

*У. О. Быкова*

**ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МИЦЕЛИЯ LAETIPORUS SULPHUREUS И TRAMETES VERSICOLOR**

*Научный руководитель канд. мед. наук, В. Э. Бутвиловский*

*Кафедра биологии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*U. O. Bykova*

**ASSESSMENT OF ACTIVITY OF THE SECONDARY METABOLITES OF THE MICELIUM LAETIPORUS SULPHUREUS AND TRAMETES VERSICOLOR**

*Tutor: associate prof. V. E. Butvilovsky*

*Department of Biology*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Одним из приоритетных направлений развития современной микологии и био-технологии является использование высших базидиальных грибов. Из высших грибов получают биологически активные соединения, в том числе — лекарственные.

**Ключевые слова.** Микробиология, мицелий, фитогормоны.

**Resume.** One of the priority-driven directions of the development of the modern mycology and biotechnology is creation of technology using basidial mushrooms for producing biologically active components (proteins, lipids, polysaccharides, organic acids, vitamins, enzymes).

**Keywords.** Microbiology, mycelium, phytohormones.

**Актуальность.** В последнее время во всем мире наибольшее внимание уделяется культивированию лекарственных базидиальных грибов и разработке функциональных лекарственных препаратов на их основе. Актуальным является метод глубинного культивирования грибов на жидких питательных средах. А также, дальнейшее изучение культурального фильтрата, а именно вторичных метаболитов, находящихся в нем.

**Цель:** получение мицелия базидиальных лекарственных грибов *Laetiporus sulphureus* и *Trametes versicolor* путем глубинного культивирования на жидкой среде, с использованием отходов пищевого производства, изучение биологической активности метаболитов базидиомицетов и перспективы дальнейшего использования.

**Задачи:**

1. Сбор и выделение базидиальных лекарственных тест-штаммов грибов в чистую культуру.

2. Подготовка жидких питательных сред на основе отходов пищевого производства (капустная, картофельная, молочно-сывороточная, пивной дробины).

3. Инокулирование и жидкофазное культивирование тест-штаммов в динамических условиях.

4. Проведение сравнительного анализа полученных биомасс.

5. Определение антимикробной активности вторичных метаболитов тест-штаммов.

6. Определение действия фитогормонов тест-штаммов.

## 7. Оценка перспектив дальнейшего использования продукции тест-штаммов.

**Материалы и методы.** Для исследования были использованы местные штаммы лекарственных базидиальных грибов, выделенных нами из плодовых тел пораженных листовых деревьев: *Laetiporus sulphureus*, *Trametes versicolor*. На первом этапе нашего исследования мы произвели выделение мицелия лекарственных грибов в чистую культуру. На втором этапе мы подготовили 4 жидкие питательные среды: капустная, картофельная, среда на основе молочной сыворотки и среда на основе пивной дробины. На третьем этапе нам предстояло Изучение свойств вторичных метаболитов тест-штаммов. Для определения антагонистической активности лекарственных тест штаммов использовали в отношении бактерий: метод агаровых дисков.

По величине зон угнетения роста тест-штаммов бактерий анализировали чувствительность по отношению к метаболитам грибов.

Gr<sup>+</sup> бактерии (Gram-positive bacterium): *Staphylococcus saprophyticus*

Gr<sup>-</sup> бактерии (Gram-negative bacterium): *Pectobacterium carotovorum* 3-2 (бактериальный фитопатоген, вызывает гнили клубней и корнеплодов (картофель, свекла), *Escherichia coli* (кишечная палочка), *Salmonella typhimurium* (возбудитель брюшного тифа, сальмонеллёза). В отношении фитопатогенных грибов: метод встречного роста колоний. На полюса чашек Петри высевали лекарственные тест-грибы и фитопатогены. Далее по характеру взаимодействия определяли их активность. Для определения содержания каротиноидов *L. sulphureus* В мицелии использовали методики выделения и определения содержания пигментов и спектрофотометр: в ступке пестиком растирали мицелий (добавляли кварцевый песок и мел, для того что бы лучше разрушить грибные клетки). К полученной массе добавляли спирт. Фильтровали. Центрифугировали (осаждали). Проводили спектрофотометрию. Рассчитывали концентрацию каротиноидов. Действие фитогормонов определяли по ростовой реакции проростков. Семена тест-культур замачивали в фильтрах культуральной жидкости в различных разведениях (100%, 50%, 25%, 10%). В качестве тест-семян использовали :горох, салат, редис, томаты. После отделения мицелия, культуральную жидкость фильтровали. Затем, семена тест культур на сутки замачивали в фильтрах 100% культуральной жидкости и в разведении 50% и 25%, 10%. В качестве контроля использовали семена замоченные в воде. Через 24 часа после замачивания семена высевали на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри. Далее, По ростовой реакции проростков семян судили о действии фитогормонов. Измерения проводили каждый день. Показания записывали в лабораторный дневник. Фотографировали.

**Результаты и их обсуждения.** Анализ полученных биомасс мицелия лекарственных грибов на тест-средах показал, что минимальными, показатели накопления биомассы были у грибов (*Laetiporus*-17гр и *Trametes*-22 гр) культивируемых на питательной среде на основе пивной дробины. Наиболее активно лекарственные грибы формировали мицелий на молочно-сывороточной, капустной и картофельной средах. (до 67гр\200мл). Также на всех тест-средах наблюдалось образование мицелиальных пеллет исследуемых штаммов грибов. Что также свидетельствует о конкурентности условий для их роста, а также является важным биотехнологическим показателем. По морфометрическим показателем пеллет, известно, что чем меньше диаметр

пеллеты, тем благоприятнее среда. Результатам изучения антагонистических свойств лекарственных грибов показали, что выраженной антимикробной активностью в отношении Gr- и gr+ бактерий обладает гриб *Laetiporus sulphureus*. Зоны угнетения роста составляли от 0,7 до 1,4 мм в диаметре. Также этот гриб был активным в отношении фитопатогенных микромицетов. *Trametes versicolor* проявил слабую антибактериальную активность. *Laetiporus sulphureus* не показал присутствия фитогормонов в питательной среде, но *Trametes* в разведении 25 % стимулирует энергию прорастания семян. Уже спустя сутки наблюдалось 100% прорастание семян в разведении 25% (контрольная группа показала 70% прорастание семян). Так же был отмечен интенсивный рост корней некоторых тест-культур. Результаты нашей работы позволили нам предположить, что использование отходов пищевого производства может быть эффективным и экономически выгодным:

Например: из 100 литров молочной сыворотки мы можем получить 30,2 кг сухого мицелия *Laetiporus sulphureus*. Например: из 100л молочной сыворотки мы можем получить 30,2 кг сухого мицелия *Laetiporus sulphureus* и 60 литров культуральной жидкости

#### **Выводы:**

1. Молочная, картофельная и капустная питательные среды являются приемлемыми субстратами для продукции биомассы мицелия штаммов *Laetiporus sulphureus* и *Trametes versicolor*.

2. Среда на основе пивной дробины недостаточно сбалансированный субстрат, требующий внесения дополнительных источников азота и углерода.

3. Выделены высокопродуктивные штаммы гриба *Laetiporus sulphureus*, проявивший высокую антибактериальную активность и обладающий потенциалом в отношении фитопатогенных микромицетов.

4. Содержание каротиноидов в мицелии *Laetiporus sulphureus* зависит от состава среды и освещения.

5. *Trametes versicolor* обладает выраженной фитогормональной активностью

6. Установлена экономическая выгода использования пищевых отходов в качестве субстратов для глубинного культивирования.

#### **Литература**

1. Cui J., Chisti Y. (2003). Polysaccharopeptides of *coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. *Biotechnol. Adv.*, 109–122;

2. Iarosz W.A., Malarczyk E., Iarzysta M. (2003). Effect of saponin from *Midicago sativa* extract on biological activity of *Trametes versicolor*. *J. New Horizon of Bioscience in Forest products Field* 2003, 213–220;

3. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздкова Т.С. (2006). Новые биологические активные добавки на основе глинистого мицелия базидиальных грибов. *Успехи [SEP]медицинской микологии*, 178–180;

4. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Филимонова Т.В., Рожкова З.А., Поединок Н.Л., [SEP]Трухоновец В.В., Осадчая О.В. (2006). *Phallus impudicus* (L.: PERS), *Hericium erinaceus* (BULL.: FR) PERS и *Trametes versicolor* (FR.) QUEL Перспективные объекты биотехнологии. *Успехи медицинской микологии* 7, 220–222;