

УДК 573.6.086.83:582.284

DOI: 10.20535/1810-0546.2017.3.94962

О.О. Сироїд*, Л.П. Дзигун
КПІ ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна

ГРАНИЧНА МЕЖА КРИТИЧНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ ДЛЯ БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *LAETIPORUS SULPHUREUS*

Background. Today we can observe an increased attention to the usage of various drugs based on *Laetiporus sulphureus*. However, most part of the literature pays attention to pharmacological properties of the products, but the issue of cultivation and storage of museum culture is insufficiently studied.

Objective. The aim of the paper is to determine the critical temperature of fungal growth, which is an important indicator for keeping the most productive crop strains.

Methods. The study was conducted on 14 strains of *Laetiporus sulphureus*. Cultivation was carried out for 3 days on the medium with wort agar for temperature control – 35–37 °C.

Results. The survey defined the upper limit of the critical temperature of growth for most strains.

Conclusions. The obtained data indicate that 37 °C temperature for most strains of the fungi *Laetiporus sulphureus* is critical, but strains 1518, 1776, 1815 retain poor growth at this temperature that provides the basis for further researches.

Keywords: fungi; basidiomycetes; polysaccharides; *Laetiporus sulphureus*; critical temperature.

Вступ

У світі існує велике різноманіття базидіальних грибів, у т.ч. і грибів-ксилотрофів, значна кількість яких є маловивченими щодо їх фармакологічних властивостей. Тому вони є перспективним об'єктом дослідження для фармакології, біотехнології, ветеринарії та медицини.

Зважаючи на лікувальні властивості цих грибів, медики, фармацевти, біологи, мікологи та біотехнологи активно вивчають їх для того, щоб довести їх лікарські властивості, ґрунтуючись як на стародавніх, так і на сучасних літературних джерелах.

Однак одним із пріоритетних напрямів розвитку сучасної мікології і біотехнології є експериментальні дослідження базидіальних грибів для отримання біологічно активних сполук (білків, ліпідів, полісахаридів, органічних кислот, ферментів і вітамінів), насамперед лікарських. Багато з цих речовин не тільки характеризуються значною фармакологічною активністю, а й є менш токсичними порівняно з продуктами хімічного синтезу. Проте як промислове вирощування самих грибів, так і виробництво функціональних препаратів на їх основі тільки починають налагоджуватися, що пов'язано не в останню чергу з відсутністю достатньої кількості відомостей про способи та умови культивування багатьох грибів [1, 2].

Найвідомішими біологічно активними речовинами грибів є полісахариди, з якими пов'язані цитотоксичні, протипухлинні й імуномодулювальні властивості екстрактів. Полісахариди представлені головним чином гліканами та гетерогліканами із ксилозою, галактозою, манозою, глюконовою кислотою та іншими цукрами. Загальна кількість полісахаридів у міцелії може досягати 60 % і більше від сухої біомаси гриба [3].

Ще одним важливим класом сполук є ліпіди, перспективним продуцентом яких є міцеліальні гриби, а саме ксилотрофні базидіоміцети, багато з яких є істивними, здавна застосовуються в народній медицині і визнані лікарськими. Одним із представників таких грибів є *Laetiporus sulphureus*. Залежно від фізіологічної приналежності (біла або бура гниль) здатність базидіальних ксилотрофів до синтезу ліпідів різна. Так, наприклад, було відзначено, що вміст ліпідів у міцелії гриба *L. sulphureus* (бура гниль) при культивуванні на середовищі із сахарозою може досягати 57 %, що дає змогу віднести його до істинних ліпідних продуцентів. Тому останнім часом зацікавленість учених із пострадянського простору викликають дослідження властивостей речовин ліпідної природи, що виділені з *L. sulphureus* [4].

До того ж гриб *L. sulphureus* відомий своїми гастрономічними показниками, оскільки вважається делікатесом серед народів Північної Америки та Європи. Гриб утворює плодові тіла, які

* corresponding author: lena.siroid@mail.ru

зазвичай розміщуються на стовбурі дерева невисоко над землею. Молоді плодові тіла трутовика мають вигляд жовтуватої м'ясистої маси, розміщеної на дереві у формі напливу. В міру розвитку плодове тіло твердне, набуваючи характерної форми вуха, яке складається з декількох шарів "псевдошапинок". Поверхня гриба нерівна, завжди покрита легким пухом кремово-жовтого кольору. Діаметр шапинок становить 10–15 см, проте вони можуть зростатися між собою, утворюючи великі конгломерати. Споривий порошок має блідо-кремовий колір [5].

При штучному культивуванні з цього гриба було отримано цілу низку біологічно активних сполук, таких як полісахариди, ненасичені жирні кислоти, каротиноїди, фосфоліпіди. Екстракти з міцелію та культуральна рідина володіють антимікробною активністю проти багатьох патогенних грам-позитивних і грам-негативних бактерій та здатні пригнічувати розвиток вірусу грипу А. Міцелій *L. sulphureus* може сорбувати селен і надалі сприяти його засвоєнню іншими організмами [6].

У Білорусії на основі біомаси *L. sulphureus* була розроблена біологічно активна добавка "Летіпорін", яка характеризується комплексною профілактичною, загальнозміцнювальною, імуномодулювальною дією і призначена для попередження вітамінної та мінеральної недостатності [7, 8]. Препарат містить у своєму складі (відсотковий вміст у перерахунку на суху речовину): білки (до 22 %); амінокислоти (до 8 %); каротиноїди (до 12 мг/г); ліпіди (до 23 %); фосфоліпіди (до 1,8 %); ненасичені жирні кислоти (85 % від загальної кількості ліпідів); харчові волокна; вітамін С; макро- та мікроелементи.

Для подальшої розробки новітніх технологій отримання продуктів із *L. sulphureus* необхідно визначити основні умови культивування та зберігання найбільш продуктивних штамів. Для цього необхідно дослідити низку показників. Зокрема, особливої уваги потребує визначення критичної температури росту цього гриба.

Критична температура – температура, за якої гриб не росте, проте зберігає свою життєздатність. Вона є одним із ключових факторів, що забезпечує зберігання музейної культури, та межею, від якої можна відштовхуватись для подальшого регулювання процесів біосинтезу.

Температурний фактор впливає не тільки на швидкість росту і накопичення біомаси, а й на швидкість біосинтетичних процесів, що відбуваються в клітинах, і в підсумку – на склад синтезованих продуктів.

Зокрема, температурний режим може слугувати ефективним фактором регуляції не тільки синтезу, але і складу ліпідів як цільового продукту, що добувається з *L. sulphureus*. Так, зниження температури збільшує ступінь ненасиченості ліпідів.

Оскільки більшість літературних джерел основну увагу приділяють характеристиці саме фармацевтичної дії основних сполук, що виділяються з грибів, то встановлення основних умов зберігання штамів є важливим для проведення подальших досліджень.

Постановка задачі

Метою роботи є встановлення впливу підвищених (критичних) температур на ріст різних штамів гриба *L. sulphureus* при культивуванні в умовах поверхневого росту на агаризованому живильному середовищі.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були 14 штамів базидіального гриба виду *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill (*Basidiomycota*) з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, відомості про які наведені у табл. 1.

Таблиця 1. Список досліджуваних штамів *L. sulphureus*

Номер штаму	Рік виділення та місце походження культури
306	1969, Україна, м. Київ
307	1976, Україна, Тернопільська обл.
308	1971, Україна, м. Київ
1518	1997, Україна, м. Київ
1774	2001, Україна, м. Київ
1775	2001, Україна, м. Бровари, Київська обл.
1776	2001, Україна, м. Київ
1812	2002, Україна, м. Київ
1813	2002, Україна, м. Київ
1815	2002, Україна, м. Київ
1816	2002, Україна, м. Київ
1817	2002, Україна, м. Олевськ, Житомирська обл.
1818	2002, Україна, м. Олевськ, Житомирська обл.
1831	2003, Україна, м. Київ

Як живильне середовище було використано агаризоване пивне сусло. Культивування проводилось у пробірках на скошеному агарі. Музейну культуру нарощували перенесенням міцелію на чашки Петрі із сусло-агаром. Інокуляцію здійснювали міцеліальними дисками розміром 5 мм, які поміщались на скошений агар у пробірки. Інкубували в трьох повторах.

Дослідження росту та життєздатності штамів проводилось від 35 °С з кроком в один градус до 37 °С. Контроль росту – візуальний. Перевірка життєздатності міцелію проводилась, якщо при інкубуванні в умовах підвищеної температури не спостерігали ріст міцелію протягом трьох діб. Для визначення збереження життєздатності такі культури переносили в термостат за температури 28 °С. Період культивування становив три доби, по закінченні яких і фіксувались результати [9].

Результати і їх обговорення

Критична температура культивування грибною культурою – це та гранична температура, за якої гриб зберігає життєздатність, але припиняє ріст. Вона є важливою екологічною характеристикою, яку необхідно визначати задля підбору та підтримки умов зберігання цього виду в музейних культурах, для збереження для подальших досліджень, поширення і культивування.

Для більшості базидіальних грибів значення критичної температури лежать у межах від 36 до 44 °С. Тому щоб пересвідчитись, що критична температура для досліджуваного гриба лежить у цьому проміжку, нами було прийнято рішення проводити дослідження, починаючи з температури 35 °С (табл. 2). Усі досліджувані штами росли за температури 35 °С, що корелює з даними літератури [8, 10].

У той же час при збільшенні температури інкубування на 1 °С, тобто за температури 36 °С, ріст проявили лише 8 із досліджуваних штамів (307, 308, 1518, 1775, 1776, 1815, 1817, 1818), а за температури 37 °С ріст показали 3 штами (1518, 1815, 1776).

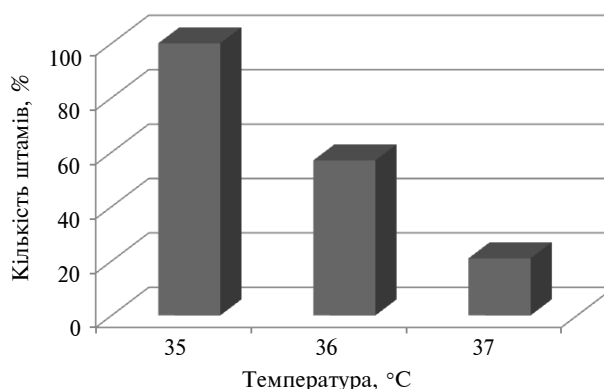
Як видно з рисунка, за температури 35 °С активний ріст проявляли 100 % штамів, за температури 36 °С – 57 %, за температури 37 °С – 21 %.

Таким чином, відсоток штамів, здатних рости при підвищенні температури, зменшується, що може свідчити про наближення до значення критичної температури.

Таблиця 2. Показник росту міцелію *L. sulphureus* за різних температур

Номер штаму	Температура, °С		
	35	36	37
306	+	–	н/д
307	+	сл.	н/д
308	+	сл.	н/д
1518	+	сл.	сл.
1774	+	–	н/д
1775	+	сл.	н/д
1776	+	+	сл.
1812	+	–	–
1813	+	–	н/д
1815	+	+	сл.
1816	+	–	–
1817	+	+	–
1818	+	+	н/д
1831	+	–	н/д

Примітка. “+” – ріст, “сл.” – слабкий ріст, “–” – ріст відсутній.



Порівняльна оцінка штамів *L. sulphureus* за ростом міцелію залежно від температури

Також у рамках досліджень було перевірено здатність до відновлення росту міцелію при перенесенні штамів, що не росли в сприятливіших температурних умовах. Попри відсутність росту в більшості штамів за температури 36 і 37 °С усі досліджувані штами за умов експерименту відновили життєдіяльність при подальшому інкубуванні за температури 28 °С.

Стійкість міцелію *L. sulphureus* до впливу високих температур деякі дослідники пояснюють варіабельністю складу цитозолу залежно від температурного режиму. Однією з таких змін є утво-

ренням протекторних вуглеводів, кількість яких різна за низьких та за високих температур [8, 11].

Висновки

Проведено дослідження 14 штамів *L. sulphureus* в умовах культивування на агаризованому пивному суслі за критичних температур.

У результаті було встановлено, що температура 37 °С є критичною для більшості розгля-

нутих штамів. Проте штами 1815, 1776, 1518 зберігають слабкий ріст за такої температури, що потребує подальших досліджень у цьому напрямі.

Проведені дослідження дають можливість розширити та доповнити біологічну базу знань для вивчення подальших властивостей гриба *L. sulphureus*.

Список літератури

1. *Фундаментальные основы микологии и создание лекарственных препаратов из мицелиальных грибов* / Е.П. Теофилова, А.П. Алехин, К.Г. Гончаров и др. – М.: Нац. академия микологии, 2013. – 152 с.
2. *Костромина Е.О., Чхенкели В.А.* Получение препаратов на основе дереворазрушающих грибов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Рос. академии мед. наук. – 2014. – № 6 (100). – С. 48–51.
3. *Wasser S.P.* Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2002. – **60**, № 3. – Р. 58–74.
4. *Противовирусная* активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов / И.А. Разумов, Т.А. Косогова, Е.И. Казачинская и др. // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2010. – **55**, № 9-10. – С. 14–18.
5. *Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре* / Под ред. И.А. Дудки. – К.: Наук. думка, 1983. – 312 с.
6. *Дзыгун Л.П.* Особливості дереворуйнівного базидіоміцета *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr.) Murrill в культурі // *Укр. ботан. журн.* – 2004. – **61**, № 1. – С. 100–105.
7. *Отбор* продуцентов противоопухолевых соединений среди базидиальных грибов / Т.В. Теплякова, О.И. Канаева, Т.А. Косогова и др. // *Наука и современность.* – 2011. – № 12-1. – С. 217–223.
8. *Гвоздкова Т.С., Пенина Л.В., Черноок Т.В.* Лекарственный базидиальный гриб *Laetiporu ssulphureus* – источник биологических активных соединений // *Перспективы использования лекарственных грибов при решении медико-экологических проблем: Матер. междунар. науч.-практ. конф., 10–11 сентября 2004 г., Киев.* – К., 2004. – С. 18–20.
9. *Михайлова О.Б., Поединок Н.Л.* Деякі біологічні властивості гриба *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Fr. (*Ascomycota*) як продуцента лікарських речовин // *Biotechnologia Acta.* – 2013. – **6**, № 3. – С. 100–109.
10. *Ганбаров Х.Г.* Эколого-физиологические особенности дереворазрушающих высших базидиальных грибов. – Баку: Элм, 1989. – 200 с.
11. *Особенности* роста дереворазрушающих базидиомицетов на агаризованных средах / Л.А. Антоненко, Л.П. Дзыгун, И.Р. Ключак, В.М. Линовицкая // *Высшие базидиальные грибы: индивидуумы, популяции, сообщества: Матер. конф.* – М.: Восток–Запад, 2008. – С. 38–53.

References

- [1] E. Feofylova *et al.*, *Fundamentals of Mycology and Creation of Medicinal Preparations from Mycelial Fungi*. Moscow, Russia: National Academy of Mycology, 2013 (in Russian).
- [2] E. Kostromina *et al.*, “Getting drugs on the basis of wood-destroying fungi”, *Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, no. 6 (100), pp. 48–51, 2014 (in Russian).
- [3] S.P. Wasser, “Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 60, no. 3, pp. 58–74, 2002. doi: 10.1007/s00253-002-1076-7
- [4] I. Razumov *et al.*, “Antiviral activity of aqueous extracts and polysaccharide fractions obtained from the mycelium and fruiting bodies of higher fungi”, *Antibiotiki i Himioterapija*, vol. 55, no. 9-10, pp. 14–18, 2010 (in Russian).
- [5] N. Bisko *et al.*, *Higher Edible Basidiomycetes in Surface and Submerged Culture*, I.A. Dudka, Ed. Kyiv, Ukraine: Naukova Dumka, 1983 (in Russian).
- [6] L.P. Dzyhun, “Peculiarities of wood-destroying basidiomycetes *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr.) Murrill in culture”, *Ukrayins'kyi Botanichnyy Zhurnal*, vol. 61, no. 1, pp. 100–105, 2004 (in Ukrainian).
- [7] T. Teplyakova, “Tackling of anticancer compounds producers among basidiomycetes”, *Nauka i Sovremennost'*, no. 12-1, pp. 217–223, 2011 (in Russian)

- [8] T. Gvozdkova *et al.*, “Medicinal basidiomycetes *Laetiporus sulphureus* – the source of biological active compounds”, in *Proc. Int. Conf. Prospects for the Use of Medicinal Fungi in Addressing Health and Environmental Problems*, Kyiv, Ukraine, Sept. 10–11, 2004, pp. 18–20 (in Russian).
- [9] O.B. Mykchaylova and N.L. Poyedinok, “Some biological properties of *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Fr. (Ascomycota) fungus as producer of medicinal substances”, *Biotechnologia Acta*, vol. 6, no. 3, pp. 100–109, 2013 (in Russian).
- [10] H. Ganbarov, *Ecological and Physiological Characteristics of Wood of Higher Basidiomycetes*. Baku, Azerbaijan: Elm, 1989 (in Russian).
- [11] L. Antonenko *et al.*, “Grow features of wood-basidiomycetes on agar media”, in *Proc. Conf. The Higher Basidiomycetes: Individuals, Populations, Communities*. Moscow, Russia, 2008, pp. 38–53 (in Russian).

О.О. Сироїд, Л.П. Дзыгун

ГРАНИЧНА МЕЖА КРИТИЧНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ ДЛЯ БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *LAETIPORUS SULPHUREUS*

Проблематика. На сьогодні посилюється увага до застосування різноманітних лікарських препаратів на основі *Laetiporus sulphureus*. Проте більшість літературних джерел зосереджена саме на фармакологічних властивостях отриманих продуктів, а питання культивування та зберігання музейних культур вивчене недостатньо.

Мета дослідження. Визначення критичної температури росту гриба, що є важливим показником для забезпечення зберігання культур найбільш продуктивних штамів.

Методика реалізації. Дослідження проводилось на 14 штаммах *Laetiporus sulphureus*. Культивування тривало протягом 3-х діб на середовищі із сусло-агару за температурних режимів 35, 36 і 37 °С.

Результати дослідження. Визначено верхню межу критичної температури росту для більшості штамів.

Висновки. Отримані данні свідчать, що для більшості з досліджуваних штамів гриба *Laetiporus sulphureus* температура 37 °С є критичною, проте штами 1518, 1776, 1815 зберігають слабкий ріст за цієї температури, що дає підґрунтя для подальших досліджень.

Ключові слова: гриби; базидіоміцети; полісахариди; *Laetiporus sulphureus*; критична температура.

Е.О. Сыроид, Л.П. Дзыгун

ПРЕДЕЛЬНАЯ ГРАНИЦА КРИТИЧЕСКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ДЛЯ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *LAETIPORUS SULPHUREUS*

Проблематика. В современном мире растет внимание к применению различных лекарственных препаратов на основе *Laetiporus sulphureus*. Однако большинство литературных источников сосредоточены именно на фармакологических свойствах полученных продуктов, а вопрос культивирования и хранения музейных культур изучен недостаточно.

Цель исследования. Определение критической температуры роста гриба, что является важным показателем для обеспечения хранения культур наиболее продуктивных штаммов.

Методика реализации. Исследование проводилось на 14 штаммах *Laetiporus sulphureus*. Культивирование продолжалось в течение 3-х суток на среде из сусло-агара при температурных режимах 35, 36 и 37 °С.

Результаты исследования. Определена верхняя граница критической температуры роста для большинства штаммов.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что для большинства штаммов гриба *Laetiporus sulphureus* температура 37 °С является критической, однако штаммы 1518, 1776, 1815 сохраняют слабый рост при этой температуре, что дает основания для дальнейших исследований.

Ключевые слова: грибы; базидиомицеты; полисахариды; *Laetiporus sulphureus*; критическая температура.

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
КПІ ім. Ігоря Сікорського

Надійшла до редакції
06 березня 2017 року