

РОСТОВІ ВЛАСТИВОСТІ БАЗИДІОМІЦЕТІВ *LAETIPORUS SULPHUREUS* У ПОВЕРХНЕВІЙ КУЛЬТУРІ

Калюжний Ю.А.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, kaliuzhnyi.yukhym@ill.kpi.ua

Abstract

*This article is devoted to the influence of the component composition of the nutrient media on the growth and enzymatic activity of *Laetiporus sulphureus* in surface culture was studied. It was found that extracts of birch sawdust and grape pomace slightly stimulate mycelial growth and significantly increase the activity of oxidoreductases, such as peroxidases.*

Keywords: *Laetiporus sulphureus*, cultivation, enzymes, peroxidase.

Вступ. Базидієві гриби, зокрема представники роду *Laetiporus*, привертають увагу дослідників завдяки широкому спектру біологічної активності та потенціалу використання в біотехнологічних процесах. *Laetiporus sulphureus* – ксилотрофний базидіоміцет родини *Fomitopsidaceae*, який широко розповсюджений у лісових екосистемах помірного клімату [1].

У зв'язку з підвищеним інтересом до використання цього виду у фармацевтичній, харчовій та аграрній промисловості, актуальним є дослідження його ростових характеристик в умовах контрольованого культивування. Поверхнева культура є зручною моделлю для вивчення фізіолого-біохімічних особливостей росту та розвитку мікроміцетів [2]. У цьому дослідженні проведено аналіз ростових параметрів *L. sulphureus* у поверхневій культурі з урахуванням змін середовища як фактору впливу на утворення біомаси.

Проведення досліджень складу поживного середовища є необхідним кроком для розуміння біологічних особливостей макроміцетів, що дозволяє регулювати накопичення біомаси чи продуктивність синтезу метаболітів.

Метою роботи був кількісний аналіз впливу поживних середовищ на ріст макроміцетів для вибору найбільш оптимальних варіантів поживних середовищ, а також аналіз ферментативної активності досліджуваних штамів.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були 5 штамів *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, що зберігаються у Музеї кафедри промислової біотехнології та біофармації (ФБТ, КПІ ім. Ігоря Сікорського): 1ПР, 15, 308, 1813, 1817.

Для поверхневого культивування використовувалися агаризовані поживні середовища, а саме: агаризоване пивне сусло (СА, 6° за Баллінгом), картопляно-глюкозний агар (КГА), середовище Норкранс (СНК) вихідне, а також із додаванням тирси берези (СНК-Б) та виноградних вичавок (СНК-В). Для стерилізації середовищ використовували стандартний спосіб автоклавування.

Для активації музейних культур *Laetiporus sulphureus* здійснювали їх пересів на пробірки діаметром 16 мм та довжиною 120 мм з 15 мл сусло-агару. Після цього штами *L. sulphureus* культивували на чашках Петрі в термостаті до повного обростання чашок. В якості посівного матеріалу використовували диски міцелію діаметром 5 мм, які вирізали стерильним пробійником на відстані 10 мм від краю колонії, вирощеної на сусло-агарі, та поміщали на чашку Петрі.

Ростовий коефіцієнт визначали за формулою:

$$PK = \frac{D \cdot H \cdot G}{t},$$

де D – діаметр колонії, мм; H – висота колонії, мм; G – щільність колонії, балів, t – вік колонії, діб [3].

Оцінку синтезу оксидазних ферментів при поверхневому культивуванні на твердих агаризованих середовищах здійснювали за допомогою якісних реакцій. В останній день інкубації безпосередньо на міцелій наносили відповідний хімічний реагент, після чого спостерігали та реєстрували зміну кольору колонії та прилеглого середовища через 24 год.

Лакказну активність виявляли завдяки реакції з розчином α -нафтолу, що дозволяє візуально фіксувати утворення забарвлених продуктів окиснення.

Тирозиназну активність визначали на основі реакції з p -крезолом, що також дозволяло фіксувати характерне забарвлення як індикатор активності ферменту.

Пероксидазну активність визначали за допомогою реакційної суміші, що включала 1 % розчин пірогалолу та 0,4 % перексиду водню (H_2O_2).

Результати та обговорення. Встановлено, що швидкість росту не завжди точно відображає ефективність середовища для культивування, оскільки вона не враховує кількість утвореного міцелію. Для цього доцільно використовувати показник ростового коефіцієнта (РК), що враховує діаметр, висоту та щільність колонії. Відповідно до розрахованих значень РК побудовано діаграму на рис. 1.

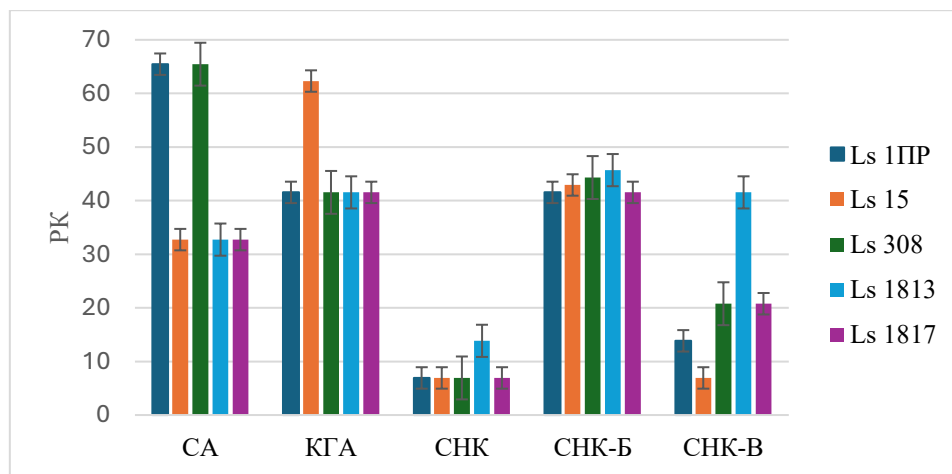


Рис. 1. Ростові коефіцієнти штамів *L. sulphureus*.

З отриманих результатів очевидно, що найбільш оптимальним середовищем для культивування були СА та КГА, що пояснюється високим вмістом поживних речовин у них. СНК як середовище з найменшим компонентним складом показало загалом нижчі результати, головним чином за таким параметром, як щільність колоній.

Ростовий коефіцієнт на середовищі з додаванням екстракту тирси берези був стабільно високим для всіх 5 штамів *L. sulphureus* 1ПР ($41,5 \pm 4,1$), 15 ($42,9 \pm 3,5$), 308 ($44,3 \pm 4,2$), 1813 ($45,7 \pm 4,5$) і 1817 ($41,6 \pm 3,2$).

По завершенню поверхневого культивування було проведено визначення ферментативної активності. Результати представлені в табл. 1.

Таблиця 1. Ферментативна активність досліджуваних штамів *L. sulphureus* на агаризованих поживних середовищах.

Штам	Фермент														
	Лакказа					Пероксидаза					Тирозиназа				
	СА	КГА	СНК	СНК-Б	СНК-В	СА	КГА	СНК	СНК-Б	СНК-В	СА	КГА	СНК	СНК-Б	СНК-В
1ПР	2	2	1	3	2	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1
15	2	2	1	3	2	0	0	0	1	1	1	0	2	1	1
308	2	2	1	3	2	0	0	0	2	2	1	0	1	2	1
1813	2	2	1	3	2	0	0	0	2	3	2	1	1	2	2
1817	2	2	1	3	2	0	0	0	2	3	1	2	1	1	1

Примітки: 0 – реакція відсутня; 1 – реакція слабо виражена; 2 – реакція середньої інтенсивності; 3 – реакція сильно виражена.

Як видно з табл. 1, досліджувані екстракти найбільше інтенсифікували синтез лаккази, що особливо виражено на середовищах із додаванням екстракту берези. Менш виражена якісна реакція спостерігалася при дослідженні пероксидазної та тирозиназної активності. Пероксидазна активність на СА, КГА та СНК не спостерігалася. Слід зазначити, що для виділеного з навколишнього середовища штаму *L. sulphureus* 1ПР пероксидазна активність спостерігалась тільки на СНК-Б. Отже, додавання екстрактів активувало синтез оксидоредуктаз.

Висновки. За результатами проведених експериментів була встановлена залежність між компонентним складом поживного середовища для поверхневого культивування та ростовими коефіцієнтами базидієвих грибів. Було визначено, що додавання екстрактів тирси берези та виноградних вичавок до вихідного середовища Норкранс позитивно впливає на ростові властивості *L. sulphureus*, оскільки поліфеноли, флавоноїди, таніни та лігніноподібні сполуки у складі екстрактів стимулюють ріст міцелію і підвищують ферментативну активність грибів, оскільки діють як природні індуктори синтезу оксидоредуктаз, активуючи вторинний метаболізм у відповідь на складні органічні субстрати.

Подяка: к. т. н. Клечак Інні Рішардівні, доценту, доценту кафедри ПБТБ ФБТ за керівництво експериментальною роботою.

Список використаної літератури:

1. Structural diversity, fermentation production, bioactivities and applications of triterpenoids from several common medicinal fungi: Recent advances and future perspectives / P. Zhao et al. *Fitoterapia*. 2023. Vol. 166. P. 105470. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105470>.
2. Krupodorova T., Barshteyn V., Sekan A. Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*. 2021. Vol. 11, no. 1. P. 494–531. URL: <https://doi.org/10.5943/cream/11/1/34>.
3. Reshetnyk K. S., Prysedsky Y. G. Growth, cultural and morphological characteristics of strains of *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Basidiomycota) under the influence of laser irradiation. *Ukrainian Botanical Journal*. 2020. Vol. 77, no. 6. P. 472–479. URL: <https://doi.org/10.15407/ukrbotj77.06.472>.