.vlprofit@gmail.com;

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

В результате скрининга из 97 штаммов мицелиальных грибов из природных источников обнаружено 28 термофильных продуцентов целлюлозолитических ферментов, способных к конверсии в различной степени растительных отходов переработки сельскохозяйственного сырья для обогащения их белком мицелия. Из активных целлюлозолитических изолятов 13 штаммов относилось к роду *Myceliophthora*, 5 – к роду *Humicola*, 4 – *Malbranchea*, по 3 штамма – *Gilmaniella* и *Thermomyces*. Максимальным уровнем продукции целлюлозолитических ферментов характеризовались *Myceliophthora thermophila*, *Thermomyces lanuginosus*, *Humicola grisea* и *Gilmaniella humicola* – 0,40–0,62 ед/мл, при выращивании их на средах, содержащих рисовые отруби в качестве единственного источника углерода. Отобранные штаммы могут быть использованы для дальнейших исследований, подбора и оптимизации сред с целью обогащения различных целлюлозосодержащих растительных субстратов в процессе кормопроизводства.

Ключевые слова: термофильные грибы, скрининг, кормовой белок, продуценты, мицелиальные грибы, штаммы.

SCREENING OF MYCELIAL FUNGI AS POTENTIAL PRODUCERS OF FEED PROTEIN

Balabanova L.A.^{1,2}, Pivkin M.V.¹, Khudyakova Yu.V.¹, Podvolotskaya A.B.², Son O.M.²,
Tekuteva L.A.², Kirichuk N.N.^{1,2}

¹ Pacific Ocean Institute of Bioorganic Chemistry named after G.B. Elyakova, Vladivostok, e-mail: anna.vlprofit@gmail.com;

² Far Eastern Federal University, Vladivostok

As a result of screening of 97 strains of mycelial fungi from natural sources, 28 thermophilic producers of cellulolytic enzymes were found capable of converting to varying degrees of plant waste from processing agricultural raw materials to enrich their protein with a mycelium. Among these active cellulolytic isolates, 13 strains belonged to the genus *Myceliophthora*, 5 to *Humicola*, 4 to *Malbranchea*, 3 to *Gilmaniella* and *Thermomyces*. The maximum level of production of cellulolytic enzymes was characterized by *Myceliophthora thermophila*, *Thermomyces lanuginosus*, *Humicola grisea* and *Gilmaniella humicola* – 0,40-0,62 U/ml. They were grown on media containing rice bran as the sole carbon source. The selected strains can be used for further research, selection and optimization of media for the enrichment of various cellulose-containing plant substrates in the forage production process.

Keywords: thermophilic fungi, screening, feed protein, producers, mycelial fungi, strains.

Мицелиальные грибы имеют большой потенциал в области микробного синтеза. Они содержат значительно меньше нуклеиновых кислот, пуринов, чем другие микроорганизмы, и обладают широким набором ферментов, гидролизующих трудно перевариваемые животными полимеры клеточной оболочки растений (клетчатку, гемицеллюлозы и др.) до мономеров – глюкозы, ксилозы и др. [1]. Путь прямой трансформации полимеров грубых кормов в белок и другие полезные метаболиты грибной массы решает вопрос обогащения белком и другими физиологически активными метаболитами целлюлозосодержащих субстратов. Дефицит кормового белка поставил вопрос о создании нетрадиционных источников его восполнения, в частности об использовании микромицетов в качестве

источника кормового и пищевого белка. Поиск новых источников получения обогащенных белком и другими веществами кормов и в настоящее время представляет одну из важных проблем повышения продуктивности животноводства [2].

В отличие от мезофильных микромицетов, грибы-термофилы способны существовать при высоких температурах благодаря особым свойствам генетических, белоксинтезирующих и мембранно-липидных систем клетки. Это обусловлено их физиолого-биохимическими особенностями, а именно резистентностью генетических структур, в частности ДНК, белоксинтезирующих систем (иРНК, тРНК и тРНК-лигаза, рибосомальная РНК и рибосомы), ферментов (внеклеточных и внутриклеточных), синтезируемых термофилами, к денатурирующему воздействию высоких температур. Клеточные мембраны грибов-термофилов отличаются от мезофильных грибов по составу липидно-белкового комплекса: липиды термофилов состоят из более насыщенных жирных кислот с разветвленной углеродной цепочкой, что способствует поддержанию ригидности клетки и нативной структуры мембраны при высоких температурах. Кроме этого, термостабильные ферменты грибов этой группы имеют ряд преимуществ по сравнению с ферментами мезофильных грибов: их активность при повышенной температуре позволяет ускорить и модифицировать некоторые технологические процессы во многих отраслях промышленности. В связи с выше сказанным практическое использование термофильных грибов в технологических процессах имеет преимущества перед мезофильными микроорганизмами. Многие виды атоксигенных термофильных грибов, обладая более высоким уровнем образования биомассы, являются перспективными продуцентами кормового источника белка, витаминов, липидов и других физиологически активных метаболитов.

Целью данной работы было выявление активных целлюлозолитических штаммов термофильных грибов с целью использования их в конверсии различных целлюлозосодержащих растительных субстратов для обогащения последних мицелием, содержащим белок и другие физиологически активные метаболиты.

Материалы и методы

Сбор образцов навоза, птичьего и кроличьего помета проводился стерильным шпателем в стерильные полиэтиленовые пакеты в период его самонагревания до 50 °С, когда происходило активное развитие представителей термофильных грибов, а рост мезофильных и термотолерантных грибов подавлялся.

Выделение грибов проводилось чашечным методом на твердых агаризованных средах с использованием метода прямого посева (метод Ваксмана), а также метода серийных разведений [3]. Метод прямого посева подразумевает равномерное распределение кусочков исследуемого образца по поверхности твердой питательной среды в чашках Петри. При

использовании метода серийных разведений брали навеску исследуемого образца 10 г, помещали в стерильную воду объемом 90 мл и тщательно встряхивали (разведение 1/10). Далее отбирали 10 мл из полученной суспензии и переносили в соответствующий объем стерильной воды и т.д., получая серию разведений (1/100, 1/1000 и т.д.). Посев на чашки Петри производили из суспензий с разведением 10^{-3} . Чашки с посевами инкубировали в термостате при температуре 42 °С. Выбранный температурный режим позволяет исключить прорастание широко распространенных мезофильных грибов и способствует выделению представителей экологической группы термофильных микромицетов.

Для выявления наиболее полного видового состава термофильных грибов был использован ряд питательных сред следующего состава:

1. Агаризованное сусло: сусло - 800 мл, водопроводная вода - 200 мл, агар-агар - 16 г.
2. Среда Чапека: NaNO_3 – 3 г, KH_2PO_4 – 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, KCl – 0,5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01, сахара – 30, агар-агар – 16, дистиллированная вода – 1000 мл.
3. Глюкозно-дрожжевой экстракт: дрожжевой экстракт – 5 г, глюкоза – 10, агар-агар – 16, водопроводная вода – 1000 мл.
4. Крахмально-дрожжевой экстракт: порошкообразный дрожжевой экстракт – 4 г, KH_2PO_4 – 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, растворимый крахмал – 15, агар-агар – 16, вода (3/4 водопроводной, 1/4 дистиллированной) – 1000 мл.
5. Агар с бенгальским розовым: папаиновый гидролизат соевой муки – 5 г, декстроза – 10, KH_2PO_4 – 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, бенгальский розовый – 0,05, агар-агар – 15, дистиллированная вода – 1000 мл, pH 7.2.

Все среды автоклавировались при температуре 112 °С в течение 30 мин (0,5 атм). Перед разливом в чашки Петри в среды добавлялись антибиотики (0,5 г стрептомицина и 500000 ед. пенициллина) для подавления роста бактерий. Чашки Петри после посева субстратов помещались в термостат и инкубировались при 42 °С. Для поддержания влажности на постоянном уровне на период инкубации в термостат помещался сосуд с дистиллированной водой. Начиная с 3-го дня инкубации чашки просматривались визуально на предмет роста колоний грибов, которые по мере появления отсеивались в чистую культуру в заранее приготовленные пробирки со скошенным сусло-агаром.

Идентификация выделенных изолятов проводилась методом микроскопирования при увеличении $\times 600$ и $\times 800$ на основе морфолого-культуральных признаков с использованием общепринятых определителей и оригинальных статей [4-9]. Для микроскопирования были приготовлены временные препараты методом раздавленной капли. Для идентификации грибов, имеющих растворяющиеся структуры и цепочки конидий, препараты готовились на основе смеси спирта, глицерина и воды в соотношении 1:1:1.

Уточнение таксономической принадлежности и филогенетического положения грибов проводилось на основе изучения молекулярно-генетических признаков с использованием метода мультилокусного анализа (генов ITS, бета-тубулина и калмодулина) с последующим nBLAST-анализом полученных результатов в базе данных NCBI [10]. Для выделения геномной ДНК 0,5 г клеток культуры гриба разрушали жидким азотом и экстрагировали в 5 мл 4М гуанидина изотиоцианата и разделяли на 2 пробирки. В каждую пробирку добавляли равный объем смеси фенол/хлороформ/изоамиловый спирт в соотношении 25:24:1, перемешивали, центрифугировали 10 мин при 13000 об/мин. К водной фазе добавляли 1/10 объема 3М ацетата натрия (рН 5,2) и равный объем изопропанола (для осаждения). Осадок ДНК собирали центрифугированием в течение 10 мин при 13000 об/мин, несколько раз промывали 70%-ным этанолом, затем один раз 96%-ным этанолом (чтобы быстрее высушить), высушивали при комнатной температуре либо в термостате при 37 °С и растворяли в 500-1000 мкл бидистиллированной воды.

Скрининг штаммов термофильных грибов с целлюлозолитической активностью проводили в два этапа. На первом этапе использовали качественный (чашечный) метод, предусматривающий выращивание культур на агаризованных селективных питательных средах. Тестируемые грибы выращивали в чашках Петри в течение 4–7 сут. на модифицированных средах Чапека-Докса, содержащих в качестве источника углерода и субстрата для ферментов натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ, 0,05–1,0%). В качестве индикаторов использовали конго красный (0,01–0,5%, вводили в агаризованную среду), а также раствор Люголя. Культуры, синтезирующие целлюлазы, выявляли по способности формировать зоны просветления (изменения окраски) вокруг колоний, целлюлазную активность оценивали по величине соотношения диаметра зон просветления ($d_{\text{зоны}}$) и диаметра колоний ($d_{\text{колонии}}$) [3; 11].

На втором этапе проводили глубинное культивирование грибов для количественной оценки уровня продуцирования внеклеточных целлюлаз. Для этого отобранные штаммы грибов выращивали в пробирках со скошенным сусло-агаром в термостате при 42 °С в течение 7–10 суток. В качестве посевного материала использовали 2–3-суточный мицелий грибов, выращенный на жидкой среде с суслом 4% по Баллингу, который вносили в количестве 5% по объему. Проверку способности грибов образовывать внеклеточные ферменты проверяли при выращивании на двух жидких питательных средах: среда № 1 - Чапека-Докса (г/л): сахароза - 20,0; NaNO₃ - 2,0; K₂HPO₄ - 1,0; MgSO₄ × 7H₂O - 0,5; KCL - 0,5; FeSO₄ × 7H₂O - 0,01; CaCO₃ - 0,3; дистиллированная вода – 1 л, рН исх. - 6,0–6,2; среда № 2 - минеральный фон среды Чапека-Докса в присутствии 5-10% древесно-растительного материала (кукуруза, лозга риса, рисовые отруби, опилки, солома).

Культивирование проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды на качалке (140 об/мин) в течение 4–7 сут. По окончании культивирования биомассу отделяли фильтрованием, фильтрат культуральной жидкости использовали для анализов. Для определения целлюлазной активности использовали колориметрический метод, основанный на определении восстанавливающих сахаров, образующихся при действии ферментов целлюлолитического комплекса на субстрат – Na-КМЦ. Реакцию гидролиза проводили при 40 °С в течение 20 мин. За единицу активности принимали такое количество фермента, при действии которого на Na-КМЦ за минуту образуется 1 микромоль восстанавливающих сахаров в пересчете на глюкозу. Для определения содержания восстанавливающих сахаров применяли 3,5-динитросалициловую кислоту. Количество белка оценивали методом Лоури [12]. Приведенные в работе результаты экспериментов представляют собой усредненные величины 3 опытов. При статистической обработке полученных данных использовали компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Термофильные грибы представляют довольно малочисленную в таксономическом отношении, но распространенную группу микроскопических грибов. В результате работы в общей сложности из образцов навоза, кроличьего и птичьего помета было выделено и идентифицировано 12 видов термофильных мицелиальных грибов, принадлежащих к 10 родам (табл. 1).

Таблица 1

Таксономическая принадлежность выделенных штаммов мицелиальных грибов и их плотность в изученных образцах

Таксон	Средняя плотность пропагул, КОЕ/г		
	Коровий навоз	Птичий помет	Кроличий помет
<i>Ascomycetes</i>			
<i>Emericella nidulans</i>	–	0,40	1,2
<i>Talaromyces dupontii</i>	3,34	–	–
<i>T. emersonii</i>	–	1,13	–
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	1,8	–	–
<i>Anamorphic fungi</i>			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	14,47	11,49	–
<i>Gilmaniella humicola</i>	4,07	2,33	–
<i>Humicola grisea</i>	5,73	0,16	6,3
<i>Malbranchea pulchella</i>	3,67	–	4,2
<i>Paecilomyces variotii</i>	5,6		–

<i>Thermomyces lanuginosus</i>	–	7,07	–
<i>Myceliophthora fergusii</i>	4,8	–	–
<i>M. thermophila</i>	6,5	–	–

Из 97 выделенных штаммов большая их часть относилась к виду *A. fumigatus*. Этот вид известен как патоген животных и человека, вызывающий аллергические реакции, микозы и микотоксикозы [13; 14]. В наиболее частой форме взаимодействия гриба и организма вызывает бронхиальную астму и аллергический бронхолегочный аспергиллёз (АБЛА). В связи с высокой степенью патогенности этот вид был исключен из дальнейшего скрининга штаммов грибов. Основными критериями в селекции штаммов грибов для производства обогащенных грубых кормов и различных растительных отходов являются следующие: атоксигенность, высокая скорость роста на субстрате (высокая белоктрансформирующая активность), высокое содержание белка с набором незаменимых аминокислот, степень безвредности при производстве обогащенного корма и его скармливании животным, стабильность и технологичность при изготовлении посевного материала культуры, проведение твердофазной ферментации [15].

На первоначальном этапе скрининга штаммов грибов был использован экспресс-метод отбора микроорганизмов-продуцентов целлюлозолитических ферментов, основанный на формировании комплексов между полисахаридами и красителями. Согласно литературным данным, наиболее часто способность к деградации целлюлозы оценивают по способности микроорганизмов расти и формировать зоны просветления вокруг колоний на агаризованной минеральной среде с использованием субстрата КМЦ и хромогенного красителя конго красного [15; 16]. В качестве индикатора используют также раствор Люголя [12]. При наличии у тестируемых микроорганизмов способности продуцировать целлюлозолитические ферменты, которые диффундируют в агар и гидролизуют Na-КМЦ, окрашенная агаризованная питательная среда вокруг выросших грибных колоний обесцвечивается. С помощью вышеуказанного экспресс-метода нами была проанализирована способность 63 грибных штаммов синтезировать целлюлозолитические ферменты. Наличие способности продуцировать целлюлазы выявлено у 28 штаммов, из которых 13 штаммов относилось к роду *Myceliophthora*, 5 – к роду *Humicola*, 4 – *Malbranchea*, по 3 штамма – к родам *Gilmaniella* и *Thermomyces*. Отношения диаметров зон просветления и диаметров колоний составили: 1,02–1,30 (индикатор конго красный) и 1,01–2,06 (окрашивание раствором Люголя в течение 5 мин). Наиболее активные штаммы отбирали по максимальным значениям отношения $d_{\text{зоны}} / d_{\text{колонии}}$, полученным для грибов, выросших на 2 средах (табл. 2).

Таблица 2

Отобранные мицелиальные грибы – продуценты целлюлозолитических ферментов

Культура	$d_{\text{зоны}} / d_{\text{колонии}}$ (индикатор конго красный)	$d_{\text{зоны}} / d_{\text{колонии}}$ (индикатор раствор Люголя)
<i>Myceliophthora thermophila</i>	1,30±0,05	2,06±0,06
<i>M. fergusii</i>	1,24±0,04	1,36±0,05
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	1,28±0,05	1,93±0,06
<i>Gilmaniella humicola</i>	1,24±0,03	1,45±0,04
<i>Humicola grisea</i>	1,29±0,05	2,01±0,06
<i>Malbranchea pulchella</i>	1,26±0,03	1,52±0,05

Выявленные наиболее активные штаммы-продуценты целлюлозолитических ферментов были использованы на втором этапе скрининга для проведения количественной оценки уровня продуцирования ими внеклеточных целлюлаз при глубинном культивировании. На данном этапе выявление активных целлюлозолитических изолятов мицелиальных грибов проводится с целью определения их способности к конверсии различных целлюлозосодержащих растительных субстратов для обогащения последних мицелием, содержащим белок и другие физиологически активные метаболиты. С этой целью был использован метод определения целлюлозолитической активности грибов при использовании нерастворимых целлюлозных субстратов по их способности трансформировать эти субстраты в белок. В этом случае трансформирующая активность (ТАЦ) выражалась количеством белка на единицу внесенного субстрата. На основании полученных результатов проводился отбор активных целлюлозолитических штаммов по степени и характеру роста на субстрате, содержанию в культуральной среде растворимых продуктов его гидролиза, наличию и активности отдельных внеклеточных компонентов целлюлазного комплекса.

Первоначально установили, что все испытанные источники углерода способствовали росту грибов, однако накопление биомассы не всегда сопровождалось синтезом исследуемых ферментов. Об интенсивности синтеза ферментов косвенно судили по количественному содержанию белка в культуральной жидкости. Для этого был подобран состав жидкой питательной среды. Исходная среда для глубинного культивирования отобранных штаммов имела солевой состав, аналогичный составу среды Чапека (среда № 1). В среду также добавляли различные древесно-растительные компоненты (кукуруза, лужга риса, рисовые отруби, опилки, солома), выбранные на основе их доступности и дешевизны. Все среды, содержащие в качестве единственного источника углерода древесно-растительный материал,

способствовали синтезу исследуемых ферментов. Отобранные для исследований культуры грибов имели различный уровень биосинтеза изучаемых ферментов на выбранных средах.

Таблица 3

Образование целлюлозолитических ферментов отобранными грибами при глубинном культивировании

Культура	Целлюлаза, ед/мл					
	Среда № 1	Среда № 2	Среда № 3	Среда № 4	Среда № 5	Среда № 6
<i>Myceliophthora thermophila</i>	0,53±0,03	0,47±0,02	0,53±0,03	0,62±0,03	0,48±0,01	0,46±0,04
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	0,41±0,01	0,44±0,01	0,47±0,02	0,45±0,01	0,47±0,01	0,39±0,01
<i>Humicola grisea</i>	0,40±0,01	0,46±0,01	0,49±0,02	0,39±0,01	0,38±0,01	0,37±0,02
<i>M. fergusii</i>	0,28±0,03	0,22±0,03	0,20±0,01	0,21±0,02	0,19±0,01	0,17±0,01
<i>Gilmaniella humicola</i>	0,26±0,03	0,30±0,02	0,28±0,01	0,27±0,01	0,26±0,01	0,24±0,02

Максимальным уровнем продукции целлюлозолитических ферментов характеризовались *M. thermophila*, *T. lanuginosus*, *H. grisea* и *G. humicola* – 0,40–0,62 ед/мл. Среда № 4 (с добавлением рисовых отрубей в качестве единственного источника углерода) оказалась оптимальной для синтеза данных ферментов.

Рост и развитие микроорганизмов, а также образование ими ферментов находятся в тесной зависимости от состава питательной среды и условий культивирования, что было показано на примере отобранных нами штаммов *M. thermophile*, *T. lanuginosus*, *H. grisea* и *G. humicola*, выращенных на среде с добавлением различных древесно-растительных субстратов в качестве единственного источника углерода. Данные по содержанию белка отображены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4

Содержание белка в культуральной жидкости грибов *M. thermophile*, *T. lanuginosus*, *H. grisea* и *G. humicola*

Источник углерода, содержание в %	Белок, мг/мл			
	<i>Myceliophthora thermophila</i>	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	<i>Gilmaniella humicola</i>	<i>Humicola grisea</i>
Среда № 1	3,65	3,07	2,07	2,47
Среда № 2	2,75	2,94	1,91	1,08
Среда № 3	2,50	3,05	2,70	2,55
Среда № 4	3,7	3,01	2,95	3,54

Среда № 5	3,20	2,41	2,50	2,70
Среда № 6	3,60	3,21	2,97	2,58

Таблица 5

Содержание белка в пересчете на сухое вещество в культуральной жидкости грибов

M. thermophile, *T. lanuginosus* *H. grisea* и *G. humicola*

Источник углерода, содержание в %	Белок, % в пересчете на сухое вещество				
	Фон в питательной среде	<i>Myceliophthora thermophila</i>	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	<i>Humicola grisea</i>	<i>Gilmaniella humicola</i>
Среда № 1	23,4	22,1	16,5	18,9	16,58
Среда № 2	29,3	27,2	23,5	25,6	22,5
Среда № 3	5,8	8,9	7,5	9,2	7,9
Среда № 4	13,5	19,9	19,2	16,3	19,3
Среда № 5	2,3	7,8	1,2	3,0	2,2
Среда № 6	1,2	1,2	0,9	2,7	1,7

Заключение

Таким образом, в ходе двухэтапного скрининга продуцентов целлюлозолитических ферментов среди выделенных нами из природных субстратов штаммов термофильных грибов были отмечены штаммы грибов, относящиеся к видам *M. thermophile*, *T. lanuginosus*, *H. grisea* и *G. humicola*, как наиболее активные и перспективные продуценты указанных ферментов и белка. Отобранные штаммы могут быть использованы для дальнейших исследований, подбора и оптимизации сред с целью обогащения различных целлюлозосодержащих растительных субстратов в процессе кормопроизводства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (Договор 02.G25.31.0172 от 01.12.2015 г.).

Список литературы

1. Thomasa L., Larrocheb C., Pandey A. Current development in solid-state fermentation // Biochemical Engineering Journal. – 2013. – P. 146-161.
2. Bourdichona F., Casaregolab S., Farrokh C. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use // International Journal of Food Microbiology. – 2012. – V. 154. – P. 87-97.
3. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. – Киев: Наукова думка,

1982. – 549 с.

4. Houbraken J., Samson R.A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families // *Studies in mycology*. – 2011. – V. 70. – P. 1-51.
5. Marin-Felix Y., Stchigel A.M., Miller A.N. et al. A re-evaluation of the genus *Myceliophthora* (Sordariales, Ascomycota): its segregation into four genera and description of *Corynascus fumimontanus* sp. nov. // *Mycologia*. – 2015. – V. 107. – P. 619-623.
6. Bensch K., Braun U., Groenewald J.Z., Crous P.W. The genus *Cladosporium* // *Studies in mycology*. – 2014. – V. 72. – P. 1-401.
7. Gams W. *Cephalosporium*-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes) // *Jena*. – 1971. – P. 262.
8. Wang W.-J., Wang X.-L., Li Y. et al. Molecular and morphological studies of *Paecilomyces sinensis* reveal a new clade in clavicipitaceous fungi and its new systematic position // *Systematics and Biodiversity*. – 2012. – V. 10. – P. 221-232.
9. Jones E.B.G., Sakayaroj J., Suetrong S. et al. Classification of marine Ascomycota, anamorphic taxa and Basidiomycota // *Fungal Diversity*. – 2009. – P. 1-187.
10. Набор методов для сравнения информации о последовательности аминокислот в белках или нуклеотидов в ДНК // Национальный центр биотехнологической информации США [Электронный ресурс]. – URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 20.02.2017).
11. Буракаева А.Д. Скрининг микофильных грибов с лакказной и гидролазной активностью // *Cloud of science*. – 2013. – С. 25-28.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265-275.
13. Geiser D.M., Klich M.A., Frisvad J.C. et al. The current status of species recognition and identification in *Aspergillus* // *Studies in mycology*. – 2007. – V. 59. – P. 1-10.
14. Dagenais T.R.T., Keller N.P. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis // *Clin Microbiol Rev.* – 2009. – V. 22. – P. 447-465.
15. Смирнов К.А., Алашкевич Ю.Д., Решетова Н.С. Особенности твердофазной ферментации // *Химия растительного сырья*. – 2009. – № 3. – С. 161–164.
16. Santos A.L.F. Enzymatic saccharification of lignocellulosic after treatment with supercritical carbon dioxide // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2011. – V. 56. – P. 277-282.