



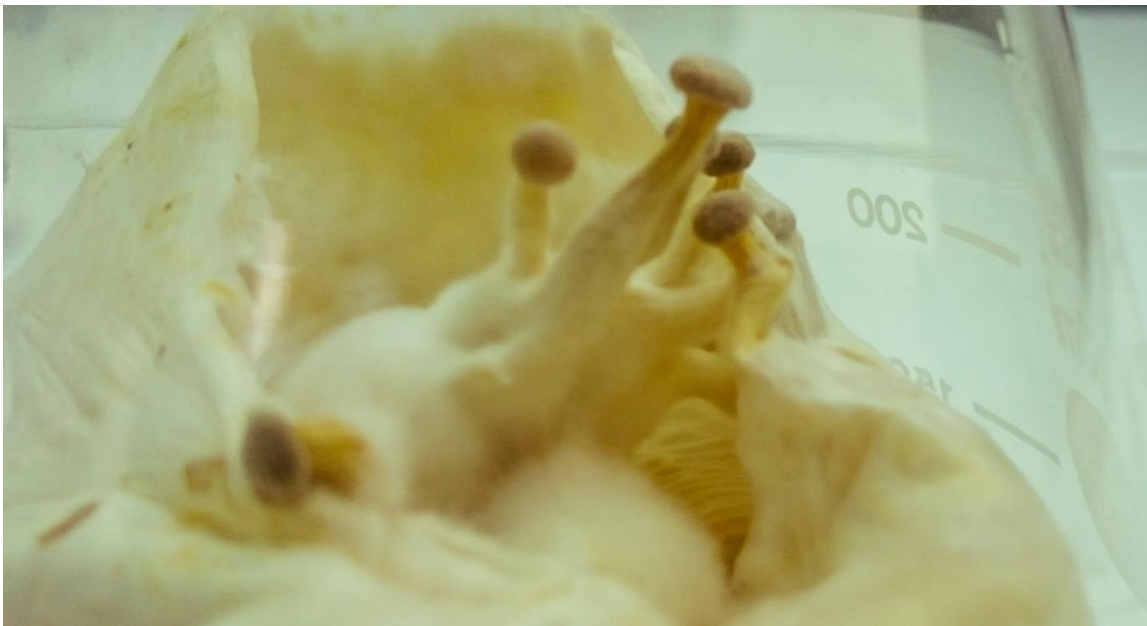
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΙΡΑΙΩΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ**  
**ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ**

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ**  
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**



**ΔΠΜΣ ΣΤΗ ΒΙΟΟΙΚΟΝΟΜΙΑ**

**ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ**  
**ΤΡΟΦΙΚΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ**



**ΑΡΤΕΜΙΣ ΣΠΑΝΟΥ**

**Πειραιάς, Φεβρουάριος 2021**



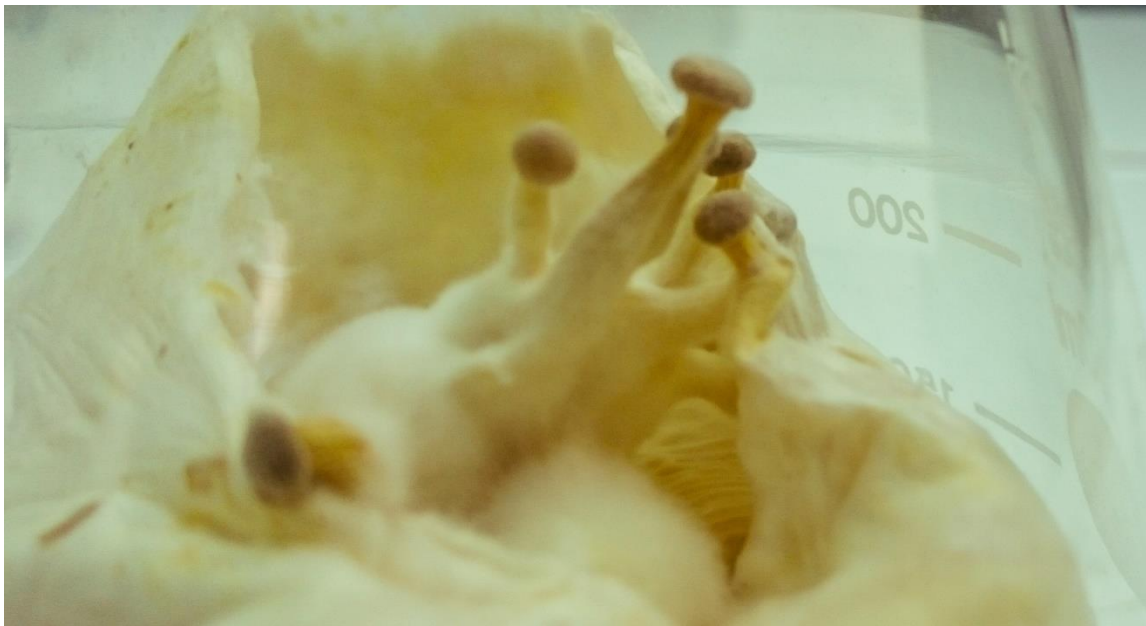
**UNIVERSITY OF PIRAEUS  
DEPARTMENT OF  
ECONOMICS**

**NATIONAL AND KAPODISTRIAN  
UNIVERSITY OF ATHENS  
DEPARTMENT OF BIOLOGY**



**M.Sc. in Bioeconomics**

## **MICROBIUM EXPLOITATION OF FOOD RESIDUES**



**ARTEMIS SPANOU**

**Piraeus, February 2021**

*Στην οικογένειά μου και στη  
δεύτερη οικογένειά μου, τους  
φίλους μου.*

## Ευχαριστίες

---

Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου κα. Ζαχαρούλα Γκόνου - Ζάγκου για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξή της στην υλοποίηση αυτής της εργασίας, για τις ιδέες της και την κατανόησή της καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων, αλλά και των μαθημάτων μέσα στο μεταπτυχιακό. Χωρίς τις συμβουλές της και τη μητρική της φιγούρα δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης.

Επιπλέον, το Πανεπιστήμιο Πειραιώς, με το Τμήμα Οικονομικής Επιστήμης, και το Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, με το Τμήμα Βιολογίας, για την ευκαιρία συμμετοχής μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα «Βιοοικονομία», διευρύνοντας έτσι τις γνώσεις και τους ορίζοντές μου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Τομέα Βοτανικής και τον κ. Δημήτριο Χατζηνικολάου για την παροχή του εργαστηρίου, των υλικών και των καθοδηγιών του όσον αφορά τις αναλύσεις των δειγμάτων. Επίσης, δεν θα μπορούσαν να παραλείψω την Ερμιόνη Ραφτοπούλου, υποψήφια Διδάκτωρ του τμήματος για την στήριξή της και τη βοήθειά της σε όλα τα πειράματα των αναλύσεων.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Ιωάννα Πυρρή για την καθοδήγησή της στις διαδικασίες του εργαστηρίου και τις πολύτιμες γνώσεις της, καθώς και τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Ελισάβετ Καλτσούδα και Ρωμανό Αντωνόπουλο που με βοήθησαν και με παρότρυναν σε θέματα του εργαστηρίου με τα οποία ερχόμουν σε επαφή για πρώτη φορά. Ένα μεγάλο ευχαριστώ για τη φιλική τους διάθεση και την συμπαράστασή τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρεία Village Roadshow Operations Hellas A.E. για την παροχή του popcorn και των συσκευασιών, αλλά και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, καθώς και την εταιρεία Mr POP CORN AEBEE που μας έδωσε την άδεια να εμφανιστούν τα συστατικά των πρώτων υλών στην παρούσα εργασία.

# ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΡΟΦΙΚΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

**Σημαντικοί Όροι:** [Up-cycling, Βασιδιομύκητες, *Pleurotus*, Μυκήλιο, Μανιτάρια, Βιοαποικοδόμηση, Porcorn]

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

---

Τα τελευταία χρόνια οι χώρες στρέφονται όλο και περισσότερο στην προστασία του περιβάλλοντος, στη βιωσιμότητα και στην κυκλική οικονομία. Μία απαραίτητη πρωτοβουλία είναι η σωστή διαχείριση των αποβλήτων και η μείωσή τους. Στην παρούσα εργασία, γίνεται πράξη η έννοια του up-cycling, δίχως μεγάλο κόστος με τη βοήθεια Βασιδιομυκήτων, του δημοφιλέστερου απορρίμματος των κινηματογράφων: του popcorn και του κουτιού που δίνεται στους πελάτες. Αρχικά, ελέγχεται η δυνατότητα ανάπτυξης των στελεχών σε όλα τα υποστρώματα του πειράματος, η πιθανή παραγωγή μανιταριών και τέλος, οι μεταβολές των πρωτεϊνών και των αναγωγικών σακχάρων στη βιομάζα πριν και μετά την επεξεργασία. Επιπλέον, αναλύονται εναλλακτικοί τρόποι χρήσης του μυκηλίου που αναπτύσσεται πάνω στα συγκεκριμένα υπολείμματα.

# MICROBIUM EXPLOITATION OF FOOD RESIDUES

**Keywords:** [Up-cycling, Basidiomycetes, *Pleurotus*, Mycelium, Mushrooms, Biodegradation, Popcorn]

## ABSTRACT

---

In recent years, countries are increasingly focusing on environmental protection, sustainability, and the circular economy. A necessary initiative is a proper management of generating waste and its considerable reduction. The present work practices the modern concept of up-cycling, without much economic cost with the help of Basidiomycetes, the most generating waste of the cinema industry: popcorn and the box offered to customers. Foremost, we checked that the fungi grow on all substrates of the experiment, the possible production of mushrooms and finally, the reducing sugars and protein percentage of the biomass before and after treatment. Moreover, we analyzed other alternative ways of using the mycelium that grows on the specific waste.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

---

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b>	<b>IV</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>VI</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	<b>VII</b>
<b>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ</b>	<b>IX</b>
<b>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ</b>	<b>X</b>
<b>1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>11</b>
1.1 ΜΥΚΗΤΕΣ	11
1.2 ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΕΣ	15
1.2.1 Τάξη <i>Agaricales</i>	17
1.3 ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ	36
1.4 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΓΙΑ ΜΥΚΗΛΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ	42
1.4.1 Καλαμπόκι	43
1.4.2 Ξυλοπολτός	44
1.4.3 Εκτύπωση <i>Offset</i> - Χρωστική	46
1.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ & ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ	47
1.5.1 Μέθοδος <i>Bradford</i>	47
1.5.2 Μέθοδος <i>DNS</i>	48
1.5.3 Λυοφιλοποίηση	49
1.6 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	50
<b>2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>52</b>
2.1 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΩΝ	52
2.2 ΛΥΟΦΙΛΟΠΟΙΗΣΗ	54
2.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	55
2.3.1 Μέτρηση πρωτεΐνης με τη μέθοδο <i>Bradford</i>	55
2.3.2 Μέτρηση υδατανθράκων ( <i>sugars</i> ) με την μέθοδο <i>DNS</i>	56

2.4	ΔΙΑΚΟΣΜΗΤΙΚΑ	57
<b>3</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>59</b>
3.1	ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	59
3.1.1	<i>Cerrena unicolor</i> – Προκαταρκτική μελέτη:	59
3.1.2	<i>Cerrena unicolor</i>	62
3.1.3	<i>Trametes versicolor</i>	64
3.1.4	<i>Pleurotus eryngii</i>	66
3.1.5	<i>Pleurotus nebrodensis</i>	68
3.1.6	<i>Pleurotus ostreatus</i>	71
3.1.7	<i>Ganoderma sp.</i>	72
3.1.8	<i>Agaricus bisporus</i>	74
3.2	ΔΙΑΚΟΣΜΗΤΙΚΑ	77
3.3	ΛΥΟΦΙΛΟΠΟΙΗΣΗ	78
3.4	ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ ΣΑΚΧΑΡΑ	80
3.4.1	Αποτελέσματα ανάλυσης πρωτεΐνης με την μέθοδο Bradford	80
3.4.2	Αποτελέσματα ανάλυσης υδατανθράκων με την μέθοδο DNS	83
<b>4</b>	<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ &amp; ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>87</b>
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ</b>	<b>93</b>
	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>96</b>
	ΞΕΝΗ	96
	ΕΛΛΗΝΙΚΗ	113
	ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΟΙ ΤΟΠΟΙ	113



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

---

<i>Πίνακας 3-1 Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης συγκεντρώσεων BSA και Porcorn</i>	<i>81</i>
<i>Πίνακας 3-2 Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης νέων συγκεντρώσεων BSA</i>	<i>82</i>
<i>Πίνακας 3-3 Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης για όλα τα στελέχη</i>	<i>83</i>
<i>Πίνακας 3-4 Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στη γλυκόζη</i>	<i>84</i>
<i>Πίνακας 3-5 Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στο porcorn</i>	<i>84</i>
<i>Πίνακας 3-6 Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων σε τέσσερα δείγματα</i>	<i>85</i>
<i>Πίνακας 3-7 Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στα υπόλοιπα τέσσερα</i>	<i>85</i>
<i>Πίνακας 4-1 Ποσοστά πρωτεϊνών/αναγωγικών σακχάρων στελεχών &amp; διαφορές με το porcorn</i>	<i>89</i>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

---

<i>Διάγραμμα 1-1 Ανακάλυψη νέων ειδών την χρονική περίοδο 2004-2019 Πηγή: (Cheek et al., 2020)</i>	15
<i>Διάγραμμα 1-2 Διαδικασία λυοφιλοποίησης (freeze-drying) Πηγή: (Boss et al., 2004)</i>	50
<i>Διάγραμμα 3-1 Καμπύλη BSA – Πρωτεΐνης Porcorn</i>	81
<i>Διάγραμμα 3-2 Καμπύλη BSA με τις νέες συγκεντρώσεις</i>	82
<i>Διάγραμμα 3-3 Καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης</i>	84

# 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

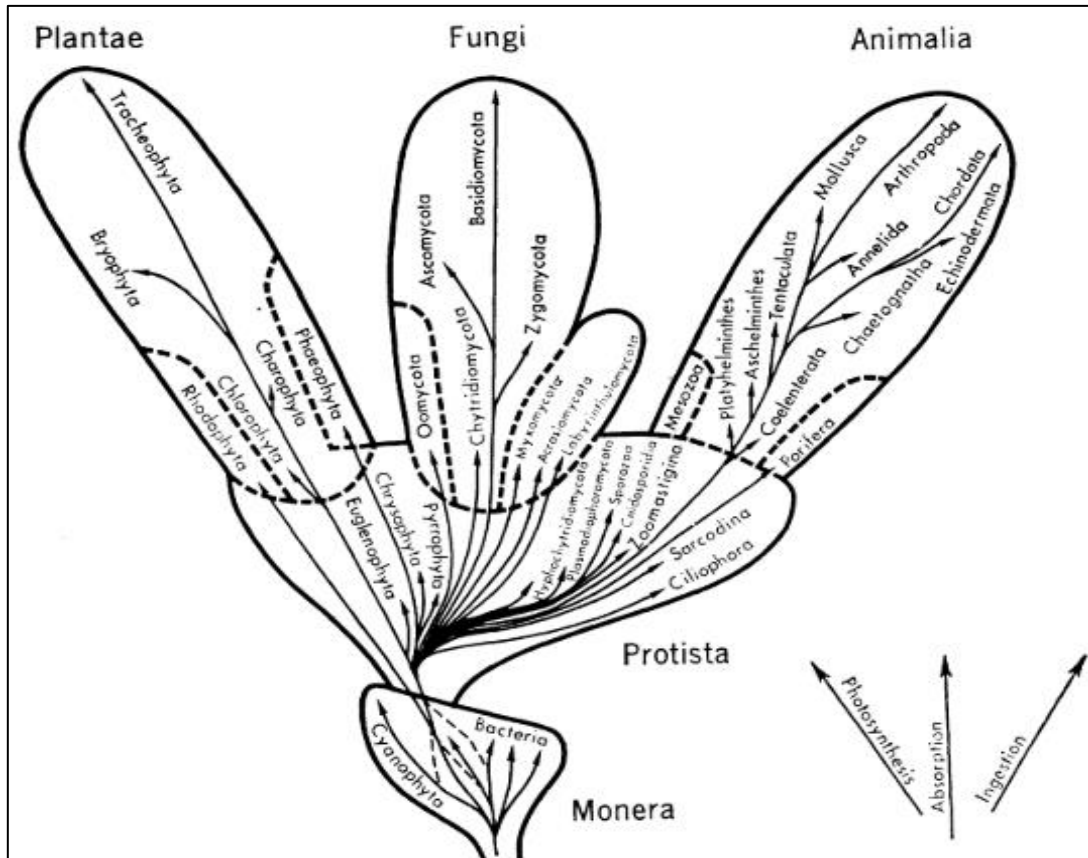
---

## 1.1 Μύκητες

Οι ζωντανοί οργανισμοί για πολλά χρόνια οργανώνονταν κατά κύριο λόγο σε δύο ομάδες, ή αλλιώς Βασίλεια, για την ευκολότερη μελέτη των χαρακτηριστικών τους: τα φυτά και τα ζώα. Η βασική απλή διαφορά ανάμεσα σε αυτές τις κατηγορίες ήταν πως ό,τι κινείται και τρέφεται από άλλους οργανισμούς ανήκει στο Βασίλειο των Ζώων και ό,τι ήταν σταθερό και μεγάλωνε μέσω της φωτοσύνθεσης ανήκει στο Βασίλειο των Φυτών. Ανακαλύπτοντας περισσότερες λειτουργίες και είδη, διαπιστώθηκε ότι αυτή η κατηγοριοποίηση δημιουργούσε αρκετά προβλήματα, καθώς πολλοί οργανισμοί, όπως οι μύκητες, δεν συμπεριλαμβάνονταν σε καμία από τις δύο κατηγορίες.

Ο Whittaker (1957) αρχικά δημιούργησε τρεις βασικές κατηγορίες για τους οργανισμούς: τους παραγωγούς, τους καταναλωτές και τους αποικοδομητές (reducers). Οι παραγωγοί χρησιμοποιούν ηλιακή ή χημική ενέργεια για τη σύνθεση οργανικών ενώσεων μέσω ανόργανων. Σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η δημιουργία τροφικής ενέργειας, η οποία χρησιμοποιείται από τους ίδιους ή από τους υπόλοιπους οργανισμούς του οικοσυστήματος στο οποίο ζουν και μεγαλώνουν. Οι καταναλωτές χρησιμοποιούν αυτή την παραγωγή τροφής είτε τρώγοντας παραγωγούς είτε άλλους καταναλωτές. Τέλος, οι αποικοδομητές, στους οποίους ανήκουν οι μύκητες και τα βακτήρια, διασπούν τη νεκρή μάζα των δύο παραπάνω σε ανόργανα στοιχεία στο χώμα και στο νερό συνεχίζοντας έτσι τον κύκλο της ζωής.

Σε επόμενη έρευνά του (Whittaker, 1969), οι οργανισμοί διαχωρίστηκαν σε περισσότερες κατηγορίες, αυξάνοντας τον αριθμό των Βασιλείων σε πέντε: τα Protista (Πρώτιστα), τα Plantae (Φυτά), τα Animalia (Ζώα), τα Fungi (Μύκητες) και τα Monera (Μονήρη), όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1-1. Τα Monera περιλαμβάνουν τους προκαρυωτικούς οργανισμούς, τα Protista τους μονοκύτταρους ευκαρυωτικούς και τα υπόλοιπα τους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς. Πλέον, μέσω της μοριακής ανάλυσης του πυρηνικού ριβοσωμικού RNA (Woese et al., 1990), επικρατεί ο διαχωρισμός των οργανισμών σε τρία πεδία (3 domains), τα Αρχαία, τα Βακτήρια και τα Ευκάρυα, στα οποία ανήκουν και οι μύκητες.



**Εικόνα 1-1: Θεωρία Whittaker για τα Πέντε Βασίλεια**  
 Πηγή: (Whittaker, 1969)

Παρ' όλο που το Βασίλειο των Μυκήτων αναφερόταν σε κάθε θεωρία, οι ερευνητές βιολόγοι διαφωνούσαν για τον ακριβή ορισμό του, λόγω των διαφορετικών χαρακτηριστικών που έχουν ακόμα και μεταξύ τους. Για αρκετό καιρό η ανομοιογένεια των μυκήτων ήταν ευρέως αναγνωρισμένη ανεπίσημα, αλλά επίσημα δεν είχε γίνει η ταξινόμηση των συγκεκριμένων οργανισμών (Cavalier-Smith, 1981).

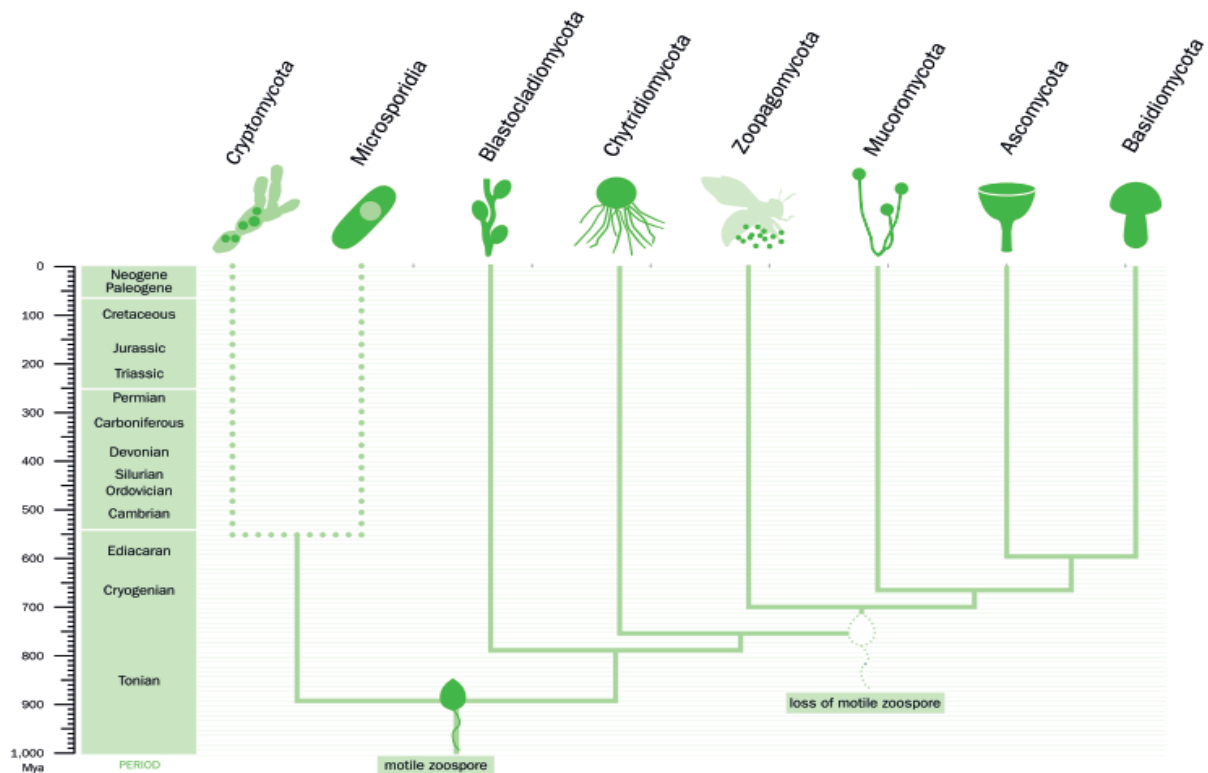
Κατά κύριο λόγο, εξαιτίας της πολυφυλετικής φύσης τους και διαφόρων ερευνών που έχουν γίνει πάνω σε αυτούς, οι μύκητες έχουν τη δυνατότητα να συμπεριληφθούν σε τρία τουλάχιστον Βασίλεια (Kendrick, 2017). Κάποια βασικά χαρακτηριστικά που τους κάνουν να ξεχωρίζουν από τα υπόλοιπα είναι τα εξής:

- i) Είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, οι οποίοι αναπαράγονται με σπόρια (διαφορετικών των φυτών), μεταφερόμενα από τον αέρα και ενίοτε από έντομα (Volk, 2013).
- ii) Τα κύτταρά τους μοιάζουν στη δομή με τα κύτταρα των φυτών, αλλά διαφέρουν στη χημική τους σύσταση (το κυτταρικό τους τοίχωμα είναι από χιτίνη).
- iii) Ο θαλλός τους μπορεί να είναι μονοκύτταρος (ζύμες), ή στις περισσότερες περιπτώσεις, να αποτελείται από πολλές μικροσκοπικές υφές που να δημιουργούν το

μυκήλιο. Το μυκήλιο αποτελείται από σωληνοειδή νημάτια, τις υφές, και είναι ουσιαστικά το κύριο σώμα του μύκητα.

- iv) Είναι ετερότροφοι και όχι αυτότροφοι, αφού απορροφούν τα θρεπτικά που χρειάζονται από την οργανική ύλη που διασπούν με τη βοήθεια ενζύμων (Margulis, 1981). Τα θρεπτικά αυτά αποκτώνται είτε μέσω νεκρής οργανικής ύλης (σαπροφάγοι) είτε μέσω άλλων ζωντανών οργανισμών (συμβιωτικοί ή παρασιτικοί).
- v) Οι περισσότεροι μύκητες αποθηκεύουν την τροφή τους ως γλυκογόνο, ενώ τα φυτά ως άμυλο.

Με την εξέλιξη της μοριακής βιολογίας και βιοπληροφορικής η ταξινόμηση έγινε πιο φυσική, αποδίδοντας την εξέλιξη τους και τις μεταξύ τους σχέσεις. Σε γενικές γραμμές, οι μύκητες χωρίζονται στα βασικά φύλα (Εικόνα 1-2): Cryptomycota, Microsporidia, Blastocladiomycota, Chytridiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Ascomycota και Basidiomycota.



**Εικόνα 1-2: Φυλογένεση Μυκήτων**

Πηγή: (K. J. (ed. . Willis, 2018)

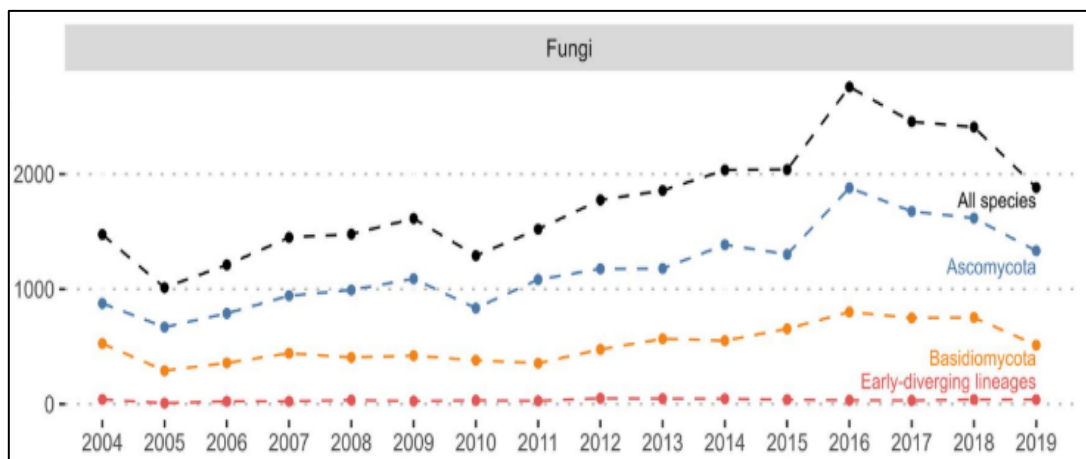
Κάποιες ακόμα θεωρίες ενώνουν τα φύλα των Ασκομυκήτων και των Βασιδιομυκήτων σε ένα υποβασιλείο, τα Δικάρυα (Εικόνα 1-3), λόγω πολλών κοινών χαρακτηριστικών τους (Hibbett *et al.*, 2007; James *et al.*, 2006).



**Εικόνα 1-3: Φύλα Μυκήτων**  
**Πηγή: (Γκόνου - Ζάγκου, 2020)**

Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί περίπου 155,000 είδη αλλά δεν είναι εφικτό να καταμετρηθεί ο ακριβής αριθμός των μυκήτων πάνω στον πλανήτη, εφόσον σύμφωνα με την Ετήσια Αναφορά 2018 (K. J. (ed. . Willis, 2018), κατά προσέγγιση, τουλάχιστον 2 εκατομμύρια είδη παραμένουν ακόμα άγνωστα για τους ερευνητές.

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας και η ανάγκη αξιοποίησης των φυσικών πόρων έχει οδηγήσει την αναζήτηση νέων ειδών ακόμα και σε περιοχές του πλανήτη όπου επικρατούν ακραίες συνθήκες ζωής. Το αποτέλεσμα αυτών των ερευνών είναι η καταγραφή τουλάχιστον 1000 νέων ειδών κάθε χρόνο, με πρόσφατο παράδειγμα το 2019 (Fy, 2020) με την ανακάλυψη 1.886 (Διάγραμμα 1-1). Παρ' όλα αυτά, οι περιβαλλοντικές καταστροφές, όπως οι πυρκαγιές, καθώς και η κλιματική αλλαγή καθιστούν δύσκολη αυτή την έρευνα, αφού πολλοί μύκητες είναι στα πρόθυρα εξαφάνισης.



**Διάγραμμα 1-1**  
**Ανακάλυψη νέων ειδών την χρονική περίοδο 2004-2019**  
 Πηγή: (Cheek *et al.*, 2020)

Στην παρούσα εργασία, η ανάλυση και το πείραμα αφορούν συγκεκριμένα είδη μυκήτων. Στα επόμενα κεφάλαια αναλύεται το φύλο των Βασιδιομυκήτων και η τάξη των Agaricales, η οποία περιλαμβάνει τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν.

## 1.2 Βασιδιομύκητες

Οι Βασιδιομύκητες περιλαμβάνουν το 25% περίπου του συνόλου των μυκήτων και αποτελούν, μαζί με τους Ασκομύκητες, τους λεγόμενους ανώτερους μύκητες. Το συγκεκριμένο φύλο είναι ιδιαίτερα ευρύ αφού σε εκείνο συγκαταλέγονται κάποια είδη ζύμης, οι φυτοπαθογόνοι αλλά και τα γνωστά σε όλους μανιτάρια. Τα περισσότερα είδη είναι σαπροφυτικά και αποικοδομούν ποικιλία οργανικών υποστρωμάτων. Πολλά είναι μυκορριζικά και δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με δέντρα, ενώ ορισμένα είναι σοβαρά παράσιτα, όπως π.χ. το είδος *Armillaria mellea* που καταστρέφει πολλά ξυλώδη και ποώδη φυτά. Δύο σημαντικές ομάδες φυτοπαθογόνων μυκήτων, οι σκωριομύκητες (Uredinales) και οι ανθρακομύκητες (Ustilaginales), ανήκουν στους Βασιδιομύκητες (Γκότση, 1998).

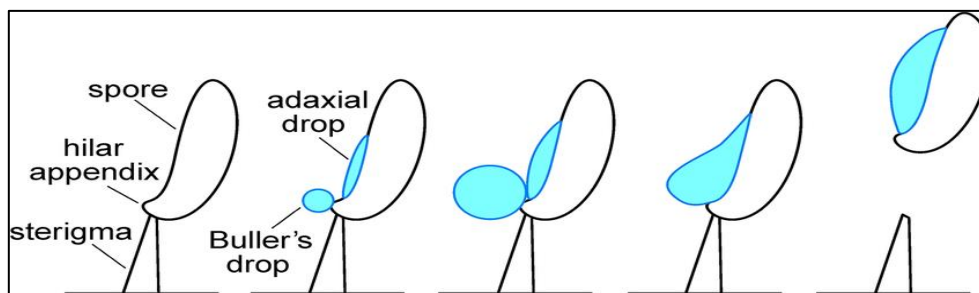
Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των Βασιδιομυκήτων είναι ο σχηματισμός του βασιδίου, ενός εξειδικευμένου κυττάρου, απαραίτητο για τον πολλαπλασιασμό τους, πάνω στο οποίο δημιουργούνται τα βασιδιοσπόρια. Τα βασίδια χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: 1. τα ολοβασίδια που είναι μονοκύτταρα και 2. τα φραγμοβασίδια που χωρίζονται σε τέσσερα κύτταρα με κάθετα ή οριζόντια σέπτα (κάθετα χωρίσματα στην υφή του θαλλού ενός μύκητα). Και οι δύο τύποι σχηματίζονται σε καθορισμένη στρώση που λέγεται υμένιο.

Τα βασιδιοσπόρια είναι εξωγενή πάνω στο βασίδιο, και συνήθως είναι 4. Για τον σχηματισμό τους, οι δύο πυρήνες του βασιδίου συγχωνεύονται, ο ζυγωτής υφίσταται μείωση και δημιουργούνται 4 απλοειδείς πυρήνες, ενώ συγχρόνως σχηματίζονται τέσσερις προεξοχές από προέκταση του τοιχώματος του βασιδίου. Ταυτόχρονα, στη βάση του βασιδίου δημιουργείται ένα μεγάλο χυμοτόπιο, το οποίο μεγαλώνει και εξωθεί το κυτταρόπλασμα και τους απλοειδείς πυρήνες να σχηματίσουν τα βασιδιοσπόρια (Kües & Liu, 2000). Η παρουσία βασιδίου είναι το καθοριστικό κριτήριο για να θεωρηθεί ένας μύκητας ως Βασιδιομύκητας ανεξάρτητα από τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά.

Το μυκήλιο που προκύπτει από τη βλάστηση ενός βασιδιοσπορίου είναι το πρωτογενές μυκήλιο. Σε σύντομο χρονικό διάστημα σχηματίζεται στο δευτερογενές (δικάρυο) μυκήλιο, που περιέχει δύο διαφορετικούς πυρήνες (+ και -). Το δευτερογενές μυκήλιο παράγεται από την αναστόμωση δύο συμβατών ομοκάρυων μυκηλίων (σωματογαμία), μέσω μιας διαδικασίας συζυγών διαιρέσεων των πυρήνων και μετακίνησης των θυγατρικών πυρήνων στα νέα κύτταρα. Το δικάρυο μυκήλιο αποτελεί τον θαλλό του Βασιδιομύκητα και είναι δυνατό να παραμείνει στο υπόστρωμα για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Στους περισσότερους Βασιδιομύκητες, κυρίως στα είδη με εκτεθειμένο υμένιο, τα βασιδιοσπόρια χαρακτηρίζονται βαλλιστοσπόρια (ballisporos), αφού εκτινάσσονται βίαια από τα βασίδια (Webster & Weber, 2007). Λίγο πριν την εκτίναξη, στη βάση κάθε βασιδιοσπορίου όπου υπάρχει η ομφαλική απόφυση (hilar appendix), σχηματίζεται μια υγρή σταγόνα (Buller's drop – Εικόνα 1-4) και η οποία σε λίγα δευτερόλεπτα αυξάνεται σε μέγεθος και εκτινάσσεται μαζί με το σπόριο σε απόσταση μικρότερη από 1mm. Η σταγόνα αυτή περιέχει σακχαρίτες, όπως μαννιτόλη, εξόζες και νερό. Όλο αυτό το υγρό μεταφέρεται μαζί με τα βασιδιοσπόρια ύστερα από την εκτίναξη, αλλά εξατμίζεται όταν τα σπόρια είναι στον αέρα. Αυτή η διαδικασία θα μπορούσε να επηρεάσει σημαντικά ακόμα και τον σχηματισμό σύννεφων, καθώς και την πρόκληση βροχών στα δάση, αφού ένα μόνο μανιτάρι μπορεί να ελευθερώσει στο περιβάλλον περίπου 30.000 σπόρια το δευτερόλεπτο (Hassett *et al.*, 2015).





**Εικόνα 1-4: Σταγόνα του Buller**

Πηγή: (Hassett *et al.*, 2015)

Στο κεφάλαιο που ακολουθεί, αναλύεται μια συγκεκριμένη τάξη Βασιδιομυκήτων, η τάξη των Agaricales, καθώς και τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία: *Agaricus bisporus*, *Cerrena unicolor*, *Ganoderma applanatum*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus nebrodensis*, *Pleurotus ostreatus* και *Trametes versicolor*.

### 1.2.1 Τάξη Agaricales



**Εικόνα 1-5: Μανιτάρια *Lentinula edodes* (Shiitake)**

Πηγή: (Agrimania, 2019)

Στα Agaricales περιλαμβάνονται οι μύκητες που σχηματίζουν κατά την εγγενή αναπαραγωγή τους σαρκώδη βασιδιοκάρπια, τα κοινώς γνωστά μανιτάρια. Τα βασιδιοκάρπιά τους αποτελούνται εξ' ολοκλήρου από λεπτότοιχες υφές και έχουν δύο κύρια μέρη, τον στύπο και τον πύλο. Στην κάτω επιφάνεια του πύλου είναι ακτινωτά διατεταγμένα τα ελάσματα (lamellae), η επιφάνεια των οποίων καλύπτεται από το υμένιο που φέρει τα βασίδια με τα

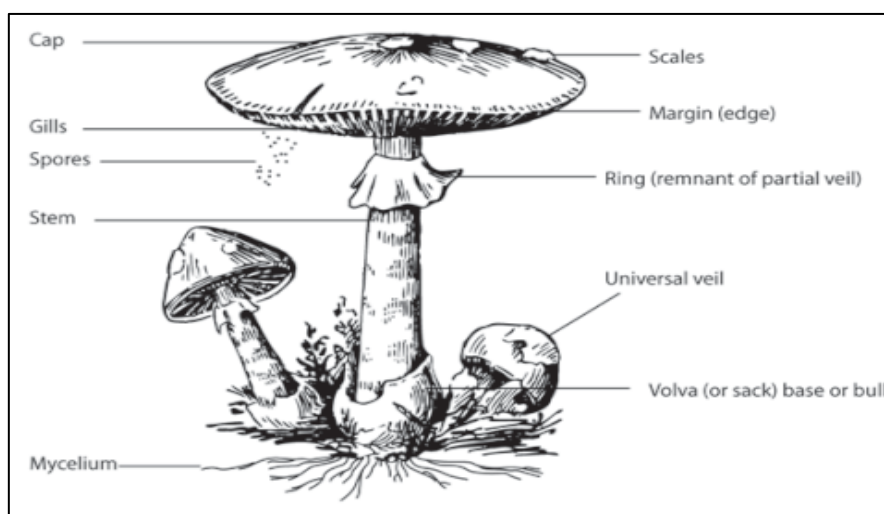
βασιδιοσπόρια, καθώς και κυστίδια ή βασιδιόλες, ενώ ο εσωτερικός ιστός των ελασμάτων ονομάζεται τράμα.

Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι ανάπτυξης των βασιδιοκαρπίων των Agaricales:

A. Γυμνοκαρπική ανάπτυξη. Το υμένιο παραμένει εκτεθειμένο στον αέρα από την αρχή του σχηματισμού του και δεν καλύπτεται από ιστό σε κανέναν στάδιο.

B. Ημιαγγειοκαρπική ανάπτυξη. Το υμένιο στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης είναι κλεισμένο σε ιστούς του βασιδιοκαρπίου, τον μερικό ή /και τον ολικό πέπλο.

Κατά την ωρίμανση ο μερικός πέπλος, που καλύπτει την κάτω επιφάνεια του πύλου, σχίζεται και αφήνει ένα δακτύλιο, συνήθως στο ανώτερο τμήμα του στύπου. Σε άλλα είδη το αρχέγονο του βασιδιοκαρπίου καλύπτεται εξ' ολοκλήρου από έναν ιστό που λέγεται ολικός πέπλος. Με την επέκταση του πύλου ο ολικός πέπλος σχίζεται και αφήνει ένα υπόλειμμα σαν σάκο γύρω από τη βάση του στύπου, το λεγόμενο κολεό (volva). Μερικές φορές ο ολικός πέπλος αφήνει υπολείμματα και στην άνω επιφάνεια του πύλου συνήθως με τη μορφή διακοσμητικών φολιδών, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1-6.



**Εικόνα 1-6: Η ανατομία του μανιταριού**

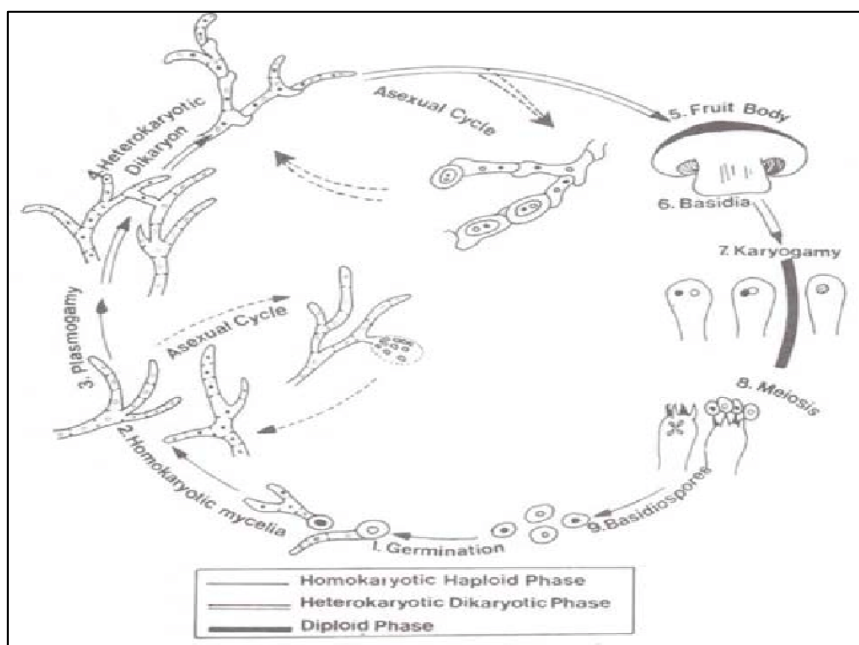
Πηγή: (*Mushroom Anatomy*, 2020)

Τα βασιδιοκάρπια, που αντιπροσωπεύουν την αναπαραγωγική φάση, είναι εφήμερα ενώ το μυκήλιο που αντιπροσωπεύει τη βλαστική φάση, παρ' όλο ότι είναι αφανές γιατί αναπτύσσεται κάτω από την επιφάνεια του εδάφους, μπορεί να διατηρηθεί για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Πιο συγκεκριμένα, το δευτερογενές (δικάρυο) μυκήλιο είναι άφθονο και είναι εκείνο που παράγει τα βασιδιοκάρπια, ενώ το πρωτογενές μυκήλιο, που προκύπτει από τη βλάστηση των απλοειδών βασιδιοσπορίων, έχει περιορισμένη διάρκεια. Η διάρκεια ζωής ενός βασιδιοκαρπίου (μανιταριού) κυμαίνεται από 10 έως 14 μέρες (Kalač, 2013).

Η δημιουργία βασιδιοκάρπιων είναι η πιο εμφανώς κυτταρικά διαφοροποιημένη διαδικασία στους Βασιδιομύκητες. Έχει ερευνηθεί από πολλούς βιολόγους και έχει αναλυθεί σε μοριακό επίπεδο, απομονώνοντας πολλά από τα γονίδια που συμμετέχουν σε αυτό το στάδιο. Πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν την ανάπτυξη των βασιδιοκάρπιων, όπως οι αλλαγές της θερμοκρασίας και η έκθεσή τους στο φως. Σε πολλά είδη μάλιστα, η παντελής έλλειψη φωτός είναι τελικά ένας από τους ανασταλτικούς παράγοντες (Sakamoto *et al.*, 2002).

Ο κύκλος ζωής τους (Εικόνα 1-7) χωρίζεται σε τρεις φάσεις:

1. Ομοκάρυος ή μονοκάρυος Φάση: αρχίζει με την βλάστηση του βασιδιοσπορίου. Η φάση αυτή συνήθως είναι περιορισμένης διάρκειας μέχρι που οι μονοκάρυες υφές να έρθουν σε επαφή με άλλες αντίθετου συζευκτικού τύπου.
2. Ετεροκάρυος ή δικάρυος Φάση: η αναστόμωση των μονοκάρυων υφών (πλασμογαμία) και η δημιουργία δικάρυου μυκηλίου. Η διαδικασία αυτή εξασφαλίζει την παρουσία δύο διαφορετικών πυρήνων σε κάθε νέο κύτταρο.
3. Διπλοειδής Φάση: λαμβάνει χώρα στα βασίδια. Πραγματοποιείται σύζευξη δύο διαφορετικών πυρήνων (καρυογαμία), για να ακολουθήσει η μειωτική διαίρεση. Προκύπτουν τέσσερις απλοειδής πυρήνες και μεταναστεύουν μεμονωμένα σε τέσσερα παραγόμενα βασιδιοσπορίων.



**Εικόνα 1-7: Ο κύκλος ζωής του μανιταριού *Agaricus bisporus***  
 Πηγή: (Shwet *et al.*, 2019)

Στα επόμενα κεφάλαια θα αναλυθούν τα είδη μανιταριών της τάξεως Agaricales που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα της παρούσας εργασίας και είναι τα: *Cerrena unicolor*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus nebrodensis*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma sp.* και *Agaricus bisporus*.

### 1.2.1.1 *Cerrena unicolor*



**Εικόνα 1-8: *Cerrena versicolor***  
Πηγή: (*Wood Decay Fungi of Living Trees*, 2020)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Polyporales

**Οικογένεια:** Polyporaceae

**Γένος:** *Cerrena*

**Είδος:** *C. unicolor*

Το *Cerrena unicolor* είναι ένας μύκητας με υμενοφόρο σε μορφή πόρων ή λαβυρίνθου, ο οποίος μεγαλώνει σε κωνοφόρα δέντρα και πιο σκληρά ξύλα ως παράσιτο (Roody, 2003), σε σχετικά κρύα περιβάλλοντα, και συναντάται στη Βόρεια Αμερική, στην Ευρώπη, στην

Ιαπωνία και στην Αυστραλία. Η ταξινόμησή του δυσκολεύει τους ερευνητές, καθώς πολλές φορές συγχέεται με το *Trametes versicolor*, καθόσον υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στα βασιδιοκάρπια και των 2 ειδών (Lee & Lim, 2010).

Παράγει βασιδιοκάρπια κάθε χρόνο, μεμονωμένα ή πολλά μαζί, τα οποία δεν έχουν στύπο και φτάνουν σε πλάτος περίπου τα 10 εκατοστά. Μεγαλώνει πάνω σε κορμούς δέντρων ως παράσιτο, ανήκει στην κατηγορία μυκήτων που διασπών επιλεκτικά το πολυμερές λιγνίνη, δηλαδή στους μύκητες λευκής σήψης(white-rot fungi), και δεν είναι βρώσιμο.

Αναλύοντας την ανάπτυξή του εργαστηριακά (Westhuizen, 1963), παρατηρείται ότι μεγαλώνει γρήγορα και η αποικία μπορεί να φτάσει τα 50 χιλιοστά την πρώτη εβδομάδα εμβολιασμού και να καλύψει ένα τρυβλίο μέσα σε 10-14 ημέρες. Ο τρόπος με τον οποίο εξαπλώνεται το μυκήλιο είναι ίδιος από όλες τις πλευρές και έχει μια λευκή και μαλλιαρή όψη που θυμίζει βαμβάκι, όμως στο τρυβλίο ο μύκητας δεν θα αναπτύξει ποτέμανιτάρι. Μετά από 4 εβδομάδες καλλιέργειας, αρχίζει να παράγεται μια έντονη μυρωδιά.

Η κυριότερη αξιοποίηση του *Cerrena* είναι η διάσπαση της λιγνίνης εξαιτίας της παραγωγής του ενζύμου λακκάση (Kim *et al.*, 2002). Η ενζυμική διαδικασία οξείδωσης που προκαλείται μπορεί να εδραιώσει την αρχή ανάπτυξης μιας εναλλακτικής τεχνολογίας για την επεξεργασία μολυσμένων υδάτων και βιομηχανικών αποβλήτων (Filazzola *et al.*, 1999). Τέλος, το *C. unicolor* είναι μία αποτελεσματική νέα πηγή αντιικών και αντικαρκινικών συστατικών, καθώς και συστατικών για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού (Mizerska-Dudka *et al.*, 2015).

### 1.2.1.2 *Trametes versicolor*



**Εικόνα 1-9: *Trametes versicolor***  
Πηγή: (*Science Direct*)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Polyporales

**Οικογένεια:** Polyporaceae

**Γένος:** *Trametes*

**Είδος:** *T. versicolor*

Το *Trametes (Coriolus) versicolor*, ευρέως γνωστό και ως “turkey tail”, είναι ένας κοινός σαπροτροφικός μύκητας που μεγαλώνει σε διάφορα σκληρά ξύλα και κορμούς, προκαλώντας διάσπαση της λιγνίνης. Τόσο το μυκήλιο, όσο και τα βασιδιοκάρπια, είναι ανθεκτικά και αντέχουν αρκετό καιρό χωρίς υγρασία. Παράγει βασιδιοκάρπια κάθε χρόνο τα οποία έχουν βελούδινη και πολύχρωμη, χωρισμένη σε ζώνες, επιφάνεια, η οποία απορροφάει εύκολα τη βροχή (Webster & Weber, 2007).

Τα βασιδιοκάρπια του έχουν διάφορες μορφές και χρώματα. Μέσα σε έναν κορμό ξύλου, μπορεί να μην συμπεριφέρεται ως μία οντότητα (μία μονάδα μυκηλίου) αλλά ως μια σειρά

από διακριτά άτομα, και για το λόγο αυτό μπορούν να παραχθούν διαφορετικά βασιδιοκάρπια από τον ίδιο μύκητα.

Το *T. versicolor* έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά πειράματα διάσπασης πληθώρας λιγνοκυτταρικών υλικών (Higuchi, 1993; Otjen *et al.*, 1987; Otjen & Blanchette, 1986; Peláez *et al.*, 1995), φαρμακευτικών ουσιών (Han *et al.*, 2004; Marco-Urrea *et al.*, 2009) αλλά και σε υπολείμματα (Lorenzo *et al.*, 2002; Tripathi *et al.*, 2008). Μάλιστα, τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών έδειξαν ότι το πítουρο κριθαριού είναι το ιδανικότερο υπόστρωμα για την παραγωγή λακκάσης από τον μύκητα. Για το λόγο αυτό η κυριότερη βιομηχανική χρήση του *T.versicolor* είναι η παραγωγή λακκάσης (Jönsson *et al.*, 1995; Zeng *et al.*, 2017) και υπεροξειδάσης (Webster & Weber, 2007). Επιπλέον, ο μύκητας παράγει πολυσακχαροπεπτίδια τα οποία εμπορεύονται οι φαρμακοβιομηχανίες για την θεραπεία του καρκίνου, αλλά και για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού.

Στην έρευνα του Iqbal (2011), φαίνεται ότι το *T. versicolor* έχει την ικανότητα να παράξει ένζυμα που διασπών γρήγορα και αποτελεσματικά τη λιγνίνη, και ταυτόχρονα να παράξει υπεροξειδίο του υδρογόνου, απαραίτητο για τη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης. Τα δύο αυτά χαρακτηριστικά τον καθιστούν πρώτη επιλογή για διάφορες βιοτεχνολογικές και περιβαλλοντικές εφαρμογές. Η βιο-εξυγίανση είναι μία από αυτές καθώς μπορεί και διασπά τις χρωστικές από απόβλητα βαφοποιίων, τον ξυλοπολτό και το PCP (Pentachlorophenol, χρησιμοποιείται και ως συντηρητικό ξύλου) (Blázquez *et al.*, 2004; Tanaka *et al.*, 1999; Webster & Weber, 2007). Τέλος, μία ακόμη μεγάλη του εφαρμογή είναι η διάσπαση συστατικών του πετρελαίου όπως το ανθρακένιο (Johannes *et al.*, 1996) και το βενζοπυρένιο (Dodor *et al.*, 2004) και άλλων ουσιών που βλάπτουν το περιβάλλον (de Jong & Field, 1997).

### 1.2.1.3 *Pleurotus eryngii*



**Εικόνα 1-10: *Pleurotus eryngii***

**Πηγή: (JMP Mushroom)**

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Agaricales

**Οικογένεια:** Pleurotaceae

**Γένος:** *Pleurotus*

**Είδος:** *P. eryngii*

Τα είδη του γένους *Pleurotus* παράγουν ένα από τα πιο σημαντικά εδώδιμα μανιτάρια. Είναι σαπροτροφικοί μύκητες που καλλιεργούνται σε υποστρώματα που περιέχουν λινίνη και κυτταρίνη, όπως είναι τα γεωργικά υπολείμματα (Jeznabadi *et al.*, 2016). Αυτή η επιλογή στα υλικά οφείλεται στο γεγονός ότι ανήκουν στην κατηγορία των μυκήτων λευκής σήψης και παράγουν μεγάλη ποικιλία ενζύμων όπως υπεροξειδάσες (Ruiz-Duenas *et al.*, 1999), λακκάσες, κυτταρινάσες, ημικυτταρινάσες και ξυλανάσες (Cohen *et al.*, 2002). Η διαφορά τους με το *Agaricus bisporus* είναι πως μεγαλώνουν σε λιγνοκυτταρινούχα υποστρώματα χωρίς τη βοήθεια της κομποστοποίησης ή της ειδικής επικάλυψης.

Βασικό χαρακτηριστικό του *Pleurotus eryngii* είναι η ικανότητά του να διασπά κυρίως τη λινίνη και μια πολύ μικρή ποσότητα κυτταρίνης (Martinez *et al.*, 1996; Peláez *et al.*, 1995).



Μεγαλώνει σε περιοχές της Νότιας Ευρώπης, της Βόρειας Αφρικής και της κεντρικής Ασίας. Υπάρχουν πολλοί μύκητες που συγχέονται συχνά με το *P. eryngii* όσον αφορά τα χαρακτηριστικά τους, όπως το *P.eryngii var. ferulae* και το *Pleurotus nebrodensis* (Kirbag & Akyüz, 2008).

Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής του, λαμβάνουν μέρος διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις ως αποτέλεσμα της παραγωγής και δράσης εξωκυτταρικών ενζύμων. Αυτά τα ένζυμα μετατρέπουν τα αδιάλυτα και μεγάλα συστατικά των λιγνοκυτταρινικών υλικών σε διαλυτές και σε χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις που στη συνέχεια προσροφούνται από τις υφές για να τραφούν (Kurt & Buyukalaca, 2010). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι εκφράζονται δύο είδη ισοενζύμων της λακκάσης, εκ των οποίων το ένα παρακινείται από την ύπαρξη λιγνίνης στο υπόστρωμα και το άλλο από τις αρωματικές ενώσεις που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας (Collins & Dobson, 1997; Muñoz *et al.*, 1997a, 1997b).

Λόγω των παραπάνω χαρακτηριστικών του, το *P. eryngii* συνήθως επιλέγεται για διάφορες έρευνες, όπως για την εξαγωγή της β-γλυκάνης (Carbonero *et al.*, 2006), τη βιοδιάσπαση υλικών ή βαφών (Dorado *et al.*, 1999). Οι μοναδικές δυσκολίες που παρουσιάζονται στην καλλιέργειά του είναι η αργή ανάπτυξη του μυκηλίου του και η μειωμένη άμυνά του απέναντι σε άλλους μικροοργανισμούς (Akyüz & Yildiz, 2007).

#### 1.2.1.4 *Pleurotus nebrodensis*



**Εικόνα 1-11: *Pleurotus nebrodensis***

Πηγή: (Gargano *et al.*, 2011)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Agaricales

**Οικογένεια:** Pleurotaceae

**Γένος:** *Pleurotus*

**Είδος:** *P. nebrodensis*

Στην αρχή το *Pleurotus nebrodensis* είχε καταγραφεί ως *Agaricus nebrodensis* από τον Giuseppe Inzenga το 1863, ο οποίος το είχε χαρακτηρίσει ως «το πιο νόστιμο μανιτάρι της μυκολογικής χλωρίδας της Σικελίας». Πήρε το όνομά του από την οροσειρά Nebrodì στη Βόρεια Σικελία και από την αρχαιότητα θεωρείται ξεχωριστό και δυσεύρετο. Νεότερες έρευνες το τοποθέτησαν και σε άλλες περιοχές, όπως τη Νότια Ηπειρωτική Ελλάδα, την κεντρική Ασία και την Κίνα (Wang *et al.*, 2014; Zervakis *et al.*, 2014).

Εξαιτίας της σπανιότητάς του, σε έρευνες του 1997 (Venturella *et al.*, 1997) και του 2011 (Gargano *et al.*, 2011), παρατηρήθηκε ότι ήταν πολύ ακριβό στην αγορά της Βόρειας

Σικελίας και η τιμή του έφτανε τα 50-70 ευρώ το κιλό. Έως τότε, το *P.nebrodensis* δεν είχε ουσιαστικά δική του αγορά και το χρησιμοποιούσαν μόνο λίγα εστιατόρια σε πολλές παραδοσιακές συνταγές. Λόγω της υψηλής του τιμής, πολλοί συλλέκτες μανιταριών κινητοποιήθηκαν, οι οποίοι μάζευαν ακόμα και τα άγουρα μανιτάρια, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να ολοκληρωθεί ο κύκλος αναπαραγωγής τους και να μειωθεί ακόμη περισσότερο ο πληθυσμός τους. Μεταξύ 2006 και 2015, το *P. nebrodensis* ήταν ο μοναδικός μύκητας που δηλώθηκε στα απειλούμενα υπό εξαφάνιση είδη και δεν άνηκε στην κατηγορία των λειχήνων (Global IUCN Red List of Threatened Species) (K. J. (ed. . Willis, 2018).

Παρ' όλα αυτά, στη Σικελία το 2016 (Venturella, 2016), ενεργοποιήθηκε ένα πρόγραμμα από το Πανεπιστήμιο και τις τοπικές αρχές για τη διαφύλαξη του φυσικού πληθυσμού του μύκητα, και αυτό ήταν η καλλιέργειά του αντί για την συγκομιδή του. Μέσω αυτού, δημιουργήθηκε μία επιπλέον πηγή εισοδήματος για τους καλλιεργητές, κατεβάζοντας έτσι την τιμή του μανιταριού και μειώνοντας την ανθρώπινη παρέμβαση στις άγριες ποικιλίες και στο περιβάλλον που μεγαλώνουν.

Στη φύση, ο μύκητας μεγαλώνει στη βάση του βλαστού και στη ρίζα συγκεκριμένου φυτού, του *Cachrys ferulacea*, ανήκει στην κατηγορία μυκήτων λευκής σήψης και τα βασιδιοκάρπιά του αρχίζουν να εμφανίζονται την άνοιξη και αρχές καλοκαιριού (Απρίλιος-Ιούνιος), στα 1200-2000 μέτρα υψόμετρο. Όσον αφορά την καλλιέργεια, το υπόστρωμα αποτελείται συνήθως από σπόρους βαμβακιού, πριονίδι ή στάχια αραβοσίτου. Η ιδανικότερη θερμοκρασία για την ανάπτυξη μανιταριών είναι από 25 έως 28°C για 22 μέρες (Alam *et al.*, 2009) και τα βασιδιοκάρπια μπορούν να έχουν πλάτος από 3 έως 14.5 εκατοστά (Zervakis *et al.*, 2014). Σημαντικό χαρακτηριστικό των καλλιεργήσιμων *P.nebrodensis* είναι το ότι δε χάνουν τα γευστικά και αρωματικά χαρακτηριστικά που έχουν στην άγρια μορφή τους, σε αντίθεση με το *Agaricus bisporus* και άλλα είδη *Pleurotus*.

Γενικότερα, γνωρίζουμε ήδη ότι τα είδη του *Pleurotus* προσφέρουν πληθώρα συστατικών στη διατροφή των ανθρώπων, αφού είναι πλούσια σε πρωτεΐνη, με λίγες θερμίδες, και έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπη. Το ίδιο ισχύει και για το *P.nebrodensis*, το οποίο έχει το χαμηλότερο ποσοστό σε λίπη από όλα τα *Pleurotus*, καταλαμβάνοντας μόνο το 1.6% του συνολικού του ξηρού βάρους (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Πέρα από τη διατροφική του αξία, το *P. nebrodensis* είναι ιδιαίτερα γνωστό για την προσφορά του στον τομέα της ιατρικής και των φαρμάκων, καθώς από εκείνο εξάγονται τρία ομογενή ισοένζυμα της λακκάσης (Yuan *et al.*, 2016) και μια συγκεκριμένη αιμολυτική

πρωτεΐνη, η νεβροδεολυσίνη (Lv *et al.*, 2009). Η πρωτεΐνη αυτή, ενώ δεν έχει γενική αντιική δράση, είναι κατάλληλη για την αντιμετώπιση του ιού HIV-1. Παράλληλα, είναι κυτταροτοξική απέναντι στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα και βοηθάει στην καταστολή της πτώσης του μυοκαρδίου (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Τέλος, ο συγκεκριμένος μύκητας είναι πλούσιος σε πολυσακχαρίτες (Cha *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014; Yan *et al.*, 2015), κάτι το οποίο τον καθιστά ιδανικό συστατικό για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού, αλλά και ως αντιοξειδωτικό και αντιυπερτασικό. Ένα σημαντικό μειονέκτημά του είναι πως το χρώμα, το σχήμα και το μέγεθος τωνμανιταριών φαίνεται να επηρεάζεται από τις αλλαγές του περιβάλλοντος στο οποίο μεγαλώνουν, και επιπλέον, το περιβάλλον έχει επίδραση και στην παραγωγή των δραστικών συστατικών του.

#### 1.2.1.5 *Pleurotus ostreatus*



**Εικόνα 1-12: *Pleurotus ostreatus***  
Πηγή: (Mushrooms Dirfis, 2020)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Agaricales

**Οικογένεια:** Pleurotaceae

**Γένος:** *Pleurotus*

**Είδος:** *Pleurotus ostreatus*

Το *P.ostreatus*, γνωστό και ως hiratake ή oyster mushroom, είναι ένα εδώδιμο, γευστικό και υψηλά διατροφικό μανιτάρι. Η λατινική λέξη *Pleurotus* σημαίνει «δίπλα στο αφτί» και το *ostreatus* «σχήμα στρειδιού». Στην άγρια μορφή του, μεγαλώνει σε δάση, σε εύκρατες και σε υγρές υποτροπικές ζώνες. Άρχισε να καλλιεργείται από το 1700 στις χώρες της Ανατολής, ενώ στις Ηνωμένες Πολιτείες εμφανίστηκε ως καλλιέργεια το 1900 (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Η καλλιέργεια των *P.ostreatus* είναι πολύ απλή και χαμηλή σε κόστος, με μεγάλη βιολογική αποτελεσματικότητα (biological efficiency), δηλαδή ένα μεγάλο ποσοστό του υποστρώματος στο οποίο μεγαλώνουν καλύπτεται από μανιτάρια, ανεβάζοντας έτσι την αξία του και το κέρδος του καλλιεργητή (Sánchez, 2010). Δεν απαιτούνται πολλοί παράμετροι για να καρποφορήσει και μπορεί να μεγαλώσει σε διαφορετικές θερμοκρασίες, ανάλογα με την εποχή και την περιοχή στην οποία βρίσκεται. Παρ' όλα αυτά, ένα πρόβλημα που δημιουργείται στην καλλιέργεια των *Pleurotus* είναι η μεγάλη ποσότητα βασιδιοσπόριων που ελευθερώνονται από τα αρχικά κιόλας στάδια ανάπτυξης, τα οποία προκαλούν την ασθένεια των πνευμόνων στους εργάτες που δουλεύουν στις καλλιέργειες (mushroom's worker's lung). Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, έχουν δημιουργηθεί γενετικά στελέχη χωρίς σπόρια.

Ερευνητές κατά καιρούς (Ibekwe *et al.*, 2008; Pettipher, 1987), αναφέρουν δεδομένα που εξασφαλίζουν τις ιδανικές συνθήκες μεγιστοποίησης της ανάπτυξης και της καρποφορίας δίνοντας διαφορετικές παραμέτρους για τη θερμοκρασία, το φως και την υγρασία, ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες των χωρών πραγματοποίησης των πειραμάτων. Επικρατέστερο είναι το πείραμα του Philippousis (2009), όπου η καρποφορία του *P.ostreatus* ενεργοποιείται όταν η θερμοκρασία χαμηλώσει τελικά στους 12-15°C (cold-shock treatment), αλλά αυτό δεν προαπαιτείται για άλλα είδη *Pleurotus*. Για την ανάπτυξή του, χρειάζεται φως για 8-12 ώρες (φυσικό ή τεχνητό φως) και επαρκή εξαερισμό, έτσι ώστε τα επίπεδα του CO<sub>2</sub> να παραμείνουν χαμηλότερα από τα 500 ppm. Επίσης, μία σημαντική παρατήρηση που

έκαναν όλοι σχεδόν οι ερευνητές ήταν πως το υπόστρωμα στο οποίο μεγάλωνε το *P.ostreatus* δε χρειαζόταν ειδική επίστρωση, όπως στην περίπτωση των *Agaricus bisporus*.

Το *P. ostreatus* δημιουργεί δέσμες από γκρι πλευρικά βασιδιοκάρπια, σε σχήμα που θυμίζει ανεμιστήρα, στη βάση κορμών φυλλοβόλων δέντρων, και ειδικά στην οξιά, τα οποία είναι ανθεκτικά απέναντι σε ασθένειες και παράσιτα. Επιπλέον, ο μύκητας τρέφεται με νηματώδεις σκόληκες που αποτελούν συμπληρωματική πηγή αζώτου, που αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξης των μυκήτων σε ξυλώδη υποστρώματα (Webster & Weber, 2007).

Το μανιτάρι του έχει μεγάλη διατροφική αξία καθώς περιέχει μεγάλη ποσότητα πρωτεΐνης, υδατανθράκων και φυτικών ινών. Μάλιστα, περιέχει την καλύτερη ποιότητα πρωτεΐνης από πολλά άλλα τρόφιμα και με υψηλό ποσοστό απορρόφησης από τον οργανισμό. Συγκεκριμένα, το PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score) των ενηλίκων δείχνει ότι η πρωτεΐνη του μπορεί να συγκριθεί με την καζεΐνη, τα αυγά και τη σόγια, αφού περιέχει κάποια αμινοξέα σε διπλή ή τριπλή ποσότητα (Carrasco-González *et al.*, 2017). Σημαντικό παράδειγμα της προσφοράς του, είναι η χρήση του ως συστατικό για την ανάπτυξη νέων γαλακτοκομικών τροφών με βάση τα σιτηρά, αφού επηρεάζει θετικά την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, λίπη και β-γλυκάνες.

Πέρα από τα διατροφικά του πλεονεκτήματα, το *P.ostreatus* έχει μοναδικά φαρμακευτικά χαρακτηριστικά και είναι ιδανικό για ανθρώπους που υποσιτίζονται ή για εκείνους που πάσχουν από ασθένειες όπως η αναιμία, εξαιτίας της υψηλής του ποσότητας σε φολικό οξύ (Agarwal *et al.*, 2017). Έχει υψηλή αναλογία καλίου και νατρίου, γεγονός που το καθιστά ιδανική τροφή για ασθενείς με υπέρταση, υπογλυκαιμία και καρδιακές παθήσεις. (Madan *et al.*, 1987) Συνάμα, έχει αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές, αντιεπιληπτικές, αντιϊκές και αντιγυραντικές ιδιότητες.

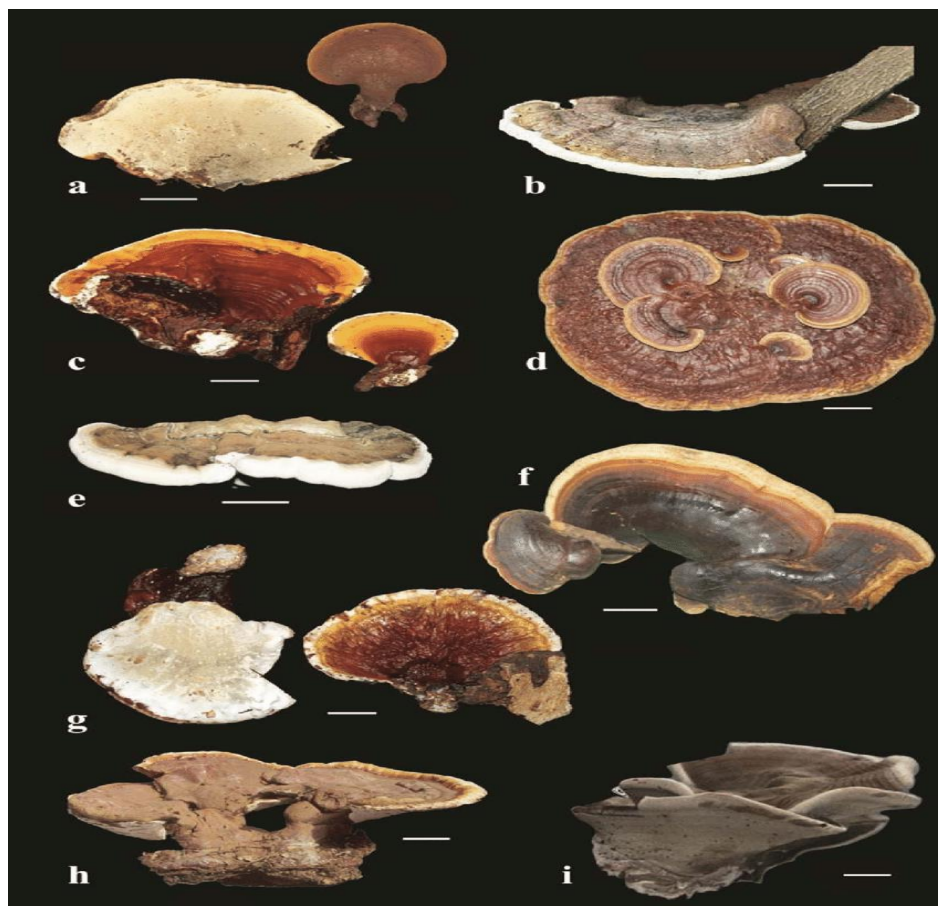
Ωστόσο, όλα τα παραπάνω επηρεάζονται σημαντικά από τα συστατικά που περιέχει το υπόστρωμα στο οποίο μεγαλώνουν (Dundar *et al.*, 2009; Jafarpour *et al.*, 2010). Η επιλογή του υποστρώματος, ο εμπλουτισμός συστατικών, η καλλιέργεια και οι διαδικασίες μετά την συγκομιδή είναι σημαντικό να είναι συγκεκριμένες και καλά μελετημένες για να εξασφαλιστεί η ποιότητα της παραγωγής (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Το υπόστρωμα στο οποίο καλλιεργείται, αποτελείται κυρίως από λιγνοκυτταρικά υλικά, αφού ο μύκητας ανήκει στις λευκές σήψεις και προκαλεί διάσπαση της λιγνίνης (Luz *et al.*, 2012; Peláez *et al.*, 1995). Κάποια από αυτά είναι το σιτάρι και οι σπόροι (Ibekwe *et al.*,

2008), το πριονίδι και το καλαμπόκι (Buah *et al.*, 2010). Στις μέρες μας χρησιμοποιούνται επίσης πολλά γεωργικά υπολείμματα όπως τα στάχνα του καλαμποκιού, τα φύλλα μπανάνας, οι ξηρές καλλιέργειες, το υπόλειμμα του καφέ, το κέλυφος των κόκκων κακάο κλπ (Ahmed *et al.*, 2009; Amuneke *et al.*, 2011; Hadar *et al.*, 1993; Mandeel *et al.*, 2005).

Τέλος, σημαντικό ρόλο παίζει και η βιο-εξυγίανση στην οποία το *P.ostreatus* λαμβάνει μέρος, καθώς είναι η διαδικασία όπου επικίνδυνα απόβλητα μετατρέπονται σε ακίνδυνα συστατικά με βιολογικό τρόπο (Bezalel *et al.*, 1997; Cohen *et al.*, 2002). Για τον εν λόγω μύκητα μάλιστα βρέθηκε ότι διασπά ξενοβιοτικά συστατικά όπως PAH (ρύποι με μεταλλαξιογόνες και καρκινογόνες ιδιότητες), βιομηχανικές βαφές και άλλες ουσίες που ρυπαίνουν το έδαφος όπως η ατραζίνη.

#### 1.2.1.6 *Ganoderma sp.*



**Εικόνα 1-13: *Ganoderma sp.***  
Πηγή: (Bhosle *et al.*, 2010)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Polyporales

**Οικογένεια:** Ganodermataceae

**Γένος:** *Ganoderma*

Η οικογένεια των Ganodermataceae περιλαμβάνει περίπου 40 παρόμοια γένη με σκληρά βασιδιοκάρπια σε κόκκινες, λευκές, κίτρινες, μωβ και άλλες αποχρώσεις. Συγκεκριμένα για το γένος *Ganoderma*, υπάρχουν πάνω από 250 είδη. Μία αναζήτηση της λέξης “*Ganoderma*” στη βάση δεδομένων του Index Fungorum εμφανίζει, μαζί με τα συνώνυμα, κοντά στα 428 καταγεγραμμένα είδη (Baby *et al.*, 2015).

Τα είδη του *Ganoderma* ανήκουν κι αυτά στην κατηγορία μυκήτων λευκής σήψης και σαπίζουν τις ρίζες και τους μίσχους σκληρών και μαλακών ξύλων. Τα σπόριά τους εμφανίζονται να έχουν διπλό τοίχωμα και αγκαθωτή όψη (Webster & Weber, 2007). Σημαντικό ρόλο για τη διασπορά τους δεν παίζει μόνο ο άνεμος αλλά και κάποια είδη εντόμων που τρέφονται με μύκητες και συνήθως τα βασιδιοκάρπια γίνονται ξενιστές νυμφών. Αυτό δεν ισχύει για όλα τα είδη *Ganoderma* αλλά παρουσιάζεται κυρίως στο *Ganoderma applanatum*.

Ένα μεγάλο βασιδιοκάρπιο είναι ικανό να εκτοξεύσει έως και 20 εκατομμύρια σπόρια σε ένα λεπτό μέσα στον κύκλο ζωής του (από Μάιο μέχρι Σεπτέμβριο). Τα σπόριά του, όταν βρουν κατάλληλο υπόστρωμα, μπορεί να χρειαστούν από 6 έως 12 μήνες για να βλαστήσουν και να αναπτυχθούν (Webster & Weber, 2007). Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αποτελεί το γεγονός ότι στον ίδιο κορμό η πιθανότητα να βρεθούν μη συμβατά σπόρια είναι μικρή, και αυτό οφείλεται στον μεγάλο αριθμό σπορίων που απελευθερώνονται από το βασιδιοκάρπιο. Μεγαλώνει σε μεγάλους κορμούς δέντρων, είναι συνήθως πολυετές και μεγαλώνει περιφερειακά κάθε χρόνο, όπως παρατηρείται και στο είδος *Ganoderma applanatum* (Webster & Weber, 2007).

Ο μύκητας *Ganoderma* είναι ευρέως γνωστός για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες απέναντι σε ένα ευρύ φάσμα παθήσεων (Jong & Birmingham, 1992). Κάποιες από αυτές είναι



η αντικαρκινική του δράση, η ρύθμιση του νευρικού και καρδιαγγειακού συστήματος, η προστασία του ήπατος, ακόμα και η χρήση του είδους *Ganoderma lucidum* ως συμπλήρωμα διατροφής (Baby et al., 2015). Άλλες ευρεσιτεχνίες και φάρμακα που έχουν δημιουργηθεί βασισμένα στον μύκητα είναι ροφήματα, λοσιόν για τόνωση των μαλλιών, περιποίηση δέρματος και φάρμακα για ανθρώπους που πάσχουν από Alzheimer, διαβήτη, υψηλή χοληστερίνη, υπόταση κλπ. Τέλος, επειδή διασπάει τη λιγνίνη χρησιμοποιείται σε εφαρμογές ελαχιστοποίησης των οργανικών αποβλήτων (Paterson, 2006; Peláez et al., 1995).

#### 1.2.1.7 *Agaricus bisporus*



**Εικόνα 1-14: Καλλιέργεια *Agaricus bisporus***  
Πηγή: (Διαμαντοπούλου & Φιλίππου, 2016)

**Βασίλειο:** Fungi

**Υποβασίλειο:** Dikarya

**Φύλο:** Basidiomycota

**Υποφύλο:** Agaricomycotina

**Κλάση:** Agaricomycetes

**Τάξη:** Agaricales

**Οικογένεια:** Agaricaceae

**Γένος:** *Agaricus*

**Είδος:** *A. bisporus*

Τα *Agaricus bisporus* είναι πλέον ένα από τα πιο πολύ-καλλιεργημέναμανιτάρια παγκοσμίως, αφού η ετήσια παραγωγή του φτάνει κοντά τους 2 εκατομμύρια τόνους (Webster & Weber, 2007). Η πρώτη γνωστή καλλιέργειά του ξεκίνησε στη Γαλλία, και γι' αυτό το λόγο είναι ευρέως γνωστά ως champignon (champignon de Paris/de couche). Όσο οι άνθρωποι γίνονταν πλουσιότεροι, τόσο η παραγωγήμανιταριών μεγάλωνε. Το 1977, η συνολική κατά κεφαλήν κατανάλωση των *Agaricus* στη Δυτική Γερμανία ήταν 12 φορές μεγαλύτερη από τον μέσο όρο της παγκόσμιας κατανάλωσης (S. T. Chang, 1980). Παρόλο που τα *Agaricus* είναι τα κύρια εδώδιμαμανιτάρια της Ευρώπης, του Καναδά και των Ηνωμένων Πολιτειών, καλλιεργούνται σε 72 χώρες και είναι πλούσια σε Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ).

Τα βασίδια των *A. bisporus* συνήθως έχουν δύο δικάρυα σπόρια αντί για τέσσερα απλοειδή που είναι στους περισσότερους Βασιδιομύκητες. Όπως μεγαλώνει το βασιδιοκάρπιο και απελευθερώσει τα σπόριά του, από λευκό χρωματίζεται σε καφέ και στο τέλος ξεραίνεται (Bisaria & Madan, 1983).

Το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για την καλλιέργειά τους είναι κυρίως αποστειρωμένα και κομποστοποιημένα υπολείμματα φυτών. Παρ' όλο που η διαδικασία είναι πάντα η ίδια, η ανάπτυξη ενός μεγάλουμανιταριού εξαρτάται από τις εξωκυτταρικές πηγές άνθρακα που υπάρχουν στο υπόστρωμα και στο περιβάλλον που μεγαλώνουν (Wood & Goodenough, 1977). Για το λόγο αυτό σε μία καλλιέργεια δεν αρκούν μόνο τα συστατικά που παρέχονται από το υπόστρωμα αλλά και μια υποβοήθεια από τον καλλιεργητή για την αύξηση της δραστηριότητας των εξωκυτταρικών ενζύμων τη στιγμή της δημιουργίας των βασιδιοκάρπιων.

Η καλλιέργεια ξεκινάει πάντα με συγκεκριμένες συνθήκες όπως η υψηλή υγρασία και η θερμοκρασία του χώρου ρυθμισμένη στους 25°C. Μετά από 2-3 εβδομάδες, ο μύκητας φτάνει την πλήρη ανάπτυξη και καλύπτεται με μία στρώση υλικού που περιέχει τύρφη και ασβεστόλιθο (Philippoussis, 2009). Η συγκεκριμένη διαδικασία απαιτείται μόνο για ταμανιτάρια *A. bisporus* και όχι για κάποιο άλλο είδος. Αφού το μυκήλιο αναπτυχθεί μέσα σε αυτή την στρώση για 7-9 μέρες, ένα μηχάνημα με περιστρεφόμενα δόντια περνάει μέσα στο μείγμα μύκητα και υποστρώματος και τα αναμιγνύει. Η παραπάνω διαδικασία ονομάζεται “tuffling”, η οποία χρησιμεύει στη διάσπαση του μυκηλίου και το ενθαρρύνει να αναπτύξει βασιδιοκάρπια στην επιφάνεια του στρώματος του περιβλήματος.

Τα *Agaricus* μπορούν να καλλιεργηθούν σε διάφορα λιγνοκυτταρικά υλικά. Η καλλιέργεια και ανάπτυξή τους έχει επιτευχθεί σε διαφορετικά κομποστοποιημένα οργανικά υποστρώματα, ζωικά και φυτικά, κάνοντάς τα χρήσιμα στην ανακύκλωση γεωργικών αποβλήτων. Τα συγκεκριμένα μανιτάρια είναι μία σημαντική πηγή πρωτεΐνης (29.3% σε ξηρό βάρος κατά τους Hrudayanath και Sameer (2014), βιταμινών και υδατανθράκων, με λίγες θερμίδες, βοηθώντας έτσι στην μάχη κατά του υποσιτισμού, αφού και το κόστος παραγωγής τους είναι αρκετά χαμηλό (Golak-Siwulska *et al.*, 2018; Owaid *et al.*, 2017).

Ένα από τα προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι καλλιεργητές των μανιταριών του *A.bisporus*, είναι η εμφάνιση σκούρου χρώματος πάνω τους. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην οξείδωσή τους, αλλά επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως την ποσότητα των φαινολών και την ποσότητα τυροσινάσης, ενός ενζύμου που είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία της μελανίνης πάνω στον ιστό του μανιταριού (Jolivet *et al.*, 1998). Κάθε σημείο του μανιταριού αντιδρά διαφορετικά και η διαδικασία “browning” εξελίσσεται με περίπλοκο τρόπο ανάλογα και με την χρονική περίοδο που θα ξεκινήσει (κατά τη διάρκεια της παραγωγής σπορίων, της συγκομιδής ή της αποθήκευσης του μανιταριού). Ο ρυθμός μεταχρωματισμού πιστεύεται ότι αντικατοπτρίζει τη συσσωρευμένη φαινόλη. Αυτό το φαινόμενο αφορά σχεδόν αποκλειστικά τα βασιδιοκάρπια του μύκητα *A.bisporus*, μειώνοντας έτσι την εμπορική τους αξία λόγω της εμφάνισής τους.

Ο συνολικός όγκος των πωλήσεων των καλλιεργειών μανιταριών στις Ηνωμένες Πολιτείες για τη σεζόν 2019-2020 ανήλθε στις 816 εκατομμύρια λίβρες και η αξία των πωλήσεων αυτών αυξήθηκε στα 1.14\$ ανά λίβρα. Από αυτά, ο όγκος των πωλήσεων των φρέσκων *A.bisporus* ανήλθε στις 741 εκατομμύρια λίβρες, ενώ των επεξεργασμένων στα 55.6 εκατομμύρια (Board, 2020). Παρατηρείται ότι όσο περνούν τα χρόνια, οι καταναλωτές προτιμούν την κατανάλωση φρέσκων μανιταριών, αφού τα επεξεργασμένα (κονσερβοποιημένα, αποξηραμένα κλπ) έπεσαν περίπου 14% σε σχέση με τις χρονιές 2018-2019.

Όσον αφορά τους τομείς της ιατρικής και της φαρμακευτικής, έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες έρευνες για τη σύνθεση νανοσωματιδίων για φάρμακα φιλικά προς το περιβάλλον, με αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες, βασισμένα στον μύκητα *A.bisporus*. Ένα πρόσφατο πείραμα σε αρουραίους (Jeong *et al.*, 2010) έδειξε ότι τα μανιτάρια, με την κατάλληλη επεξεργασία, μειώνουν τη γλυκόζη στο αίμα και τα επίπεδα χοληστερίνης. Τέλος,

με τη χρήση των ουσιών του έγινε έρευνα φαρμάκου κατά του καρκίνου (Yu *et al.*, 1993) και πιο συγκεκριμένα, για τον καρκίνο του μαστού (Chen *et al.*, 2006).

### 1.3 Αξιοποίηση μανιταριών

Στην αρχαιότητα τα μανιτάρια θεωρούνταν το μυστικό συστατικό για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών. Η πρώτη ιστορική αναφορά έγινε από τον Ιπποκράτη γύρω στο 400π.Χ. ο οποίος ανέλυσε τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες. Πλέον, οι Βασιδιομύκητες καταλαμβάνουν μια θέση σε κάθε πτυχή της καθημερινότητάς μας, από την τροφή, τα φάρμακα, μέχρι τη βιοεξυγίανση και τη χρήση τους ως καθημερινά αντικείμενα ή διακοσμητικά.

Υπάρχουν 14.000 γνωστά είδη μανιταριών, εκ των οποίων τα 2.000 είναι ασφαλή προς κατανάλωση και περίπου τα 650 από αυτά έχουν φαρμακευτικές ιδιότητες (Hrudayanath & Sameer, 2014). Σήμερα η παραγωγή τους είναι διαδεδομένη σε ολόκληρο τον κόσμο διότι είναι μια σημαντική πηγή εσόδων. Υπολογίζεται μάλιστα ότι το 2009 παράχθηκαν 10 εκατομμύρια τόνοι εδώδιμων και φαρμακευτικών μανιταριών (Das *et al.*, 2010). Από όλες τις χώρες, η Κίνα θεωρείται η χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή μανιταριών παγκοσμίως (Zhang *et al.*, 2014).

Πολλοί καταναλωτές αντικαθιστούν πλέον τα προϊόντα κρέατος με μανιτάρια, καθώς είναι καλή πηγή πρωτεϊνών, αμινοξέων και βιταμινών. Τα μανιτάρια αποτελούνται από 1-6% σάκχαρα και 20.3-42% πρωτεΐνη, με βάση το ξηρό τους βάρος, η οποία ξεπερνά τα επίπεδα πρωτεΐνης πολλών τροφών, όπως του γάλακτος και των δημητριακών (Bisaria & Madan, 1983; Ronmurugan *et al.*, 2007). Επίσης, περιέχουν μεγάλο ποσοστό βιταμινών, όπως 0.5-1.5% βιταμίνη B2, βιταμίνη D,E και K, αλλά αποτελούνται και από γλυκογόνο, μαννιτόλη, ίχνη σερβιτόλης, αραβιτόλη και άλλα ιχνοστοιχεία και άλατα (La Guardia *et al.*, 2005).

Εκτός από μεγάλη διατροφική αξία, τα μανιτάρια έχουν πολλές φαρμακευτικές ιδιότητες, και κυρίως τα εδώδιμα. Πολλά από αυτά χρησιμοποιήθηκαν στην παραδοσιακή ιατρική για χιλιάδες χρόνια για να γιατρέψουν από απλές και παλιές κοινές ασθένειες (π.χ. δερματικές παθήσεις) έως περίπλοκες και επιδημιολογικές ασθένειες όπως το AIDS (Hrudayanath & Sameer, 2014). Οι βιο-ενεργές ουσίες τους μπορούν να χωριστούν σε δευτερογενείς μεταβολίτες (οξέα, πολυφαινόλες, αλκαλοειδή, λακτόνες, στερόλες), σε γλυκοπρωτεΐνες και σε πολυσακχαρίτες, και κυρίως β-γλυκάνες. Οι πολυσακχαρίτες τους συγκεκριμένα είναι

γνωστοί για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού και τις αντικαρκινικές ιδιότητες (Nagulwar et al., 2020).

Επιπλέον, τα εκχυλίσματα από το βασιδιοκάρπιο του *A. bisporus* έχουν αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση, ενώ γενικά τα είδη *Pleurotus* έχουν ένα στενό αντιβακτηριακό φάσμα έναντι αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (Hrudayanath & Sameer, 2014). Μάλιστα, η ενσωμάτωση συστατικών των *Pleurotus* στη σύνθεση τροφής μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης, γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων, καθώς και τους δείκτες ηπατικής και νεφρικής βλάβης (ουρία και κρεατινίνη) (Carrasco-González et al., 2017). Η χρήση μυκήτων στον τομέα των φαρμάκων έχει διακριτά προτερήματα σε σχέση με τις χημικές μεθόδους, όπως τη βιοασφάλεια, την μη-τοξικότητα και το ότι είναι υψηλά φιλική προς το περιβάλλον (πράσινη χημεία/green chemistry) (Owaid et al., 2017).

Στις καλλιέργειες, η διαθεσιμότητα της γης είναι ένας περιοριστικός παράγοντας, αλλά για τα μανιτάρια δεν ισχύει κάτι τέτοιο. Μοντέρνες καλλιέργειες παράγουν περισσότερη πρωτεΐνη ανά μονάδα γης από οποιαδήποτε άλλη μορφή καλλιέργειας, κάτι ιδιαίτερα σημαντικό για τις αναπτυσσόμενες χώρες όπου υπάρχει έλλειψη πρωτεϊνών (Agarwal et al., 2017). Το κόστος τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το κόστος εργασίας, ως εκ τούτου, τα μανιτάρια είναι απίθανο να κοστολογηθούν υψηλά σε αυτές τις χώρες. Επίσης, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, θα μπορούσαν να υποκαταστήσουν άλλες πηγές βιταμινών και πρωτεϊνών, όπου αυτές χρειάζονται (Bisaria & Madan, 1983).

Γενικότερα, τα οφέλη που προσφέρουν οι επιχειρήσεις μανιταριών είναι φανερά τόσο για την μείωση της φτώχειας όσο και για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής. Η παραγωγή είναι ελκυστική ακόμα και για τους κατοίκους των πόλεων (Zhang et al., 2014), αφού δε χρειάζεται σημαντικό κεφάλαιο επένδυσης.

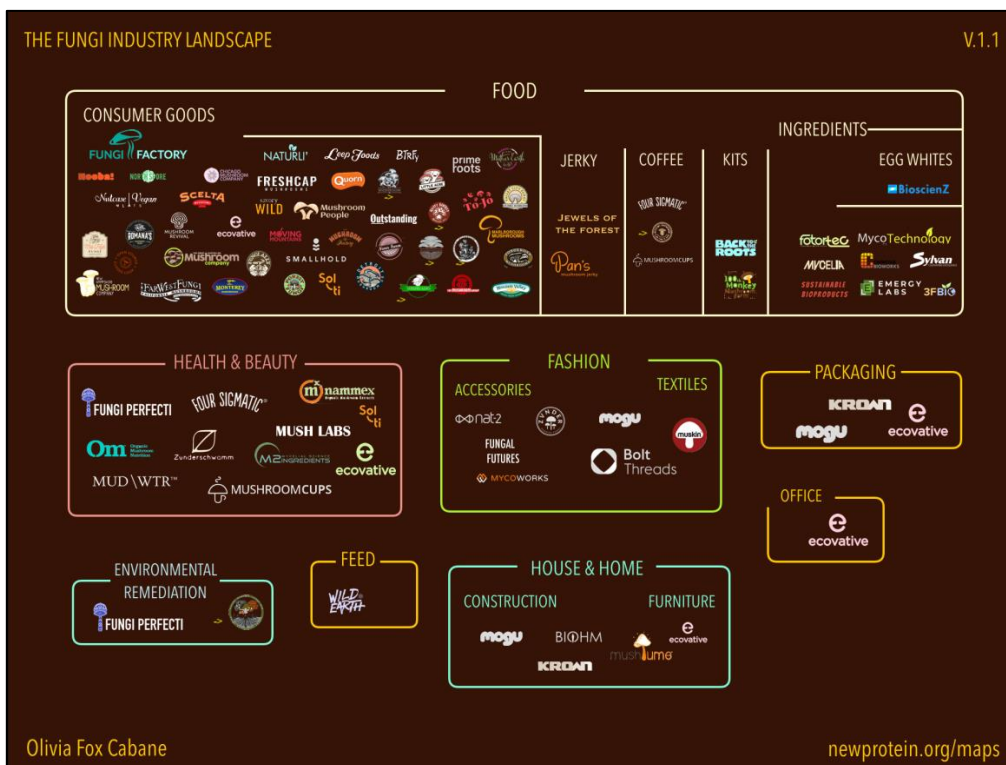
Εξαιτίας της εκθετικής αύξησης του πληθυσμού παγκοσμίως, η ανάγκη για τροφή μεγαλώνει, και κατά συνέπεια, η ζήτηση σε ζωοτροφές. Για να διασφαλιστεί η επισιτιστική ασφάλεια, οι ζωοτροφές κατά κύριο λόγο δεν θα πρέπει μελλοντικά να αποτελούνται από τρόφιμα, όπως καλαμπόκι, σιτηρά κλπ. Για το λόγο αυτό, πολλές in vivo έρευνες μελετούν την προσθήκη μυκηλίου συγκεκριμένων ειδών (van Kuijk et al., 2015), συστατικών (Willis et al., 2007), ολόκληρων μανιταριών (Giannenas et al., 2010) και υπολειμμάτων (Fard et al., 2014) στη διατροφή των ζώων. Σε όλες ανεξαιρέτως, η διατροφική αξία του κρέατος των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν ανέβηκε κατά ένα σημαντικό ποσοστό.

Λόγω της δυνατότητάς τους να παράγουν ταυτόχρονα χρήσιμα προϊόντα (μανιτάρια) αλλά και να διασπών τη λιγνίνη, πολλές έρευνες έλαβαν μέρος για να δοκιμαστεί η ανάπτυξη εδώδιμων ειδών μυκήτων σε διάφορα γεωργικά ή βιομηχανικά λιγνοκυτταρικά απόβλητα (Alanbeh *et al.*, 2014; Ingale & Ramteke, 2010; Khan *et al.*, 2012; Nicolcioiu *et al.*, 2016; Saavedra-Molina *et al.*, 2018) με αρκετή επιτυχία. Παραδείγματα αυτών των υλικών είναι τα στάχνα από το καλαμπόκι, τα υπολείμματα του φυτού του υαλοβάμβακα, φύλλα μπανάνας, υπολείμματα φοινικόδεντρου, χαρτί και τα υπολείμματα καφέ.

Ταυτόχρονα, αυτή η επιλεκτική διάσπαση της λιγνίνης του ξύλου από τα white-rot fungi τα καθιστά ιδιαίτερα σημαντικά για το οικοσύστημα ενός δάσους (Gold *et al.*, 1989; Kaal *et al.*, 1995; Peralta *et al.*, 2017). Για το λόγο αυτό χρησιμεύουν πολύ στη δημιουργία ξυλοπολτού και στον βιολογικό αποχρωματισμό των πολτών για τις χαρτοβιομηχανίες (Blanchette *et al.*, 1988; Knapp *et al.*, 1995; Michniewicz *et al.*, 2008).

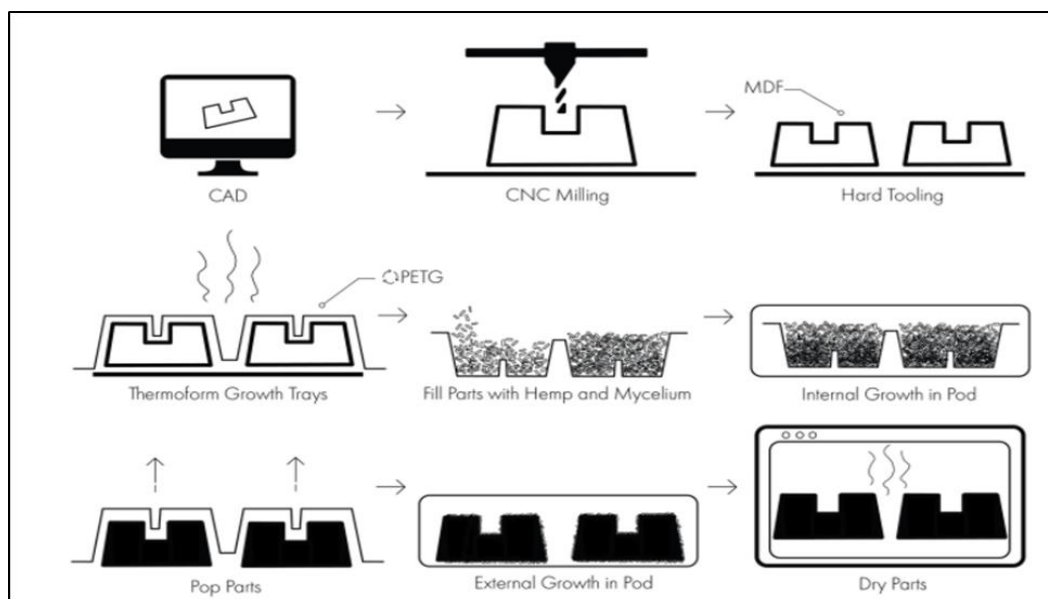
Με λίγα λόγια, οι Βασιδιομύκητες μπορούν να βοηθήσουν στη γενικότερη βιο-εξυγίανση και βιο-αποκατάσταση του περιβάλλοντος (Arun *et al.*, 2008), καθαρίζοντας ρυπασμένα εδάφη και νερά από ξενοβιοτικές ουσίες και βαριά μέταλλα (Kulikova *et al.*, 2011; Machado *et al.*, 2005) και μειώνοντας τους ρύπους (Ayodele & Okhuoya, 2007; Mandeel *et al.*, 2005). Η καλλιέργεια μανιταριών είναι ουσιαστικά μία ανακύκλωση υπολειμμάτων, τα οποία δεν χρησιμοποιούνται αλλιώς και τους δίνεται προστιθέμενη αξία (up-cycling).

Δε χρειάζεται όμως να έχουμε up-cycling των υπολειμμάτων και των υποπροϊόντων της βιομηχανίας τροφίμων μόνο για την παραγωγή τροφής ή πρωτεΐνης (Ahlborn *et al.*, 2019). Τα τελευταία χρόνια με τη βοήθεια Βασιδιομυκήτων, δημιουργούνται πολλά χρηστικά αντικείμενα ή διακοσμητικά από μυκήλιο. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1-15, πολλές εταιρείες χρησιμοποιούν τους μύκητες για την παραγωγή διαφορετικών προϊόντων, όπως υποκατάστατα κρέατος (Meati; Nature's Fynd), διακοσμητικά, καφέ (Four Sigmatic), είδη περιποίησης κλπ.



**Εικόνα 1-15: Εταιρείες που χρησιμοποιούν μύκητες**  
 Πηγή: (NewProtein, 2020)

Χαρακτηριστική χρήση του μυκηλίου κάνει η εταιρεία Ecovative Design LLC (2020; Ziegler *et al.*, 2016) η οποία δραστηριοποιείται σε διάφορους τομείς με βάση το μυκήλιο, δημιουργώντας υλικά συσκευασίας (θήκες), προϊόντα περιποίησης όπως μάσκες, σφουγγάρια μακιγιάζ κλπ (Εικόνα 1-16).



**Εικόνα 1-16: Διαδικασία δημιουργίας υλικών (θηκών) συσκευασίας.**  
 Πηγή: (Ecovative Design, 2020)

Μία ακόμη εφαρμογή της, την οποία ακολουθεί και η εταιρεία MycoWorks (2020) είναι η δημιουργία ρούχων από μύκητες, με την τελευταία μάλιστα να χρησιμοποιεί κυρίως το είδος *Ganoderma lucidum*, εξ ου και το όνομα του project Reishi. Επιπλέον, η εταιρεία Bolt Threads ([www.boltthreads.com](http://www.boltthreads.com)) χρησιμοποιεί το μυκήλιο για τη δημιουργία δέρματος και ακολούθως, ρούχων και παπουτσιών (Εικόνα 1-17).



**Εικόνα 1-17: Δέρμα από μυκήλιο.**  
Πηγή: (Bolt Threads)

Στην έρευνα του Pelletier (2013) κατασκευάστηκαν πάνελ ηχομόνωσης από κομποστοποιημένο υλικό και μυκήλιο, με σκοπό την απορρόφηση του ήχου σε αυτοκινητοβιομηχανίες ή σε περιοχές με πολλή κυκλοφοριακή κίνηση, ακόμα και σε χώρους ηχογραφήσεων (studio). Τα ίδια πάνελ μπορούν, με την κατάλληλη επεξεργασία, να χρησιμοποιηθούν και ως πλακάκια για το πάτωμα (Εικόνα 1-18), όπως κάνει η εταιρεία Mogu (2020).





**Εικόνα 1-18: Πάτωμα από πάνελ μυκήλιου**  
Πηγή: (MOGU S.r.L, 2020)

Τέλος, το μυκήλιο έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ως υλικό για τη δημιουργία, επίπλων και διακοσμητικών. Παρακάτω παρατίθενται εικόνες από διάφορα projects τέτοιων δημιουργιών, όπως τραπέζι (Εικόνα 1-19), παγκάκι (Εικόνα 1-20), ακόμα και κοσμήματα (Εικόνα 1-21).



**Εικόνα 1-19: Τραπέζι από μυκήλιο**  
Πηγή: (FungalFutures, n.d.)



**Εικόνα 1-20: «Παγκάκι» από μυκήλιο του *Ganoderma lucidum* και βακτηριακή κυτταρίνη  
Πηγή: (Terraform)**



**Εικόνα 1-21: Δαχτυλίδι από μυκήλιο  
Πηγή: (Officina Corpuscoli, 2010)**

#### **1.4 Υποστρώματα για μυκηλιακή ανάπτυξη**

Στις επόμενες υποενότητες παρουσιάζονται αναλυτικά τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη των παραπάνω στελεχών. Αυτά αφορούν τα ευρέως

γνωστά απορρίμματα ενός κινηματογράφου, δηλαδή το popcorn (καλαμπόκι) και η συσκευασία που το περιέχει όταν πωλείται στους πελάτες. Η συσκευασία αποτελείται από 100% ξυλοπολτό και τα χρώματα στην εξωτερική στρώση έχουν αποτυπωθεί με εκτύπωση offset.

#### 1.4.1 Καλαμπόκι

Το καλαμπόκι, ή αλλιώς αραβόσιτος, έχει την επιστημονική ονομασία *Zea mays* και είναι ένα από τα βασικότερα δημητριακά σε πολλές χώρες, όπως στις Ηνωμένες Πολιτείες, στην Κίνα, στη Βραζιλία, στην Ινδία κλπ. Συγκεκριμένα, το 2003 η παγκόσμια παραγωγή αραβοσίτου υπερέβη τα 630 εκατομμύρια τόνους (MMt), καθιστώντας τη την πιο πλούσια καλλιέργεια δημητριακών σε σχέση με το σιτάρι (550MMt) (Cowieson, 2005), ενώ το 2008 η Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) παρουσίασε τις 20 πρώτες χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή, φτάνοντας συνολικά τους 737 εκατομμύρια τόνους (Nuss & Tanumihardjo, 2010).

Υπάρχουν πολλές κατηγορίες καλαμποκιού αλλά η κίτρινη ποικιλία έχει σημαντικά υψηλότερα ποσοστά πρωτεΐνης από τις υπόλοιπες και είναι εκείνη με τη μεγαλύτερη παραγωγή. Το κύριο συστατικό που περιέχει ο καρπός είναι ο υδατάνθρακας (κυρίως άμυλο) και υπολογίζεται στο 72-73% του ξηρού του βάρους. Η πρωτεΐνη που περιέχει έχει εύρος από 6 έως 12% και θεωρείται υποδεέστερη από άλλες τροφές, αφού είναι χαμηλή σε λυσίνη και τρυπτοφάνη (Iken *et al.*, 2002). Το καλαμπόκι περιέχει επίσης σημαντικά ποσοστά ασβεστίου, φώσφορου, σιδήρου, νατρίου και κάλιου (Akrapunam & Darbe, 1994).

Τα φυτά καλαμποκιού είναι σχετικά ανθεκτικά και αναπτύσσονται συνήθως αργά στις αρχές της καλλιεργητικής περιόδου. Για να έχει τη μέγιστη απόδοση θα πρέπει οι περιβαλλοντικές συνθήκες να είναι ευνοϊκές σε όλα τα στάδια της ανάπτυξής του. Η αύξηση της παραγωγής καρπών ξεκινάει από τις αρχές Ιουλίου, μέχρι που σταθεροποιείται στις αρχές Σεπτεμβρίου, ενώ η μεγαλύτερη αύξηση εμφανίζεται προς τα τέλη Ιουλίου έως τα μέσα Αυγούστου (Hanway, 1966).

Το καλαμπόκι έχει ευρεία χρήση καθώς καταναλώνεται με διάφορους τρόπους, είτε μαγειρεμένο αυτούσιο είτε επεξεργασμένο, πχ ως αλεύρι. Η χρήση μιας βελτιωμένης ποικιλίας αραβοσίτου στη διατροφή ανθρώπων, αλλά και ζώων, θα μπορούσε να εξομαλύνει τις ελλείψεις θρεπτικών ουσιών, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου το εισόδημα είναι χαμηλό και η εύρεση εναλλακτικών τροφών δύσκολη (Hopkins, 1899).

Ένα από τα δημοφιλέστερα προϊόντα του καλαμποκιού είναι το popcorn. Σύμφωνα με έρευνα του Grandjean (Grandjean *et al.*, 2008), και χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων των ετών 1999-2002 της Εθνικής Έρευνας για την Υγεία και τη Διατροφή (NHANES), παρατηρήθηκε ότι το συγκεκριμένο σνακ είναι από τα πιο θρεπτικά, καθώς συγκαταλέγεται στην κατηγορία των τροφών ολικής άλεσης. Εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών και της προσθήκης λαδιού (αραχιδέλαιο) η ποσότητα πρωτεΐνης πέφτει, επομένως δε διατηρεί την αρχική διατροφική του αξία. Πιο συγκεκριμένα, στην έρευνα των Nuss και Tanumihardjo (2010), το popcorn χωρίς λάδι έχει 6g πρωτεΐνης/100g σε ξηρό βάρος, ενώ το καλαμπόκι πριν την οποιαδήποτε επεξεργασία 9.42g.

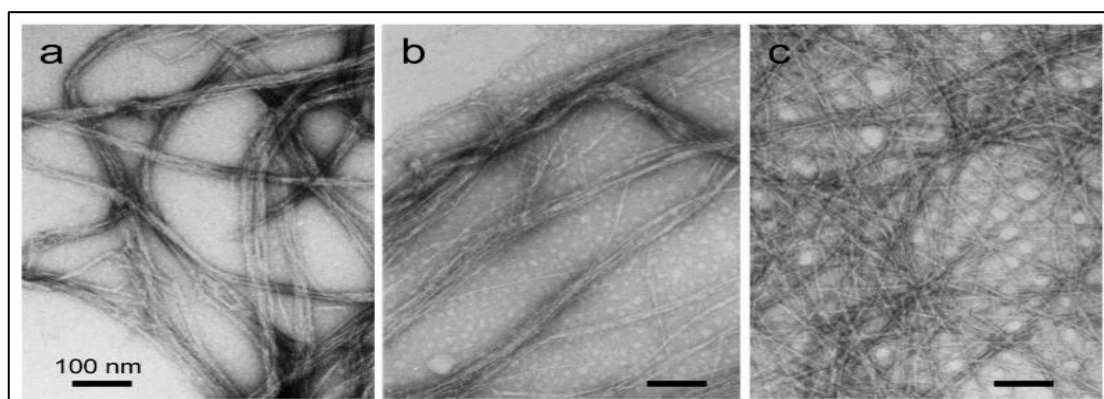
Εκτός της αξίας του ως τρόφιμο, όλο το φυτό θεωρείται χρήσιμο, καθώς τα υπολείμματα των καλλιεργειών χρησιμοποιούνται για ζωοτροφές, κυρίως κατά τις ξηρές περιόδους που δεν υπάρχει άλλο είδος βλάστησης/γρassiδίου διαθέσιμο. Το καλαμπόκι είναι η κύρια τροφή που καλλιεργείται σχεδόν από κάθε καλλιεργητή, ακόμα και με μικρό διαθέσιμο κεφάλαιο, αφού και το υπόλειμά του (μίσχος, φύλλα, υπόλοιπο φυτό κλπ) μπορεί να προσφέρει έσοδα (Methu *et al.*, 2001). Τέλος, μία ακόμη γνωστή χρήση των υπολειμμάτων είναι η παραγωγή βιοαερίου (Amon *et al.*, 2007) ή η καλλιέργεια μανιταριών που αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο.

#### 1.4.2 Ξυλοπολτός

Το ξύλο είναι η κυριότερη πηγή κυτταρίνης, του πιο άφθονου ανανεώσιμου πόρου στη φύση. Η λιγνοκυτταρίνη είναι το βασικό συστατικό του και περιλαμβάνει περίπου το ήμισυ της φυτικής ύλης που παράγεται από τη φωτοσύνθεση (ονομάζεται επίσης φωτομάζα) (Sánchez, 2009). Ένα μεγάλο πρόβλημα που δημιουργείται στην παραγωγή του ξυλοπολτού, αλλά και στη χρήση καθαρής κυτταρίνης, είναι πως η παραπάνω πρώτη ύλη περιέχει περίπου 30-40% κυτταρίνη, ενώ το υπόλοιπο 60-70% του αποτελείται από λιγνίνη (~30.6%), ημικυτταρίνη (~4.8%), μέταλλα (Bisaria & Madan, 1983; Iwamoto *et al.*, 2008), ακόμα και σάκχαρα (ραμνόζη, αραμπινόζη, ξυλόζη, μαννόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη) (Crowell & Burnett, 1967).

Για να δημιουργηθεί το χαρτί, το ξύλο πολτοποιείται έτσι ώστε να διαχωριστούν οι ίνες του και στη συνέχεια ο πολτός περνάει από τη διαδικασία της λεύκανσης. Λόγω της υψηλής ποσότητας λιγνίνης, ο ξυλοπολτός παράγεται με δύο τρόπους, το χημικό και το μηχανικό. Η χημική πολτοποίηση διαχωρίζει τις ίνες διαλύοντας τη λιγνίνη που τις συνδέει. Η μέθοδος

Θεικών (Sulfate [Kraft] Process) είναι ένα παράδειγμα δημιουργίας χημικού πολτού kraft, που αποτελείται σχεδόν μόνο από κυτταρίνη και θεωρείται πως έχει την υψηλότερη απόδοση. Αντίθετα, η μηχανική πολτοποίηση ξύλου παράγει ίνες που εξακολουθούν να διατηρούν το μεγαλύτερο μέρος της λιγνίνης (Woodhams *et al.*, 1984). Παρ' όλα αυτά, αυτό τις κάνει να διαθέτουν ιδιότητες αντοχής παρόμοιες με τις ίνες γυαλιού, όταν λαμβάνονται υπόψη οι διαφορές στην πυκνότητα των ινών των δύο υλικών.



**Εικόνα 1-22: Απεικόνιση κυτταρίνης σε α) kraft πολτό, β) πολτό με θείο και γ) ημικυτταρίνη**  
Πηγή: (Hult *et al.*, 2003)

Όσον αφορά την οικολογική πλευρά της βιομηχανίας, η διαδικασία λεύκανσης πολτού (whitening) θεωρείται μία από τις κύριες αιτίες ρύπανσης εξαιτίας της χρήσης χλωρίου για την απομάκρυνση της υπολειμματικής λιγνίνης (Kim *et al.*, 2002). Δεδομένης της ζημίας που προκαλείται, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση γεωργικών καταλοίπων ως εναλλακτικής ή συμπληρωματικής πηγής ινών για την παραγωγή χαρτοπολτού, όπως τα φύκη και οι φλοιοί εσπεριδοειδών (Ververis *et al.*, 2007). Επιπλέον, η παραγωγή χαρτοπολτού καταναλώνει μεγάλες ποσότητες φυσικού κεφαλαίου, όπως δασική ή γεωργική γη και ορυκτή ενέργεια.

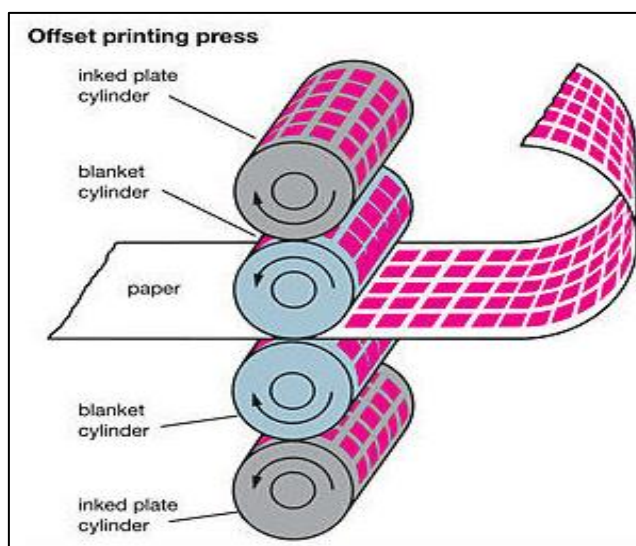
Μία προκατεργασία του ξύλου που να είναι φιλική προς το περιβάλλον είναι η χρήση μυκήτων που επιλεκτικά διασπούν μόνο τη λιγνίνη (Dorado *et al.*, 1999). Η διαδικασία αυτή μπορεί να οδηγήσει σε εξοικονόμηση ενέργειας στη μηχανική πολτοποίηση, αλλά και στη μείωση των χημικών. Διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας *Trametes versicolor*, όταν καλλιεργείται σε πολτό, αυξάνει τη φωτεινότητα του πολτού χωρίς να μειώνει τις αντοχές ή την απόδοση του (Eriksson, 1998). Οι μύκητες που αποικοδομούν το ξύλο παράγουν μια ποικιλία ενζύμων που είναι ικανά να αποικοδομήσουν όλα τα συστατικά και πολυμερή του ξύλου.

Τέλος, μία ακόμη χρήση των μυκήτων είναι η βιολογική επεξεργασία των λυμάτων του πολτού Kraft. Συγκεκριμένα, η βιομηχανία χαρτοπολτού και χαρτιού παράγει έντονα χρωματισμένα λύματα με υψηλά επίπεδα βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) και χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD). Αυτά τα λύματα περιέχουν πολλές οργανικές ενώσεις οι οποίες είναι υπεύθυνες για την τοξικότητά τους (Freitas *et al.*, 2009).

### 1.4.3 Εκτύπωση Offset - Χρωστική

Η εκτύπωση offset είναι μια διαδικασία πολλαπλών βημάτων που χρησιμοποιεί χαραγμένες πλάκες, υδατοαπωθητικά μελάνια (π.χ. από πετρέλαιο ή διάφορα έλαια), νερό και κυλίνδρους εκτύπωσης. Ονομάζεται όφσετ επειδή το μελάνι δεν μεταφέρεται απευθείας στο χαρτί αλλά πρώτα περνάει από τους κυλίνδρους (Britannica).

Οι πλάκες δημιουργούνται έτσι ώστε η χρωστική να κολλάει μόνο στα τμήματα τους που περιέχουν τις εικόνες και το κείμενο. Μια λεπτή μεμβράνη νερού περνάει πάνω από τις κενές περιοχές της πλάκας απωθεί τη βαφή από τα σημεία που δεν θέλουμε να εκτυπωθούν. Το μελάνι στις πλάκες μεταφέρεται αρχικά σε έναν κύλινδρο από καουτσούκ και όσο εκείνος περιστρέφεται, η εικόνα μεταφέρεται πάνω στο χαρτί (Εικόνα 1-19). Πολλές σύγχρονες πρέσες χρησιμοποίησαν κυλίνδρους εντύπωσης για να ασκήσουν πίεση στο χαρτί καθώς το μελάνι εφαρμόζεται στην επιφάνεια του χαρτιού (Ordant, 2019).



**Εικόνα 1-23: Διαδικασία εκτύπωσης offset.**

Πηγή: (Ordant, 2019)

Το μελάνι που χρησιμοποιείται, βασίζεται κυρίως σε ορυκτέλαια και περιέχει επίσης ρητίνη, βερνίκι και ξηραντικούς παράγοντες (Aydemir et al., 2017). Δεν είναι εύκολο να κατασκευαστεί διότι θα πρέπει να είναι σε θέση να μεταφερθεί σε διαφορετικές επιφάνειες δίχως να αλλάξει η σύνθεσή του και η ένταση του στο τελικό αποτέλεσμα (Chang et al., 2009).

Στην παρούσα εργασία δε γνωρίζουμε τα ακριβή συστατικά της χρωστικής που χρησιμοποιείται. Παρ' όλα αυτά, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι ήδη γνωστό πως οι μύκητες λευκής σήψης, όπως το είδος *T. versicolor* (Freitas et al., 2009), μπορούν να διασπάσουν συνθετικές βαφές (Gadd et al., 2001).

## 1.5 Μέθοδοι Ανάλυσης & Διαδικασίες

Παρακάτω περιγράφονται οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση της σύστασης του υποστρώματος, πριν και μετά την επεξεργασία του με τη χρήση των διαφόρων μυκήτων. Συγκεκριμένα, το κεφάλαιο αναφέρεται στη Μέθοδο Bradford για τις πρωτεΐνες των δειγμάτων και στη Μέθοδο DNS για τα αναγωγικά σάκχαρα. Τέλος, γίνεται αναφορά και στη διαδικασία της Λυοφιλοποίησης (Freeze-Drying) που πέρασαν τα στελέχη πριν αναλυθούν με τις δύο μεθόδους.

### 1.5.1 Μέθοδος Bradford

Για την εκτίμηση της πραγματικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες βιολογικού υλικού, είναι σημαντικό να επιλεγεί μια μέθοδος προσδιορισμού που να είναι ακριβής, αλλά και αρκετά βολική για χρήση σε δοκιμές ρουτίνας (Christias et al., 1975). Αυτή είναι η μέθοδος Bradford, απαραίτητη σε διάφορους τομείς της βιολογίας και της βιοχημείας, η οποία χρησιμοποιεί την αρχή της δέσμευσης πρωτεΐνης-χρωστικής. Ο προσδιορισμός βασίζεται στη σύνδεση της χρωστικής Coomassie Blue G250 με το πρωτεϊνικό μόριο.

Σύμφωνα με τον Bradford (1976), το σύμπλοκο πρωτεΐνης-χρωστικής έχει μεγάλη ευαισθησία στη μέτρηση της πρωτεΐνης. Η δέσμευση αυτή της πρωτεΐνης είναι μια πολύ γρήγορη διαδικασία (περίπου 2 λεπτά) και το σύμπλοκο παραμένει διεσπαρμένο στο διάλυμα για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα (περίπου 1 ώρα).

Η μπλε μορφή της βαφής έχει μέγιστη απορρόφηση στα 590 nm και έτσι, η ποσότητα πρωτεΐνης μπορεί να εκτιμηθεί μετρώντας την απορρόφηση του διαλύματος στα 595 nm

(Kruger, 2009). Σε εκείνο το σημείο, οι ιοντικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις της χρωστικής με την πρωτεΐνη δημιουργούν μια σταθερή ιονική μορφή. Η μέθοδος αυτή είναι χρήσιμη διότι ο συντελεστής απορρόφησης του συμπλέγματος πρωτεΐνης-χρωστικής είναι σταθερός σε μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων. Για κάθε περιοχή (χαμηλή/υψηλή συγκέντρωση) πρέπει να γίνεται και άλλη καμπύλη αναφοράς.

Η τεχνική αυτή είναι απλούστερη, ταχύτερη και πιο ευαίσθητη από άλλες μεθόδους και επιπλέον, υπόκειται σε λιγότερες παρεμβολές από κοινά αντιδραστήρια και μη πρωτεϊνικά συστατικά βιολογικών δειγμάτων. Τα υλικά που είναι πιο πιθανό να προκαλέσουν προβλήματα στα βιολογικά εκχυλίσματα είναι τα απορρυπαντικά, οι αμφολύτες και τα ρυθμιστικά διαλύματα (buffers) (Bonjoch & Tamayo, 2006). Επίσης, η υδροχλωρική γουανιδίνη και το ασκορβικό νάτριο (ουσία της βιταμίνης C) ανταγωνίζονται τη χρωστική, οδηγώντας σε υποεκτίμηση της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνες.

Τέλος, η χρωστική φαίνεται να συνδέεται πιο εύκολα με τα υπολείμματα αργινίνης αλλά όχι με το ελεύθερο αμινοξύ. Για το λόγο αυτό, τα πρότυπα θα πρέπει να επιλέγονται προσεκτικά εάν απαιτούνται απόλυτες συγκεντρώσεις πρωτεΐνης ή εάν πρέπει να ανιχνευθούν καθαρές πρωτεΐνες (Hammond & Kruger; Ninfa *et al.*, 2010).

### 1.5.2 Μέθοδος DNS

Η πιο απλή και γρήγορη μέθοδος για τη μέτρηση της υψηλής συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων σε διαλύματα είναι η μέθοδος δινιτροσαλικυλικού οξέος (DNS). Βασίζεται στην αναγωγή του DNS από την ελεύθερη αλδεϋδομάδα των αναγωγικών σακχάρων (πχ. οι εξόζες και πεντόζες, αλλά όχι όλοι οι δισακχαρίτες) και την ποσοτική μετατροπή του σε 3-άμινο-5-νιτροσαλικυλικό όξύ (πορτοκαλο-κόκκινο χρώμα) υπό αλκαλικές συνθήκες. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας αναγωγικού σακχάρου που υπάρχει στο διάλυμα. Το 3-άμινο-5-νιτροσαλικυλικό οξύ απορροφά στα 540nm (Miller, 1959).

Αν και ο προσδιορισμός με το DNS είναι περίπου 10 φορές λιγότερο ευαίσθητος από τον προσδιορισμό NS, η επιτροπή της Διεθνούς Ένωσης Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας (IUPAC) (Gusakov *et al.*, 2011) το συνιστά στους επιστήμονες για τη μέτρηση των τυπικών δραστηριοτήτων κυτταρινάσης και ξυλανάσης. Η μέθοδος αυτή έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση δραστηριοτήτων άλλων υδατανθράκων, όπως αμυλάσες, β-μαννανάσες, πηκτινάσες και ξυλογλυκανάσες.



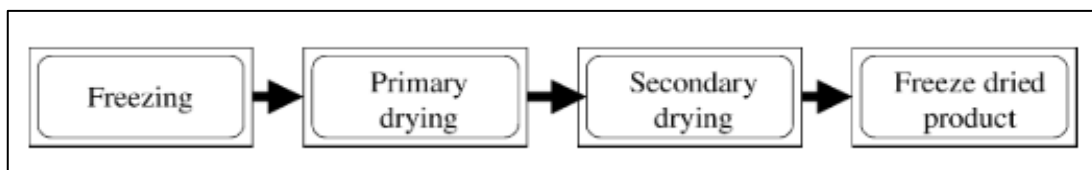
Ωστόσο, στην μέτρηση μπορούν να δημιουργηθούν παρεμβολές εξαιτίας του ρυθμιστικού κιτρικού οξέως ή/και άλλων ουσιών, καθώς και από τις διαφορετικές δραστηριότητες των αναγωγικών σακχάρων. Αυτές οι παρεμβολές γίνονται πιο εμφανείς όταν χρησιμοποιούνται πολύπλοκα υποστρώματα, όπως σάκχαρο από ζαχαροκάλαμο (Marsden *et al.*, 1982). Επιπλέον, η παρουσία ορισμένων ιόντων μπορεί να υποτιμήσει το πραγματικό περιεχόμενο σακχάρων (Sinegani & Emtiazi, 2006).

Η παρασκευή του διαλύματος DNS γίνεται με αποσταγμένο νερό, 16g NaOH, 10g 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) και 300g Na-K tartate (τρυγικό κάλιο νατρίου). Το διάλυμα πρέπει πάντα να φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκουρόχρωμη φιάλη. Στη συνέχεια, για τον προσδιορισμό οποιουδήποτε αναγωγικού σακχάρου είναι απαραίτητο να κατασκευάζεται μια καμπύλη της μορφής  $C(g/L) = κλίση \times A_{540}$ . Αφού δημιουργηθούν τα διαλύματα για την ανάλυση, φωτομετρούνται στα 540nm, στο σημείο δηλαδή απορρόφησης του DNS. Η μέθοδος μπορεί εύκολα να προσαρμοστεί για διαφορετικούς όγκους δειγμάτων σακχάρου ανάλογα με τις ανάγκες της έρευνας, αρκεί πάντα να ακολουθείται η τυπική διαδικασία: 1 όγκος δείγμα + 1 όγκος διαλύματος DNS → βρασμός → φωτομέτρηση (προσωπική επικοινωνία φοιτητών ΕΚΠΑ).

### 1.5.3 Λυοφιλοποίηση

Η ξήρανση με κατάψυξη, ή λυοφιλοποίηση (freeze-drying), είναι μια διαδικασία ξήρανσης όπου το διάλυμα, συνήθως υδατικό, καταψύχεται πρώτα, μετατρέποντας έτσι το μεγαλύτερο μέρος του νερού σε πάγο. Στη συνέχεια, ο πάγος απομακρύνεται με εξάχνωση σε χαμηλή θερμοκρασία και χαμηλή πίεση κατά τη διάρκεια του «πρωτογενούς» σταδίου ξήρανσης. Η διαδικασία στεγνώματος με κατάψυξη αποτελείται από τέσσερις κύριες λειτουργίες: κατάψυξη, κενό, εξάχνωση και συμπύκνωση (Ratti, 2001). Το στάδιο κατάψυξης είναι το πιο χρονοβόρο και διαρκεί συνήθως αρκετές ώρες για να ολοκληρωθεί (Tang & Pikal, 2004).

Η δευτερογενής ξήρανση είναι το στάδιο όπου το νερό απορροφάται από το συμπύκνωμα κατάψυξης, συνήθως σε υψηλή θερμοκρασία και χαμηλή πίεση (Velardi & Barresi, 2008). Η διαδικασία συνεχίζεται έως ότου η υπολειμματική περιεκτικότητα σε νερό μειωθεί. Στο Διάγραμμα 1-2 παρουσιάζονται επιγραμματικά τα στάδια της λυοφιλοποίησης.



**Διάγραμμα 1-2**  
**Διαδικασία λυοφιλοποίησης (freeze-drying)**  
 Πηγή: (Boss *et al.*, 2004)

Η λυοφιλοποίηση χρησιμοποιείται για την αξιόπιστη συντήρηση μιας ευρείας ποικιλίας ευαίσθητων στη θερμότητα προϊόντων και απαιτεί τα υψηλότερα πρότυπα αξιοπιστίας και ελέγχου. Λόγω της απουσίας υγρού νερού και των χαμηλών θερμοκρασιών που απαιτούνται για τη διαδικασία, σταματά η πλειονότητα των αλλοιώσεων και των μικροβιολογικών αντιδράσεων, κάτι που δίνει ένα προϊόν εξαιρετικής ποιότητας.

Παρά τα πολλά πλεονεκτήματα, η ξήρανση με κατάψυξη έχει αναγνωριστεί ως η πιο ακριβή διαδικασία κατασκευής ενός αφυδατωμένου προϊόντος και αυτό συμβαίνει επειδή οι χρόνοι διεργασίας είναι συχνά αρκετά μεγάλοι. Ωστόσο, επειδή η εμπορική αξία μιας παρτίδας προϊόντος μπορεί να προσεγγίσει τα 1.000.000 \$ (Mascarenhas *et al.*, 1997), εταιρείες όπως οι φαρμακοβιομηχανίες και οι βιομηχανίες τροφίμων Κυρίως χρησιμοποιείται συχνά στη φαρμακευτική βιομηχανία και τη βιομηχανία τροφίμων για υλικά που υφίσταντο απώλεια ποιότητας σε απλή κατάψυξη (Liu *et al.*, 2008).

## 1.6 Σκοπός εργασίας

Τα τελευταία χρόνια επικρατεί μεγάλη ευαισθητοποίηση στα θέματα του περιβάλλοντος. Λόγω της κλιματικής αλλαγής, της μείωσης των πόρων και των συνεπειών της ανθρώπινης παρέμβασης στη φύση, είναι απαραίτητο να βρεθούν έμπρακτοι τρόποι διατήρησης της βιοποικιλότητας στο οικοσύστημα της Γης. Μία σημαντική κίνηση είναι η σωστή διαχείριση των γεωργικών υπολειμμάτων, καθώς τα περισσότερα από αυτά προέρχονται από βιομάζα και υλικά τα οποία θα μπορούσαν να επαναξιοποιηθούν.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιείται στην πράξη η έννοια του up-cycling, δηλαδή το να δοθεί νέα πνοή σε υλικά τα οποία καταλήγουν στον κάδο απορριμμάτων. Τα υλικά αυτά είναι κατά κύριο λόγο έτοιμο/ «σκασμένο» popcorn συλλεγμένο από κινηματογράφους, φτιαγμένο με φυτικό λάδι και ενισχυτικό αλατιού, καθώς και η συσκευασία που περιέχει το popcorn και

δίνεται σε κάθε πελάτη, η οποία απαρτίζεται από την εσωτερική στρώση (ξυλοπολτό-χαρτί) και την εξωτερική επιφάνεια (χρωστική σε λεπτό φύλλο χαρτιού).

Συνεπώς, σκοπός της εργασίας είναι να διερευνηθεί η ικανότητα ανάπτυξης διαφόρων επιλεγμένων ειδών Βασιδιομυκήτων, εδώδιμων και μη, χρησιμοποιώντας ως μοναδικό υπόστρωμα τα υλικά αυτά και, ανάλογα, η δυνατότητα αξιοποίησής τους σε εφαρμογές.

## 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

---

### 2.1 Καλλιέργειες Βασιδιομυκήτων

Κατά την πρώτη φάση των πειραμάτων εξετάζεται η ανάπτυξη επτά ειδών Βασιδιομυκήτων στα 3 διαφορετικά υποστρώματα, popcorn, ξυλοπολτό και στρώμα χρωστικής, μέσα σε κωνικές φιάλες. Συνολικά, η παρατήρηση γίνεται για 25 κωνικές φιάλες χωρητικότητας 250ml η κάθε μία, που επωάζονται σε θερμοκρασία δωματίου, με εναλλαγή μέρας-νύχτας.

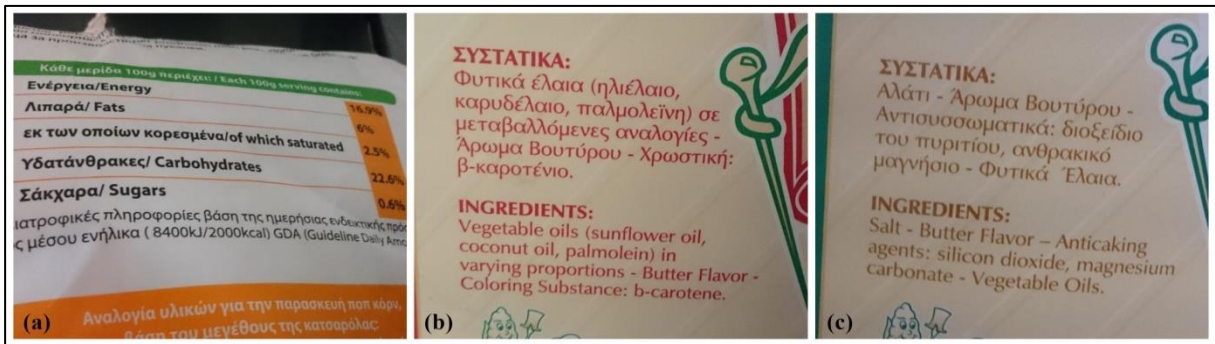
Οι μύκητες που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από τη Συλλογή Καλλιεργειών Μυκήτων της Μυκητοθήκης ATHUM του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ). Τα στελέχη των μυκήτων που επιλέχθηκαν για το πείραμα είναι τα εξής:

- ATHUM 10089 *Agaricus bisporus* (*portobello*)
- ATHUM 2337 *Pleurotus eryngii*
- ATHUM 4387 *Pleurotus nebrodensis*
- ATHUM 5696 *Pleurotus ostreatus*
- ATHUM 9667 *Trametes versicolor*
- ATHUM 10090 *Ganoderma sp.*
- ATHUM 10091 *Cerrena unicolor*

Τα στελέχη συντηρούνται σε ψυκτικό θάλαμο σε θερμοκρασία 5°C εντός δοκιμαστικών σωλήνων με θρεπτικό υπόστρωμα σε κλίση. Για την αναβίωσή τους, μεταφέρονται σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό PDA (Potato Dextrose Agar, Difco) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προκειμένου να αναπτυχθούν.

Η συσκευασία/κουτί αποτελείται από 100% ξυλοπολτό και τα χρώματα στην εξωτερική στρώση του κουτιού αποδόθηκαν με εκτύπωση Offset. Το popcorn, σύμφωνα με τις πληροφορίες που αναγράφονται στις ετικέτες των πρώτων υλών, περιέχει τα εξής συστατικά:

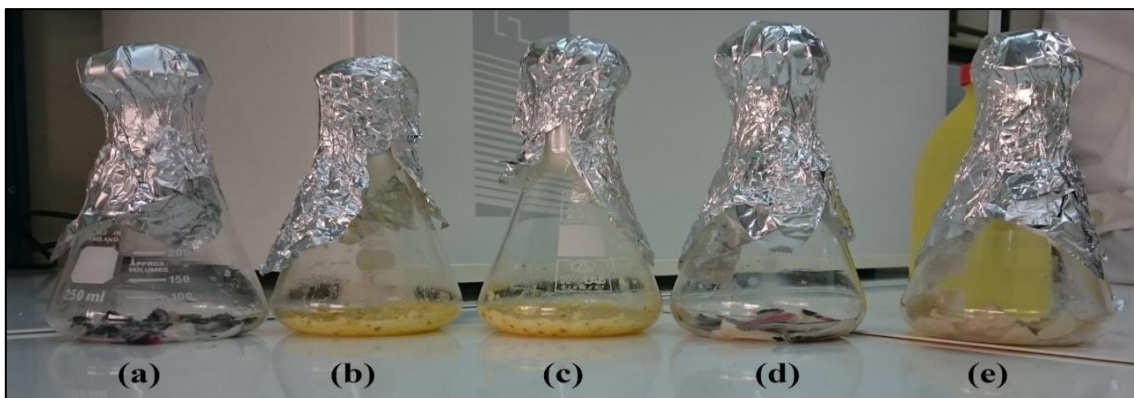
- Καλαμπόκι για popcorn (Butterfly type popcorn with high expansion – popcorn maize): Ενέργεια 16.9%, Λιπαρά 6% (εκ των οποίων κορεσμένα 2.5%), Υδατάνθρακες 22.6%, Σάκχαρα 0.6% (Εικόνα 2-1a).
- Λιπαρή ουσία: Φυτικά έλαια (ηλιέλαιο, καρυδέλαιο, παλμολεΐνη) σε μεταβαλλόμενες αναλογίες, άρωμα βουτύρου, χρωστικές: β-καροτένιο (Εικόνα 2-1b).
- Ενισχυτικό γεύσης: Αλάτι, άρωμα βουτύρου, φυτικά έλαια, αντισυσσωματικά: διοξειδίο του πυριτίου, ανθρακικό μαγνήσιο (Εικόνα 2-1c).



**Εικόνα 2-1: Συστατικά πρώτων υλών. (α) Καλαμπόκι, (β) Λιπαρή ουσία, (γ) Ενισχυτικό γεύσης**

Το popcorn ψήθηκε και θρυμματίστηκε σε θερμομίξερ και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη όπου αναμείχθηκε με απιονισμένο νερό. Η συσκευασία του popcorn κόπηκε σε κομμάτια και έμεινε σε νερό για 2 ώρες τουλάχιστον για να γίνει ο διαχωρισμός του εξωτερικού στρώματος χρωστικής από το εσωτερικό. Οι κωνικές των πειραμάτων πριν τη χρήση τους αποστειρώθηκαν στο αυτόκαυστο στους 121°C για 20-30 λεπτά.

Κατά τη διάρκεια του προκαταρκτικού πειράματος δημιουργήθηκαν πέντε κωνικές φιάλες που χωρίζονται ως εξής: δύο φιάλες περιέχουν ποσότητα popcorn αναμειγμένη με νερό (Εικόνα 2-2b,c), μία το εξωτερικό της συσκευασίας (Εικόνα 2-2a), μία ολόκληρη τη συσκευασία (Εικόνα 2-2d) και η τελευταία το εσωτερικό (Εικόνα 2-2e). Η μία από τις δύο φιάλες του popcorn χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας (Εικόνα 2-3). Η παρατήρησης διήρκεσε 90 ημέρες.



**Εικόνα 2-2: (α) Εξωτερικό συσκευασίας popcorn, (β) – (γ): Popcorn με νερό, (δ): Ολόκληρη συσκευασία popcorn, (ε): Εσωτερικό συσκευασίας popcorn.**



**Εικόνα 2-3: Αριστερά: Καλλιέργεια *Cerrena unicolor* του προκαταρκτικού πειράματος ύστερα από 5 μέρες καλλιέργειας. Δεξιά: Μάρτυρας.**

Το πείραμα επαναλήφθηκε με τη χρήση των 7 στελεχών μυκήτων και πραγματοποιήθηκαν δύο εμβολιασμοί (1 και 2) που έγιναν με διαφορά 7 ημερών. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις αποστειρωμένες κωνικές φιάλες για το κάθε στέλεχος και περιείχαν αντίστοιχα: i) θρυμματισμένο porcorn με νερό, με αναλογία 15g porcorn και 100ml απιονισμένο νερό, ii) κομμάτια ξυλοπολτού και iii) κομμάτια εξωτερικού στρώματος.

Εμβολιασμός 1: *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma sp.*, *Trametes versicolor*. Διάρκεια παρατήρησης 85 ημέρες.

Εμβολιασμός 2 (79 ημέρες καλλιέργειας): *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus nebrodensis*, *Agaricus bisporus*, *Cerrena unicolor*. Διάρκεια παρατήρησης 80 ημέρες.

## 2.2 Λυοφιλοποίηση

Μετά την πλήρη ανάπτυξη και τη μεγαλύτερη δυνατή αφομοίωση του υποστρώματος σε περίπου 90 ημέρες, οι 8 κωνικές φιάλες που περιείχαν ως υπόστρωμα το porcorn μεταφέρθηκαν στο τμήμα Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ με στόχο την πλήρη αφυδάτωση των δειγμάτων μέσω της διαδικασίας της λυοφιλοποίησης (freeze drying).

Τα δείγματα, πριν την τοποθέτησή τους στο λυοφιλοποιητή (Εικόνα 2-4), καταψύχονται στους  $-20^{\circ}\text{C}$ . Το μηχάνημα ελέγχεται πριν χρησιμοποιηθεί και το ρυθμίζουμε στο πρόγραμμα pre-cool για δέκα λεπτά. Στη συνέχεια, τοποθετούμε τα δείγματά μας μέσα για 90 ώρες ακριβώς, για τη μέγιστη ξήρανση.



**Εικόνα 2-4: Λυοφιλοποιητής Τμήματος Φαρμακευτικής (ΕΚΠΑ)**

## **2.3 Μέθοδοι Ανάλυσης**

Τα λυοφιλοποιημένα δείγματα μυκήτων με porcorn, αφού τεμαχίστηκαν, το καθένα ξεχωριστά, σε πολυμίξερ, εξετάστηκαν για την ποσότητα πρωτεϊνών και αναγωγικών σακχάρων που περιέχουν με τις μεθόδους Bradford και DNS.

### **2.3.1 Μέτρηση πρωτεΐνης με τη μέθοδο Bradford**

Για τη συγκεκριμένη μέθοδο δημιουργήθηκε stock NaOH [2N] σε 100ml απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια, μετρήθηκαν σε πλαστικό falcon 10mg τεμαχισμένο porcorn, με τη βοήθεια αναλυτικού ζυγού. Μέσω πιπέτας προστέθηκε 1ml NaOH [1N], αφού αραιώθηκε από το stock με αναλογία 1:1 και το μείγμα αναμείχθηκε για λίγο σε vortex. Στη συνέχεια, το falcon τοποθετήθηκε μέσα σε υδατόλουτρο για 10 λεπτά στους 100°C.

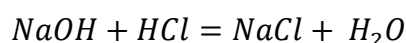
Για τη μέθοδο Bradford δημιουργήθηκε καμπύλη αναφοράς με τη βοήθεια του ορού λευκοματίνης, ή αλλιώς BSA (Bovine Serum Albumin). Σε μία πλακέτα φασματογραφίας (Greiner Flat bottom 96) τοποθετήθηκαν 10μl από δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις του BSA,

0.5mg/ml NaOH και 1mg/ml NaOH, κάνοντας διπλές επαναλήψεις για το καθένα με τη βοήθεια πιπέτας, και προστέθηκε στην κάθε μία θέση 200μl Bradford. Το μείγμα του porcorn με το NaOH περάστηκε σε Eppendorf μέσα από ένα μικρό φίλτρο και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 10μl από το μείγμα σε δύο ακόμη κυψέλες του Greiner. Τέλος, δημιουργήθηκαν δύο κυψέλες για το Blank που περιέχουν 200μl Bradford και 10μl απιονισμένο νερό η κάθε μία.

Ο φασματογράφος ρυθμίζεται στα 595nm σύμφωνα με το βιβλιογραφία και μέσω των αποτελεσμάτων δημιουργήθηκε πρότυπη καμπύλη, όπου μαζί υπολογίζεται και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στο porcorn. Με τον ίδιο τρόπο, μετρήθηκε η πρωτεΐνη που περιέχεται στα μείγματα porcorn με μύκητα ύστερα από λυοφιλοποίηση, δημιουργώντας μια νέα καμπύλη BSA. Οι συγκεντρώσεις BSA που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: 0.05mg/ml, 0.1mg/ml, 0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml και 2mg/ml. Τέλος, για την εξαγωγή της καμπύλης έγιναν τριπλές επαναλήψεις με τις παραπάνω συγκεντρώσεις, ενώ για το κάθε στέλεχος μύκητα έγιναν διπλές.

### 2.3.2 Μέτρηση υδατανθράκων (sugars) με την μέθοδο DNS

Μαζί με το stock NaOH [2N] που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο Bradford, παρασκευάζεται stock 100ml HCl [2N]. Γνωρίζουμε ότι στην αντίδραση:



χρειαζόμαστε 1 mol NaOH και 1 mol HCl για να αντιδράσουν πλήρως.

Με τη βοήθεια αναλυτικού ζυγού μετρήθηκαν 50mg θρυμματισμένου porcorn σε δύο κωνικές φιάλες χωρητικότητας 100ml η κάθε μία και στη συνέχεια, προστέθηκαν 10ml HCl [2N]. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο για 2 ώρες στους 95°C. Ύστερα, τα διαλύματα εξουδετερώθηκαν με 10ml NaOH [2N] το καθένα και μετέπειτα ισορροπήθηκε το pH τους στην τιμή του 7, προσθέτοντας σταγόνες HCl και NaOH. Το σύνολο των ml HCl και NaOH είναι 30.

Τα διαλύματα φιλτράρονται σε δύο falcons και τοποθετούνται σε νερό που βράζει για 5 λεπτά ακριβώς. Σε ένα Greiner Flat bottom, μέσω πιπέτας ακριβείας, διανέμονται 200μl διαλύματος και 200μl DNS, όπου για το κάθε διάλυμα γίνονται διπλές επαναλήψεις. Όπως και στην προηγούμενη μέθοδο, γεμίζουμε δύο κυψέλες Blank με 200μl απιονισμένο νερό και 200μl DNS. Ο φασματογράφος ορίζεται στα 540nm.



Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για όλα τα μείγματα porcorn με μύκητα ύστερα από λυοφιλοποίηση, κάνοντας διπλές επαναλήψεις. Κάθε κυψέλη περιείχε 200μl μείγματος και 200μl DNS.

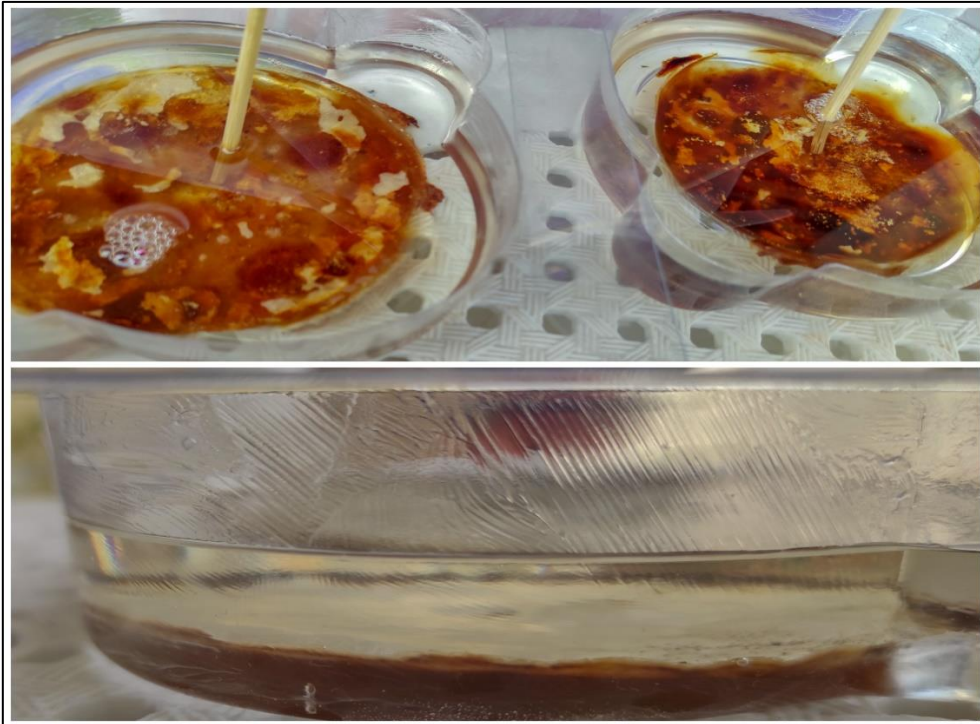
## 2.4 Διακοσμητικά

Εκτός των καλλιέργειών στις κωνικές φιάλες, έγιναν καλλιέργειες των στελεχών *Ganoderma sp.* και *Trametes versicolor* σε δύο γυάλινα τρυβλία το καθένα (Εικόνα 2-4). Κάθε τρυβλίο, πριν τον εμβολιασμό, αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο για 20-30 λεπτά. Το υπόστρωμα κάθε τρυβλίου αποτελείτο από porcorn με απιονισμένο νερό σε τυχαία αναλογία. Τοποθετήθηκαν 4 εμβόλια ανά τρυβλίο και επώαστηκαν οι καλλιέργειες μέχρι την πλήρη κάλυψη και αφομοίωση του υποστρώματος.



**Εικόνα 2-5: Καλλιέργεια *Ganoderma sp.***

Οι καλλιέργειες τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστές πλαστικές (PET) θήκες, οι οποίες είχαν προηγουμένως αλειφθεί με βαζελίνη. Τέλος, περιχύθηκαν με ρητίνη υγρού γυαλιού (Superlux, Crystal Bond) και έμειναν 48 ώρες στις θήκες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για να στεγνώσουν (Εικόνα 2-5). Χρησιμοποιήθηκε λεπτό ξύλο τα πρώτα 60 λεπτά για να μην έρθουν στην επιφάνεια οι καλλιέργειες.



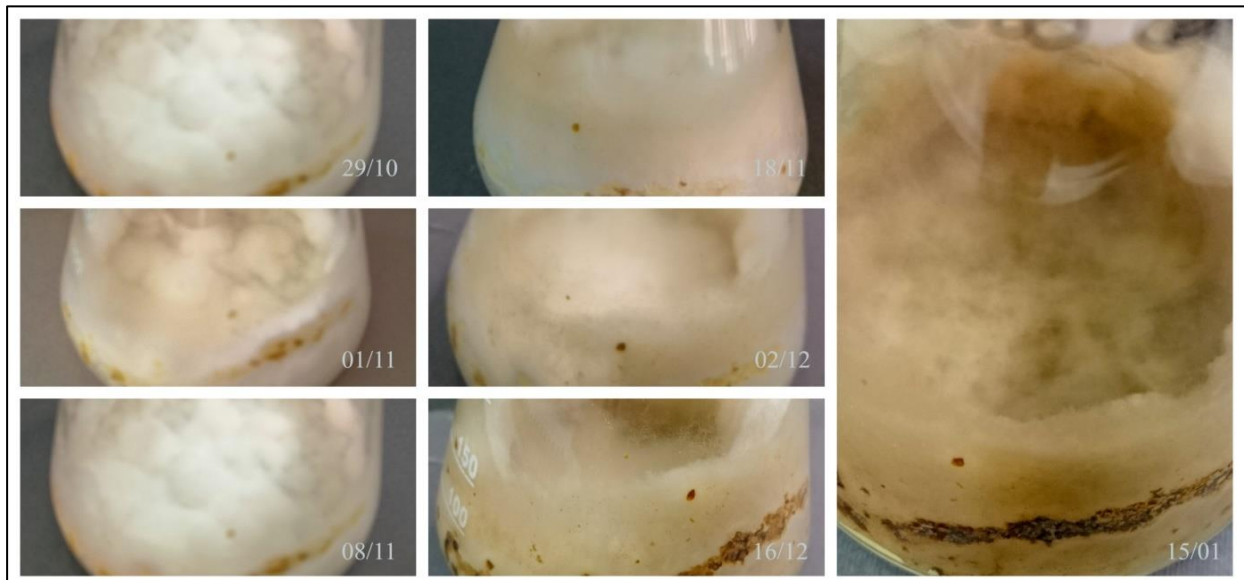
**Εικόνα 2-6: Καλλιέργειες *T. versicolor* μέσα σε υγρό γυαλί**

## 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1 Καλλιέργειες

#### 3.1.1 *Cerrena unicolor* – Προκαταρκτική μελέτη:

Κατά την προκαταρκτική μελέτη, παρατηρήθηκε η καλλιέργεια του μύκητα *C. unicolor* σε 4 υποστρώματα (porcorn, ξυλοπολτός, εξωτερική στρώση κουτιού, ολόκληρη συσκευασία). Στην Εικόνα 3-1 εμφανίζεται η ανάπτυξή του πάνω σε popcorn σε διάστημα 90 ημερών. Οι παρατηρήσεις αφορούν την 12<sup>η</sup>, 15<sup>η</sup>, 22<sup>η</sup>, 32<sup>η</sup>, 47<sup>η</sup>, 61<sup>η</sup> και 90<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Καθ' όλη τη διάρκεια των παρατηρήσεων, το στέλεχος είχε μια συνεχόμενη και σταθερή ανάπτυξη τόσο στο υπόστρωμα, όσο και στα τοιχώματα της κωνικής φιάλης, παρ' όλο που εκεί δεν υπήρχε μεγάλη ποσότητα popcorn.



**Εικόνα 3-1: Καλλιέργεια *C.unicolor* σε popcorn για 90 ημέρες**

Στις 45 ημέρες ανάπτυξης, άρχισε να εκκρίνεται μεταβολίτης σκούρου χρώματος σε διάσπαρτα σημεία του υποστρώματος, έως την 90<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας όλη η επιφάνειά του χρωματίστηκε σκούρο καφέ. Η παραπάνω αναφορά διαφαίνεται περισσότερο στην Εικόνα 3-2, όπου παρατίθεται μία άλλη οπτική της ανάπτυξης του μύκητα την 3<sup>η</sup>, 46<sup>η</sup>, 60<sup>η</sup> και 90<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Την 90<sup>η</sup> πλέον ημέρα το μυκήλιο έχει περάσει στον πάτο της φιάλης και έχει αρχίσει να εξαπλώνεται κάτω από το υπόστρωμα.



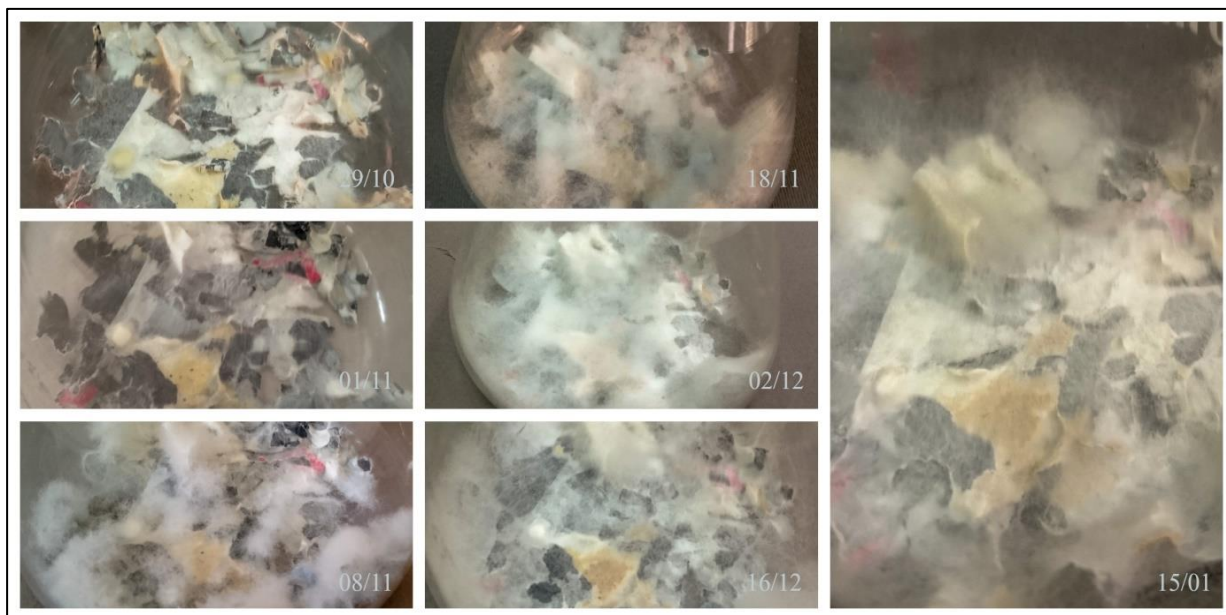
**Εικόνα 3-2: Από αριστερά στα δεξιά:  
Ανάπτυξη *C. unicolor* 3<sup>η</sup>, 46<sup>η</sup>, 60<sup>η</sup> και 90<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας**

Στον ξυλοπολτό/χαρτί το *C. unicolor* είχε μία αργή αλλά σταθερή ανάπτυξη έως την 32<sup>η</sup> ημέρα (Εικόνα 3-3). Ύστερα από 50 ημέρες καλλιέργειας, κάλυψε γρήγορα όλη την επιφάνεια του υποστρώματος, δημιουργώντας ένα παχύ και λευκό στρώμα από μυκήλιο, διαπερνώντας σε ορισμένα σημεία το χαρτί.



**Εικόνα 3-3: Ανάπτυξη *C.unicolor* σε ξυλοπολτό για 90 ημέρες**

Όσον αφορά την εξωτερική επιστροφή της συσκευασίας, ο μύκητας αναπτυσσόταν αργά έως στην 22<sup>η</sup> ημέρα. Με την προσθήκη 2ml απιονισμένου νερού, εξαπλώθηκε ταχύτατα σε όλη την επιφάνεια, κάτι που φαίνεται στο κάτω αριστερό πλαίσιο της Εικόνας 3-4. Ύστερα από 60 ημέρες, το μυκήλιο σταμάτησε να αναπτύσσεται και από λευκό έγινε υποκίτρινο.



**Εικόνα 3-4: Ανάπτυξη *C.unicolor* σε εξωτερική στρώση**

Το *C. unicolor* ήταν το μοναδικό στέλεχος που καλλιεργήθηκε σε ολόκληρη τη συσκευασία, χωρίς το διαχωρισμό στα δύο στρώματα. Τις πρώτες 50 ημέρες ο μύκητας αναπτυσσόταν αργά, χωρίς φανερή εξάπλωση σε όλη την επιφάνεια του υποστρώματος (Εικόνα 3-5). Τη 60<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας παρατηρήθηκε επιτάχυνση της ανάπτυξής του, έως και την 90<sup>η</sup> ημέρα, όπου πλέον είχε καλύψει όλη τη συσκευασία.

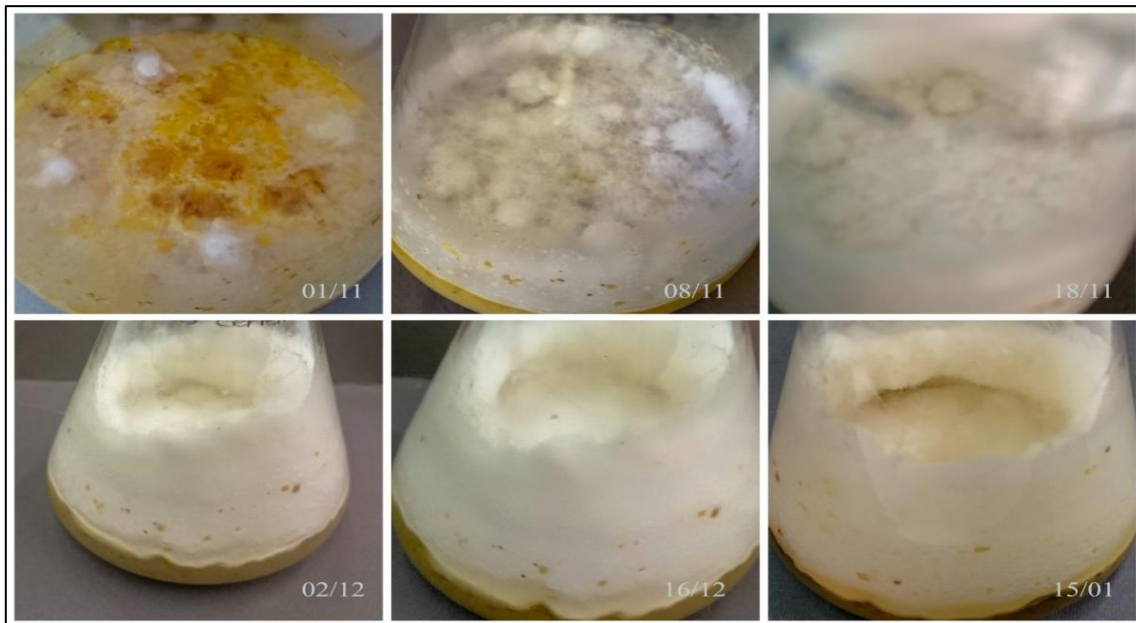


**Εικόνα 3-5: Ανάπτυξη *C.unicolor* σε ολόκληρη συσκευασία**

Κατά την επανάληψη του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν δύο εμβολιασμοί και με τα 7 στελέχη μυκήτων στα 3 υποστρώματα (porcini, ξυλοπολτός, εξωτερική στρώση).

### 3.1.2 *Cerrena unicolor*

Η Εικόνα 3-6 παρουσιάζει την ταχύτατη ανάπτυξη του μυκηλίου του *C. unicolor* στο porcorn. Άρχισε να μεγαλώνει από την 3<sup>η</sup> κιόλας μέρα καλλιέργειας, ενώ την 11<sup>η</sup> είχε ήδη επεκταθεί σε όλη την επιφάνεια του υποστρώματος. Την 35<sup>η</sup> ημέρα είχε επεκταθεί έως τη μέση της κωνικής φιάλης όπου υπήρχε μόνο ελάχιστη ποσότητα porcorn.



**Εικόνα 3-6: Ανάπτυξη *C.unicolor* σε porcorn**

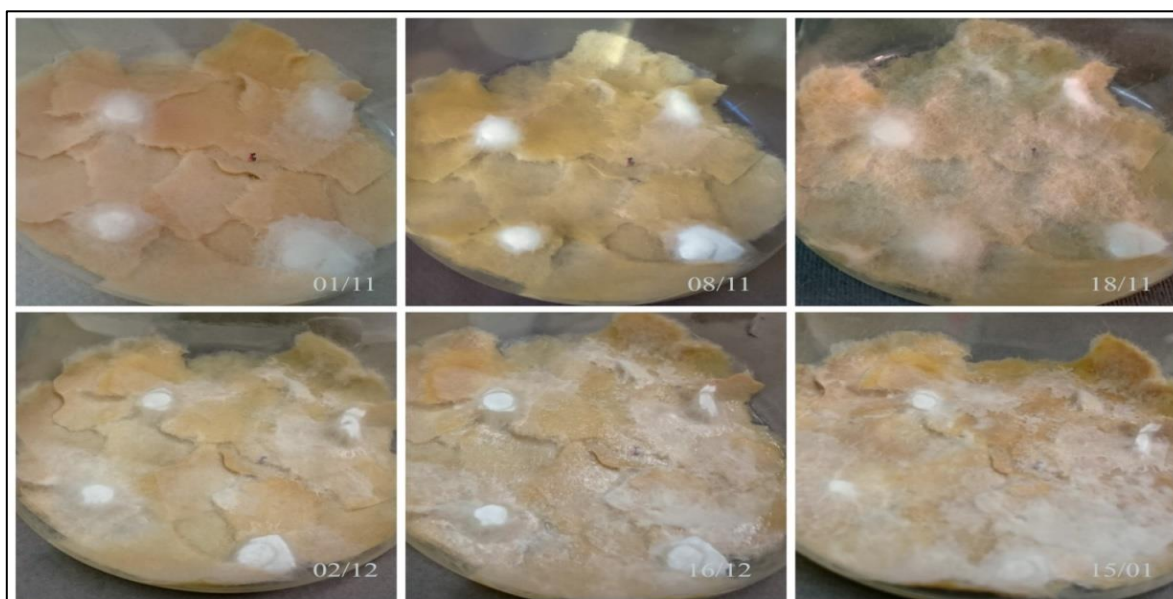
Στις 35 ημέρες καλλιέργειας, το μυκήλιο άρχισε να δημιουργεί ένα παχύ στρώμα πάνω στην επιφάνεια του porcorn (Εικόνα 3-7). Την 79<sup>η</sup> ημέρα το στρώμα αυτό είχε γίνει σκληρό και στο εσωτερικό του υποστρώματος άρχισε να εμφανίζεται σκούρο καφέ χρώμα σε διάφορα σημεία.



**Εικόνα 3-7: Πλαϊνή όψη της καλλιέργειας *C. unicolor* σε porcorn**

Μέχρι την 21<sup>η</sup> ημέρα το στέλεχος άρχισε να εξαπλώνεται σε όλη την επιφάνεια του ξυλοπολτού (Εικόνα 3-8). Την 35<sup>η</sup> ημέρα προστέθηκαν 2ml απιονισμένου νερού, όμως αυτό

δε βοήθησε την περαιτέρω ανάπτυξή του. Την τελευταία ημέρα της καλλιέργειας το μυκήλιο φάνηκε να έχει αποξηραθεί πάνω στην επιφάνεια του υποστρώματος.



**Εικόνα 3-8: Ανάπτυξη *C.versicolor* σε ξυλοπολτό**

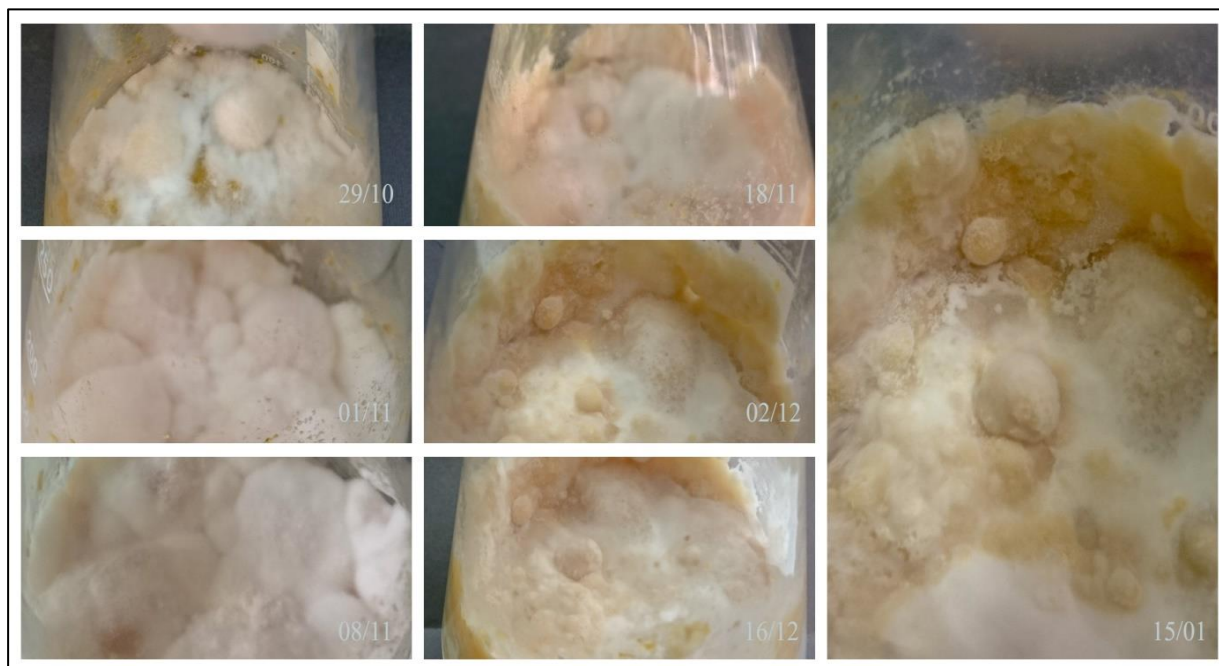
Στην εξωτερική στρώση (Εικόνα 3-9), το *T. versicolor* έδειξε μικρά σημάδια ανάπτυξης μόνο μέχρι τη 10<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Στη συνέχεια, παρ' όλη την προσθήκη νερού, δεν κατάφερε να συνεχίσει να αναπτύσσεται.



**Εικόνα 3-9: Ανάπτυξη *C.unicolor* σε εξωτερική στρώση**

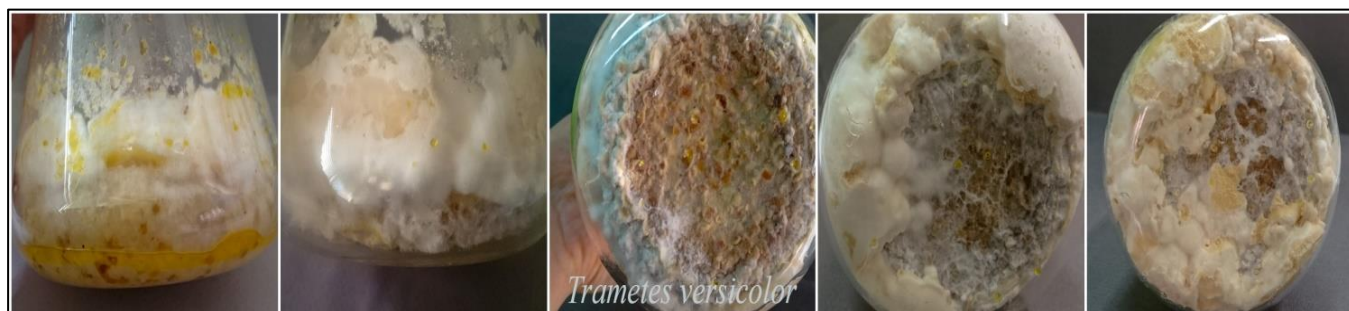
### 3.1.3 *Trametes versicolor*

Από τις πρώτες κιόλας μέρες το *T. versicolor* είχε ταχύτατη ανάπτυξη σε όλη την επιφάνεια του porcorn, καθώς και στα τοιχώματα της φιάλης. Στην Εικόνα 3-10 παρατηρείται ότι στις 28 ημέρες καλλιέργειας άρχισαν να δημιουργούνται εξογκώματα στην επιφάνεια του μυκηλίου ενώ στις 42 ημέρες καλλιέργειας το μυκήλιο άρχισε να παίρνει υποκίτρινο χρώμα σε διάφορα σημεία.



**Εικόνα 3-10: Ανάπτυξη *T.versicolor* σε porcorn**

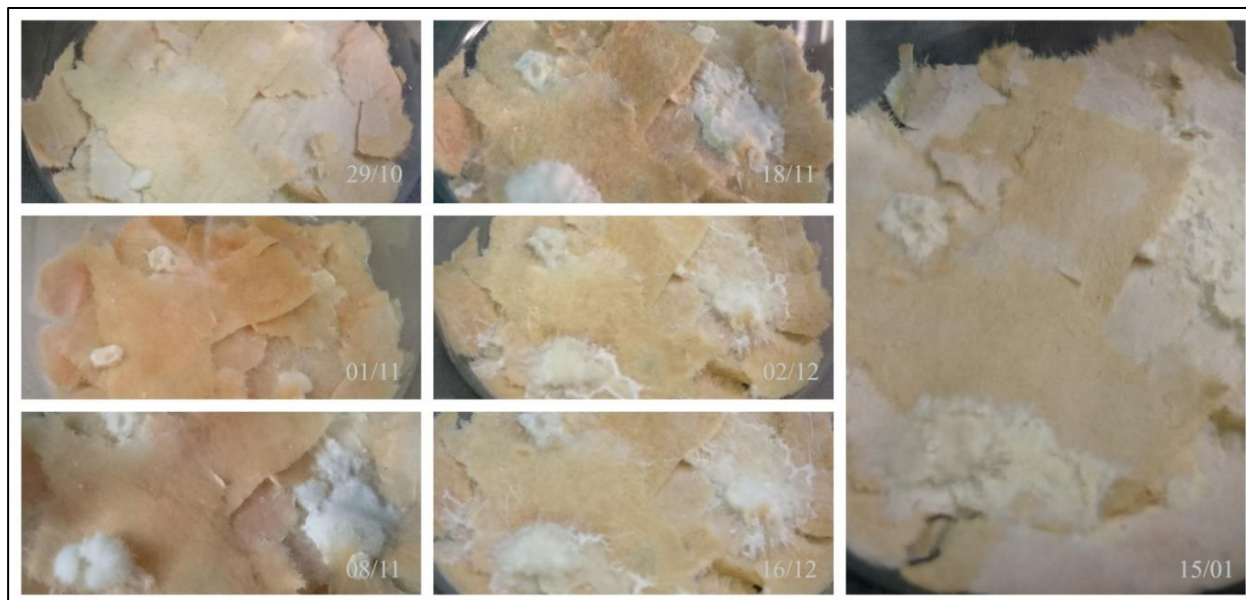
Τις πρώτες ημέρες της καλλιέργειας, ενώ ο μύκητας είχε ραγδαία ανάπτυξη σε όλη την επιφάνεια του porcorn, έδειχνε να μην καταναλώνει τη λιπαρή ουσία. Από τη 18<sup>η</sup> ημέρα και μετά η εικόνα της καλλιέργειας άλλαξε και το μυκήλιο εξαπλώθηκε και κάτω από το υπόστρωμα (Εικόνα 3-11). Έως την 86<sup>η</sup> ημέρα, το στέλεχος είχα περικυκλώσει όλο το υπόστρωμα, κρατώντας το στο εσωτερικό του, όπως φάνηκε και μετά τη λυοφιλοποίηση.



**Εικόνα 3-11: Από αριστερά στα δεξιά:  
10<sup>η</sup>, 18<sup>η</sup>, 18<sup>η</sup> (κάτω όψη), 56<sup>η</sup> & 86<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας *T. versicolor***

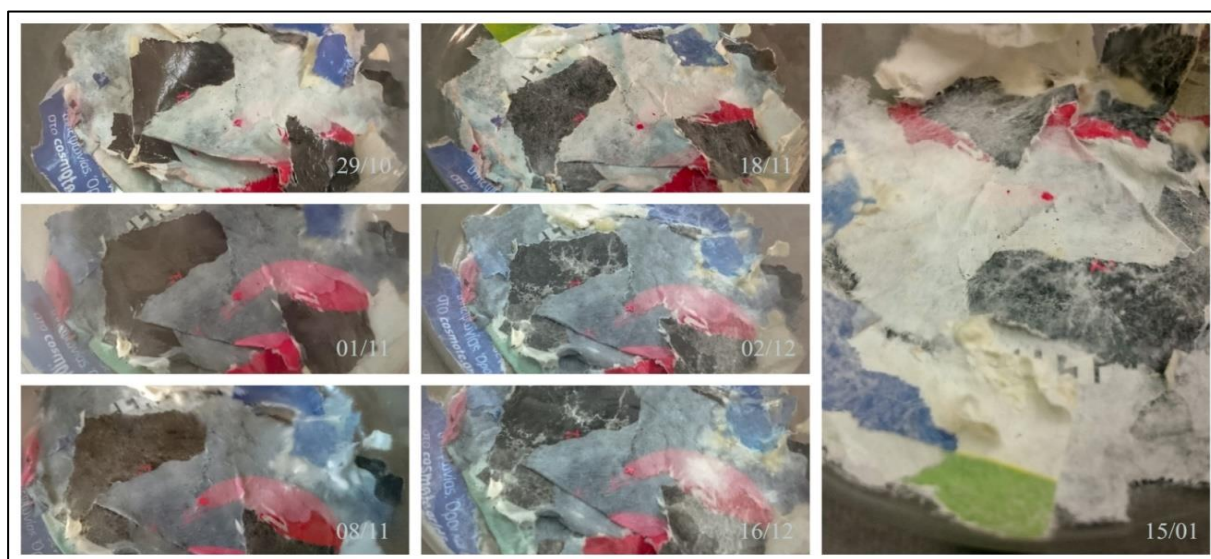


Στην Εικόνα 3-12 είναι φανερό ότι μετά την 28<sup>η</sup> ημέρα ο μύκητας είχε μια απότομη ανάπτυξη κι άρχισε να εξαπλώνεται γύρω από τα σημεία που εμβολιάστηκε. Στις 42 ημέρες καλλιέργειας προστέθηκαν 2ml απιονισμένου νερού, όμως αυτό δεν βοήθησε εμφανώς το στέλεχος να μεγαλώσει. Τέλος, στις 86 ημέρες καλλιέργειας το μυκήλιο έδειχνε αποξηραμένο.



**Εικόνα 3-12: Ανάπτυξη *T.versicolor* σε ξυλοπολτό**

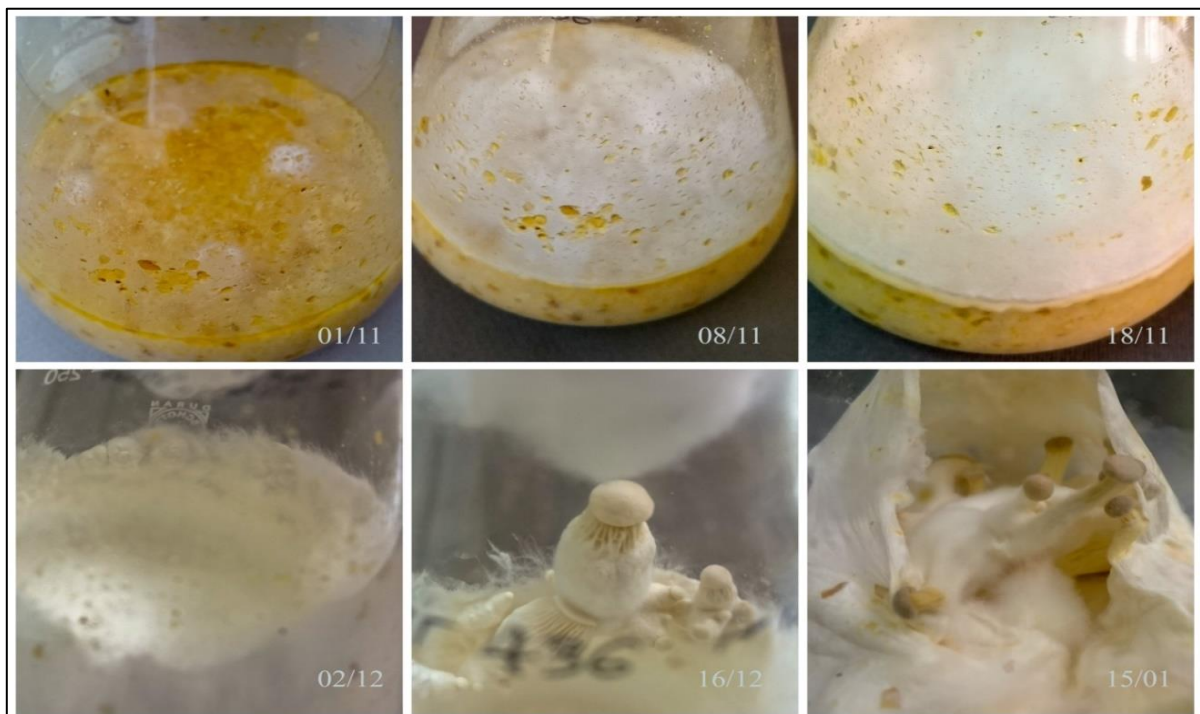
Όσον αφορά την εξωτερική επίστρωση, το *T. versicolor* δεν κατάφερε να αναπτυχθεί (Εικόνα 3-13), παρ' όλη την προσθήκη νερού στις 10 και στις 28 ημέρες καλλιέργειας.



**Εικόνα 3-13: Ανάπτυξη *T.versicolor* σε εξωτερική επίστρωση**

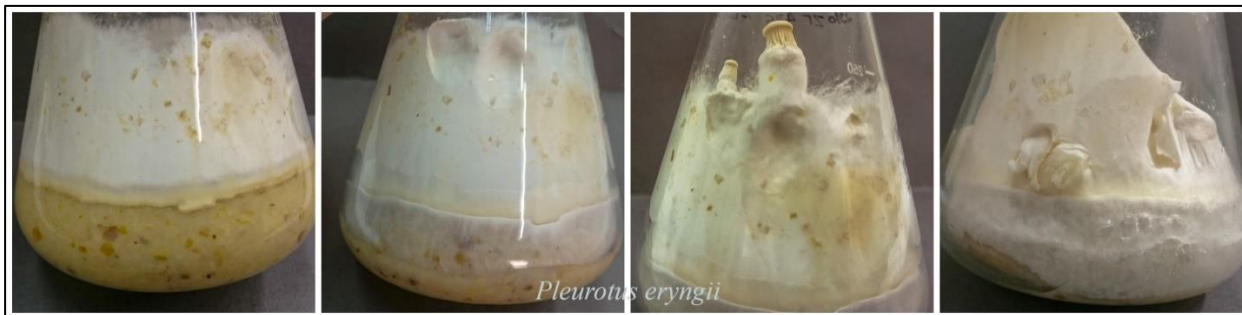
### 3.1.4 *Pleurotus eryngii*

Το *P. eryngii* ακολούθησε μία σταθερή ανάπτυξη έως και την 21<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας. Από την 35<sup>η</sup> μέρα και ύστερα, το μυκήλιο άρχισε να εξαπλώνεται και στα τοιχώματα της φιάλης, εμφανίζοντας μικρά εξογκώματα στην μία πλευρά. Την 49<sup>η</sup> ημέρα, παρατηρήθηκαν 3-4 μικρά μανιτάρια εκεί που ήταν τα αρχικά εξογκώματα (Εικόνα 3-14). Στη συνέχεια, και για τις επόμενες 29 μέρες έως το τέλος της καλλιέργειας, το μυκήλιο κατακλύστηκε από μανιτάρια, τα οποία στην αρχή αναπτύχθηκαν μόνο στα τοιχώματα της φιάλης, καταναλώνοντας στο τέλος όλο το porcorn.



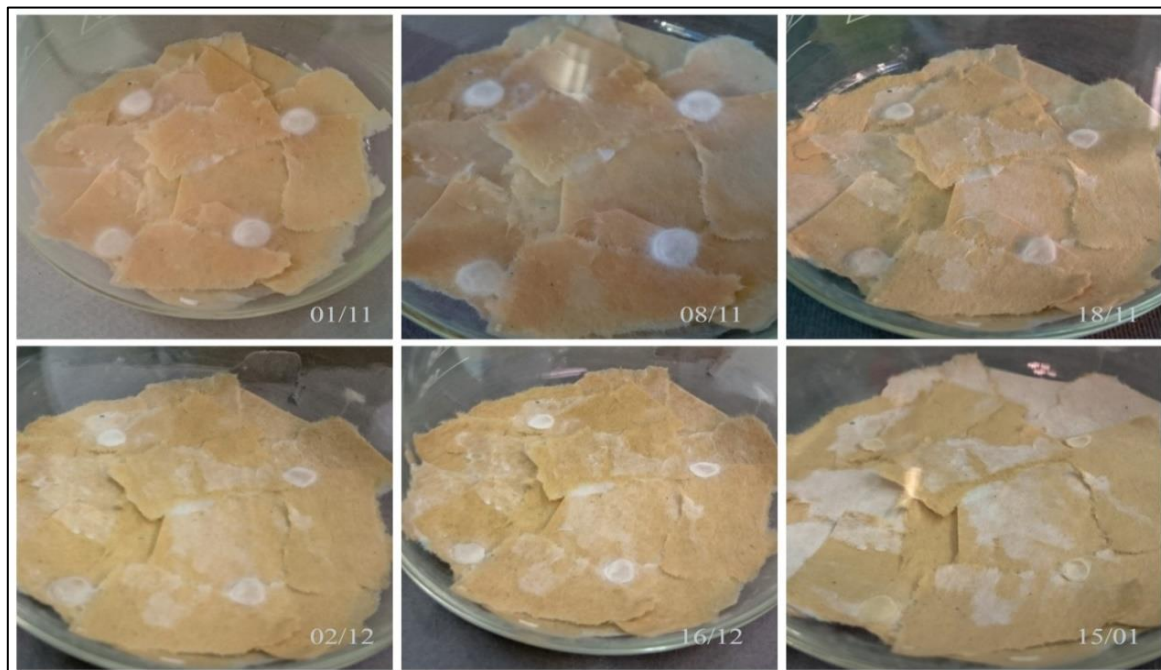
**Εικόνα 3-14: Ανάπτυξη *P.eryngii* σε popcorn**

Η παραπάνω αναφορά φαίνεται περισσότερο στην Εικόνα 3-15 όπου τα εξογκώματα είναι εμφανή από την 29<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Παρατηρείται ότι ταυτόχρονα με την ανάπτυξη μανιταριών, καταναλώνεται και το κάτω μέρος του υποστρώματος.

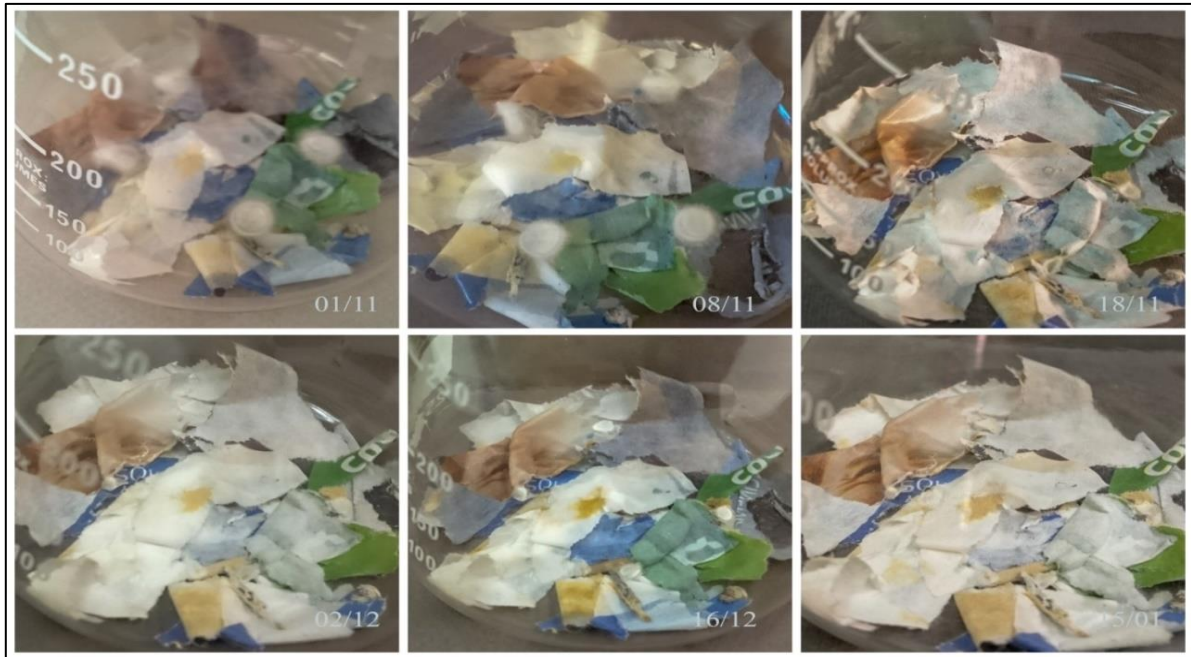


**Εικόνα 3-15: Πλαϊνή όψη καλλιέργειας *P. eryngii* σε porcorn**

Αντίθετα, στον ξυλοπολτό (Εικόνα 3-16) και στην εξωτερική στρώση (Εικόνα 3-17), το *P. eryngii* δεν αναπτύχθηκε καθόλου, παρ' όλη την προσθήκη νερού και στις δύο φιάλες την 11<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας.



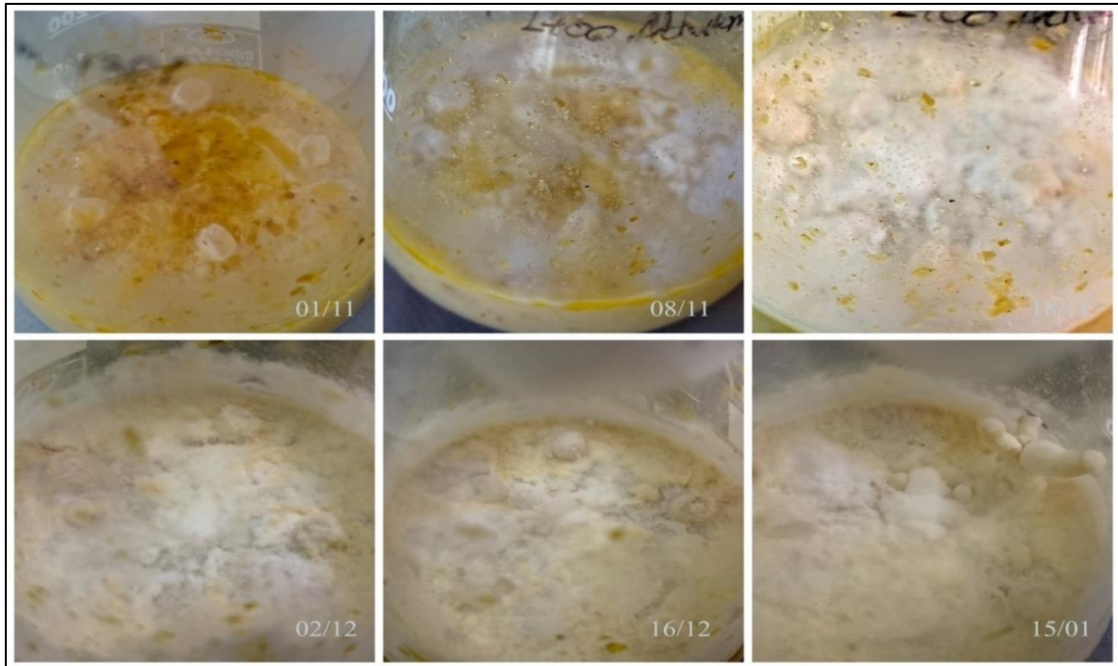
**Εικόνα 3-16: Ανάπτυξη *P.eryngii* σε ξυλοπολτό**



**Εικόνα 3-17: Ανάπτυξη *P.eryngii* σε εξωτερική στρώση**

### 3.1.5 *Pleurotus nebrodensis*

Το *P. nebrodensis* ακολούθησε αργή αλλά σταθερή ανάπτυξη καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειάς του, έως ότου παρήγαγε τρία μανιτάρια στην μία πλευρά του μυκηλίου. Τις πρώτες 11 ημέρες ο μύκητας φαινόταν να μην μεταβολίζει τη λιπαρή ουσία (Εικόνα 3-18). Την 49<sup>η</sup> ημέρα και την τελευταία παρατηρήθηκε πως ακόμα και αν το μυκήλιο είχε επεκταθεί σε όλη την επιφάνεια του porcorn, υπήρχαν ίχνη λαδιού στα τοιχώματα της κωνικής φιάλης.



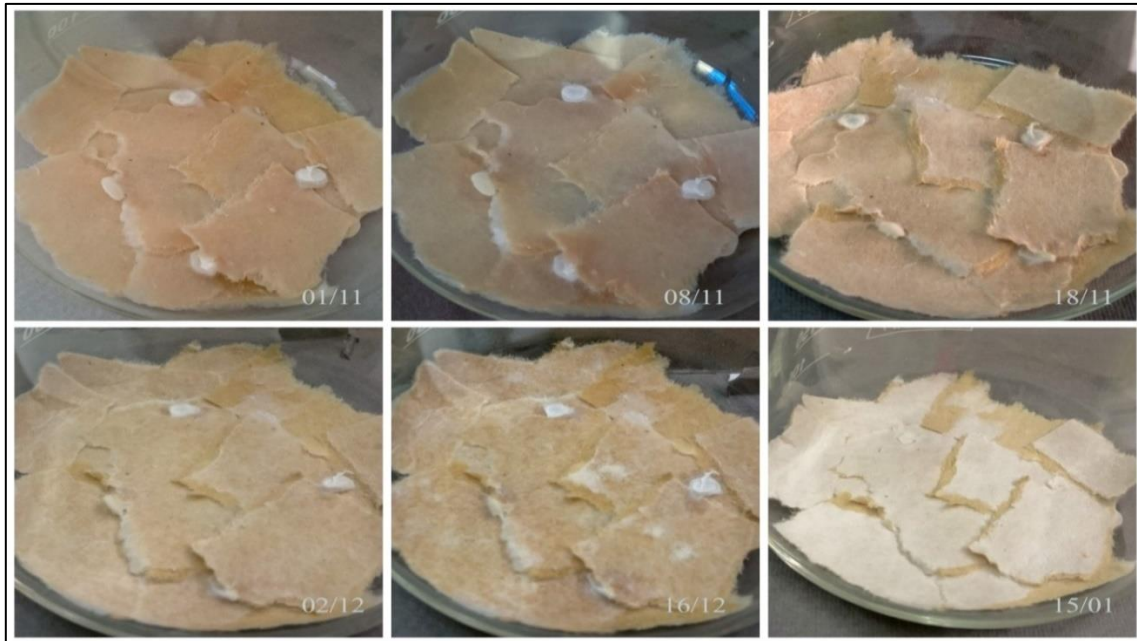
**Εικόνα 3-18: Ανάπτυξη *P.nebrodensis* σε porcini**

Στην Εικόνα 3-19 παρατηρείται ότι από την 29<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας, ο μύκητας είχε δημιουργήσει ένα παχύ στρώμα μυκηλίου στην επιφάνεια. Επίσης, είχε αλλάξει το χρώμα του υποστρώματος από έντονο πορτοκαλί, σε υποκίτρινο, κάτι που διατηρήθηκε μέχρι και την τελευταία μέρα καλλιέργειας.



**Εικόνα 3-19: Αριστερά: 29<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας  
Δεξιά: 79<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας.**

Πάνω στον ξυλοπολτό, το στέλεχος δεν έδειξε κανένα σημάδι ανάπτυξης (Εικόνα 3-20), παρ' όλη την προσθήκη νερού την 11<sup>η</sup> και 35<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας.



**Εικόνα 3-20: Ανάπτυξη *P.nebrodensis* σε ξυλοπολλτό**

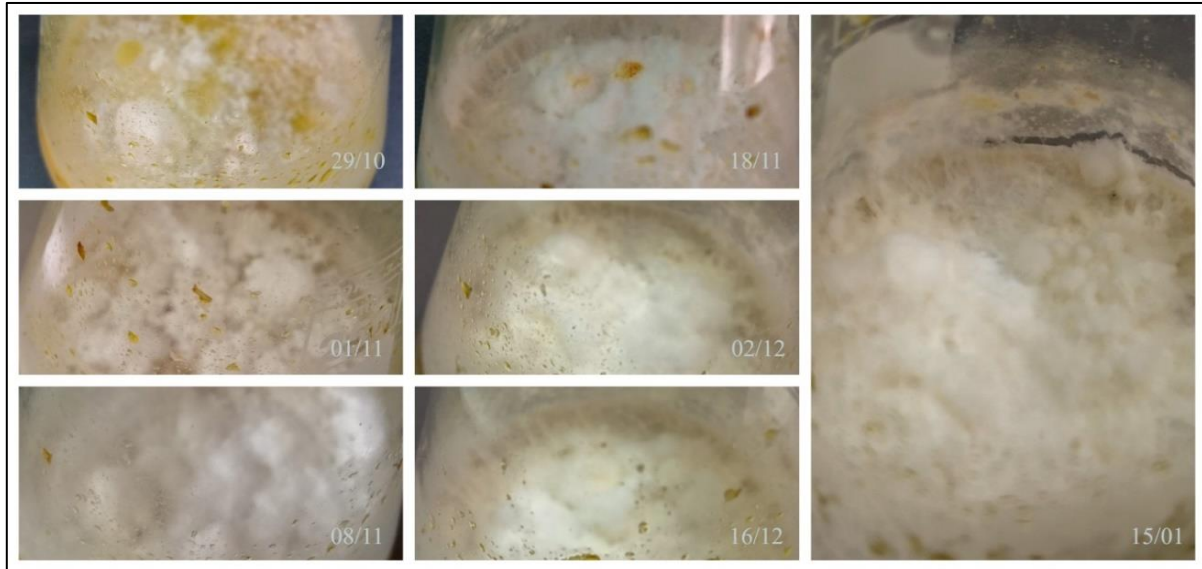
Στην Εικόνα 3-21, εμφανίζεται μια μικρή ανάπτυξη του μυκηλίου την 3<sup>η</sup> και την 11<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας πάνω στην εξωτερική στρώση. Η ανάπτυξη αυτή δε συνεχίστηκε ακόμα και μετά την προσθήκη 2ml νερού την 11<sup>η</sup> ημέρα.



**Εικόνα 3-21: Ανάπτυξη *P.nebrodensis* σε εξωτερική στρώση**

### 3.1.6 *Pleurotus ostreatus*

Στην Εικόνα 3-6 παρατηρείται ότι ο μύκητας *P. ostreatus* είχε σταθερή ανάπτυξη καθ' όλη τη διάρκεια καλλιέργειάς του (85 ημέρες). Είναι φανερό πως από την 10<sup>η</sup> κιόλας ημέρα (Εικόνα 3-22) το μυκήλιο είχε καλύψει όλη την επιφάνεια του porcorn.



**Εικόνα 3-22: Ανάπτυξη *P.ostreatus* σε porcorn**

Έως και την 5<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας, το στέλεχος έδειχνε δυσκολία στο να καταναλώσει τη λιπαρή ουσία, κάτι το οποίο άλλαξε στην πορεία της ανάπτυξής του. Την 85<sup>η</sup> και τελευταία ημέρα καλλιέργειας, το *P. ostreatus* είχε δημιουργήσει ένα παχύ στρώμα μυκηλίου στα πλαϊνά της φιάλης, καθώς αρκετά εξογκώματα στην επιφάνεια.

Πάνω στον ξυλοπολτό η ανάπτυξη εξελισσόταν με αργό ρυθμό, έως και την 28<sup>η</sup> ημέρα (Εικόνα 3-23) όπου δεν υπήρξε κάποια φανερή αλλαγή από εκεί και ύστερα. Την 10<sup>η</sup> ημέρα προστέθηκαν 2ml απιονισμένο νερό, κάτι το οποίο φάνηκε να βοηθάει το στέλεχος για σύντομο όμως χρονικό διάστημα. Την 85<sup>η</sup> ημέρα φαίνεται πλέον πως το μυκήλιο είναι μάλλον αποξηραμένο πάνω στην επιφάνεια του χαρτιού.



**Εικόνα 3-23: Ανάπτυξη *P.ostreatus* σε ξυλοπολλτό**

Από τις πρώτες κιόλας 5 ημέρες το μυκήλιο του *P. ostreatus* αντιμετώπισε δυσκολίες στην ανάπτυξη πάνω στην εξωτερική στρώση, ακόμα και με την προσθήκη νερού. Η εικόνα της καλλιέργειας δεν άλλαξε καθόλου καθ' όλη τη διάρκεια (Εικόνα 3-24).



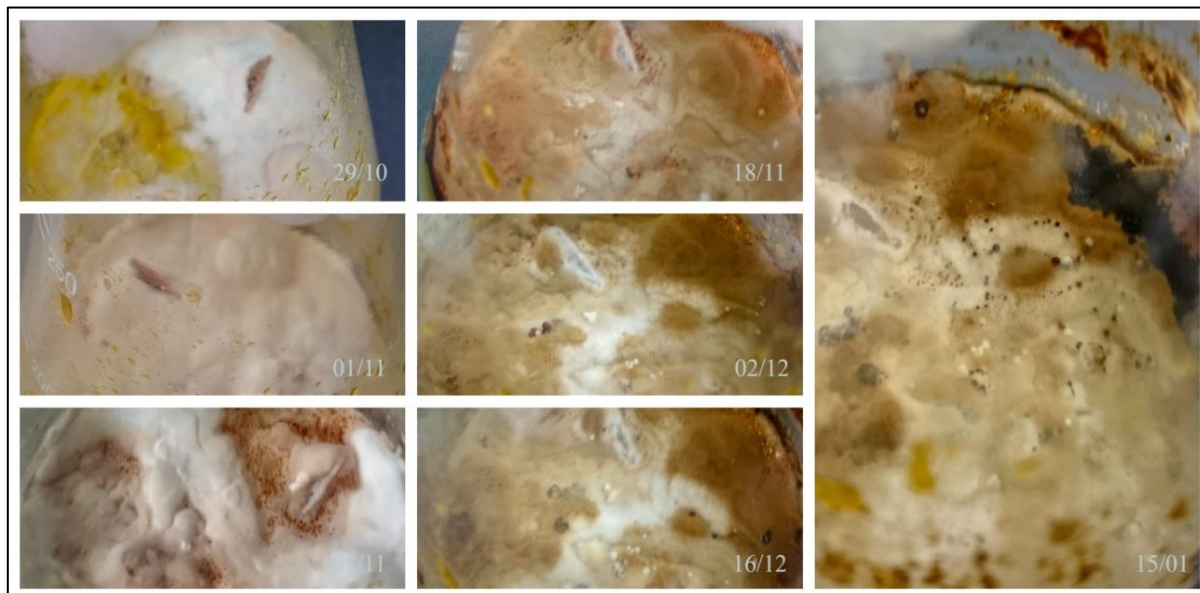
**Εικόνα 3-24: Ανάπτυξη *P.ostreatus* σε εξωτερική στρώση**

### 3.1.7 *Ganoderma sp.*

Το *Ganoderma sp.* την 5<sup>η</sup> ημέρα έδειξε έντονα σημάδια ανάπτυξης από την μία μόνο πλευρά του υποστρώματος ενώ στην άλλη φαινόταν να μην καταναλώνει το λάδι (Εικόνα 3-25). Την 10<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας είχε καλύψει όλη την επιφάνεια του porcorn, ενώ την 18<sup>η</sup> ημέρα

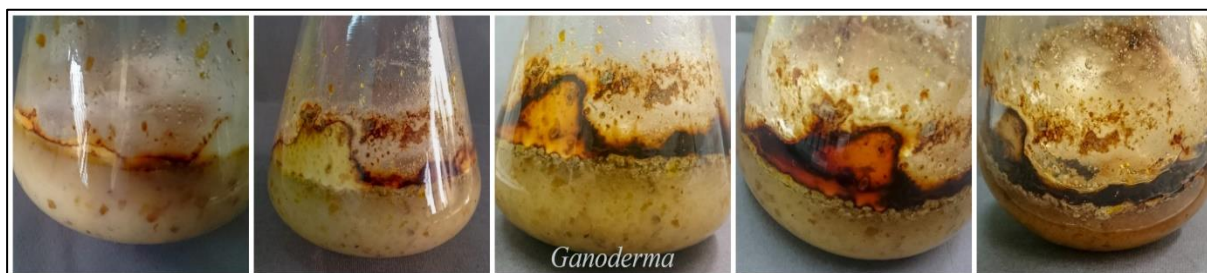


άρχισε να εκκρίνει σκούρο μεταβολίτη. Από την 28<sup>η</sup> ημέρα μέχρι το τέλος της καλλιέργειας, το μυκήλιο άρχισε να γίνεται πιο σκληρό και ελαστικό, κάτι που φάνηκε έντονα και μετά τη λυοφιλοποίηση.



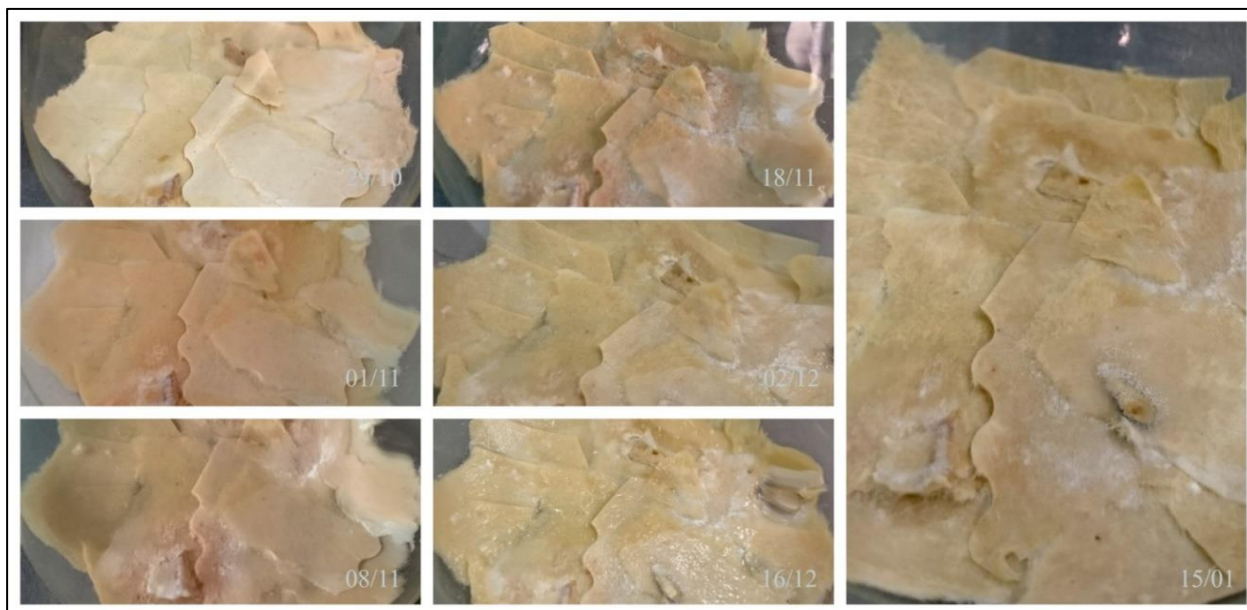
**Εικόνα 3-25: Ανάπτυξη *Ganoderma sp.* σε porcini**

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3-26, από πολύ νωρίς το στέλεχος άρχισε να εκκρίνει τον μεταβολίτη του και να έχει αρκετά έντονη ανάπτυξη στα τοιχώματα της κωνικής φιάλης. Την 85<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας, το μυκήλιο επεκτείνεται γύρω από το υπόστρωμα και προς τα κάτω της επιφάνειας του porcini, ενώ το χρώμα του άρχισε να γίνεται πολύ σκούρο, σχεδόν μαύρο.



**Εικόνα 3-26: Πλαϊνή όψη καλλιέργειας *Ganoderma sp.* σε porcini**

Πάνω στον ξυλοπολτό ο μύκητας είχε αρκετά μικρή ανάπτυξη (Εικόνα 3-27), παρ' όλη την προσθήκη νερού την 10<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Την 56<sup>η</sup> ημέρα προστέθηκαν ακόμη 2ml απιονισμένου νερού στο υπόστρωμα διότι το μυκήλιο είχε καταφέρει να διαπεράσει το χαρτί και να εμφανιστεί στην κάτω επιφάνεια της φιάλης. Την 85<sup>η</sup> ημέρα φαινόταν πλέον αποξηραμένο.



**Εικόνα 3-27: Ανάπτυξη *Ganoderma sp.* σε ξυλοπολτό**

Στην εξωτερική στρώση ο μύκητας έδειξε αδυναμία ανάπτυξης από τις πρώτες κιόλας μέρες (Εικόνα 3-28). Και σε αυτό το υπόστρωμα έγινε προσθήκη 2ml νερού τη 10<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας, κάτι το οποίο όμως δε φάνηκε να τον κινητοποιεί για να αναπτυχθεί.

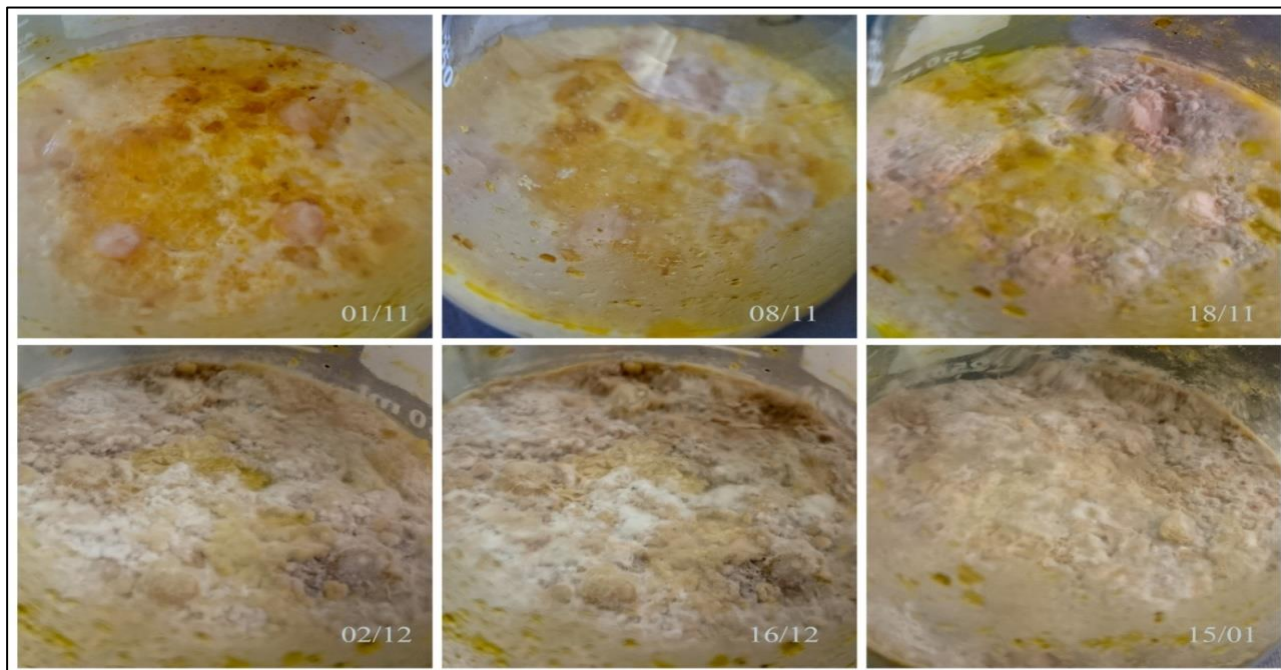


**Εικόνα 3-28: Ανάπτυξη *Ganoderma sp.* σε εξωτερική επίστρωση**

### 3.1.8 *Agaricus bisporus*

Τις πρώτες 21 ημέρες το *A. bisporus* είχε πολύ αργή αλλά σταθερή ανάπτυξη (Εικόνα 3-29). Το μυκήλιο αναπτυσσόταν μόνο κυκλικά και προς τα τοιχώματα της φιάλης και όχι στο

κέντρο, όπου μαζευόταν η περισσότερη ποσότητα λιπαρής ουσίας. Το μυκήλιο άρχισε να παίρνει ένα έντονο υποκίτρινο χρώμα σε όλη την επιφάνεια και να απλώνεται προς τα κάτω, αλλάζοντας το χρώμα του υποστρώματος.



**Εικόνα 3-29: Ανάπτυξη *A.bisporus* σε porcorn**

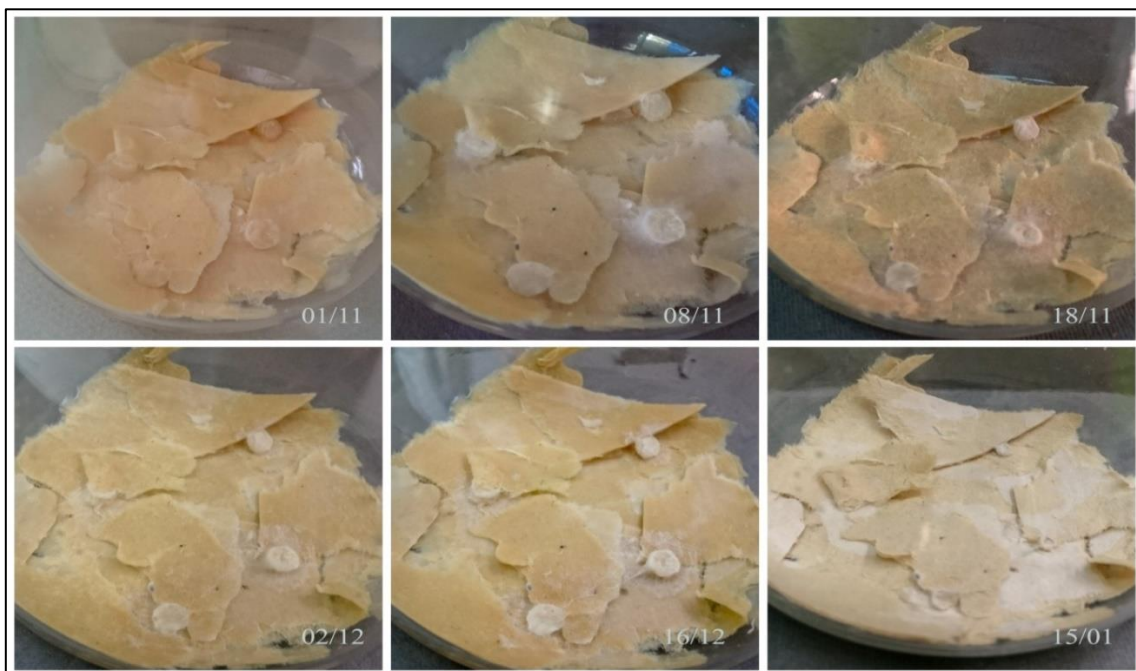
Η Εικόνα 3-30 επικεντρώνεται στην άρνηση του μύκητα να καταναλώσει το λάδι. Τόσο την 3<sup>η</sup> ημέρα όσο και την 80<sup>η</sup> το λάδι παραμένει εμφανές γύρω από το μυκήλιο που έχει αναπτύξει το στέλεχος. Τέλος, την 80<sup>η</sup> παρατηρείται ότι το πάνω μέρος του μυκηλίου έχει αρχίσει να παίρνει σκούρο χρώμα και να γίνεται πιο σκληρό.



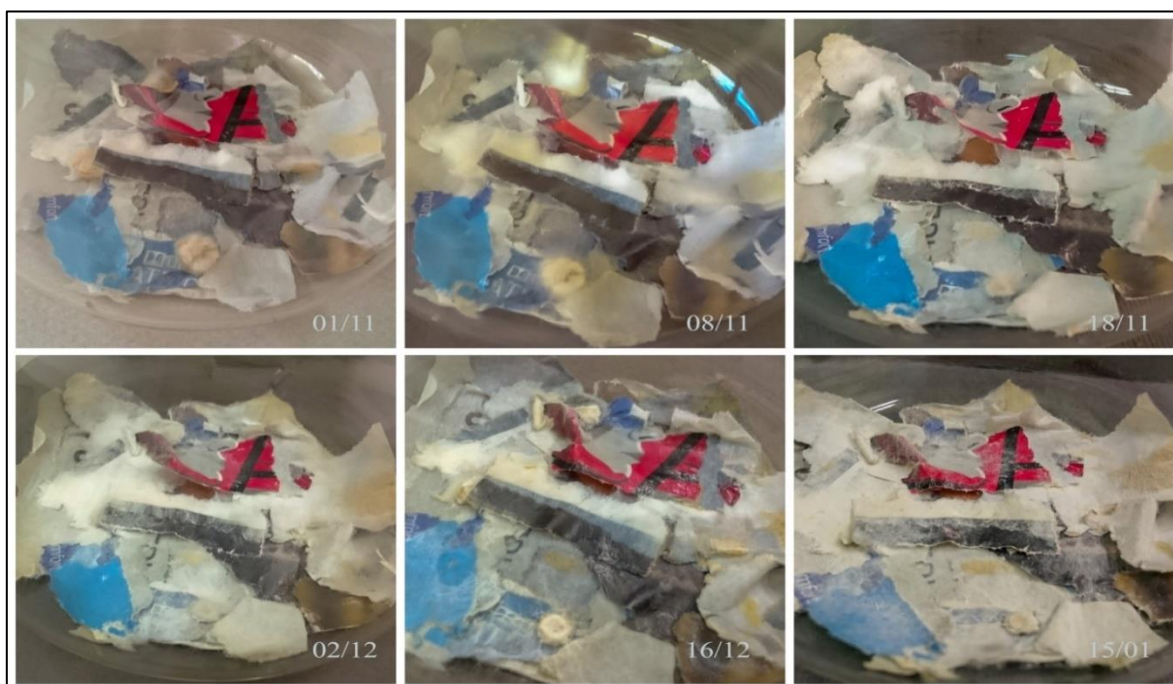
**Εικόνα 3-30: Αριστερά: 3<sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας *A. bisporus*  
Δεξιά: 79<sup>η</sup> μέρα.**

Στον ξυλοπολτό (Εικόνα 3-31) και στη χρωστική (Εικόνα 3-32), ο μύκητας έδωσε σημάδια μικρής ανάπτυξης έως και την 11<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας. Για το λόγο αυτό, προστέθηκαν 2ml απιονισμένου νερού και στις δύο καλλιέργειες για να έχει το *A. bisporus* την απαραίτητη

υγρασία. Εν τέλει, το στέλεχος έδειχνε αποξηραμένο από την 49<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας, έως και το τέλος.



**Εικόνα 3-31: Ανάπτυξη *A.bisporus* σε ξυλοπολτό**



**Εικόνα 3-32: Ανάπτυξη *A.bisporus* σε εξωτερική στρώση**

### 3.2 Διακοσμητικά

Στις Εικόνες 3-33, 3-34 και 3-35 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της δημιουργίας διακοσμητικών με τη βοήθεια υγρού γυαλιού.



**Εικόνα 3-33: Τα τρία διακοσμητικά σουβέρ/ press papier**  
Από αριστερά: *T. versicolor* (popcorn),  
*Ganoderma sp.*, *T. versicolor* (popcorn)



**Εικόνα 3-34: Καλλιέργεια Νο1 *T. versicolor* μέσα σε υγρό γυαλί**  
Από αριστερά: Κάτω όψη, πάνω όψη, πλάγια όψη



**Εικόνα 3-35: Καλλιέργεια N°2 *T. versicolor* μέσα σε υγρό γυαλί**  
**Από αριστερά: Κάτω όψη, πάνω όψη, πλάγια όψη**

Να σημειωθεί πως και στις δύο καλλιέργειες του *T. versicolor* το χρώμα του μυκηλίου άλλαξε αμέσως με την προσθήκη του υγρού γυαλιού από υποκίτρινο (όπως στην Εικόνα 3-14) σε πορτοκαλί

### 3.3 Λυοφιλοποίηση

Ύστερα από τη λυοφιλοποίηση, τα μείγματα πορροποιη με μύκητα χωρίς περιεκτικότητα σε νερό ή υγρασία απέκτησαν μία μορφή όπως η παρακάτω του μύκητα *Trametes versicolor* (Εικόνα 3-36):



**Εικόνα 3-36: Αποτέλεσμα λυοφιλοποίησης του μύκητα *T. versicolor*.**

Στη συνέχεια, τα μείγματα που είχαν μία πιο σκληρή και ελαστική μορφή (*C. unicolor* & *T. versicolor*), τεμαχίστηκαν σε πολυκόφτη, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3-37.



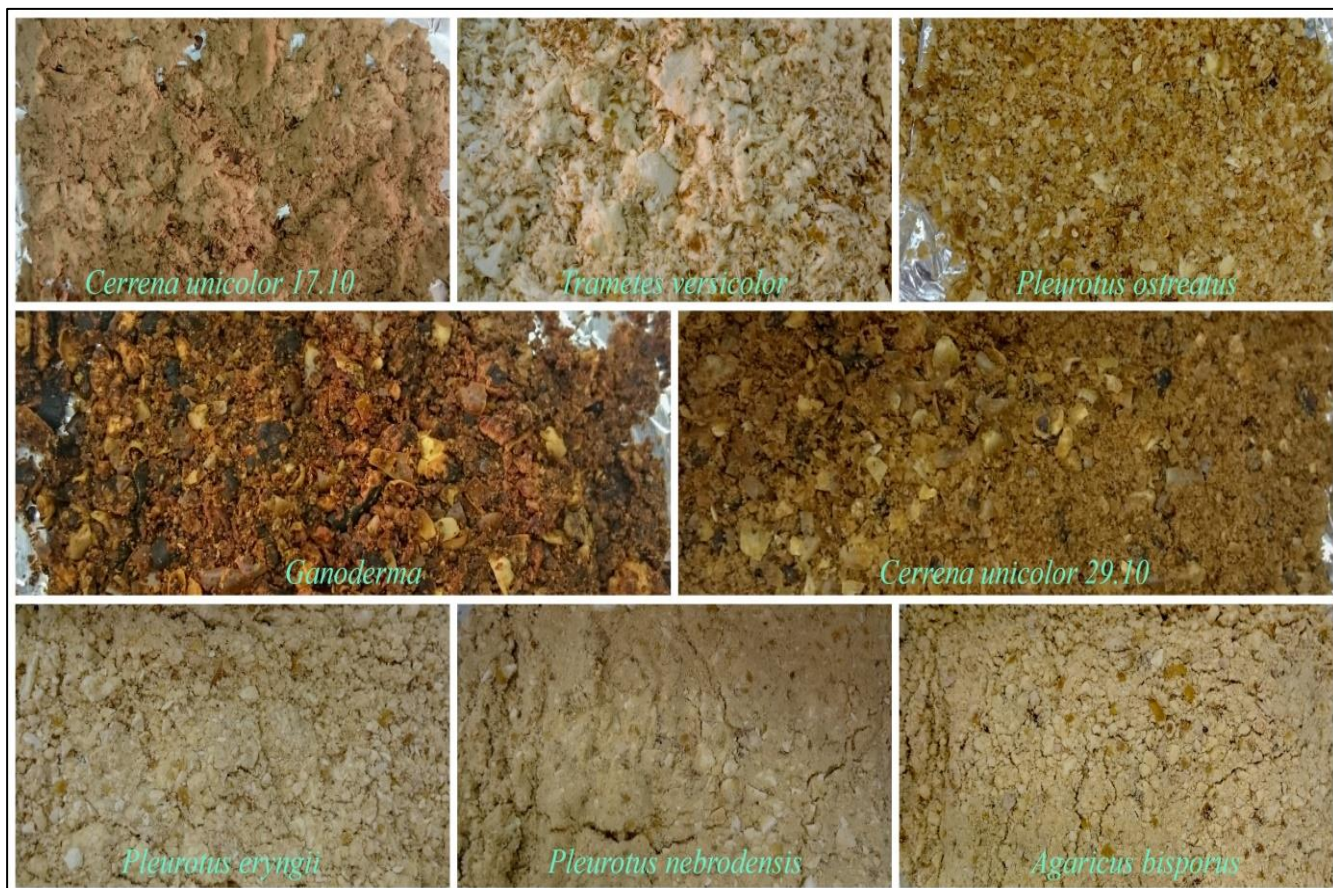
**Εικόνα 3-37: Αριστερά *C.unicolor* & δεξιά *T.versicolor* ύστερα από τεμαχισμό σε μίξερ.**

Μετά τη διαδικασία της λυοφιλοποίησης, επιβεβαιώνεται ότι ο μύκητας όχι μόνο έχει καλύψει όλο το porcorn αλλά το έχει αφομοιώσει και υπάρχει ελάχιστη ποσότητα στο εσωτερικό του (Εικόνα 3-38). Παράλληλα, εμφάνισε δύο διαφορετικές μορφές κατά τις διαδικασίες της αποξήρανσης και του τεμαχισμού. Η πρώτη του μορφή ήταν ελαστική και σκληρή, θυμίζοντας πλαστικό, και η δεύτερη προήλθε μετά τον τεμαχισμό δημιουργώντας μαλακές ίνες. Οι ίνες διατηρούσαν ως ένα βαθμό την ελαστικότητα της προηγούμενης μορφής αλλά πλέον θα μπορούσαν να παρομοιαστούν με ύφασμα.



**Εικόνα 3-38: Αποτέλεσμα freeze-drying του *T. versicolor***

Αφού όλες οι καλλιέργειες πέρασαν την κατάλληλη προεργασία και τεμαχίστηκαν επαρκώς, ήσαν έτοιμες για την επόμενη φάση της μέτρησης, εμφάνισαν τελική μορφή και υφή εντελώς διαφορετική μεταξύ τους (Εικόνα 3-39):



**Εικόνα 3-39: Τελική μορφή δειγμάτων ύστερα από λυοφιλοποίηση και τεμαχισμό.**

### **3.4 Ανάλυση περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και αναγωγικά σάκχαρα**

Η μέτρηση της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών και των αναγωγικών σακχάρων έγινε αρχικά στο porcorn, για τη χρήση του ως μάρτυρα, και στη συνέχεια στις καλλιέργειες όλων των στελεχών που αναπτύχθηκαν στο porcorn.

#### **3.4.1 Αποτελέσματα ανάλυσης πρωτεΐνης με την μέθοδο Bradford**

Κατά την ανάλυση του porcorn ο φασματογράφος ρυθμίστηκε στα 595nm και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα:

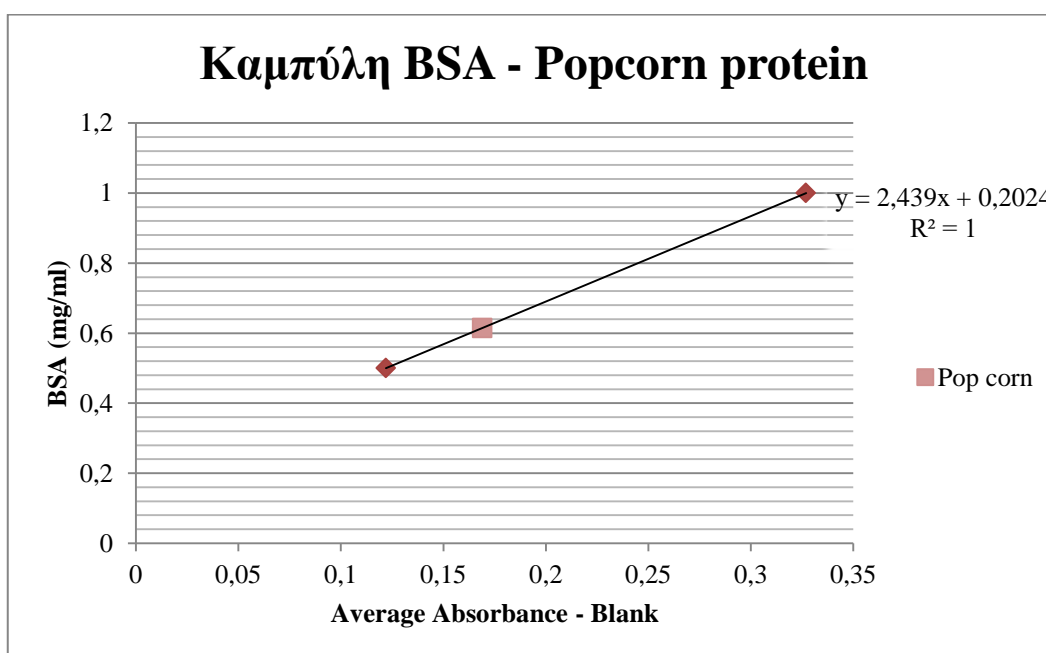


**Πίνακας 3-1**  
**Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης συγκεντρώσεων BSA και Popcorn**

	BSA 0.5 mg/ml NaOH	BSA 1 mg/ml NaOH	Popcorn
1	0,489	0,704	0,537
2	0,551	0,746	0,597
Average	0,52	0,725	0,567
Av-Blank*	<b>0,122</b>	<b>0,327</b>	<b>0,169</b>

\*Blank=0,398mg/ml

Η καμπύλη του BSA που σχηματίζεται με τα δεδομένα του Πίνακα 3-1 είναι η ακόλουθη:



**Διάγραμμα 3-1**  
**Καμπύλη BSA – Πρωτεΐνης Popcorn**

Μέσω της πρότυπης καμπύλης (Διάγραμμα 3-1), η συγκέντρωση πρωτεΐνης είναι 0.614mg και η υγρασία που μετρήθηκε για το popcorn είναι 4.6%, άρα το ξηρό popcorn είναι 9.54mg. Διαιρώντας τις δύο τιμές, βρίσκουμε ότι περιέχονται **0.0643mg** πρωτεΐνης ανά mg ξηρού popcorn (0.0643mg protein/mg dry popcorn ή dry weight basis/DW).

Με τον ίδιο τρόπο μετρήθηκε και η πρωτεΐνη στις καλλιέργειες popcorn με μύκητα μετά τη διαδικασία της λυοφιλοποίησης. Αυτή τη φορά χρησιμοποιήθηκαν περισσότερες συγκεντρώσεις του BSA για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς (Πίνακας 3-2).

**Πίνακας 3-2**  
**Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης νέων συγκεντρώσεων BSA**

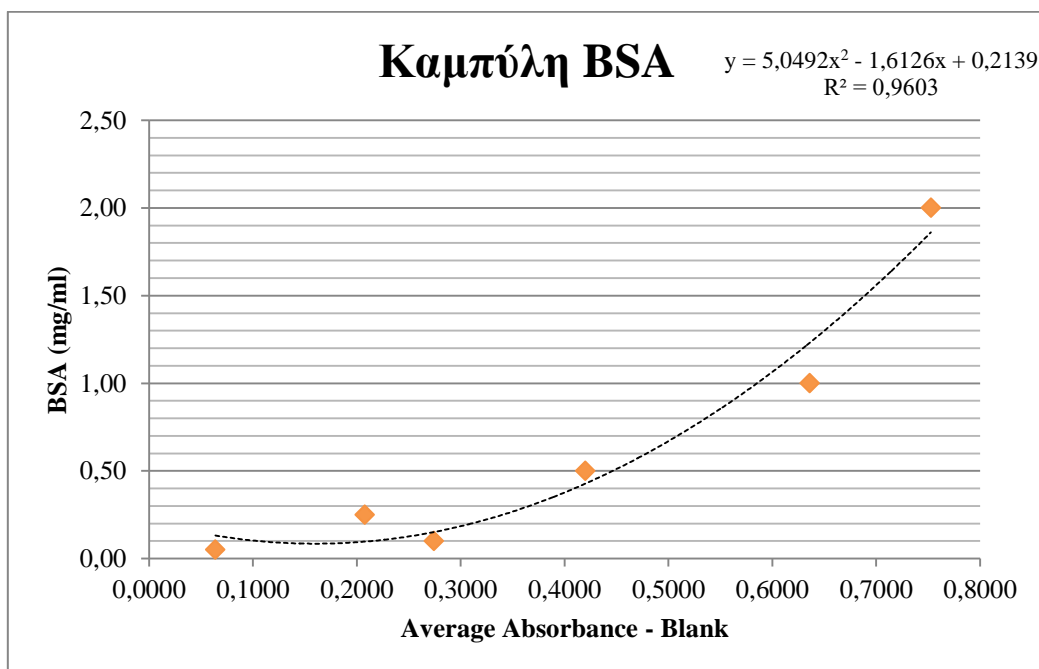
BSA (mg/ml)	0*	0,05	0,10***	0,25	0,50	1,00	2,00
1 <sup>st</sup> tube	0,3350	0,3960	0,6000	0,5630	0,7490	0,9670	1,0930
2 <sup>nd</sup> tube	0,3540	0,3980	0,6590	0,5610	0,7800	1,0490	1,0920
3 <sup>rd</sup> tube	-	0,4310	0,5970	0,5320	**	0,9260	1,1070
Average	0,3445	0,4083	0,6187	0,5520	0,7645	0,9807	1,0973
Absorbance - Blank	0,0000	0,0638	0,2742	0,2075	0,4200	0,6362	0,7528

\*To Blank: 200μl Bradford + 200μl απιονισμένο νερό

\*\*Δεν επαρκούσε η ποσότητα του BSA για να γίνουν τριπλές (τεχνικές) επαναλήψεις

\*\*\*Δημιουργήθηκε από τη συγκέντρωση 1mg/ml BSA + 10μl απιονισμένο νερό

Χρησιμοποιώντας τα παραπάνω δεδομένα, δημιουργείται η ακόλουθη καμπύλη:



**Διάγραμμα 3-2**  
**Καμπύλη BSA με τις νέες συγκεντρώσεις**

Ο συντελεστής προσδιορισμού της συνάρτησης  $y = 5.0492x^2 - 1.6126x + 0.2139$  είναι πολύ κοντά στο 1 ( $R^2=0.9603$ ), επομένως τη χρησιμοποιούμε για να εξάγουμε τα δεδομένα από την φασματοσκόπηση των δειγμάτων. Οι τιμές που βρέθηκαν είναι οι εξής:

**Πίνακας 3-3**  
**Αποτελέσματα φασματογραφίας πρωτεΐνης για όλα τα στελέχη**

Samples	Blank	A	B	C	D	E	F	G	H
1 <sup>st</sup> tube	0,3350	0,5680	0,4840	0,5460	0,5710	0,5170	0,5740	0,5840	0,7290
2 <sup>nd</sup> tube	0,3540	0,6090	0,4340	0,5480	0,5770	0,5090	0,5380	0,5460	0,6860
Average	0,3445	0,5885	0,4590	0,5470	0,5740	0,5130	0,5560	0,5650	0,7075
Absorbance-Blank	0,0000	0,2440	0,1145	0,2025	0,2295	0,1685	0,2115	0,2205	0,3630
Proteins (mg/ml)	0	0,121	0,0955	0,0944	0,1098	0,0855	0,0987	0,1038	0,2939
Humidity %	-	5.7%	7.5%	6.6%	17.3%	5.9%	7.2%	9%	5.7%
Protein (mg/mg)	-	0.1284	0.1032	0.1011	0.1327	0.0909	0.1063	0.1141	0.3116

Άρα, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη που βρέθηκε για το popcorn και κάθε καλλιέργεια είναι η εξής:

Popcorn: **0.0643mg** protein/mg DW

A: *P. ostreatus*: **0.1284mg** protein/mg DW

B: *P. eryngii*: **0.1032mg** protein/mg DW

C: *Ganoderma sp.*: **0.1011mg** protein/mg DW

D: *T. versicolor*: **0.1327mg** protein/mg DW

E: *A. bisporus*: **0.0909mg** protein/mg DW

F: *C. unicolor* (Εμβολιασμός 2): **0.1063mg** protein/mg DW

G: *C. unicolor* (Προκαταρκτική μελέτη): **0.1141mg** protein/mg DW

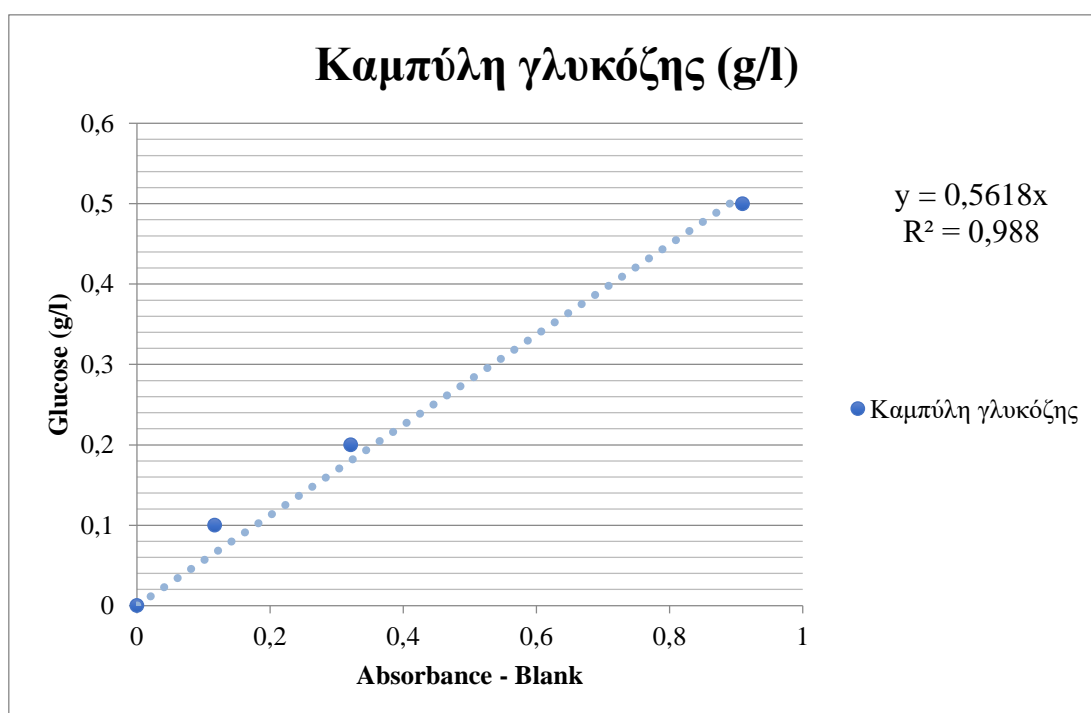
H: *P. nebrodensis*: **0.3116mg** protein/mg DW

### 3.4.2 Αποτελέσματα ανάλυσης υδατανθράκων με την μέθοδο DNS

Όπως με την μέθοδο Bradford, έτσι και με τη μέθοδο του DNS για να εξάγουμε τα αποτελέσματα του φασματογράφου, χρησιμοποιούμε καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης. Τα δεδομένα του Πίνακα 3-4 και η καμπύλη στο Διάγραμμα 3-3 είναι αυτά που χρησιμοποιούνται στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιολογίας, ΕΚΠΑ.

**Πίνακας 3-4**  
Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στη γλυκόζη

Glucose (g/l)	0 (Blank)	0,1	0,2	0,5
1st tube	0,167	0,281	0,49	1,082
2nd tube	0,161	0,281	0,481	1,066
Average	0,164	0,281	0,4855	1,074
Average - Blank	<b>0</b>	<b>0,117</b>	<b>0,3215</b>	<b>0,91</b>



**Διάγραμμα 3-3**  
Καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης

Μέσω της συνάρτησης  $y = 0.5618x$  και των δεδομένων που εξάγουμε από τον φασματογράφο για το popcorn, δημιουργείται ο παρακάτω πίνακας:

**Πίνακας 3-5**  
Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στο popcorn

Popcorn	0 (Blank)	1 <sup>st</sup> flask	2 <sup>nd</sup> flask
1 <sup>st</sup> tube	0,161	2,231	2,094
2 <sup>nd</sup> tube	0,167	2,457	2,352
Average	0,164	2,344	2,223
Av-Blank	0	2,18	2,059
Sugars (mg/ml)	-	1,2247	1,1567

Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι τα τελικά, αφού τα 50mg porcorn αραιώθηκαν συνολικά με 30ml μείγματος HCl και NaOH και δε λήφθηκε υπόψη η υγρασία που μετρήθηκε για τη μέθοδο Bradford. Με βάση τα παραπάνω λοιπόν, η ποσότητα του ξηρού porcorn είναι 47.7mg και άρα η διαλυτότητα του porcorn είναι 1.5933mg/ml. Διαιρώντας τους υδατάνθρακες (sugars mg/ml) με τη διαλυτότητα και βρίσκοντας το μέσο όρο των δύο τιμών, έχουμε ότι περιέχονται **0,7473mg sugars/mg DW**.

Την ίδια διαδικασία ακολουθούμε και για όλα τα στελέχη σε δύο δόσεις:

**Πίνακας 3-6**  
**Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων σε τέσσερα δείγματα**

Fungi-porcorn	0 (blank)	A**	B**	C**	D**
1 <sup>st</sup> tube	0,163	1,551	1,559	2,064	1,774
2 <sup>nd</sup> tube	0,164	1,558	1,609	2,052	1,785
Average	0,1635	1,5545	1,584	2,058	1,7795
Av-Blank	0	1,391	1,4205	1,8945	1,616
Sugars (g/l)	-	0,7815	0,798	1,0643	0,9079
Soluble (g/l)*	-	1,5567	1,5467	1,5167	1,3783
Reducing sugars (g/g dry mixture)	-	<b>0,502</b>	<b>0,516</b>	<b>0,7017</b>	<b>0,6587</b>

\*Βρίσκουμε τη διαλυτότητα με βάση την υγρασία του κάθε στελέχους και διαιρώντας το ξηρό μείγμα με τα 30ml μείγματος HCl και NaOH.

\*\*A: *Ganoderma sp.*, B: *C. unicolor* (Προκαταρκτική μελέτη), C: *C. unicolor* (Εμβολιασμός 2), D: *T. versicolor*

**Πίνακας 3-7**  
**Αποτελέσματα φασματογραφίας αναγωγικών σακχάρων στα υπόλοιπα τέσσερα**

Fungi-porcorn	0 (blank)*	E**	F**	G**	H**
1 <sup>st</sup> tube	0,2	3,598	3,541	3,732	3,239
2 <sup>nd</sup> tube	0,223	3,598	3,53	3,713	3,088
Average	0,2115	3,598	3,5355	3,7225	3,1635
Av-Blank	0	3,3865	3,324	3,511	2,952
Sugars (g/l)	-	1,9025	1,8674	1,9725	1,6584
Soluble (g/l)	-	1,5683	1,5717	1,5417	1,5717
Reducing sugars (g/g dry mixture)	-	<b>1,2131</b>	<b>1,1882</b>	<b>1,2794</b>	<b>1,0552</b>

\*διαφορετικό Blank

\*\*E: *A. bisporus*, F: *P. ostreatus*, G: *P. eryngii*, H: *P. nebrodensis*

Επομένως, η περιεκτικότητα σε σάκχαρα του porcorn και των καλλιεργειών είναι τα εξής:

Porcorn: **0,7473mg sugars/mg DW**

A: *Ganoderma sp.*: **0.502mg sugars/mg DW**

B: *C. unicolor* (Εμβολιασμός 2): **0.516mg sugars/mg DW**

C: *C. unicolor* (Προκαταρκτική μελέτη): **0.7017mg sugars/mg DW**

- D: *T. versicolor*: **0.6587mg** sugars/mg DW  
E: *A. bisporus*: **1.2131mg** sugars/mg DW  
F: *P. ostreatus*: **1.1882mg** sugars/mg DW  
G: *P. eryngii*: **1.2794mg** sugars/mg DW  
H: *P. nebrodensis*: **1.0552mg** sugars/mg DW

## 4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

---

Η καλλιέργεια μανιταριών είναι, αυτή τη στιγμή, από τις κυριότερες βιομηχανίες που συμβάλλουν αποτελεσματικά στην αξιοποίηση κυτταρινικών υπολειμμάτων. Το porcorn ως απόβλητο δεν έχει πολλούς τρόπους αξιοποίησης που να είναι ταυτόχρονα οικονομικά εφικτοί και παραγωγικά αποδοτικοί. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ανάπτυξη διαφορετικών στελεχών Βασιδιομυκήτων σε διαφορετικά υποστρώματα, τα οποία θα κατέληγαν στα απορρίμματα.

Ανάμεσα στα επτά είδη στελεχών που καλλιεργήθηκαν, ήταν ήδη γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι τα στελέχη *C. unicolor* και *T. versicolor* είναι τα ισχυρότερα και εκείνα που μπορούν να αναπτυχθούν σε πολλά διαφορετικά υποστρώματα. Αναφορικά με το υπόστρωμα του porcorn, καλύτερο αποδείχτηκε το *T. versicolor*, αφού από τις πρώτες 5 ημέρες καλλιέργειας το μυκήλιό του κατάφερε να καλύψει όλη την επιφάνεια και στη συνέχεια να το αφομοιώσει. Μεγάλη ανάπτυξη είχε επίσης το μυκήλιο του *C. unicolor* και στους δύο εμβολιασμούς, αφού άρχισε να αναπτύσσεται και στα τοιχώματα της φιάλης. Το συγκεκριμένο στέλεχος δεν αφομοίωσε το porcorn όπως το *T. versicolor*, αλλά άρχισε να εκκρίνει μία σκουρόχρωμη ουσία, απόρροια της μεταβολικής του δραστηριότητας. Σημαντική ανάπτυξη, μικρότερης όμως έντασης από τα δύο προηγούμενα, έδειξε και το μυκήλιο του *Ganoderma*, καθώς κι εκείνο στις πρώτες 10 ημέρες κάλυψε ολόκληρη την επιφάνεια υποστρώματος και άρχισε να εξαπλώνεται προς το εσωτερικό.

Όσον αφορά τα εδώδιμα είδη που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα, πιο δυνατό στέλεχος αποδείχτηκε το είδος *P. eryngii*, αφού ήταν το πρώτο εδώδιμο στέλεχος που ανέπτυξε βασιδιοκάρπια. Μάλιστα, από την 49<sup>η</sup> ημέρα και μετά, όπου εμφανίστηκαν τα πρώτα μανιτάρια, ο μύκητας δεν σταμάτησε να παράγει κι άλλα, ώσπου κάλυψαν ολόκληρη την κωνική φιάλη και κατανάλωσαν όλο το υπόστρωμα. Θετική και αξιοσημείωτη είναι και η παραγωγή μανιταριών από το μύκητα *P. nebrodensis*, καθώς είναι εξαιρετικά σπάνιο και δυσεύρετο.

Μικρότερη ανάπτυξη από τα δύο προαναφερθέντα στελέχη είχε το μυκήλιο του *P. ostreatus*, αφού παρουσίασε δυσκολία στο να μεταβολίσει τη λιπαρή ουσία. Για το λόγο αυτό, έως και την 18<sup>η</sup> ημέρα, το λάδι δεν είχε καταναλωθεί εντελώς. Παρ' όλα αυτά, αναπτύχθηκε γρήγορα σε όλη την επιφάνεια του porcorn, δίχως όμως να παραχθούν

βασιδιοκάρπια. Τέλος, πιο αδύναμο από όλα τα στελέχη θεωρήθηκε το *A. bisporus*, λόγω της πολύ αργής ανάπτυξης του μυκηλίου του έως και την 28<sup>η</sup> ημέρα παρατήρησης και της αδυναμίας του να μεταβολίσει τη λιπαρή ουσία, μέχρι και την 90<sup>η</sup> ημέρα. Και σε αυτό το στέλεχος παρατηρήθηκε έντονη αφομοίωση από το μυκήλιο στο εσωτερικό του υποστρώματος, με πολύ πιο αργό ρυθμό όμως από τα υπόλοιπα.

Επίσης, γνωρίζουμε ήδη ότι τα υπολείμματα του φυτού του αραβόσιτου είναι ένα συνηθισμένο υλικό για την καλλιέργεια μανιταριών (Jonathan *et al.*, 2012; Jwanny *et al.*, 1995; Obodai *et al.*, 2003; Shah *et al.*, 2004; Zervakis *et al.*, 2001), αλλά το επεξεργασμένο καλαμπόκι (porcorn) δεν έχει για την ώρα ξαναχρησιμοποιηθεί. Ωστόσο, υπάρχουν έρευνες που δείχνουν πως το καλαμπόκι δεν είναι το καταλληλότερο υπόστρωμα για τη μέγιστη παραγωγή μανιταριών (Ibekwe *et al.*, 2008; Sardar *et al.*, 2017). Παρ' όλα αυτά, στην παρούσα εργασία υπήρξε εμφάνιση βασιδιοκάρπιων, και μάλιστα από δύο στελέχη. Ειδικότερα, αυτή η εξέλιξη της μελέτης θα μπορούσε να λύσει μελλοντικά το πρόβλημα της σπανιότητας του *P. nebrodensis* και την εμπορευματοποίησή του, εάν καλλιεργηθεί σε άριστες γι' αυτό συνθήκες.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Sivrikaya & Peker, 1999) ο ξυλοπολτός αποτελεί υπόστρωμα όπου αναπτύσσονται καλά οι μύκητες. Για το λόγο αυτό τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν ανήκουν σχεδόν όλα στην κατηγορία των μυκήτων λευκής σήψης, με εξαίρεση το *A. bisporus*. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι σχεδόν όλα τα στελέχη δυσκολεύτηκαν να τον διασπάσουν, με εξαίρεση το *C. unicolor* και εν μέρει το *T. versicolor*. Το τελευταίο, ενώ δεν κατάφερε να αναπτυχθεί στην εξωτερική στρώση, στον ξυλοπολτό έδειξε σημάδια επέκτασης στο υλικό για τις πρώτες περίπου 40 μέρες.

Αντίθετα, το *C. unicolor* δοκιμάστηκε σε όλα τα υποστρώματα του πειράματος και κατάφερε να αναπτυχθεί πλήρως σε όλη την επιφάνειά τους. Ιδιαίτερο είναι το γεγονός ότι το συγκεκριμένο στέλεχος ήταν το μοναδικό που ανέπτυξε γρήγορα μυκήλιο στον ξυλοπολτό και στους δύο εμβολιασμούς, καλύπτοντάς τον με ένα παχύ λευκό στρώμα. Επίσης, κατάφερε να διασπάσει την εξωτερική στρώση και να μεγαλώσει, επιβεβαιώνοντας την ικανότητά του να αναπτύσσεται καλά πάνω σε οποιοδήποτε υπόστρωμα και να συνεισφέρει στην αποικοδόμησή του, κάτι που κανένα άλλο στέλεχος δεν μπόρεσε να κάνει.

Εντούτοις, είναι ευρέως γνωστό ότι υπάρχουν πολλοί λόγοι που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μυκήτων και την παραγωγή βασιδιοκάρπιων. Κάποιοι από αυτούς είναι η χώρα προέλευσης του κάθε μύκητα, οι περιβαλλοντικές συνθήκες (κλίμα, φως, θερμοκρασία,



υγρασία κλπ.), σε ποιο στάδιο της ανάπτυξής τους έγινε η ανάλυση, ο τρόπος που καλλιεργήθηκαν, το είδος, η ποιότητα και το pH του υποστρώματος στο οποίο καλλιεργήθηκαν και τέλος, το ποσοστό αζώτου που έλαβαν (Barros *et al.*, 2007; Hung & Nhi, 2012; Khan *et al.*, 2008; Kües & Liu, 2000; La Guardia *et al.*, 2005). Επιπλέον, μία ακόμη άποψη είναι πως η αποικοδόμηση των υποστρωμάτων μπορεί να επηρεάζεται από το ότι τα υλικά είναι συνήθως αποστειρωμένα και δεν υπάρχει κάποια μικροβιακή δραστηριότητα, όπως γίνεται στη φύση (Kertesz & Thai, 2018). Επομένως, η εξασφάλιση καλύτερων συνθηκών ανάπτυξης, όπως συνθήκες λιγότερης ξηρασίας, θα βοηθούσε καλύτερα την ανάπτυξη των καλλιεργειών του πειράματος σε όλα τα υποστρώματα.

Συνεχίζοντας με τα αποτελέσματα των αναλύσεων, παρακάτω παρατίθεται ο πίνακας με το ποσοστό των πρωτεϊνών, των σακχάρων και τις διαφορές με το αρχικό ποσοστό του popcorn, πριν την προσθήκη και ανάπτυξη των μυκήτων:

**Πίνακας 4-1**  
**Ποσοστά πρωτεϊνών/αναγωγικών σακχάρων στελεχών & διαφορές με το popcorn**

	Proteins (%**)	Διαφορές με πρωτεΐνη popcorn (%)	Reducing Sugars – RS (%)	Διαφορές με RS popcorn (%)
<b>Popcorn</b>	9,65	-	22,42	-
<i>A. bisporus</i>	13,64	3,99	36,39	13,97
<i>C. unicolor</i> (Προκαταρκτική μελέτη)*	11,41	1,77	14,03	<b>-8,39</b>
<i>C. unicolor</i>	15,95	6,30	15,48	<b>-6,94</b>
<i>G. applanatum</i>	15,17	5,52	15,06	<b>-7,36</b>
<i>P. eryngii</i>	15,48	5,84	38,38	15,96
<i>P. nebrodensis</i>	46,74	37,10	31,57	9,15
<i>P. ostreatus</i>	19,62	9,98	35,65	13,23
<i>T. versicolor</i>	19,91	10,26	19,76	<b>-2,66</b>

\*Αναλογία στα 8g popcorn

\*\*Αναλογία στα 15g popcorn

Παρατηρείται πως όλα τα στελέχη έχουν προκαλέσει αύξηση στις πρωτεΐνες του popcorn, με μεγαλύτερη διαφορά το *Pleurotus nebrodensis* (37,1%) και με μικρότερη το *Cerrena unicolor* από την Προκαταρκτική μελέτη (1,77%). Αντίθετα, όσον αφορά τα αναγωγικά σάκχαρα, τα μανιτάρια που δεν είναι εδώδιμα προκάλεσαν μειώσεις στα σάκχαρα του popcorn, σε σχέση με τα βρώσιμα. Σε αυτή την ανάλυση, τη μεγαλύτερη αύξηση προκάλεσε το *Pleurotus eryngii* (15,96%) και τη μεγαλύτερη μείωση το *Cerrena unicolor* (-8,39%).

Συνεπώς, βλέπουμε πως όλοι οι μύκητες, ανεξάρτητα από το ποσοστό της ανάπτυξής τους, εμπλούτισαν το porcini με περισσότερη πρωτεΐνη, ενώ μόνο τα στελέχη των εδώδιμων ειδών προκάλεσαν αύξηση των σακχάρων.

Χάρη στα θετικά αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης, το porcini μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη μυκήτων, και εν προκειμένω για την παραγωγή μυκηλίου και μανιταριών. Επειδή όλα τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν είναι είτε φαρμακευτικά είτε εδώδιμα, δεν θεωρούνται τοξικά, και άρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν αναλόγως.

Μία ευρέως διαδεδομένη ιδέα είναι η δημιουργία σακούλας που περιέχει εμβολιασμένο υπόστρωμα με εδώδιμους μύκητες και πωλείται σε ιδιώτες για ατομικές καλλιέργειες (Buah et al., 2010; S. T. Chang et al., 1981; Mandeel et al., 2005; Olah, 1987). Η ιδέα αυτή έχει υλοποιηθεί και από Έλληνες παραγωγούς, όπως την εταιρεία «Μανιτάρια Δίρφους» (*Mushrooms Dirfis*, 2020). Στην περίπτωση αυτής της εργασίας, θα μπορούσε να προταθεί η αξιοποίηση αποξηραμένου και κατεργασμένου porcini ως υπόστρωμα για την οικιακή παραγωγή μανιταριών. Παρ' όλα αυτά, οι ποσότητες του porcini που απορρίπτονται δεν είναι γνωστές, κάτι που ισχύει και για τις τιμές των πρώτων υλών, επομένως, δεν είναι δυνατή μία οικονομική μελέτη για να εξετάσει αν η αξιοποίηση αυτή είναι σταθερή και οικονομικά συμφέρουσα.

Παρ' όλα αυτά, το μεγαλύτερο απόβλητο της επιχείρησης δεν είναι τόσο το porcini όσο συνολικά το κουτί με το porcini που απορρίπτεται από τους θεατές του κινηματογράφου. Τη λύση για το συγκεκριμένο πρόβλημα δίνει το *C. unicolor*, αφού κατάφερε να αναπτυχθεί σε όλα τα υποστρώματα.

Δύο ακόμη πιθανές χρήσεις της βιομάζας επεξεργασμένης με μύκητες είναι είτε ως ζωοτροφή, ώστε να περιέχει επιπλέον πρωτεΐνη, είτε για την παραγωγή εμπορικά σημαντικών μυκητιακών πολυσακχαριτών. Οι Israilides & Philippoussis (2003) έχουν προτείνει μάλιστα την παραγωγή πολυσακχαριτών, καθώς η εφαρμογή της στα απόβλητα από τη βιομηχανία γεωργικών τροφίμων μπορεί να τα μειώσει κατά 30-50% και η διαθέσιμη προμήθεια να αυξηθεί έως και 15%, χωρίς να απαιτείται εύρεση γης για την παραγωγή.

Μία επιπλέον εφαρμογή του μυκηλίου είναι δομικά υλικά, όπως αυτά που δημιουργήθηκαν για την κατασκευή του MycoTree το 2017 (Εικόνα 4-1) (Heisel et al., 2017). Συγκεκριμένα, είναι μία δομή που αποτελείται από οργανικά δομικά στοιχεία

κατασκευασμένα από γεωργικά απόβλητα, τα οποία σταθεροποιούνται μόνο από την αναπτυσσόμενη μήτρα μυκηλίου μανιταριών.



**Εικόνα 4-1: Κατασκευή από μπλοκ μυκηλίου (Mycotree)**

Πηγή: (Heisel *et al.*, 2017)

Με τον ίδιο τρόπο, λόγω της μεγάλης ανάπτυξης των στελεχών *C.unicolor* και *T. versicolor*, το υπόστρωμα της εργασίας είναι ιδανικό για την κατασκευή αντίστοιχων δομικών υλικών, αλλά και υλικών συσκευασίας, διακόσμησης ακόμα και ηχομονωτικών. Συνάμα, λόγω της ελαστικής υφής που πήρε το *T. versicolor* μετά από τη λυοφιλοποίηση, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως επένδυση σε έπιπλα, ρούχα και πιθανά και σε άλλες εφαρμογές.

Ως απόδειξη όλων των παραπάνω, το μυκήλιο που αναπτύχθηκε στο porcopia αξιοποιήθηκε για τη δημιουργία διακοσμητικών σουβέρ ή press papier, επεξεργασμένα με υγρό γυαλί (Εικόνα 4-2). Αυτή η εφαρμογή μπορεί να είναι η αρχή και για άλλες δημιουργίες, διαφορετικών σχημάτων και χρήσεων, αναλόγως το υπόστρωμα, το καλούπι και το υλικό θωράκισης.



**Εικόνα 4-2: Εφαρμογή σουβέρ**

Ανακεφαλαιώνοντας, η καλλιέργεια μανιταριών σε λιγνινοκυτταρινούχα υπολείμματα έχει μεγάλες δυνατότητες για την ανακύκλωση γεωργικών και άλλων αποβλήτων και για την παραγωγή τροφών πλούσιων σε πρωτεΐνες. Στο πλαίσιο της εργασίας αυτής αποδείχτηκε η δυνατότητα αξιοποίησης υπολειμμάτων κυρίως *porcopi* αλλά και εν μέρει της συσκευασίας του, με τη χρήση μυκήτων. Τέλος, επιτεύχθηκε η έννοια του *up-cycling* στα συγκεκριμένα απόβλητα-υπολείμματα και, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε μεγαλύτερη και εμπορικότερη κλίμακα.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

---

<i>Εικόνα 1-1: Θεωρία Whittaker για τα Πέντε Βασίλεια</i>	<i>Πηγή: (Whittaker, 1969)</i>	12
<i>Εικόνα 1-2: Φυλογένεση Μυκήτων</i>	<i>Πηγή: (K. J. (ed. . Willis, 2018)</i>	13
<i>Εικόνα 1-3: Φύλα Μυκήτων</i>	<i>Πηγή: (Γκόνου - Ζάγκου, 2020)</i>	14
<i>Εικόνα 1-4: Σταγόνα του Buller</i>	<i>Πηγή: (Hassett et al., 2015)</i>	17
<i>Εικόνα 1-5: Μανιτάρια Lentinula edodes (Shiitake)</i>	<i>Πηγή: (Agriamanitaria, 2019)</i>	17
<i>Εικόνα 1-6: Η ανατομία του μανιταριού</i>	<i>Πηγή: (Mushroom Anatomy, 2020)</i>	18
<i>Εικόνα 1-7: Ο κύκλος ζωής του μανιταριού Agaricus bisporus</i>	<i>Πηγή: (Shwet et al., 2019)</i>	19
<i>Εικόνα 1-8: Cerrena versicolor</i>	<i>Πηγή: (Wood Decay Fungi of Living Trees, 2020)</i>	20
<i>Εικόνα 1-9: Trametes versicolor</i>	<i>Πηγή: (Science Direct)</i>	22
<i>Εικόνα 1-10: Pleurotus eryngii</i>	<i>Πηγή: (JMP Mushroom)</i>	24
<i>Εικόνα 1-11: Pleurotus nebrodensis</i>	<i>Πηγή: (Gargano et al., 2011)</i>	26
<i>Εικόνα 1-12: Pleurotus ostreatus</i>	<i>Πηγή: (Mushrooms Dirfis, 2020)</i>	28
<i>Εικόνα 1-13: Ganoderma sp.</i>	<i>Πηγή: (Bhosle et al., 2010)</i>	31
<i>Εικόνα 1-14: Καλλιέργεια Agaricus bisporus</i>	<i>Πηγή: (Διαμαντοπούλου &amp; Φιλιπούσης, 2016)</i>	33
<i>Εικόνα 1-15: Εταιρείες που χρησιμοποιούν μύκητες</i>	<i>Πηγή: (NewProtein, 2020)</i>	39
<i>Εικόνα 1-16: Διαδικασία δημιουργίας υλικών (θηκών) συσκευασίας.</i>	<i>Πηγή: (Ecovative Design, 2020)</i>	39
<i>Εικόνα 1-17: Δέρμα από μυκήλιο.</i>	<i>Πηγή: (Bolt Threads)</i>	40
<i>Εικόνα 1-18: Πάτωμα από πάνελ μυκηλίου</i>	<i>Πηγή: (MOGU S.r.L, 2020)</i>	41
<i>Εικόνα 1-19: Τραπέζι από μυκήλιο</i>	<i>Πηγή: (FungalFutures, n.d.)</i>	41
<i>Εικόνα 1-20: «Παγκάκι» από μυκήλιο του Ganoderma lucidum και βακτηριακή κυτταρίνη</i>	<i>Πηγή: (Terraform)</i>	42
<i>Εικόνα 1-21: Δαχτυλίδι από μυκήλιο</i>	<i>Πηγή: (Officina Corpuscoli, 2010)</i>	42
<i>Εικόνα 1-22: Απεικόνιση κυτταρίνης σε α) kraft πολτό, β) πολτό με θείο και γ) ημικυτταρίνη</i>	<i>Πηγή: (Hult et al., 2003)</i>	45
<b><i>Εικόνα 1-23: Διαδικασία εκτύπωσης offset.</i></b>	<b><i>Πηγή: (Ordant, 2019)</i></b>	46
<i>Εικόνα 2-1: Συστατικά πρώτων υλών. (a) Καλαμπόκι, (b) Λιπαρή ουσία, (c) Ενισχυτικό γεύσης</i>		53

Εικόνα 2-2: (a) Εξωτερικό συσκευασίας porcorn, (b) – (c): Porcorn με νερό, (d): Ολόκληρη συσκευασία porcorn, (e): Εσωτερικό συσκευασίας porcorn.	53
Εικόνα 2-3: Αριστερά: Καλλιέργεια <i>Cerrena unicolor</i> του προκαταρκτικού πειράματος ύστερα από 5 μέρες καλλιέργειας. Δεξιά: Μάρτυρας.	54
Εικόνα 2-6: Ανοφιλοποιητής Τμήματος Φαρμακευτικής (ΕΚΠΑ)	55
Εικόνα 2-4: Καλλιέργεια <i>Ganoderma</i> sp.	57
Εικόνα 2-5: Καλλιέργειες <i>T. versicolor</i> μέσα σε υγρό γυαλί	58
Εικόνα 3-1: Καλλιέργεια <i>C.unicolor</i> σε porcorn για 90 ημέρες	59
Εικόνα 3-2: Από αριστερά στα δεξιά: Ανάπτυξη <i>C. unicolor</i> 3 <sup>η</sup> , 46 <sup>η</sup> , 60 <sup>η</sup> και 90 <sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας	60
Εικόνα 3-3: Ανάπτυξη <i>C.unicolor</i> σε ξυλοπολτό για 90 ημέρες	60
Εικόνα 3-4: Ανάπτυξη <i>C.unicolor</i> σε εξωτερική στρώση	61
Εικόνα 3-5: Ανάπτυξη <i>C.unicolor</i> σε ολόκληρη συσκευασία	61
Εικόνα 3-6: Ανάπτυξη <i>C.unicolor</i> σε porcorn	62
Εικόνα 3-7: Πλαϊνή όψη της καλλιέργειας <i>C. unicolor</i> σε porcorn	62
Εικόνα 3-8: Ανάπτυξη <i>C.versicolor</i> σε ξυλοπολτό	63
Εικόνα 3-9: Ανάπτυξη <i>C.unicolor</i> σε εξωτερική στρώση	63
Εικόνα 3-10: Ανάπτυξη <i>T.versicolor</i> σε porcorn	64
Εικόνα 3-11: Από αριστερά στα δεξιά: 10 <sup>η</sup> , 18 <sup>η</sup> , 18 <sup>η</sup> (κάτω όψη), 56 <sup>η</sup> & 86 <sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας <i>T. versicolor</i>	64
Εικόνα 3-12: Ανάπτυξη <i>T.versicolor</i> σε ξυλοπολτό	65
Εικόνα 3-13: Ανάπτυξη <i>T.versicolor</i> σε εξωτερική επίστρωση	65
Εικόνα 3-14: Ανάπτυξη <i>P.eryngii</i> σε porcorn	66
Εικόνα 3-15: Πλαϊνή όψη καλλιέργειας <i>P. eryngii</i> σε porcorn	67
Εικόνα 3-16: Ανάπτυξη <i>P.eryngii</i> σε ξυλοπολτό	67
Εικόνα 3-17: Ανάπτυξη <i>P.eryngii</i> σε εξωτερική στρώση	68
Εικόνα 3-18: Ανάπτυξη <i>P.nebrodensis</i> σε porcorn	69
Εικόνα 3-19: Αριστερά: 29 <sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας Δεξιά: 79 <sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας.	69
Εικόνα 3-20: Ανάπτυξη <i>P.nebrodensis</i> σε ξυλοπολτό	70
Εικόνα 3-21: Ανάπτυξη <i>P.nebrodensis</i> σε εξωτερική στρώση	70
Εικόνα 3-22: Ανάπτυξη <i>P.ostreatus</i> σε porcorn	71
Εικόνα 3-23: Ανάπτυξη <i>P.ostreatus</i> σε ξυλοπολτό	72

Εικόνα 3-24: Ανάπτυξη <i>P.ostreatus</i> σε εξωτερική στρώση	72
Εικόνα 3-25: Ανάπτυξη <i>Ganoderma</i> sp. σε porcorn	73
Εικόνα 3-26: Πλαϊνή όψη καλλιέργειας <i>Ganoderma</i> sp. σε porcorn	73
Εικόνα 3-27: Ανάπτυξη <i>Ganoderma</i> sp. σε ξυλοπολτό	74
Εικόνα 3-28: Ανάπτυξη <i>Ganoderma</i> sp. σε εξωτερική επίστρωση	74
Εικόνα 3-29: Ανάπτυξη <i>A.bisporus</i> σε porcorn	75
Εικόνα 3-30: Αριστερά: 3 <sup>η</sup> μέρα καλλιέργειας <i>A. bisporus</i> Δεξιά: 79 <sup>η</sup> μέρα.	75
Εικόνα 3-31: Ανάπτυξη <i>A.bisporus</i> σε ξυλοπολτό	76
Εικόνα 3-32: Ανάπτυξη <i>A.bisporus</i> σε εξωτερική στρώση	76
Εικόνα 3-33: Τα τρία διακοσμητικά σουβέρ/ press papier Από αριστερά: <i>T. versicolor</i> (porcorn), <i>Ganoderma</i> sp., <i>T. versicolor</i> (porcorn)	77
Εικόνα 3-34: Καλλιέργεια N <sup>ο</sup> 1 <i>T. versicolor</i> μέσα σε υγρό γυαλί Από αριστερά: Κάτω όψη, πάνω όψη, πλάγια όψη	77
Εικόνα 3-35: Καλλιέργεια N <sup>ο</sup> 2 <i>T. versicolor</i> μέσα σε υγρό γυαλί Από αριστερά: Κάτω όψη, πάνω όψη, πλάγια όψη	78
Εικόνα 3-36: Αποτέλεσμα λυοφιλοποίησης του μύκητα <i>T. versicolor</i> .	78
Εικόνα 3-37: Αριστερά <i>C.unicolor</i> & δεξιά <i>T.versicolor</i> ύστερα από τεμαχισμό σε μίξερ.	79
Εικόνα 3-38: Αποτέλεσμα freeze-drying του <i>T. versicolor</i>	79
Εικόνα 3-39: Τελική μορφή δειγμάτων ύστερα από λυοφιλοποίηση και τεμαχισμό.	80
Εικόνα 4-1: Κατασκευή από μπλοκ μυκηλίου ( <i>Mycotree</i> ) Πηγή: (Heisel et al., 2017)	91
Εικόνα 4-2: Εφαρμογή σουβέρ	92

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

### Ξένη

- Agarwal, S., Kushwaha, A., Verma, V., & Singh, M. P. (2017). Nutritional attributes of pleurotus mushroom. In M. P. Singh & V. Verma (Eds.), *Incredible World of Biotechnology* (Issue January, pp. 13–24). Nova Science Publishers, Inc. <https://www.researchgate.net/publication/324965562>
- Agriamanitaria. (2019). *Lentinula edodes* (Λεντινούλα-Σιτάκε): Θεραπευτικές ιδιότητες. <https://www.agriamanitaria.gr/>
- Ahlborn, J., Stephan, A., Meckel, T., Maheshwari, G., Rühl, M., & Zorn, H. (2019). Upcycling of food industry side streams by basidiomycetes for production of a vegan protein source. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(S1), 447–455. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-00317-4>
- Ahmed, S. A., Kadam, J. A., Mane, V. P., Patil, S. S., & Baig, M. M. V. (2009). Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer Cultivated on Different Agro-wastes. *Nature and Science*, 7(1), 44–48. <https://www.researchgate.net/publication/267238203>
- Akpanunam, M. A., & Darbe, J. W. (1994). Chemical composition and functional properties of blends of maize and bambara groundnut flours for cookie production. In *Plant Foods for Human Nutrition* (Vol. 46, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/BF01088767>
- Akyüz, M., & Yildiz, A. (2007). Cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex FR.) Quel. on agricultural wastes. In *Philippine Agricultural Scientist* (Vol. 90, Issue 4). <https://www.researchgate.net/publication/276882094>
- Alam, N., Shim, M. J., Lee, M. W., Shin, P. G., Yoo, Y. B., & Lee, T. S. (2009). Phylogenetic Relationship in Different Commercial Strains of *Pleurotus nebrodensis* Based on ITS Sequence and RAPD. *Mycobiology*, 37(3), 183. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.3.183>
- Alananbeh, K. M., Bouqellah, N. A., & Al Kaff, N. S. (2014). Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(6), 616–625. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.001>
- Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Zollitsch, W., Mayer, K., & Gruber, L. (2007).



- Biogas production from maize and dairy cattle manure—Influence of biomass composition on the methane yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 118(1–4), 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.007>
- Amuneke, E. H., Dike, K. S., & Ogbulie, J. N. (2011). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* : An edible mushroom from agro base waste products. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(3), 1–14. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Arun, A., Raja, P. P., Arthi, R., Ananthi, M., Kumar, K. S., & Eyini, M. (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Biodegradation by Basidiomycetes Fungi, *Pseudomonas* Isolate, and Their Cocultures: Comparative In Vivo and In Silico Approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151(2–3), 132–142. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8160-0>
- Aydemir, C., Yenidoğan, S., Karademir, A., & Arman, E. (2017). Effects of color mixing components on offset ink and printing process. *Materials and Manufacturing Processes*, 32(11), 1310–1315. <https://doi.org/10.1080/10426914.2017.1279323>
- Ayodele, S. M., & Okhuoya, J. A. (2007). Cultivation Studies on *Psathyrella atroumbonata* Pegler. A Nigerian Edible Mushroom on Different Agro Industrial Wastes. *International Journal of Botany*, 3(4), 394–397.
- Baby, S., Johnson, A. J., & Govindan, B. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*, 114, 66–101. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.03.010>
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Casal, S., Oliveira, B., & Ferreira, I. C. F. R. (2007). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*, 105(1), 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.052>
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742–2747. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>
- Bezalel, L., Hadar, Y., & Cerniglia, C. E. (1997). Enzymatic Mechanisms Involved in Phenanthrene Degradation by the White Rot Fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2495–2501. <https://doi.org/10.1128/AEM.63.7.2495-2501.1997>
- Bhosle, S., Ranadive, K., Bapat, G., Garad, S., Deshpande, G., & Vaidya, J. (2010). Taxonomy and diversity of *Ganoderma* from the western parts of Maharashtra (India).

- Mycosphere*, 1(3), 249–262.
- Bisaria, R., & Madan, M. (1983). Mushrooms: Potential protein source from cellulosic residues. *Enzyme and Microbial Technology*, 5(4), 251–259. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(83\)90073-X](https://doi.org/10.1016/0141-0229(83)90073-X)
- Blanchette, R. A., Obst, J. R., Hedges, J. I., & Weliky, K. (1988). Resistance of hardwood vessels to degradation by white rot Basidiomycetes. In *Canadian Journal of Botany* (Vol. 66, Issue 9). <https://doi.org/10.1139/b88-251>
- Blánquez, P., Casas, N., Font, X., Gabarrell, X., Sarrà, M., Caminal, G., & Vicent, T. (2004). Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*. *Water Research*, 38(8), 2166–2172. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.01.019>
- Board, A. S. (2020). *Agaricus mushroom's sales and production*.
- Bonjoch, N. P., & Tamayo, P. R. (2006). Protein Content Quantification by Bradford Method. In *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques* (pp. 283–295). Kluwer Academic Publishers. [https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3\\_19](https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3_19)
- Boss, E. A., Filho, R. M., & de Toledo, E. C. V. (2004). Freeze drying process: real time model and optimization. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 43(12), 1475–1485. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2004.01.005>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Buah, J. N., Van der Puije, G. C., Bediako, E. A., Abole, E. A., & Showemimo, F. (2010). The Growth and Yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Substrates. *Biotechnology*, 9, 338–342.
- Carbonero, E. R., Gracher, A. H. P., Smiderle, F. R., Rosado, F. R., Sasaki, G. L., Gorin, P. A. J., & Iacomini, M. (2006). A  $\beta$ -glucan from the fruit bodies of edible mushrooms *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Carbohydrate Polymers*, 66(2), 252–257. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.03.009>
- Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>
- Cavalier-Smith, T. (1981). Eukaryote kingdoms: Seven or nine? *BioSystems*, 14(3–4), 461–

481. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(81\)90050-2](https://doi.org/10.1016/0303-2647(81)90050-2)
- Cha, Y. J., Alam, N., Lee, J. S., Lee, K. R., Shim, M. J., Lee, M. W., Kim, H. Y., Shin, P. G., Cheong, J. C., Yoo, Y. B., & Lee, T. S. (2012). Anticancer and Immunopotentiating Activities of Crude Polysaccharides from *Pleurotus nebrodensis* on Mouse Sarcoma 180. *Mycobiology*, *40*(4), 236–243. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2012.40.4.236>
- Chang, S. T. (1980). Mushrooms As Human Food. *BioScience*, *30*(6), 399–401. <https://doi.org/10.2307/1308002>
- Chang, S. T., Lau, O. W., & Cho, K. Y. (1981). The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. In *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/BF00508120>
- Chang, Y.-G., Nam, S.-H., Kim, N.-K., Kook, Y.-H., Kim, J., Yoo, S.-S., Kim, C.-D., Kang, I.-B., & Chung, I.-J. (2009). A study of roll-printing technology for TFT-LCD fabrication. *Journal of the Society for Information Display*, *17*(4), 301. <https://doi.org/10.1889/jsid17.4.301>
- Cheek, M., Nic Lughadha, E., Kirk, P., Lindon, H., Carretero, J., Looney, B., Douglas, B., Haelewaters, D., Gaya, E., Llewellyn, T., Ainsworth, A. M., Gafforov, Y., Hyde, K., Crous, P., Hughes, M., Walker, B. E., Campostrini Forzza, R., Wong, K. M., & Niskanen, T. (2020). New scientific discoveries: Plants and fungi. *PLANTS, PEOPLE, PLANET*, *2*(5), 371–388. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10148>
- Chen, S., Oh, S.-R., Phung, S., Hur, G., Ye, J. J., Kwok, S. L., Shrode, G. E., Belury, M., Adams, L. S., & Williams, D. (2006). Anti-Aromatase Activity of Phytochemicals in White Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Cancer Research*, *66*(24), 12026–12034. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2206>
- Cohen, R., Persky, L., & Hadar, Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *58*(5), 582–594. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0930-y>
- Collins, P. J., & Dobson, A. (1997). Regulation of Laccase Gene Transcription in *Trametes versicolor*. *Applied and Environmental Microbiology*, *63*(9), 3444–3450. <https://doi.org/10.1128/AEM.63.9.3444-3450.1997>
- Cowieson, A. J. (2005). Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Animal Feed Science and Technology*, *119*(3–4), 293–305. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.12.017>

- Crowell, E. P., & Burnett, B. B. (1967). Determination of the Carbohydrate Composition of Wood Pulps by Gas Chromatography of the Alditol Acetates. *Analytical Chemistry*, 39(1), 121–124.
- Das, S. K., Masuda, M., Sakurai, A., & Sakakibara, M. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: Current state and prospects. *Fitoterapia*, 81(8), 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.07.010>
- de Jong, E., & Field, J. A. (1997). SULFUR TUFT AND TURKEY TAIL: Biosynthesis and Biodegradation of Organohalogens by Basidiomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 51(1), 375–414. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.51.1.375>
- Dodor, D. E., Hwang, H.-M., & Ekunwe, S. I. N. (2004). Oxidation of anthracene and benzo[a]pyrene by immobilized laccase from *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2–3), 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.04.007>
- Dorado, J., Almendros, G., Camarero, S., Martínez, A. T., Vares, T., & Hatakka, A. (1999). Transformation of wheat straw in the course of solid-state fermentation by four ligninolytic basidiomycetes. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(7), 605–612. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00088-5)
- Dundar, A., Acay, H., & Yildiz, A. (2009). Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. on mushroom yield, chemical composition and nutritional value. *African Journal of Biotechnology*, 8(4), 662–666. <https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9112>
- Eriksson, K. L. (1998). *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry: An Overview* (pp. 2–14). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-1998-0687.ch001>
- Fard, S. H., Toghyani, M., & Tabeidian, S. A. (2014). Effect of oyster mushroom wastes on performance, immune responses and intestinal morphology of broiler chickens. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 3(4), 141–146. <https://doi.org/10.1007/s40093-014-0076-9>
- Filazzola, M. T., Sannino, F., Rao, M. A., & Gianfreda, L. (1999). Effect of Various Pollutants and Soil-Like Constituents on Laccase from *Cerrena unicolor*. *Journal of Environmental Quality*, 28(6), 1929–1938. <https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800060032x>
- Freitas, A. C., Ferreira, F., Costa, A. M., Pereira, R., Antunes, S. C., Gonçalves, F., Rocha-

- Santos, T. A. P., Diniz, M. S., Castro, L., Peres, I., & Duarte, A. C. (2009). Biological treatment of the effluent from a bleached kraft pulp mill using basidiomycete and zygomycete fungi. *Science of The Total Environment*, 407(10), 3282–3289. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.054>
- Fy, C. (2020). *State of the World's Plants and Fungi 2020*.
- Gadd, G., Evans, C. S., Hedger, J. N., Harvey, P. J., Thurston, C. F., Reddy, C. A., Mathew, Z., Singleton, I., Bennett, J. W., Connick, W. J., Daigle, D., Wunch, K., Buswell, J. A., Cerniglia, C. E., Sutherland, J. B., Maloney, S. E., Newcombe, D. A., Crawford, R. L., Knapp, J. S., ... Cabello, M. N. (2001). *Fungi in Bioremediation* (G. Gadd (ed.)). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Gargano, M. L., Saitta, A., Zervakis, G. I., & Venturella, G. (2011). Building the jigsaw puzzle of the critically endangered *Pleurotus nebrodensis*: historical collection sites and an emended description. *Mycotaxon*, 115(1), 107–114. <https://doi.org/10.5248/115.107>
- Giannenas, I., Pappas, I. S., Mavridis, S., Kontopidis, G., Skoufos, J., & Kyriazakis, I. (2010). Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushrooms (*Agaricus bisporus*) in their diet. *Poultry Science*, 89(2), 303–311. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00207>
- Golak-Siwulska, I., Kałużewicz, A., Wdowienko, S., Dawidowicz, L., & Sobieralski, K. (2018). Nutritional value and health-promoting properties of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *Herba Polonica*, 64(4), 71–81. <https://doi.org/10.2478/hepo-2018-0027>
- Gold, M. H., Wariishi, H., & Valli, K. (1989). Extracellular Peroxidases Involved in Lignin Degradation by the White Rot Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. In *Biocatalysis in Agricultural Biotechnology* (Issue 389, pp. 127–140). ACS Symposium Series. <https://doi.org/10.1021/bk-1989-0389.ch009>
- Grandjean, A. C., Fulgoni, V. L., Reimers, K. J., & Agarwal, S. (2008). Popcorn Consumption and Dietary and Physiological Parameters of US Children and Adults: Analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2002 Dietary Survey Data. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(5), 853–856. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2008.02.018>
- Gusakov, A. V., Kondratyeva, E. G., & Sinitsyn, A. P. (2011). Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities.

- International Journal of Analytical Chemistry*, 2011, 1–4.  
<https://doi.org/10.1155/2011/283658>
- Hadar, Y., Kerem, Z., & Gorodecki, B. (1993). Biodegradation of lignocellulosic agricultural wastes by *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Biotechnology*, 30(1), 133–139.  
[https://doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90034-K](https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90034-K)
- Hammond, J. B. W., & Kruger, N. J. (n.d.). *The Bradford Method for Protein Quantitation* (pp. 25–32).
- Han, M.-J., Choi, H.-T., & Song, H.-G. (2004). Degradation of phenanthrene by *Trametes versicolor* and its laccase. *Journal of Microbiology (Seoul, Korea)*, 42(2), 94–98.  
<https://www.researchgate.net/publication/8357343>
- Hanway, J. (1966). How a corn plant develops. In *Iowa Agricultural and Home Economics Experiment Station Publications* (Vol. 48). <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/38>
- Hassett, M. O., Fischer, M. W. F., & Money, N. P. (2015). Mushrooms as rainmakers: How spores act as nuclei for raindrops. *PLoS ONE*, 10(10), 1–10.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140407>
- Heisel, F., Schlesier, K., Lee, J., Rippmann, M., Saeidi, N., Javadian, A., Nugroho, A. R., Hebel, D., & Block, P. (2017). Design of a load-bearing mycelium structure through informed structural engineering. *Seoul Biennale of Architecture and Urbanism, December*, 1–5. <https://www.researchgate.net/publication/320443920>
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., ... Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509–547.  
<https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>
- Higuchi, T. (1993). Biodegradation mechanism of lignin by white-rot basidiomycetes. *Journal of Biotechnology*, 30(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90021-E](https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90021-E)
- Hopkins, C. G. (1899). *Improvement in the Chemical Composition of the Corn Kernel* (Vol. 06, Issue 95).
- Hrudayanath, T., & Sameer, K. S. (2014). Diversity, nutritional composition and medicinal potential of Indian mushrooms: A review. *African Journal of Biotechnology*, 13(4), 523–545. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.13446>

- Hult, E., Iversen, T., & Sugiyama, J. (2003). Characterization of the supermolecular structure of cellulose in wood pulp fibres. *Cellulose*, *10*, 103–110.
- Hung, P. V., & Nhi, N. N. Y. (2012). Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushrooms grown in the southern Vietnam. *International Food Research Journal*, *19*(2), 611–615.
- Ibekwe, V. I., Azubuike, P. I., Ezeji, E. U., & Chinakwe, E. C. (2008). Effects of Nutrient Sources and Environmental Factors on the Cultivation and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Pakistan Journal of Nutrition*, *7*, 349–351.
- Iken, J. E., Amusa, N. A., & Obatolu, V. O. (2002). Nutrient Composition and Weight Evaluation of some Newly Developed Maize Varieties in Nigeria. *The Journal of Food Technology in Africa*, *7*(1), 27–29.
- Ingale, A., & Ramteke, A. (2010). Studies on cultivation and biological efficiency of mushrooms grow on different agro-residues. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, *6*(3), 25–28. <http://www.researchgate.net/publication/242558158>
- Iqbal, H. M. N., Asgher, M., & Bhatti, H. N. (2011). Optimization of physical and nutritional factors for synthesis of lignin degrading enzymes by a novel strain of *Trametes versicolor*. In *BioResources* (Vol. 6, Issue 2). <https://doi.org/10.15376/biores.6.2.1273-1287>
- Israilides, C., & Philippoussis, A. (2003). Bio-technologies of Recycling Agro-industrial Wastes for the Production of Commercially Important Fungal Polysaccharides and Mushrooms. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, *20*(1), 247–260. <https://doi.org/10.1080/02648725.2003.10648045>
- Iwamoto, S., Abe, K., & Yano, H. (2008). The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. *Biomacromolecules*, *9*(3), 1022–1026. <https://doi.org/10.1021/bm701157n>
- Jafarpour, M., Zand, A. J., Dehdashtizadeh, B., & Eghbalsaied, S. (2010). Evaluation of agricultural wastes and food supplements usage on growth characteristics of *Pleurotus ostreatus*. In *African Journal of Agricultural Research* (Vol. 5, Issue 23). <https://doi.org/10.5897/AJAR10.623>
- James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., Celio, G., Gueidan, C., Fraker, E., Miadlikowska, J., Lumbsch, H. T., Rauhut, A., Reeb, V., Arnold, A. E., Amtoft, A., Stajich, J. E., Hosaka, K., Sung, G.-H., Johnson, D., ...

- Vilgalys, R. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113), 818–822. <https://doi.org/10.1038/nature05110>
- Jeong, S. C., Jeong, Y. T., Yang, B. K., Islam, R., Koyyalamudi, S. R., Pang, G., Cho, K. Y., & Song, C. H. (2010). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research*, 30(1), 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.12.003>
- Jeznabadi, E. K., Jafarpour, M., & Eghbalsaied, S. (2016). King oyster mushroom production using various sources of agricultural wastes in Iran. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 5(1), 17–24. <https://doi.org/10.1007/s40093-015-0113-3>
- Johannes, C., Majcherczyk, A., & Hüttermann, A. (1996). Degradation of anthracene by laccase of *Trametes versicolor* in the presence of different mediator compounds. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 46, Issue 3). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/s002530050823>
- Jolivet, S., Arpin, N., Wichers, H. J., & Pellon, G. (1998). *Agaricus bisporus* browning: a review. *Mycological Research*, 102(12), 1459–1483. <https://doi.org/10.1017/S0953756298006248>
- Jonathan, S. G., Okon, C. B., Oyelakin, A. O., & Oluranti, O. (2012). Nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) (Jacq. Fr.) Kumm. cultivated on different agricultural wastes. In *Nature and Science* (Vol. 10, Issue 9). <http://www.sciencepub.net/nature>
- Jong, S. C., & Birmingham, J. M. (1992). Medicinal Benefits of the Mushroom Ganoderma. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 37, Issue C). [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70253-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70253-3)
- Jönsson, L., Sjöström, K., Häggström, I., & Nyman, P. O. (1995). Characterization of a laccase gene from the white-rot fungus *Trametes versicolor* and structural features of basidiomycete laccases. In *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular* (Vol. 1251, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(95\)00104-3](https://doi.org/10.1016/0167-4838(95)00104-3)
- Jwanny, E. W., Rashad, M. M., & Abdu, H. M. (1995). Solid-state fermentation of agricultural wastes into food through *pleurotus* cultivation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 50(1), 71–78. <https://doi.org/10.1007/BF02788041>
- Kaal, E. E. J., Field, J. A., & Joyce, T. W. (1995). Increasing ligninolytic enzyme activities in several white-rot Basidiomycetes by nitrogen-sufficient media. In *Bioresource*



- Technology* (Vol. 53, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00066-N](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00066-N)
- Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209–218. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5960>
- Kertesz, M. A., & Thai, M. (2018). Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(4), 1639–1650. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8777-z>
- Khan, A., Tania, M., Ruhul Amin, S. M., Alam, N., & Uddin, N. (2008). An Investigation on the nutritional composition of mushroom (*Pleurotus florida*) Cultivated on Different Substrates. Molecular biology of cancer, and therapeutics View project Cancer epigenetics View project. *Bangladesh J.Mushroom*, 2(2), 17–23. <https://www.researchgate.net/publication/200671546>
- Khan, N. A., Ajmal, M., Haq, M. I. U., Javed, N., Ali, M. A., Binyamin, R., & Khan, S. A. (2012). Impact of sawdust using various woods for effective cultivation of Oyster Mushroom. In *Pakistan Journal of Botany* (Vol. 44, Issue 1).
- Kim, Y., Cho, N. S., Eom, T. J., & Shin, W. (2002). Purification and Characterization of a Laccase from *Cerrena unicolor* and Its Reactivity in Lignin Degradation. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 23(7), 985–989. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2002.23.7.985>
- Kirbag, S., & Akyüz, M. (2008). Evaluation of agricultural wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. *ferulae* Lanzi. *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3657–3661. <https://doi.org/10.5897/AJB08.583>
- Knapp, J. S., Newby, P. S., & Reece, L. P. (1995). Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi. In *Enzyme and Microbial Technology* (Vol. 17, Issue 7). [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00112-5](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00112-5)
- Kruger, N. J. (2009). The Bradford Method for Protein Quantitation. In J. M. Walker (Ed.), *The Protein Protocols Handbook* (3rd ed., pp. 17–24).
- Kües, U., & Liu, Y. (2000). Fruiting body production in basidiomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(2), 141–152. <https://doi.org/10.1007/s002530000396>
- Kulikova, N. A., Klein, O. I., Stepanova, E. V., & Koroleva, O. V. (2011). Use of basidiomycetes in industrial waste processing and utilization technologies: Fundamental

- and applied aspects (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(6), 565–579. <https://doi.org/10.1134/S000368381106007X>
- Kurt, S., & Buyukalaca, S. (2010). Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. *Bioresource Technology*, 101(9), 3164–3169. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.011>
- La Guardia, M., Venturella, G., & Venturella, F. (2005). On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on Umbelliferous plants (Apiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5997–6002. <https://doi.org/10.1021/jf0307696>
- Lee, J. S., & Lim, Y. W. (2010). *Cerrena aurantiopora* sp. nov. (Polyporaceae) from eastern Asia. *Mycologia*, 102(1), 211–216. <https://doi.org/10.3852/09-048>
- Liu, Y., Zhao, Y., & Feng, X. (2008). Exergy analysis for a freeze-drying process. *Applied Thermal Engineering*, 28(7), 675–690. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2007.06.004>
- Lorenzo, M., Moldes, D., Rodríguez Couto, S., & Sanromán, A. (2002). Improving laccase production by employing different lignocellulosic wastes in submerged cultures of *Trametes versicolor*. *Bioresource Technology*, 82(2), 109–113. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00176-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00176-6)
- Luz, J. M. R. da, Nunes, M. D., Paes, S. A., Torres, D. P., Silva, M. de C. S. da, & Kasuya, M. C. M. (2012). Lignocellulolytic enzyme production of *Pleurotus ostreatus* growth in agroindustrial wastes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1508–1515. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400035>
- Lv, H., Kong, Y., Yao, Q., Zhang, B., Leng, F., Bian, H., Balzarini, J., Van Damme, E., & Bao, J. (2009). Nebrodeolysin, a novel hemolytic protein from mushroom *Pleurotus nebrodensis* with apoptosis-inducing and anti-HIV-1 effects. *Phytomedicine*, 16(2–3), 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.07.004>
- Machado, K. M. G., Matheus, D. R., Monteiro, R. T. R., & Bononi, V. L. R. (2005). Biodegradation of pentachlorophenol by tropical basidiomycetes in soils contaminated with industrial residues. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(3), 297–301. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-3693-z>
- Madan, M., Vasudevan, P., & Sharma, S. (1987). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on

- different wastes. *Biological Wastes*, 22(4), 241–250. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90110-8](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90110-8)
- Mandeel, Q. A., Al-Laith, A. A., & Mohamed, S. A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(4), 601–607. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-3494-4>
- Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Vicent, T., & Caminal, G. (2009). Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 74(6), 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.040>
- Margulis, L. (1981). How Many Kingdoms? Current Views of Biological Classification. In *American Biology Teacher* (Vol. 43, Issue 9). <https://doi.org/10.2307/4447368>
- Marsden, W., Gray, P. P., Nippard, G. J., & Quinlan, M. R. (1982). Evaluation of the DNS Method for Analysing Lignocellulosic Hydrolysates. In *Journal of chemical technology and biotechnology* (Vol. 32, Issue 11). <https://doi.org/10.1002/jctb.5030320744>
- Martinez, M. J., Ruiz-Duenas, F. J., Guillen, F., & Martinez, A. T. (1996). Purification and Catalytic Properties of Two Manganese Peroxidase Isoenzymes from *Pleurotus eryngii*. *European Journal of Biochemistry*, 237(2), 424–432. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0424k.x>
- Mascarenhas, W. J., Akay, H. U., & Pikal, M. J. (1997). A computational model for finite element analysis of the freeze-drying process. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 148(1–2), 105–124. [https://doi.org/10.1016/S0045-7825\(96\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0045-7825(96)00078-3)
- Methu, J. ., Owen, E., Abate, A. ., & Tanner, J. . (2001). Botanical and nutritional composition of maize stover, intakes and feed selection by dairy cattle. *Livestock Production Science*, 71(2–3), 87–96. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00212-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00212-3)
- Michniewicz, A., Ledakowicz, S., Ullrich, R., & Hofrichter, M. (2008). Kinetics of the enzymatic decolorization of textile dyes by laccase from *Cerrena unicolor*. *Dyes and Pigments*, 77(2), 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2007.05.015>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Mizerska-Dudka, M., Jaszek, M., Błachowicz, A., Rejczak, T. P., Matuszewska, A., Osieńska-Jaroszuk, M., Stefaniuk, D., Janusz, G., Sulej, J., & Kandefer-Szerszeń, M. (2015). Fungus *Cerrena unicolor* as an effective source of new antiviral, immunomodulatory,

- and anticancer compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 459–468. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.015>
- Muñoz, C., Guillén, F., Martínez, A. T., & Martínez, M. J. (1997a). Laccase isoenzymes of *Pleurotus eryngii*: characterization, catalytic properties, and participation in activation of molecular oxygen and Mn<sup>2+</sup> oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2166–2174. <https://doi.org/10.1128/AEM.63.6.2166-2174.1997>
- Muñoz, C., Guillén, F., Martínez, A. T., & Martínez, M. J. (1997b). Induction and Characterization of Laccase in the Ligninolytic Fungus *Pleurotus eryngii*. *Current Microbiology*, 34(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s002849900134>
- Nagulwar, M., More, D., & Mandhare, L. (2020). *Nutritional properties and value addition of mushroom : A review*. 9(10), 395–398.
- Nicolcioiu, M. B., Popa, G., & Matei, F. (2016). Mushroom Mycelia Cultivation on Different Agricultural Waste Substrates. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, XX, 148–152.
- Ninfa, A. J., Ballou, D. P., & Benore, M. (2010). *Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry* (E. Swain & A. Rentrop (Eds.); 2nd ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 417–436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Obodai, M., Cleland-Okine, J., & Vowotor, K. A. (2003). Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 30(3), 146–149. <https://doi.org/10.1007/s10295-002-0021-1>
- Olah, G. (1987). *Complete Development of Basidiomycetes Agaricales Mushrooms* (Patent No. 4,646,466).
- Otjen, L., & Blanchette, R. A. (1986). A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes. In *Canadian Journal of Botany* (Vol. 64, Issue 5). <https://doi.org/10.1139/b86-121>
- Otjen, L., Blanchette, R., Effland, M., & Leatham, G. (1987). Assessment of 30 White Rot Basidiomycetes for Selective Lignin Degradation. *Holzforschung*, 41(6), 343–349.
- Owaid, M. N., Barish, A., & Shariati, M. A. (2017). Cultivation of *Agaricus bisporus* (button mushroom) and its usages in the biosynthesis of nanoparticles. *Open Agriculture*, 2(1),

- 537–543. <https://doi.org/10.1515/opag-2017-0056>
- Paterson, R. R. M. (2006). Ganoderma – A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*, 67(18), 1985–2001. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.004>
- Peláez, F., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (1995). Screening of 68 species of basidiomycetes for enzymes involved in lignin degradation. *Mycological Research*, 99(1), 37–42. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80313-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80313-4)
- Pelletier, M. G., Holt, G. A., Wanjura, J. D., Bayer, E., & McIntyre, G. (2013). An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates. *Industrial Crops and Products*, 51, 480–485. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.008>
- Peralta, R. M., da Silva, B. P., Gomes Côrrea, R. C., Kato, C. G., Vicente Seixas, F. A., & Bracht, A. (2017). Enzymes from Basidiomycetes—Peculiar and Efficient Tools for Biotechnology. In *Biotechnology of Microbial Enzymes* (pp. 119–149). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00005-4>
- Pettipher, G. L. (1987). Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on lignocellulosic waste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 41(3), 259–265. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740410308>
- Philippoussis, A. N. (2009). Production of Mushrooms Using Agro-Industrial Residues as Substrates. In P. Singh nee' Nigam & A. Pandey (Eds.), *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues* (pp. 163–196). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7>
- Ponmurugan, P., Nataraja Sekhar, Y., & Sreesakthi, T. R. (2007). Effect of Various Substrates on the Growth and Quality of Mushroom. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(1), 171–173. <http://www.pjbs.org>
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311–319. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00228-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4)
- Roody, W. C. (2003). *Mushrooms of West Virginia and the Central Appalachians*. The University Press of Kentucky.
- Ruiz-Duenas, F. J., Martinez, M. J., & Martinez, A. T. (1999). Molecular characterization of a novel peroxidase isolated from the ligninolytic fungus *Pleurotus eryngii*. *Molecular Microbiology*, 31(1), 223–235. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01164.x>
- Saavedra-Molina, J. L., Méndez-Iturbide, D., Gomez-Camarillo, M. A., & Sanchez, C.

- (2018). Mycelial Growth and Fruit Body Nutritional Composition of Pleurotus Species Grown on Different Lignocellulosic Waste-based Media. *BioResources*, 13(2), 4008–4017. <https://doi.org/10.15376/biores.13.2.4008-4017>
- Sakamoto, Y., Ando, A., Tamai, Y., Miura, K., & Yajima, T. (2002). Protein expressions during fruit body induction of *Flammulina velutipes* under reduced temperature. *Mycological Research*, 106(2), 222–227. <https://doi.org/10.1017/S095375620100541X>
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2), 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>
- Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 85, Issue 5, pp. 1321–1337). <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>
- Sardar, H., Ali, M. A., Anjum, M. A., Nawaz, F., Hussain, S., Naz, S., & Karimi, S. M. (2017). Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Scientia Horticulturae*, 225(February), 327–334. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.010>
- Shah, Z. A., Ashraf, M., & Ishtiaq Ch, M. (2004). Comparative Study on Cultivation and Yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Substrates (Wheat Straw, Leaves, Saw Dust). In *Pakistan Journal of Nutrition* (Vol. 3, Issue 3).
- Shwet, K., VP, S., Mamta, G., Anupam, B., & Manjit, S. (2019). Genetics and breeding of white button mushroom, *Agaricus bisporus* (Lange.) Imbach. - A comprehensive review. *Mushroom Research*, 28(1). <https://doi.org/10.36036/MR.28.1.2019.91938>
- Sinegani, A. A. S., & Emtiazi, G. (2006). The relative effects of some elements on the DNS method in cellulase assay. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 10(3). <https://doi.org/10.4314/jasem.v10i3.17326>
- Sivrikaya, H., & Peker, H. (1999). Cultivation of *pleurotus florida* on forest and agricultural wastes by leaves of tree and wood waste. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(6), 585–596. <https://doi.org/10.3906/tar-97175>
- Tanaka, H., Itakura, S., & Enoki, A. (1999). Hydroxyl radical generation by an extracellular low-molecular-weight substance and phenol oxidase activity during wood degradation by the white-rot basidiomycete *Trametes versicolor*. *Journal of Biotechnology*, 75(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00138-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00138-8)

- Tang, X. C., & Pikal, M. J. (2004). Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. *Pharmaceutical Research*, 21(2), 191–200.
- Tripathi, M. K., Mishra, A. S., Misra, A. K., Vaithyanathan, S., Prasad, R., & Jakhmola, R. C. (2008). Selection of white-rot basidiomycetes for bioconversion of mustard (*Brassica campestris*) straw under solid-state fermentation into energy substrate for rumen micro-organism. *Letters in Applied Microbiology*, 46(3), 364–370. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02320.x>
- van Kuijk, S. J. A., Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendriks, W. H., & Cone, J. W. (2015). Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: A review. *Biotechnology Advances*, 33(1), 191–202. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.014>
- Velardi, S. A., & Barresi, A. A. (2008). Development of simplified models for the freeze-drying process and investigation of the optimal operating conditions. *Chemical Engineering Research and Design*, 86(1), 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2007.10.007>
- Venturella, G., Zervakis, G. I., & Raimondo, F. M. (1997). *Mycology in sustainable development : The case of Pleurotus nebrodensis from Sicily ( Southern Italy )*. January, 1995–1997.
- Venturella, Giuseppe. (2016). *Pleurotus nebrodensis ssp. nebrodensis, White Ferula Mushroom*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T61597A102952148.en>
- Ververis, C., Georghiou, K., Danielidis, D., Hatzinikolaou, D. G., Santas, P., Santas, R., & Corleti, V. (2007). Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. *Bioresource Technology*, 98(2), 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.01.007>
- Volk, T. J. (2013). Fungi. In *Encyclopedia of Biodiversity* (Vol. 3, pp. 624–640). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00062-9>
- Wang, C., Cui, H., Wang, Y., Wang, Z., Li, Z., Chen, M., & Li, F. (2014). Bidirectional Immunomodulatory Activities of Polysaccharides Purified From *Pleurotus nebrodensis*. *Inflammation*, 37(1), 83–93. <https://doi.org/10.1007/s10753-013-9714-z>
- Webster, J., & Weber, R. W. S. (2007). *Introduction to Fungi* (3rd ed.). Cambridge University Press. [www.cambridge.org/9780521807395](http://www.cambridge.org/9780521807395)
- Westhuizen, G. C. A. van der. (1963). The Cultural Characters, Structure of the Fruit Body,

- and Type of Interfertility of *Cerrena unicolor* (Bull. Ex Fr.) Murr. *Canadian Journal of Botany*, 41(10), 1487–1499. <https://doi.org/10.1139/b63-129>
- Whittaker, R. H. (1957). The Kingdoms of the Living World. In *Ecology* (Vol. 38, Issue 3, pp. 536–538). Ecological Society of America. <http://www.jstor.org/stable/1929903>
- Whittaker, R. H. (1969). New Concepts of Kingdom of Organisms. *Science*, 163(3863, Jan. 10), 150–160. <http://links.jstor.org/sici?sici=0036-8075%2819690110%293%3A163%3A3863%3C150%3ANCOKOO%3E2.0.CO%3B2-G>
- Willis, K. J. (ed. . (2018). State of the World’s Fungi 2018. In *Royal Botanic Gardens. Kew*. <http://www.stateoftheworldsfungi.org>
- Willis, W. L., Isikhuemhen, O. S., & Ibrahim, S. A. (2007). Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotics. *Poultry Science*, 86(9), 1856–1860. <https://doi.org/10.1093/ps/86.9.1856>
- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). *Towards a natural system of organisms : Proposal for the domains*. 87(June), 4576–4579.
- Wood, D. A., & Goodenough, P. W. (1977). Fruiting of *Agaricus bisporus* - Changes in extracellular enzyme activities during growth and fruiting. In *Archives of Microbiology* (Vol. 114, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/BF00410778>
- Woodhams, R. T., Thomas, G., & Rodgers, D. K. (1984). Wood Fibers as Reinforcing Fillers for Polyolefins. *Polymer Engineering & Science*, 24(15), 1166–1171. <https://doi.org/10.1002/pen.760241504>
- Yan, B., Jing, L., & Wang, J. (2015). A polysaccharide (PNPA) from *Pleurotus nebrodensis* offers cardiac protection against ischemia–reperfusion injury in rats. *Carbohydrate Polymers*, 133, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.076>
- Yu, L., Fernig, D. G., Smith, J. A., Milton, J. D., & Rhodes, J. M. (1993). Reversible Inhibition of Proliferation of Epithelial Cell Lines by *Agaricus bisporus* (Edible Mushroom) Lectin. In *Cancer Research* (Vol. 53, Issue 19).
- Yuan, X., Tian, G., Zhao, Y., Zhao, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2016). Biochemical Characteristics of Three Laccase Isoforms from the Basidiomycete *Pleurotus nebrodensis*. *Molecules*, 21(2), 203. <https://doi.org/10.3390/molecules21020203>
- Zeng, S., Zhao, J., & Xia, L. (2017). Simultaneous production of laccase and degradation of bisphenol A with *Trametes versicolor* cultivated on agricultural wastes. *Bioprocess and*



- Biosystems Engineering*, 40(8), 1237–1245. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1783-1>
- Zervakis, G. I., Ntougias, S., Gargano, M. L., Besi, M. I., Polemis, E., Typas, M. A., & Venturella, G. (2014). A reappraisal of the *Pleurotus eryngii* complex – New species and taxonomic combinations based on the application of a polyphasic approach, and an identification key to *Pleurotus* taxa associated with Apiaceae plants. *Fungal Biology*, 118(9–10), 814–834. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.07.001>
- Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., & Diamantopoulou, P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiologica*, 46(3), 231–234. <https://doi.org/10.1007/BF02818539>
- Zhang, Y., Geng, W., Shen, Y., Wang, Y., & Dai, Y.-C. (2014). Edible Mushroom Cultivation for Food Security and Rural Development in China: Bio-Innovation, Technological Dissemination and Marketing. *Sustainability*, 6(5), 2961–2973. <https://doi.org/10.3390/su6052961>
- Ziegler, A. R., Bajwa, S. G., Holt, G. A., McIntyre, G., & Bajwa, D. S. (2016). Evaluation of Physico-Mechanical Properties of Mycelium Reinforced Green Biocomposites Made from Cellulosic Fibers. *Applied Engineering in Agriculture*, 32(6), 931–938. <https://doi.org/10.13031/aea.32.11830>

## Ελληνική

- Γκόνου - Ζάγκου, Ζ. (2020). *Μυκητολογία: Ταξινόμηση - Φυλογένεση - Μορφολογία - Αναπαραγωγή* (pp. 1–72).
- Γκότση, Ε. Κ. (1998). *Συστηματική και Οικολογία Μυκήτων*. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Διαμαντοπούλου, Π., & Φιλippούσης, Α. (2016). *Καλλιέργεια Μανιταριών: Ανάγκες και Λύσεις*. Ύπαιθρος. <https://www.ypaidros.gr/ekdoseis/manitaria-anagkes-liseis/>

## Διαδικτυακοί Τόποι

- BoltThreads. (n.d.). *Bolt Threads*. <https://boltthreads.com/>
- Ecovative Design, L. (2020). *Ecovative Design*. <https://ecovatedesign.com/>
- FourSigmatic. (n.d.). *Four Sigmatic Magic*. <https://international.foursigmatic.com/>

FungalFutures. (n.d.). *Fungal Futures*. <http://www.fungal-futures.com/>

JMP Mushroom. (n.d.). Pleurotus Eryngii. <http://www.jmpmushroom.com/>

Meati. (n.d.). *Emergy Foods*. <https://meati.com/>

MOGU S.r.l. (2020). Mogu, Radiant by Nature. <https://mogu.bio/>

Mushroom Anatomy. (2020). Asheville Fungi. <http://www.ashevillefungi.com>

Mushrooms Dirfis. (2020). Μανιτάρια Δίρφους. <https://www.manitariadirfis.gr/>

Mycoworks. (2020). <https://www.mycoworks.com/>

Nature'sFynd. (n.d.). *Nature's Fynd*. <https://www.naturesfynd.com/>

NewProtein. (2020). *The Fungi Industry Landscape*. Fungi V.1.1. <https://newprotein.org/maps>

OfficinaCorpuscoli. (2010). *Project: Infected*. <https://www.corpuscoli.com/projects/infected/>

Ordant. (2019). *What is offset printing*. <https://ordant.com/what-is-offset-printing/>

Science Direct. (n.d.). Trametes Versicolor. <https://www.sciencedirect.com/>

The Editors of Encyclopaedia Britannica. (n.d.). *Offset printing*. Britannica. <https://www.britannica.com/technology/offset-printing>

Terraform. (n.d.). *Myciform*. Terraform. <https://terreform.org/mycoform>

Wood Decay Fungi of Living Trees. (2020). <https://www.treerot.com/envira/cerrena-unicolor/>