

Приложение 2

АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ

Пловдив 4000; бул. «Менделеев» № 12; тел. +359/32/654 300
Факс +359/32/633 157; www.au-plovdiv.bg



Факултет по АГРОНОМСТВО

Утвърждавам:



Декан:

(.....подпис и печат.....)

ИНДИВИДУАЛЕН УЧЕБЕН ПЛАН

на

Стефани Уалид Набхан, Заповед № РД-27-08/16.05.2025г.

(име, презиме, фамилия и номер на заповедта за зачисляване)

Област на висшето образование	6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина
Професионално направление	6.1. Растениевъдство
Научна специалност	Ботаника (Култивиране на гъби)
Форма на обучение	Задочна
Продължителност на обучение	4 години
Тема на дисертационния труд	Оценка на производството на гъба шийтаке (<i>Lentinula edodes</i>) върху субстрати от агролесовъдни отпадъци
Научни ръководители:	1. Доц. д-р Мария Николова Лачева 2. Проф. д-р Юсуф Наджиб Сасин
Обсъден и приет на КС	Протокол № 20/16.06.2025г.
Утвърден на заседание на ФС	Протокол № <u>_____</u> /17.06.2025г.

ОБЩ УЧЕБЕН ПЛАН

Учебна и преподавателска работа на докторанта		
ПЪРВА ГОДИНА		
Дейност	Период	Кредити
Участие в обучителни курсове		
Участие в специализирани обучителни курсове (1)	V, 2025 – V, 2026	5
Статистическа обработка на данни. База данни.	V, 2025 – V, 2026	5
Сума за I година		10
ВТОРА ГОДИНА		
Дейност	Период	Кредити
Докторантски минимум	V, 2026 – V, 2027	20
Сума за II година		20
ТРЕТА ГОДИНА		
Дейност	Период	Кредити
Обработка на експериментални данни	V, 2027 – V, 2028	5
Сума за III година		5
ЧЕТВЪРТА ГОДИНА		
Дейност	Период	Кредити
Сума за IV година		35
Научноизследователска работа на докторанта		
<p>Анотация. Шийтаке (<i>Lentinula edodes</i>) е японска гъба, принадлежаща към род <i>Lentinula</i>, която в природата се среща в дъбови гори. Характеризира се с висока хранителна стойност, уникатен вкус и приятен аромат, както и с много лечебни свойства. Около 22% от световното производство на шийтаке се произвежда в Азиатско-Тихоокеанския регион, където е силно търсена гъба и се продава както прясна, така и сушена (Riaz et al., 2022). Отглеждането на тази гъба първоначално се е извършвало на открито, като са използвани естествени дъбови трупи. Този метод, обаче отнема продължително време (6-12 месеца от засаждането до беритбата) и зависи от климата. Поради тази причина, това отглеждане се е превърнало в процес на закрито, използващ „синтетични пънчета“ от дървесни стърготини от твърда дървесина; метод, който насищава по-висок добив и изисква по-малко време (2-3 месеца до прибиране на реколтата). Този метод използва стандартна формула за субстрат, съставена от 80% дървесни стърготини от твърда дървесина (предимно дъб) и 20% смес от добавки, основно богати на нишесте и целулоза, като пшенични или оризови трици (Ramkumar et al., 2010). В много страни използването на дъбови дървесни стърготини е ограничаващ фактор и представлява рисък за околната среда поради необходимостта от</p>		

изсичане на дъбови дървета (Gaitan-Hernandez et al., 2014). Следователно, производителите на гъби трябва да избират локално достъпни и евтини материали и да ги използват съответно въз основа на изискванията на видовете гъби, които се култивират (Fan and Socol, 2005). Повечето от по-ранните проучвания са насочени върху допълването на субстрата за шийтаке с органични добавки (пшенични трици), в различно процентно съотношение и по едно и също време (по време на засаждането). Последните проучвания показват използването на някои агро-индустриални отпадъци при отглеждането на шийтаке, като например захарна тръстика, памучно семе, царевични кочани и много други отпадъци, въз основа на тяхната наличност на местно ниво, допълнително обогатени или не. В същото време, изследванията на нано-амино добавките (богати на леснодостъпни хранителни вещества като азот и аминокиселини) върху гъби кладница показват своя потенциал и положително въздействие за подобряване на растежа на мицела, добива, качеството, хранителния състав на гъбите (Nairn et al., 2020). Въпреки това, изследванията относно добавянето на нано-амино добавки към субстрата на шийтаке са много малко.

В Република Ливан различни лигно-целулозни отпадъчни материали представляват потенциал за тестване като субстрати за отглеждане на шийтаке, независимо дали произтичат от селскостопански дейности (резитба на лозя, маслини, праскови, бадеми и орехи) или от горска дейност (резитба и санитарна сеч на дъбови, евкалиптови и кленови дървета), както и дъбови жъльди.

Маслиновите, лозовите и овошните градини съставляват съответно 30%, 30% и 11% от общия брой овошни градини в Ливан (FAO, 2024). Всяка година се получават значително количество дървесни отпадъци (18 кг подрязани отпадъци/дърво) в резултат на резитбата (Unal and Alibas, 2007). Освен това горите в Ливан са предимно широколистни (78 887 ха) и иглолистни (44 879 ха) (UNDP, 2022), сред които широко разпространени и достъпни са дъбови, евкалиптови и кленови (*Acer spp.*) дървета. Дъбовите дървета доминират в горите с 13,4% (MoE/UNEP, 2015) и произвеждат големи количества дъбови жъльди, богати на аминокиселини, мастни киселини, минерали, витамиини (главно A и E) и нишесте (от 55%) (Taib et al., 2020).

Въпреки това, горските и селскостопанските отпадъци от резитби се изхвърлят или изгарят, като по този начин не се използват рационално, а последните изследвания върху ефектите на дървесните стърготини върху растежа и продуктивността на гъбата шийтаке са осъдни. Дъбовите жъльди са подценени в Република Ливан и проучвания върху използването им в отглеждането на гъби няма. Също така, нано-добавките, които са богати на леснодостъпни хранителни вещества като азот и аминокиселини, показват в предходни проучвания положително въздействие върху растежа, добива и хранителния състав на гъбата шийтаке (когато се прилагат по едно и също време), както и върху гъба кладница.

На ливанския пазар шийтаке се предлага в сушена форма, внесена предимно

от Китай. Отглеждането на тази гъба е ограничено до две ферми, които произвеждат ограничено количество прясна гъба. Липсата на прясна гъба шийтаке на ливанския пазар е свързана с липсата на познания относно стъпките на отглеждането и, необходимостта от вносен посадъчен материал (мицел) и инокулирани субстрати на високи цени, както и с дългосрочната ангажираност на този тип отглеждане.

Цел и задачи на дисертационния труд:

Целите на настоящото изследване са:

- 1.** Насърчаване на отглеждането на гъба шийтаке в Република Ливан чрез проучване на изискванията за растеж и етапите на култивиране.
- 2.** Проучване на подходящи нови субстрати за отглеждане на шийтаке (щам 3782), чрез използване на локално достъпни агролесовъдни отпадъци получени от селскостопански резитби (маслини, лозя, праскови, бадеми и орехи) или от горски резитби (дъб, дъбови жъльди, евкалипт и клен) и сравняване на тяхната ефективност с тази на търговския субстрат по отношение на растеж, продукция, качество и хранителен състав на гъбите.
- 3.** Изследване ефекта на нано-амино добавка (Lithovit®-Amino 25) върху растежа, производството, качеството и хранителния състав на шийтаке, добавена към различни субстратни смеси и в различни интервали от време.

Задачи:

- 1.** Тестване на преби за анализ анализ на състава и физикохимичните свойства на всички субстрати и субстратни смеси.
- 2.** Подготовка на субстратите за засаждане на мицела на шийтаке.
- 3.** Засаждане на мицела на шийтаке.
- 4.** Инкубиране на инокулирания с мицел субстрат при стриктно спазване на условията за растеж на мицела.
- 5.** Събиране на данни за растежа на мицела по време на инкубационния период.
- 6.** Събиране на данни за продуктивността на мицела по време на първоначално плодообразуване и беритбения период
- 7.** Тестване на преби за оценка на хранителния състава на гъбите отгледани върху различни субстрати (с или без добавки).
- 8.** Статистическа обработка на данните и интерпретиране на получените резултати.

Материали и методи:

- Експерименталната част на изследването ще бъде проведена в Земеделски и ветеринарен изследователски център - станция Газир и във Факултета по агрономство и ветеринарна медицина на Ливански

университет, гр. Бейрут, Република Ливан.

- Химичния анализ и тестването на пробите от субстрат и гъби ще бъде извършено в акредитирани лаборатории в България и/или Ливан.
- Ще бъдат използвани услугите на акредитирани лаборатории, работещи по утвърдени методики (AOAC, 1984).

Работата ще бъде разделена на 3 етапа, като през всеки от тях ще бъдат изпълнени следните стъпки и задачи:

1 – Анализ на състава на субстратите

Ще бъде извършено аналитично тестване за оценка на физикохимичните свойства на субстратите (сухо вещество, влага, pH, съдържание на пепел, органично вещество, съотношение C/N, сиров протein, мазнини, лигнин, целулоза и хемицелулоза) като се използва прока от 0,5 kg (сухо тегло) от всеки субстрат. Тестването ще се извърши в акредитирани лаборатории и по утвърдени методики (AOAC, 1984).

2 – Подготовка на субстратните смеси

Ще бъдат подгответи по шест повторения (6 торби по 1 kg всяка) от всички субстратни смеси (със или без добавки), които ще бъдат сравнени с конвенционалния субстрат: 80% дървесни стърготини + 20% пшенични трици (контрола).

3 – Подготовка на субстратите за засаждане

Суровините ще бъдат събрани на местно ниво, машинно нааситнени до дървесни стърготини и трици.

Смесите ще бъдат подложени на първа пастьоризация за 15 минути във вряща вода при 100°C, за да се отстранят замърсяванията, след което навлажнени (60-70%) и напълнени в автоклавирами полипропиленови торби с филтър, запечатани и подложени на пастьоризация при 121°C в продължение на 6 часа. След това субстратите ще бъдат охладени до (<16°C) за подходящ мицелен растеж.

4 – Засаждане на мицела

При стерилни условия (ламинарен бокс), във всяка торба се добавя зърнов мицел с посадъчна норма от 2% на торба. След това торбите се етикетират (въз основа на субстратната смес).

5 – Инкубиране на инокулираните торби

Инокулираните субстрати ще се съхраняват в тъмно помещение, при температура 20-22°C и относителна влажност 50-60%, които се наблюдават и поддържани постоянни с помощта на хигрометър/термометър (Lutron HT-3007SD).

6 – Събиране на данни по време на инкубацията

Развитието на мицела на гъбите шийтаке се разделя на пет последователни етапа: *мицелен растеж, образуване на мицелна обвивка, образуване на подутини, покафеняване и втвърдяване* (Chen, 2001). В края на всеки етап ще се записва продължителността на етапа за всяка субстратна смес в дни след засаждането.

7 – Индуциране на плодните тела

За да се индуцира образуването на гъби, полипропиленовите торби ще се отстраняват и субстратните блокове (покрити с мицел и втвърдени) ще се подлагат на термичен шок (накисване в ледена вода за 24 часа с или без добавки). След това субстратните блокове ще се преместват в помещение за плodoобразуване, където температурата и влажността се наблюдават и поддържат съответно в границите на 16°C и 90%.

8 – Беритбен период

След образуването на примордии, субстратните блокове ще се поливат ежедневно. По време на беритбата ще се откъсват само гъбите, които имат отворена шапка с отчетливо подвити ръбове и видими пластинки; отрязват се ръчно (с помощта на ножица или нож) и се съхраняват директно при ниска температура от 1-4°C. След прибиране на реколтата, синтетичните пънчета ще се инкубират отново, след което ще се накисват в ледена вода, за да се получи втората вълна от гъби.

9 – Събиране на данни по време на беритбата

Данните от беритбения период ще се записват за всяка вълна от реколта. Физическите характеристики на гъбите (като например - твърдост, диаметър и дебелина на шапката, диаметър и дължина на пънчето) и производствените характеристики (брой гъби, тегло на гъбите, биологичен добив и биологична ефективност) ще бъдат измерени, събрани и записани за всяка беритбена вълна и представени според Yang et al. (2013).

10 – Оценка на хранителния състав на гъбите

Проби от гъбите (5 г прясна гъба) ще бъдат подложени на аналитични тестове (чрез трикратни повторения) за изследване на съдържанието на органични вещества и биополимери - мазнини, въглехидрати, протеини, витамини C и D, сирови влакнини (хитин), пепел и др.

Тестването ще бъде извършено в акредитирани лаборатории и по утвърдени методики (AOAC, 1984).

10 – Статистически анализ

Събраните данни ще бъдат анализирани с помощта на програмата SPSS25.

Приложими тестове: еднофакторен ANOVA, многодиапазонен тест на Дънкан при PValue<0.005.

Могат да се приложат също стъпкова регресия и t-тест.

Етапи при разработване на дисертацията:

Етап 1

- Съгласно стъпките, описани по-горе в раздел „материал и методи“, етап 1 ще се състои от отглеждане на шийтаке (щам 3782) върху различни субстрати.
- Различните субстрати ще бъдат съставени от някои селскостопански отпадъци от резитби (лоза, маслина, праскова, бадем и орех) или отпадъци от горска сеч (клен и евкалипт) използвани самостоятелно.
- Формулата на субстрата, съдържащ някои селскостопански отпадъци от резитби, ще бъде съставена от 80% селскостопански резитби + 20% пшенични трици.
- Формулата на субстрата, съдържащ някои горски отпадъци от резитби и сеч, ще бъде съставена от 80% горски резитби + 20% пшенични трици.
- Данните за растежа и продуктивността на мицела, получени върху различните субстрати, ще бъдат събрани, анализирани и сравнени с тези, получени върху конвенционалния субстрат, използван при отглеждането на шийтаке съставен от 80% дъбови стърготини + 20% пшенични трици (контрола).
- Целта на този етап е да се изследва потенциалът на всеки вид резитбени отпадъци (широко достъпни на местно ниво) поотделно за заместване на дъбовите дървесни стърготини в традиционно използвания субстрат за шийтаке.

Етап 2

- Съгласно стъпките, описани по-горе в раздел „материал и методи“, етап 2 ще се състои от отглеждане на шийтаке (щам 3782) върху различни субстратни смеси.
- Различните субстратни смеси ще бъдат съставени от някои селскостопански отпадъци от резитби (лоза, маслина, праскова, ябълка, бадем и орех), смесени с дъбови жъльди по следната формула:
40% отпадъци от резитби + 40% дъбови жъльди + 20% пшенични трици.
- Данните за растежа и продуктивността на мицела, получени върху различните субстратни смеси, ще бъдат събрани, анализирани и сравнени с тези, получени от същия вид отпадъци от резитби, смесени с дъбови дървесни стърготини, съгласно следната формула:
40% отпадъци от резитба + 40% дъбови стърготини + 20% пшенични трици (контрола).
- Целта на този етап е да се изследва потенциалът на редуване/заместване на дъбови дървесни стърготини с дъбови жъльди, за да се избегне отсичането на дъбови дървета.

Етап 3

- Съгласно стъпките, описани по-горе в раздел „материал и методи“, етап 3 ще се състои от отглеждане на шийтаке (щам 3782) върху различни субстратни смеси, допълнени или не с нано добавки.
- Различните субстратни смеси ще бъдат съставени от някои селскостопански отпадъци от резитба (лоза, маслина, праскова, бадем и орех), самостоятелно или смесени с дъбови жъльди съгласно следната формула: 40% отпадъци от резитба + 40% дъбови жъльди + 20% пшенични трици. Органичната добавка, която ще се прилага, е нано-амино добавката (Lithovit®-Amino 25).
- Данните за растежа и продуктивността на мицела, получени от всяка субстратна смес, ще бъдат събрани, анализирани и сравнени с тези, получени от същата смес, допълнена с добавка еднократно (при засаждането) и двукратно (при засаждането и след първата вълна от добива).
- Целта на този етап е да се изследва потенциалът на нано-амино добавката върху растежа на мицела и продуктивността на гъбите шийтаке. Също така той ще подчертава ефекта от добавянето и, към субстрата за шийтаке при еднократно и двукратно приложение.

Литература:

- 1. Anneru, S. K., Sharma, V. P. P., Kumar, S. and Barh, A.** (2019). Cultivation Techniques of Shiitake (A Medicinal Mushroom with Culinary Delight). ICAR-Directorate of Mushroom Research, 1 st edn., Chambaghat, Solan- 173213 (HP), Technical Bulletin.
- 2. AOAC.** (1984). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 14th Edition, AOAC, Arlington.
- 3. Carrasco, J., Tello M.L., Perez M. and Preston G.** (2018). Biotechnological requirements for the commercial cultivation of macrofungi: Substrate and Casing Layer. Biology of Macrofungi, pp.159-175.
- 4. Chen, A.W.** 2001. Cultivation of *lentinula edodes* on synthetic logs, in: The Mushroom Growers' Newsletter (Ed.), USA Klamath Falls, 2001. OR 97601.
- 5. FAO.** (2024). Crop categories with negative vegetation cover changes during the conflict in Lebanon as of October 2024.
<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/73c22f08-4685-4584-80c1-0e80feb6cad8/content>
- 6. Fan, L. and Soccol, C.R.** (2005). Shiitake bag cultivation. In: Mushroom Growers' Handbook 2: Shiitake Cultivation Mush World, SEOUL-110-846, Korea, pp. 73-102.
- 7. Gaitan-Hernandez, R., Cortes, N. and Mata, G.** (2014). Improvement of yield of the edible and medicinal mushroom *Lentinula edodes* on wheat straw by use of supplemented spawn. Brazilian Journal of Microbiology, 45(2), 467-474. DOI:10.90/S1517- 83822014000200013.

8. MoE/UNEP. (2015). Fifth National Report of Lebanon to the Convention on Biological Diversity. 146 pp.
9. Nairn, L, Al Sanad, M., Shaban, N., El Sebaaly, Z., Abou Fayssal, S. and Sassine, Y. (2020). Production and composition of *Pleurotus ostreatus* cultivated on Lithovit®-Amino25 supplemented spent substrate. AMB express, 10(1), 188. DOI: 10.1186/S13568-020-01124-1.
10. Unal, H. and Alibas, K. (2007). Agricultural Residues as Biomass Energy, Energy Sources, Part B: Economics, Planning
11. UNDP. (2022). Climate change vulnerability and adaptation. Lebanon's Second National Communication Ministry of Environment. <https://climatechange.moe.gov.lb/viewfile.aspx?id=69>
12. Ramkumar, L., Thirunavukkarasu, P. and Ramanathan, T. (2010). Development of improved technology for commercial production and preservation of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). Am. J. Agric. Eviron. Sci, 7, 433-439.
13. Riaz, S., Arslan, A., Farooq, R., Ahmed, M., Shaheryar, M. and Hussain, M. (2022). Edible mushrooms, a sustainable source of nutrition, biochemically active compounds, and its effect on human health. In: IntechOpen eBooks. DOI:10.5772/intechopen.102694
14. Stamets, P. (1993). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley.
15. Taib, M., Bouyazza, L. and Lyoussi, B. (2020). Acorn oil: Chemistry and functionality. Journal of Food Quality, 1-11. DOI: 10.1155/2020/8898370.
16. Yang, B Guo, F Wan, Z. 2013. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull, Saudi J. Biological, Sci. 20 (2013) 333–338, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.02.006>.

Методичен план

ПЪРВА ГОДИНА

Дейност	Период	Кредити
Литературна справка по темата	V, 2025 – V, 2026	10
Научно-изследователска работа	V, 2025 – V, 2026	10
Годишен отчет	2026	10
Сума за I година		30

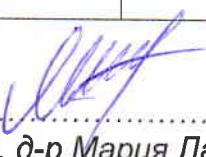
ВТОРА ГОДИНА

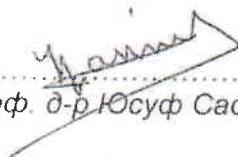
Дейност	Период	Кредити
Научно-изследователска работа	V, 2026 – V, 2027	20
Участие в научен форум и/или конференция	VI, 2026 – III, 2027	5
Научна публикация	IX, 2026 – II, 2027	10
Годишен отчет	2027	10
Сума за II година		45

ТРЕТА ГОДИНА

Дейност	Период	Кредити
Научно-изследователска работа	V, 2027 – V, 2028	20
Участие в научен форум и/или	VI, 2027 – III, 2028	5

конференция		
Научна публикация	IX, 2027 – II, 2028	10
Годишен отчет	2028	10
Сума за III година		45
ЧЕТВЪРТА ГОДИНА		
Дейност	Период	Кредити
Предварително обсъждане на дисертацията (Вътрешна защита)	V, 2028 – V, 2029	50
Сума за IV година		50
Общо за курса		170
		205

Научен ръководител: 1.....

 (Доц. д-р Мария Лачева)

2.....

 (Проф. д-р Юсуф Сасин)

Докторант: 
 (Степани Набхан)