

10. Русанов Я.С. Факторы, определяющие степень повреждения лесных культур лосями. Вопросы лесного охотоведения // Сборник научных трудов. М.: Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, 1979. 119 с.

11. Соколов, Н. В. Лосиные биотопы антропогенного характера / Н.В. Соколов // Вестник Костромского государственного университета им. Н.А. Некрасова.

2011. Т. 17. № 5/6. С. 19–22.

12. Учёт лесного фонда Костромской области, формы Государственного лесного реестра по состоянию на 01 января 1966, 1978, 1988, 1998, 2008 годов. Государственный лесной реестр на 01.01.2014 года.

13. Научно-прикладной справочник по климату СССР. СПб: Гидрометеиздат, 1992. Серия 3. Часть 4. Выпуск 29. 582 с.

УДК 579.22.582.28

## Биологические особенности местных изолятов траметоидных трутовиков и некоторые аспекты их культивирования

© 2015. Г. Ф. Зарипова<sup>1</sup>, аспирант,  
А. А. Широких<sup>1,2</sup>, д.б.н., в.н.с., профессор,  
И. Г. Широких<sup>2</sup>, д.б.н., зав. лабораторией

<sup>1</sup>Вятский государственный гуманитарный университет  
<sup>2</sup>НИИСХ Северо-Востока,  
e-mail: irgenal@mail.ru

В лесных экосистемах подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока произведён сбор плодовых тел траметоидных трутовиков, перспективных в качестве продуцентов биологически активных соединений и лекарственных средств. Выделены в мицелиальную культуру 18 штаммов, отнесённых к восьми видам и трём родам (*Trametes* spp., *Daedaleopsis confragosa* и *Cerrena unicolor*). Изучены их культуральные и микроморфологические признаки при поверхностном культивировании на плотной среде. Выявленные межвидовые и межштаммовые различия представляют интерес для идентификации культур в лабораторных условиях по скорости роста, окраске, плотности мицелиального покрова и другим специфическим признакам. Показано, что представители траметоидных трутовиков могут проявлять антибактериальные свойства, обусловленные полисахаридами клеточной стенки. Выявлены различия в содержании эндополисахаридов в мицелии различных видов рода *Trametes* (от 9 до 49 мг/г). В трёхфакторном эксперименте установлено существенное ( $P \geq 0,99$ ) влияние состава среды на накопление биомассы мицелия траметоидных трутовиков при их росте в глубокой культуре. Полученные результаты будут использованы в дальнейших исследованиях, направленных на реализацию биоресурсного потенциала лесных экосистем этого региона.

In forest ecosystems of the southern taiga subzone of the European North-East collected fruit bodies of polypores as promising producers of biologically active compounds and pharmaceuticals. Isolated in mycelial culture 18 strains from eight species and three genera (*Trametes* spp., *Daedaleopsis confragosa* and *Cerrena unicolor*). Studied cultural and microscopic properties of fungi on the solid medium. Revealed differences on growth rate, color, density of filamentous cover and other specific characteristics are of interest for the identification of cultures in laboratory conditions. It is shown that the representatives of polypores can have antibacterial properties, due to the polysaccharides of the cell wall. Different species of the genus *Trametes* differ in the content of endopolysaccharide in the cell walls of the mycelium (9–49 mg/g). In three-factor experiment showed significant ( $P \geq 0,99$ ) influence of medium composition on the accumulation of biomass of mycelium polypores in their growth in deep culture. The results will be used in further studies aimed at the implementation of bioresource potential of forest ecosystems in this region.

Ключевые слова: базидиомицеты, мицелиальная культура, микроморфология, биомасса, полисахариды

Keywords: polyporus, mycelial culture, micromorphology, biomass, polysaccharides

В настоящее время всё большее внимание уделяется разработке новых лекарственных средств и биологически активных препаратов из природного сырья – растений и грибов. Высшие грибы – базидиомицеты – являются особо перспективными в отношении получе-

ния из них лекарственных препаратов и биологически активных добавок (БАД). В частности, разнообразно фармакологическое действие ксилотрофных базидиомицетов. Они обладают антимикробными, адаптогенными, иммуностимулирующими, седативными и прочи-

ми ценными свойствами, используются в качестве гипотензивных, капилляроукрепляющих, противоязвенных, противораковых и других средств [1 – 3].

Широко распространённой в природе группой ксилотрофных базидиальных грибов являются траметоидные трутовики. В фармакологическом отношении хорошо изучен ряд представителей грибов рода *Trametes* [4, 5]. Род *Trametes* впервые был описан Фризом (Fries) в 1838 году. В настоящее время таксон *Trametes* в широком смысле распался на 15 родов траметоидного морфотипа [6]. Траметоидный морфотип базидиальных грибов характеризуется одно- или двулетними сидячими плодовыми телами с неслойным (однослойным) гименофором и светлой (белой, древесного цвета, светло-коричневой) тканью. Базидиомы траметоидных трутовиков обычно имеют димитическую или тримитическую гифальные системы. Плектенхима базидиом у этих грибов организована генеративными и скелетными гифами, что является характерным для димитической системы. Тримитическая система, наряду со скелетными, характеризуется наличием в базидиоме связывающих гиф [7].

Биологическую активность траметесов связывают с присутствием в составе их плодовых тел глюканов, гетероглюканов и глюкозаминов. На основе полисахаридных компонентов клеточной стенки *Trametes versicolor* разработан противоопухолевый препарат «Крестин» [8]. Вид *T. pubescens* используется для производства отечественного препарата «Трамелан» – источника полисахаридов (β-гликанов). Антиопухолевый эффект биологически активных соединений грибов связывают с действием комбинаций тритерпенов и полисахаридов и возможной реализацией других механизмов [9]. Очевидно, что потенциал получения лечебно-оздоровительных препаратов на основе грибов рода *Trametes*, произрастающих в различных эколого-географических условиях, ещё далеко не исчерпан.

Выявление ресурсного потенциала ксилотрофных грибов с ценными свойствами в отдельных регионах, а также разработка способов искусственного культивирования мицелия базидиальных грибов в целях неистощительного использования ценных природных ресурсов имеет важное значение. В мицелиальных культурах базидиомицетов, как и в плодовых телах, обнаружены вещества, стимулирующие иммунную систему, обладающие противоопухолевой, антибактери-

альной, противовирусной и противогрибковой активностью, способные регулировать кровяное давление и понижать содержание сахара в крови [1, 2, 4, 5, 10].

Несмотря на слабую в целом изученность микологической флоры на территории Кировской области, известно, что представители траметоидных трутовиков довольно широко распространены здесь в лесных биоценозах. Так, некоторые «южные» виды (*T. versicolor*, *T. suaveolens*) отмечены нами в смешанных лесах на юге области. В результате исследований, регулярно проводимых в центральной части области на территории ГПЗ «Нургуш», сообщалось, что в экспедиционных сборах 2011 года отмечены виды *T. gibbosa* (часто), *T. hirsuta* (часто), *T. ochracea* (часто), *T. pubescens* (часто), *T. suaveolens* (единств.), *T. trogii* (единств.), *T. versicolor* (часто) [11]. Произрастание этих трутовиков на территории заповедника и его охранной зоны подтверждается также исследованиями В. М. Котковой [12], сотрудника Ботанического института им. В. Л. Комарова.

При лабораторном культивировании грибы обычно попадают в более благоприятные условия, чем те, которые характерны для них в природе. Это может влиять на проявление их физиолого-биохимического потенциала. В то же время условия, искусственно создаваемые для развития грибов в мицелиальной культуре, можно легко контролировать, что позволяет определять роль и влияние отдельных факторов среды на рост и развитие изучаемого вида и проявление им физиолого-биохимических свойств.

В задачи нашей работы входили сбор на территории Кировской области плодовых тел и получение мицелиальных культур траметоидных трутовиков, изучение биологических свойств местных изолятов для реализации их биотехнологического потенциала.

### Объекты и методы

Кировская область находится на востоке Восточно-Европейской равнины. Рельеф области – всхолмленный, в центральной части – Вятский Увал, на северо-востоке – Верхнекамская возвышенность (высота до 357 м), на севере – Северные Увалы. В соответствии с геоботаническим районированием [13] территория области входит в состав Урало-Западносибирской провинции Евразийской таёжной области на положении Камско-Печорской Западноуральской провинции. Такое положение определяет сходство флористи-

ческого состава и ценотической структуры её лесов с европейской и сибирской тайгой.

В смешанных лесах Вятскополянского района Кировской области и пригородных лесах окрестностей города Кирова были собраны базидиомы траметоидных трутовиков (рис. 1, см. цветную вкладку). Все грибы были найдены на стволах лиственных деревьев – берёзы, осины, ольхи. Идентификация грибных образцов выполнена И. В. Змитровичем (БИН, г. Санкт-Петербург). Мицелиальные культуры траметоидных трутовиков получали из базидиоспор на агаризированном пивном сусле (4° Бал) с добавлением 100 мкг/мл стрептомицина [14]. Собранные плодовые тела стерилизовали фламбированием, вырезали кусочки трамы и наклеивали их вазелином на внутреннюю сторону крышки чашки Петри таким образом, чтобы гименофор оказался обращён к поверхности питательной среды. Крышку с наклеенными кусочками помещали над питательной средой (чашка ставится на дно). Через сутки наблюдали на поверхности агара споры, высыпающиеся из гименофора. Крышки на чашках заменяли на стерильные и культивировали чашки в термостате при 27°C в течение 5–7 сут в зависимости от скорости роста мицелия. Выросшие культуры отсеивали на скошенный сусло-агар и хранили в холодильнике при 4°C.

Для изучения характера роста и микроморфологии мицелия культуры выращивали на агаризированном пивном сусле, разведённом до 4° Бал, при температуре 27°C от 3 до 7 сут, в зависимости от скорости роста колонии: медленно растущие – *T. suaveolens* 1-13, *S. unicolor* К-1-13, *D. confragosa* 1-13 – культивировали в течение 7 сут., остальные – 3-е сут. Заселение субстрата производили точно уколом в центр чашки Петри. Микроскопирование (Leica 2500MD, Германия) проводили на 3-и, 5-е и 7-е сут. для быстрорастущих видов и на 7-е, 9-е, 11-е сут. для видов, медленно растущих. Отмечали в динамике время появления и наличие следующих типов микроструктур: 1) пряжки различного размера; 2) септы; 3) категориальность гиф колонии (осевые, поисковые, переплетающиеся гифы); 4) мицелиальные тяжи; 5) кораллоподобное ветвление гиф; 6) анастомозные образования на гифах; 7) структуры бесполого размножения различного типа: артроконидии и артроспоры, бластоконидии и бластоспоры.

Для получения мицелиальной биомассы трутовики выращивали в жидких средах с использованием инкубационного шейке-

ра. Жидкофазное культивирование проводили на трёх питательных средах: 1) неохмеленное пивное сусло плотностью 4° Бал (НС), 2) глюкозо-картофельная среда (ГК), 3) синтетическая минеральная среда (СМС) [15]. Культивирование вели в течение 10 и 14 сут. Затем мицелиальную биомассу отделяли при помощи сита, промывали до светлой воды, высушивали при 60°C.

Полисахаридную фракцию получали из мицелия методом экстракции горячей водой с последующим осаждением этанолом [8]. Для экстракции грибных эндополисахаридов навеску сухого мицелия массой 3,0 г заливали 50 мл дистиллированной воды, нагретой до 70°C, и настаивали в течение 24 час. Для осаждения полисахаридной фракции к 50 мл экстракта добавляли 100 мл 96% этанола и полученную взвесь отстаивали при 4°C в течение 1 сут. Осадок отделяли декантированием и упаривали на водяной бане (85°C) до сухого остатка.

Антибактериальную активность траметоидных трутовиков определяли методом диффузии в агар, используя блоки и бумажные диски. Культуральную жидкость 30-суточной стационарной культуры гриба (экзометаболиты) отделяли от биомассы центрифугированием. Эндометаболиты гриба выделяли из мицелиальной биомассы, для чего мицелий заливали 100 мл горячей воды (70°C) и оставляли на 24 час. Из полученных водных экстрактов отбирали по 15 мл, добавляли этилацетат в соотношении 2:1, смесь интенсивно встряхивали 10 минут и выдерживали при 4°C в течение 20 час. Затем этилацетатную фракцию упаривали на водяной бане для концентрирования антибактериальных метаболитов [16]. Полученный осадок разводили в 10%-ом водном метаноле и наносили в объёме 25 мкл на диски фильтровальной бумаги, диаметром 15 мм, которые подсушивали на воздухе, а затем помещали на поверхность среды со свежим газонным посевом тест-бактерий *Escherichia coli* K17, *Erwinia rhapontici* ДАГ1-1, *Pseudomonas fluorescens* 540, *P. putida* 1608, *Artrobacter mysorens* 7. После инкубации чашек измеряли диаметр зон игибирования роста бактериальной культуры.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с применением программ EXCEL и STATGRAPHICS Plus.

### Результаты и обсуждение

В результате сбора плодовых тел в смешанных лесах Вятскополянского района Ки-

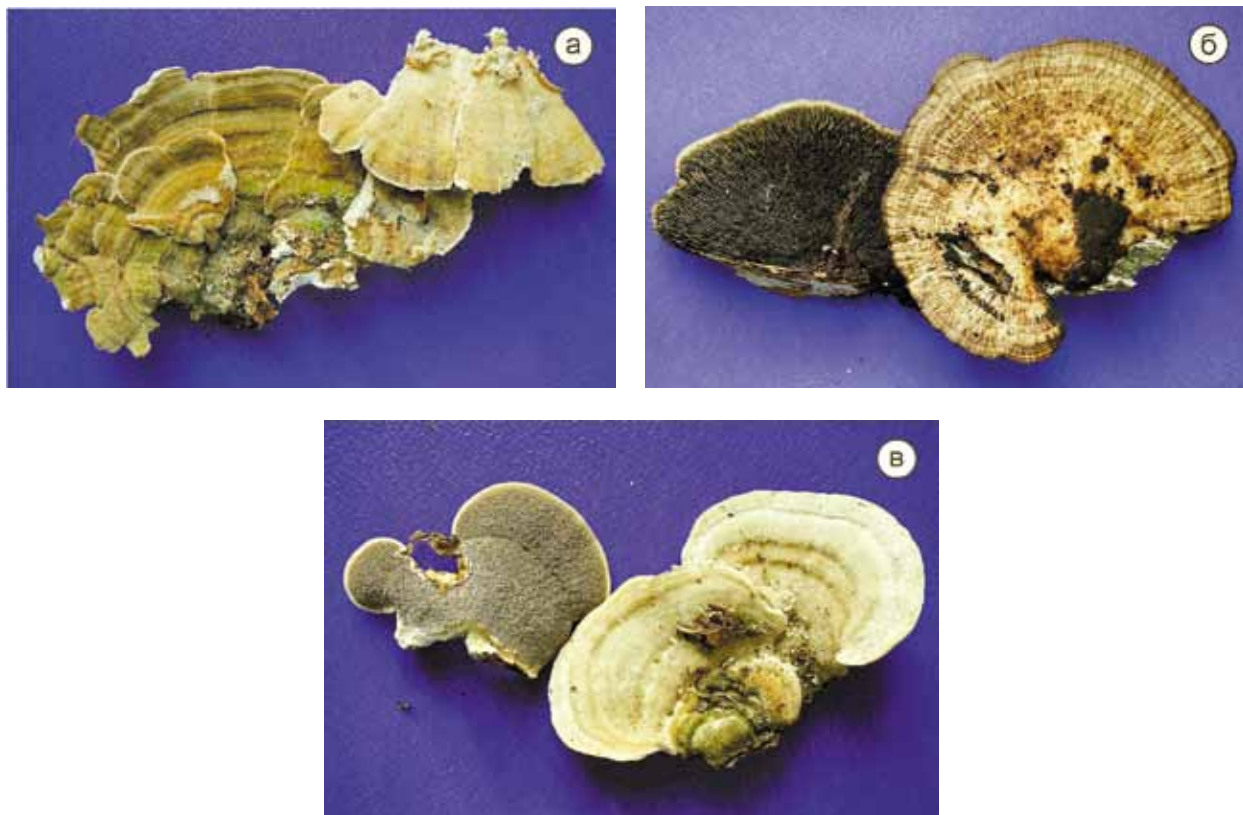
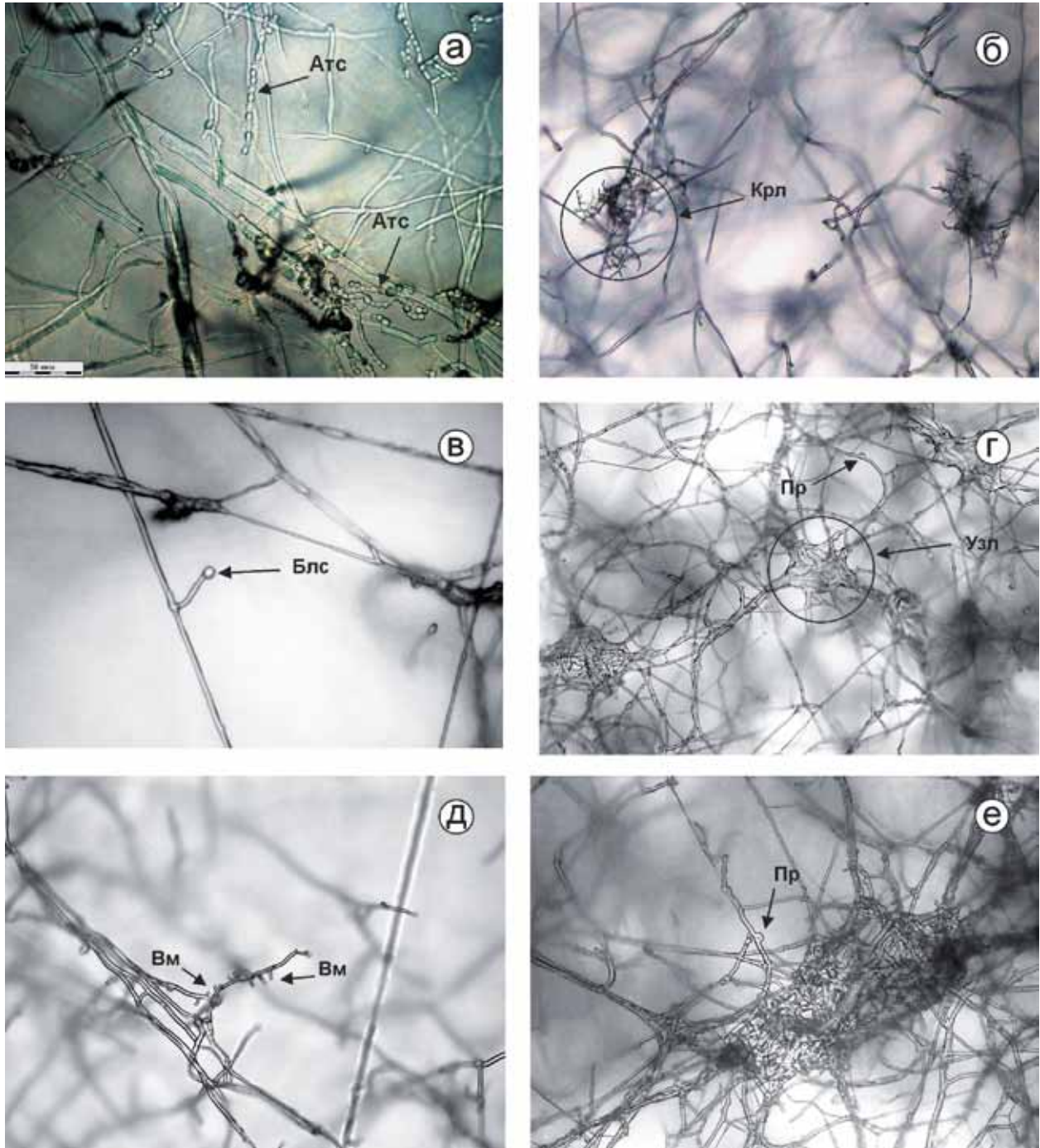


Рис. 1. Внешний вид плодовых тел некоторых траметоидных трутовиков:  
а) *Trametes versicolor*; б) *Daedaleopsis confragosa* в) *T. hirsuta*



Рис. 3. Морфология мицелиальной культуры *Trametes versicolor* при глубинном культивировании:  
а) пятишпичные пеллеты с тяжами поискового мицелия; б) тяжи поискового мицелия,  $\times 100$ .

Г. Ф. ЗАРИПОВА, А. А. ШИРОКИХ, И. Г. ШИРОКИХ  
 “БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕСТНЫХ ИЗОЛЯТОВ  
 ТРАМЕТОИДНЫХ ТРУТОВИКОВ И НЕКОТОРЫЕ  
 АСПЕКТЫ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ” (С. 94)



**Рис. 2.** Микроморфологические структуры на мицелии траметоидных трутовиков:  
 а) артроспоры (Атс) на мицелии *Cerrena unicolor*, ×400; б) кораловидные выросты (Крл)  
 на мицелии *Trametes versicolor*, ×200; в) бластоспора (Блс) на мицелии *T. versicolor*, ×400;  
 г) анастомозы мицелия в виде узелков (Узл) *T. versicolor*, ×200; д) боковые выросты мицелия (Вм)  
*T. versicolor*, ×400; е) пряжки на мицелии (Пр) *T. versicolor*, ×400.

Таблица 1

Специфические микроморфологические изменения мицелия в культурах траметоидных трутовиков при твердофазном культивировании

Культуры грибов	Появление микроморфологических структур мицелия, сут						
	пряжки	септы	тяжи мицелия	коралловидные ветвления	анастамозы	артро-споры	бласто-споры
<i>T. versicolor</i> К-1-12	3	3	3	5	5	нет	3-7 (много)
<i>T. versicolor</i> ВП-1-12	3	3	3	нет	3-7 (в виде узелков)	нет	5
<i>T. hirsuta</i> ВП-12-12	3	3	3	нет	3-7 (в виде узелков)	нет	3
<i>T. ochracea</i> ВП-9-12	3	3	3	7	3-7 (в виде узелков)	нет	3
<i>T. suaveolens</i> 1-13	7	7	7	нет	нет	9	нет
<i>C. unicolor</i> К-1-13	7	7	11	нет	нет	7 (много)	нет
<i>D. confragosa</i> 1-13	7	7	7	нет	7 (в виде узелков)	нет	7

ровской области и пригородных лесах окрестностей города Кирова за период 2012–2015 гг. было собрано 18 образцов. Все грибы были найдены на стволах лиственных деревьев: берёзы, осины, ольхи. В лаборатории биотехнологии растений и микроорганизмов ФГБНУ «НИИСХ Северо-Востока» из собранных образцов были получены мицелиальные культуры рода *Trametes* – *T. versicolor* (8 изолятов), *T. ochracea* (2 изолята), *T. hirsuta* (3 изолята) и по одному изоляту *T. pubescens* ВП-1-15, *T. gibbosa* ВП-1-15, *T. suaveolens* 1-13 и траметоидных трутовиков *Daedaleopsis confragosa* 1-13 и *Cerrena unicolor* К-1-13 (рис. 1, см. цветную вкладку). В качестве образца сравнения в исследованиях был включен штамм *T. versicolor* 2263, полученный из коллекции БИН им. В. Л. Комарова и отличающийся по своему эколого-географическому происхождению: данный штамм был изолирован из плодового тела гриба, собранного в Алтайском крае.

При работе с чистыми мицелиальными культурами часто возникает необходимость подтвердить идентификацию или вновь установить таксономическую принадлежность макромицетов. Успех решения таких задач обусловлен наличием микроморфологических отличий или иных специфических признаков (запах, цвет, скорость роста, структура колонии, способность к образованию телеморфы и др.) у таксономически различных культур. В литературе уже отмечалось наличие специфических микроморфологических признаков у разных видов макромицетов. К их числу относят способность образовывать телеморфу в условиях лабораторного культивирования, особенности анаморфных структур, инкруста-

цию гиф кристаллами, наличие и количество ядер в клетках мицелия, наличие спор, особенности гифальной структуры на всех стадиях роста, от прорастания споры до формирования полноценной мицелиальной культуры [3, 16, 17].

В процессе прямого микроскопического наблюдения у всех исследуемых штаммов были выявлены такие морфологические структуры, как септы, пряжки, мицелиальные тяжи, и все культуры спорадически, иногда очень обильно, накапливали внутри клеток воду, образуя довольно внушительные утолщения гиф. В первые сутки роста вокруг укола образовывалась фронтальная зона – «зона нарастания», состоящая из погружённых и полупогружённых в агар многоядерных и лишённых септации гиф. Ранний мицелий, образующийся за фронтальной зоной, характеризовался нерегулярными септами, выраженным ветвлением, но при этом отсутствием пряжек и анастамозов. У некоторых штаммов гифы воздушного мицелия могли распадаться на артроспоры. Появление определённых микроморфологических структур в мицелиальных культурах трутовиков существенно зависело от скорости роста конкретного штамма гриба (табл. 1).

На более поздних (от трёх суток и более) этапах роста практически все культуры формировали пряжки, септы и тяжи мицелия, но для некоторых видов образуемые структуры были достаточно уникальными в пределах изучаемой группы (рис. 2, см. цветную вкладку). Например, культура *C. unicolor* К-1-13 обильно формировала артроспоры, чего не наблюдалось у других видов исследованных

трутовиков, за исключением *T. suaveolens* 1-13 в небольшом количестве (рис. 2 а, см. цветную вкладку). Культура *T. versicolor* К-1-12, изолированная в окрестностях г. Кирова, образовывала кораллоподобные ветвления гиф, чего не наблюдалось в процессе роста штамма *T. versicolor* ВП-1-12 (г. Вятские Поляны) (рис. 2б). У последнего штамма blastospores образовывались также несколько позже, чем у *T. versicolor* К-1-12 (г. Киров), что говорит о существовании некоторых штаммовых различий в пределах вида (рис. 2 в, см. цветную вкладку). У ряда видов траметоидных трутовиков анастомозные образования зачастую были представлены в виде очень плотных срастаний с расходящимися в разные стороны нитями гиф, мы назвали такие образования «узелками» (рис. 2 г, см. цветную вкладку). При этом в мицелии грибов *T. suaveolens* 1-13 и *S. unicolor* К-1-13 образование анастомозов не обнаружено, возможно, из-за более медленной, в сравнении с другими исследованными культурами, радиальной скорости этих видов.

Наряду с микроморфологическими, у отдельных видов грибов были отмечены характерные только для них культуральные признаки. Так, культура *T. suaveolens* 1-13 имела специфический, довольно приятный запах (аниса), его мицелий на чашке со временем приобретал желтоватый оттенок. Мицелий гриба *D. confragosa* 1-13 имел чрезвычайно плотный покров, который со временем приобретал коричневую окраску. Вид *S. unicolor* К-1-13 на начальной стадии роста выбрасывал высокие воздушные тяжёлые мицелия, не наблюдавшиеся в культурах других видов грибов. Выявленные различия в культуральных и микроморфологических свойствах исследованных видов и штаммов позволяют утверждать, что у траметоидных трутовиков существуют выраженные особенности, которые позволяют идентифицировать их в лабораторных условиях по скорости роста, окраске, плотности мицелиального покрова и другим специфическим признакам.

Глубинное культивирование является одним из оптимальных способов выращивания мицелия грибов в лаборатории [3, 15, 17]. В условиях глубинной культуры у траметоидных трутовиков возникает иной морфотип, чем при росте на твёрдых средах. Культуры образуют обильно опушённые округлые или продолговатые структуры, подобные пеллетам. Причём плотная часть такой пеллеты приходится на её центр, а по направлению к пе-

риферии её структура становится более рыхлой. В первые трое суток роста пеллеты, образуемые *T. versicolor*, выглядят как округлые образования размером от 1 до 5 мм. По мере дальнейшего роста культуры и истощения питательных веществ на поверхности пеллет образуются тяжёлые поискового мицелия, который разрастается во все стороны в поисках свежего питательного субстрата (рис. 3, см. цветную вкладку). Образование пеллет в условиях глубинного культивирования характерно для грибов с дифференцированным мицелием, а именно димитической и тримитической гифальными системами [18], какими и являются траметоидные трутовики.

К числу наиболее существенных факторов, оказывающих влияние на скорость роста глубинной культуры, выход биомассы и накопление биологически активных веществ, относится состав питательной среды. Поэтому следующей задачей наших исследований явился подбор оптимальной питательной среды для лабораторного культивирования траметоидных трутовиков с учётом возможных видовых и штаммовых различий в их трофических потребностях.

В результате сравнения продуктивности семи штаммов, представляющих пять различных видов траметоидных грибов, на трех питательных средах с различными источниками углерода и азота было установлено, что продуктивность штаммов на неохмелённом пивном сусле ( $0,485 \pm 0,013$  г) в среднем выше, чем при культивировании на ГК ( $0,338 \pm 0,013$  г) и СМС ( $0,254 \pm 0,013$  г). Только для вида *T. hirsuta* ВП-12-12, в отличие от других изученных культур, наибольший выход биомассы наблюдался на глюкозо-картофельной среде (табл. 2).

Для всех штаммов количество продуцируемой биомассы было достоверно ( $P \geq 0,95$ ) выше при увеличении времени культивирования от 10 ( $0,309 \pm 0,04$  г) до 14 ( $0,410 \pm 0,011$  г) суток.

По общей продуктивности исследованные штаммы были поделены на три группы:

- высокопродуктивные – *T. versicolor* К-1-12, *T. versicolor* 2263 (различия между *T. ochracea* ВП-9-12 и *T. versicolor* 2263 недостоверны);
- среднепродуктивные – *T. versicolor* ВП-1-12, *T. ochracea* ВП-9-12;
- низкопродуктивные – *T. hirsuta* ВП-12-12, *T. suaveolens* 1-13, *D. confragosa* 1-13.

Наиболее продуктивным среди изученных оказался штамм *T. versicolor* 2263 с выходом биомассы 0,7672 г (на пивном сусле за 14

Таблица 2

Накопление биомассы мицелия культурами траметоидных трутовиков

Культуры грибов	Биомасса при различной продолжительности культивирования на средах, г					
	НС		ГК		СМС	
	10 сут	14 сут	10 сут	14 сут	10 сут	14 сут
<i>T. versicolor</i> ВП-1-12	0,35	0,55	0,26	0,38	0,25	0,32
<i>T. versicolor</i> К-1-12	0,39	0,58	0,34	0,44	0,24	0,34
<i>T. versicolor</i> 2263	0,41	0,77	0,39	0,50	0,23	0,35
<i>T. hirsute</i> ВП-12-12	0,24	0,32	0,34	0,37	0,18	0,24
<i>T. suaveolens</i> 1-13	0,26	0,40	0,30	0,32	0,17	0,23
<i>T. ochracea</i> ВП-9-12	0,27	0,44	0,23	0,28	0,15	0,20
<i>D. confragosa</i> 1-13	0,28	0,47	0,21	0,25	0,14	0,20
НСР <sub>095</sub> (среда) 0, 013						
НСР <sub>095</sub> (штамм) 0, 020						
НСР <sub>095</sub> (время) 0, 010						

Таблица 3

Зоны ингибирования роста бактерий мицелием грибов рода *Trametes*

Культуры грибов	Тест-культуры бактерий, мм				
	<i>E. coli</i> K17	<i>E. rhapsodici</i> ДА1-1	<i>P. fluorescens</i> 540	<i>P. putida</i> 1608	<i>A. mysorens</i> 7
<i>T. suaveolens</i> 1-13	13,7±6,0	25,3±0,6	0	31,0±6,9	12,0±4,0
<i>T. hirsuta</i> ВП-12-12	27,7±2,5	22,7±9,3	0	22,3±12,4	21,0±5,6
<i>T. versicolor</i> К-1-12	24,7±8,4	20,7±8,4	0	24,7±10,1	15,7±9,3
<i>T. versicolor</i> ВП-1-12	28,0±3,5	28,3±9,3	0	23,3±5,5	12,0±3,6

Таблица 4

Зоны ингибирования роста тест-бактерий этилацетатной фракцией водных экстрактов мицелия грибов рода *Trametes*

Культуры грибов	Тест-культуры бактерий, мм				
	<i>E. coli</i> K17	<i>E. rhapsodici</i> ДАГ1-1	<i>P. fluorescens</i> 540	<i>P. putida</i> 1608	<i>A. mysorens</i> 7
<i>T. suaveolens</i> 1-13	27,0±2,0	18,7±1,2	27,0±1,7	24,7±0,6	0
<i>T. hirsuta</i> ВП-12-12	27,7±1,2	18,0±1,0	25,0±3,0	22,7±1,5	0
<i>T. versicolor</i> К-1-12	28,0±3,6	19,3±1,2	25,7±1,2	26,7±2,5	0
<i>T. versicolor</i> ВП-1-12	27,0±2,6	21,0±2,6	25,0±1,0	26,3±2,1	0

Таблица 5

Биомасса эндополисахаридов, продуцируемых различными видами траметоидных трутовиков

Культуры грибов	Масса эндополисахаридов, г
<i>T. versicolor</i> К-1-12	0,2243 ± 0,03
<i>T. suaveolens</i> 1-13	0,0881 ± 0,02
<i>T. hirsuta</i> ВП-12-12	0,4783 ± 0,03
<i>T. ochracea</i> ВП-9-12	0,2798 ± 0,03



суток). Наименее продуктивным, при тех же условиях, являлся штамм *T. suaveolens* 1-13 с выходом биомассы 0,3946 г (т.е. практически вдвое меньше).

В результате обработки полученных данных методом трёхфакторного (факторы: А – штамм, В – среда, С – время культивирования) дисперсионного анализа установлено, что наибольшее влияние на накопление биомассы траметоидными грибами в мицелиальной культуре оказал фактор среды В ( $F=75,63$  при  $P \geq 0,99$ ), тогда как фактор времени С определял величину накопления биомассы, хотя и достоверно, но в меньшей степени, чем среда ( $F=42,94$  при  $P \geq 0,99$ ). В этих условиях влияние самого штамма (фактор А) на выход биомассы было значительно слабее ( $F=18,28$  при  $P \geq 0,99$ ).

В ходе определения антибактериальной активности траметоидных трутовиков было установлено, что в целом исследуемые грибы оказывали на грамотрицательные бактерии более сильное воздействие, чем на грамположительный вид *A. mysorens* 7, однако в отношении *P. putida* 1608 среди исследованных культур не оказалось антагонистически активных штаммов (табл. 3).

Тестирование на антимикробную активность культуральной жидкости, полученной после глубинного выращивания мицелия, показало, что она не обладает антимикробной активностью. Следовательно, изученные штаммы траметоидных трутовиков не синтезируют водорастворимых экзометаболитов с антибактериальной активностью, а ингибирующий эффект в отношении бактерий, наблюдаемый при непосредственном контакте грибного мицелия с бактериями, обусловлен иными причинами.

В литературе имеются сведения об использовании хитин-глюканового комплекса макромицетов для лечения ряда заболеваний бактериальной и вирусной природы [19]. Руководствуясь данными, что антимикробные вещества могут являться компонентами клеточной стенки грибов, мы исследовали действие на рост тест-бактерий этилацетатной фракции водных экстрактов мицелия местных штаммов траметесов.

Водные экстракты мицелия, в отличие от культуральной жидкости этих же штаммов трутовых грибов, проявили выраженную антибактериальную активность в отношении грамотрицательных тест-бактерий, тогда как в отношении грамположительной бактерии *A. mysorens* 7 такая активность не отмечена (табл. 4).

Таким образом, исследованные грибы рода *Trametes* не продуцируют в культуральную жидкость антибактериальные метаболиты. Ве-

щества, проявляющие ингибирующий эффект в отношении грамотрицательных бактерий, связаны с клеточной стенкой мицелия грибов и могут быть экстрагированы из неё горячей водой. Такими соединениями являются полисахариды клеточной стенки [20]. В связи с этим следующим этапом работы явилась оценка продуктивности разных видов рода *Trametes* в отношении полисахаридов клеточной стенки.

Исследования показали, что наиболее продуктивным видом оказался *T. hirsuta* ВП-12-12, наименее продуктивным – *T. suaveolens* 1-13, а *T. versicolor* К-1-12 и *T. ochracea* ВП-9-12 были сопоставимы по количеству эндополисахаридов в составе их клеточных стенок (табл. 5).

### Заключение

В результате выполненных исследований впервые для Кировской области сформирована рабочая коллекция мицелиальных культур местных представителей траметоидных трутовиков, включающая 18 штаммов.

Изучение культуральных свойств и микроморфологических особенностей мицелиальных культур при поверхностном культивировании позволило выявить в пределах данной коллекции межвидовые и межштаммовые различия и определить критерии для проведения таксономической идентификации отдельных видов траметоидных грибов даже в мицелиальной культуре.

Траметоидные трутовики, являясь ксилотрофными грибами, в мицелиальной культуре всё же обладают не только видовыми, но и штаммовыми различиями в своих трофических потребностях, что подтверждается разным уровнем накопления биомассы при выращивании в глубинной культуре на различных по составу средах.

Местные изоляты траметоидных трутовиков могут проявлять антибактериальную активность, обусловленную, очевидно, полисахаридным комплексом клеточной стенки. Установлены существенные различия в количественном содержании эндополисахаридов у различных видов рода *Trametes*.

Полученные результаты расширяют имеющиеся ранее представления о биологии траметоидных грибов, произрастающих в подзоне южной тайги Европейского Северо-Востока, и будут использованы в дальнейших исследованиях, направленных на реализацию биоресурсного потенциала лесных экосистем этого региона.

## Литература

1. Бабицкая В.Г. Грибные пищевые добавки // Микробиология и биотехнология XXI: Матер. междунар. конф. Минск. 2002. С. 202–203.
2. Wasser S.P., Akavia E. Regulatory issues of mushrooms as functional foods and dietary supplements: Safety and efficacy // *Mushr. Functional Foods*. 2008. P. 199–226.
3. Ильина Г.В. Эколого-географический потенциал природных изолятов ксилотрофных базидиомицетов: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук, Пенза. 2011. 48 с.
4. Ли Юй, Тулигуэл, Бао Хайни, Широких А.А., Широких И.Г., Егшина Т.Л., Кириллов Д.В. Лекарственные грибы в традиционной китайской медицине и современных биотехнологиях / Под ред. В.А. Сысуева. Киров. О-Краткое. 2009. 320 с.
5. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск. 2014. 298 с.
7. Zmitrovich I.V., Ezhov O.N., Wasser S.P. A Survey of Species of Genus *Trametes* Fr. (Higher Basidiomycetes) with Estimation of Their Medicinal Source Potential // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2012. V. 14 (3). P. 307–319.
8. Змитрович И.В. Феноменология мицелия. Электронный ресурс: [http://mycol-argol.ru/event\\_00001/Zmitrovich\\_event00001.pdf](http://mycol-argol.ru/event_00001/Zmitrovich_event00001.pdf).
9. Jian Cui, Yusuf Chisti Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production // *Biotechnology Advances*. 2003. V. 21 (2). P. 109–122.
10. Yang M., Wang X., Guan S., Xia J., Sun J., Guo H., Guo D.A. Analysis of Triterpenoids in *Ganoderma lucidum* Using Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2007. V. 18. P. 927–939.
11. Переведенцева Л.Г. Лекарственные грибы Пермского края. Пермь. 2011. 146 с.
12. Ставищенко И.В., Веселовская А.В. Афиллофоридные грибы заповедника «Нургуш» (Кировская область) // *Микология и фитопатология*. 2011. Т. 45. Вып. 3. С. 260 – 270.
13. Коткова В.М. Изучение афиллофоровых грибов в лесах заповедника «Нургуш» / Научные исследования как основа охраны природных комплексов заповедников: Сб. материалов Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 20-летию Государственного природного заповедника «Нургуш» (г. Киров, 10–11 сентября 2014 г.). Киров: ООО «Типография «Старая Вятка», 2014. Вып. 2. С. 70–73.
14. Геоботаническое районирование Нечерноземья европейской части РСФСР. Л.: БИН АН СССР. 1989. 63 с.
15. Зарипова Г.Ф. Изоляция траметоидных трутовиков рода *Trametes* в мицелиальную культуру из базидиоспор // Молодёжь и наука на Севере: Материалы докладов II Всероссийской (XVII) молодёжной научной конференции (с элементами научной школы). Т. 1. Сыктывкар, 2013. С. 44–45.
16. Krishna Bolla, B.V. Gopinath, Syed Zeenat Shaheen, M.A. Singara Charya. Optimization of carbon and nitrogen sources of submerged cultur process for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Trametes versicolor* // *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*. 2010. V. 1 (2). P. 15–21.
17. Дьяков М.Ю., Камзолкина О.В., Штаер О.В., Бисько Н.А., Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Тихонова О.В., Толстихина Т.Е., Васильева Б.Ф., Ефременкова О.В. Морфологические признаки природных штаммов некоторых видов базидиомицетов и биологический анализ антимикробной активности в условиях глубинного культивирования // *Микология и фитопатология*. 2010. Т. 44. Вып. 3. С. 225–239.
18. Бухало А.С., Вассер С.П., Михайлова О.Б. Микроморфологическая характеристика съедобных и лекарственных макромицетов в чистой культуре // Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 1. / Под ред. С.П. Вассера. Киев: Альтерпрес, 2011. С. 105–134.
19. Ильина Г.В., Ильин Д.Ю. Ксилотрофные базидиомицеты в чистой культуре. Пенза: РИО ПГСХА, 2013. 222 с.
20. Феофилова Е.П. Хитин грибов: распространение, биосинтез, физико-химические свойства и перспективы использования. М.: Наука, 2002. 365 с.
21. Мурадов П.З., Гахраманова Ф.Х., Гасанова В.Я., Караюсифова А.К., Алиев Ф.Е., Рзаев А.А. Базидиальные грибы как продуценты веществ, обладающих фармакологическими и радиопротекторными свойствами // *Успехи медицинской микологии: Материалы VI Всерос. конгр. М.: Нац. Академ. Микол.* 2014. Т. XII. С. 326–328.