

Траметоидные трутовики Русской равнины как источник полисахаридов с криопротекторными свойствами

© 2017. Т. В. Полежаева¹, д. б. н., зав. лабораторией,
 А. Н. Худяков¹, к. б. н., с. н. с., М. И. Сергущкина¹, м. н. с.,
 И. Г. Широких^{1,2,3}, д. б. н., зав. лабораторией,
 А. А. Широких^{2,3}, д. б. н., в. н. с., О. М. Безмельцева¹, м. н. с.,
 О. Н. Соломина¹, к. б. н., н. с., О. О. Зайцева¹, к. б. н., с. н. с.,

¹Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
 167982, Россия, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50,

²Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства
 Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
 610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166 а,

³Вятский государственный университет,
 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36,
 e-mail: ddic@yandex.ru, irgenal@mail.ru

С помощью криоскопического метода изучена способность эндополисахаридов грибов рода *Trametes* (*T. hirsute*, *T. ochracea*, *T. versicolor*, *T. suaveolens*) и *Cerrena unicolor* изменять температуру замерзания 3,5% раствора глицерина. Установлено, что полисахариды *T. ochracea* в концентрациях 0,1–1,0% в разной степени повышают осмолярность раствора глицерина, что способствует понижению температуры его замерзания. Полученные данные о сохранности мембран лейкоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов, подвергнутых замораживанию и хранению при -80 °С в среде глицерина и глицерина с эндополисахаридами *T. ochracea* подтверждают предположение авторов о том, что снижение температуры замерзания раствора глицерина в присутствии полисахаридов способствует снижению риска повреждений клеток при замораживании. Вероятно, образующиеся связи между функциональными группами глицерина и полисахаридов удерживают большее количество молекул воды, что способствует образованию многочисленных центров кристаллизации, уменьшению размера внеклеточных кристаллов льда, обеспечивая сохранность мембран клеток.

Ключевые слова: ксилотрофные базидиомицеты, траметоидный морфотип, эндополисахариды, осмолярность, температура кристаллизации, лейкоциты, жизнеспособность клеток.

Polypores of the Russian Plain as a source of polysaccharides with cryoprotective properties

T. V. Polezhayeva¹, A. N. Khudyakov¹, M. I. Sergushkina¹,
 I. G. Shirokikh^{2,3}, A. A. Shirokikh^{2,3}, O. M. Bezmeltseva¹,
 O. N. Solomina¹, O. O. Zaytseva¹

¹Institute of Physiology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,
 50 Pervomayskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

²N.V. Rudnitskiy Zonal North-East Agricultural Research Institute,
 166 a Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

³Vyatskiy State University,
 36 Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
 e-mail: ddic@yandex.ru, irgenal@mail.ru

Using the cryoscopic method, the ability of endopolysaccharides of fungi of the genus *Trametes* (*T. hirsute*, *T. ochracea*, *T. versicolor*, *T. suaveolens*) and *Cerrena unicolor* to change the freezing point of a 3.5% solution of glycerin was studied. It has been established that the polysaccharides of *T. ochracea* in a concentration of 0.1–1.0% increase the osmolality of the glycerol solution to a different extent, which contributes to lowering of its freezing point. The obtained data on preservation of leukocyte membranes, phagocytic activity of neutrophils frozen and stored at -80 °C in glycerol

and glycerol with *T. ochracea* endopolysaccharides confirm the authors' assumption that a decrease in the freezing temperature of a solution of glycerol in the presence of polysaccharides helps to reduce the risk of cell damage when frozen. Probably, the resulting bonds between the functional groups of glycerin and polysaccharides retain more water molecules, which contributes to formation of numerous crystallization centers, a decrease in the size of extracellular ice crystals, ensuring preservation of cell membranes.

Keywords: xylotrophic basidiomycetes, trametoid morphotype, endopolysaccharides, osmolarity, crystallization temperature, leukocytes, cell viability.

На всей территории Русской равнины, в древостоях зоны тайги, смешанных и лиственных лесов, в том числе в городских насаждениях и парках, широко представлены ксилотрофные базидиальные грибы, способные разлагать древесину и утилизировать биомассу опада. Их значение в природе, кроме разложения древесного детрита лесов, связано с корректировкой структур лесных сообществ и поддержанием баланса накапливаемой и разлагаемой в лесных экосистемах биомассы [1]. Это единственная группа организмов, способная к полной деструкции лигноцеллюлоз, обеспечивающая мобилизацию депонированного в древесине углерода [2]. Среди огромного числа ксилотрофных базидиомицетов достаточно компактную группу составляют трутовые грибы. Некоторые из них – опасные патогены лесных деревьев, большинство же приносят пользу, разлагая упавшие ветки, пни, поваленные стволы деревьев и обеспечивая, тем самым, круговорот веществ в лесах [3]. Как все грибы, трутовики состоят из мицелия, который находится в древесине, разрушая её в процессе питания, и плодового тела (базидиомы), которое служит для размножения гриба.

Трутовики траметоидного морфотипа характеризуются сидячими или почти распростёртыми плодовыми телами плотной пробково-кожистой консистенции. Поверхность шляпок бархатистая, с возрастом иногда становится голой. Однослойный гименофор (нижняя поверхность шляпки) трубчатый, лабиринтоподобный или пластинчатый, иногда зубчато-шиповидный. В настоящее время траметоидные трутовики рассматривают в составе нескольких родов, относящихся к семействам Polyporaceae и Fomitopsidaceae. Границы родов в настоящее время уточняются [4].

Типичными представителями траметоидных трутовок являются виды родов *Trametes* и *Cerrena*, растущие преимущественно на деревьях лиственных пород. Большинство представителей рода *Trametes* имеют консольные или сидячие плодовые тела, однолетние или зимующие, которые растут чаще группами, но могут встречаться и одиночные плодовые тела [5]. Сходны с ними по внешнему облику и грибы рода *Cerrena* [6].

В последние десятилетия трутовые грибы, благодаря своему метаболическому потенциалу, заняли одно из ведущих мест в качестве объектов биотехнологии. Гриб *C. unicolor* известен как продуцент экстрацеллюлярных фенолоксидаз [7], проявляет лектиновую активность [8], а экзополисахариды церрены обладают гипогликемическим действием [9]. Грибы рода *Trametes* тоже содержат различные биологически активные соединения (БАС), представляющие интерес для использования в медицине, сельском хозяйстве, различных промышленных производствах. Так, виды *T. versicolor*, *T. hirsuta*, *T. ochracea*, *T. villosa*, *T. gallica* являются широко известными продуцентами лакказы – ферментов биодеградации лигнина и соединений, имеющих с ним сходную структуру. Лакказы нашли своё применение при экологически безопасном изготовлении древесной пластики, древесноволокнистых плит, блоков, картона, а также для отбеливания целлюлозы [10]. На основе *T. hirsuta* создан биопрепарат сельскохозяйственного назначения, и показана возможность его применения для получения зрелого компоста из навоза крупного рогатого скота [11]. Другой представитель траметесов – *T. pubescens* явился основой нового ветеринарного препарата с выраженным антимикробным эффектом – Траметина [12, 13]. Кроме антибактериальной, *T. pubescens* обладает ярко выраженной иммунной активностью и является антиоксидантом [13].

В фармакологическом отношении хорошо изучен вид *T. versicolor*, который проявляет антибактериальную активность в отношении условно-патогенной микрофлоры кишечника человека [14] и рекомендован как потенциальный продуцент новых антибиотиков для лечения заболеваний, вызываемых стафилококками [15]. Экстракты *T. versicolor* проявляют вируснейтрализующий эффект в отношении вирусов ВИЧ-1, гриппа H5N1 и H3N2 [16]. Особый интерес в производстве лекарственных препаратов представляют полисахариды *T. versicolor* с иммуномодулирующими свойствами [17]. Японская фирма «Sankyo Co Ltd.» выпускает коммерческий препарат Крестин (PSK), который содержит высокоочищенные

Объекты и методы

иммуномодулирующие протеинсодержащие полисахариды этого трутовика. Крестин используется в онкологии в сочетании с химио- или радиотерапией, а также в качестве средства поддерживающей терапии [18]. На основе других штаммов *T. versicolor* в Китае разработан противоопухолевый препарат PSP, а в России биологически активная добавка Трاملан [16].

В настоящее время для получения БАС из базидиальных грибов используются методы глубинного (погружённого) культивирования на жидких питательных средах, целью которых является получение биомассы мицелия грибов для последующего извлечения необходимых соединений. Основанием к широкому развитию биотехнологических методов послужили результаты многочисленных исследований, показавшие, что в глубинном мицелии, как и в плодовых телах, содержатся важнейшие БАС. По их содержанию мицелий не уступает плодовым телам, а по накоплению некоторых компонентов, включая полисахариды, превосходит их [17, 19].

Важным условием получения новых биотехнологических продуктов является поиск активных штаммов базидиальных грибов в природных местообитаниях. Выявление и выделение новых видов и штаммов грибов из природной среды в культуру открывает перспективы пополнения коллекций активными продуцентами не только для разработки новых фармакологических препаратов против болезней, но и для развития других аспектов медицинской биотехнологии, в частности, для криоконсервации.

Несмотря на большое количество веществ, обладающих криопротекторными свойствами, в медицинской и лабораторной практике используют ограниченный круг соединений, среди которых применение часто находят глицерин, который, к сожалению, характеризуется определённой токсичностью [20]. В связи с этим в составе консервирующих сред глицерин целесообразно комбинировать с другими, непроницающими криопротекторами, например, олигосахарами, которые повышают вязкость среды и являются энергетическим субстратом. Используют с этой целью также пектины различных растений [21]. Исходя из предположения, что грибные полисахариды могут обладать сходными с пектинами растений криостатическими эффектами, целью настоящей работы являлось изучение способности полисахаридов ряда траметоидных трутовиков обеспечивать сохранность клеток при замораживании.

Объектами исследования служили траметоидные трутовики *Trametes versicolor*, *T. ochracea*, *T. hirsuta*, *T. suaveolens*, *Cerrena unicolor*, собранные в городских садах и парках г. Санкт-Петербурга и идентифицированные И. В. Змитровичем (БИН им. В. Л. Комарова). Выделение грибов в мицелиальную культуру проводили из базидиоспор на агаризированном пивном сусле, разведённом в 3 раза (4 ° Балинга) с добавлением 100 мкг/мл стрептомицина для ограничения роста бактерий. При появлении мицелия его несколько раз пересеживали на новую стерильную среду того же состава. Контроль чистоты мицелиальной культуры проводили микроскопически, отмечая наличие пряжек и септ, характерных для мицелия базидиальных грибов, и отсутствие неспецифических, тонких, выщипыхся гиф грибов-микотрофов.

Для получения полисахаридов грибы выращивали в жидкой питательной среде того же состава, стационарно с дополнительной аэрацией (6 л/мин) в течение 10 сут при комнатной температуре. Засев проводили путём помещения в колбу с жидкой средой агаровых блоков, диаметром 5 мм, вырезанных из периферической части колоний, выращенных на агаризованном сусле. По завершении инкубации мицелий отделяли от культуральной жидкости при помощи сита, промывали до светлой воды, высушивали при 60 °С. Для экстракции эндополисахаридов (ЭНП) навеску сухого мицелия массой 3 г заливали 50 мл дистиллированной воды, нагретой до 70 °С и оставляли на сутки. Для осаждения полисахаридной фракции к 50 мл полученного экстракта добавляли 100 мл 96% этанола и полученную взвесь отстаивали при 4 °С в течение суток. Осадок отделяли декантацией и упаривали на водяной бане (85 °С) до сухого остатка и взвешивали.

Осмолярные концентрации (мОсм/л) и температуры замерзания водных растворов полученных ЭНП в концентрациях 0,5–1% вес/объём, глицерина – 3,5%, а также смесей ЭНП с глицерином определяли с помощью криоскопического метода на приборе осмометр-криоскоп ОСКР-1 (НПП «Буревестник», С.-Петербург). Выбор указанных концентраций эндополисахаридов был основан на ранее полученных данных об использовании пектинов в составе криозащитных сред [21]. Абсолютная погрешность при определении осмолярной концентрации вещества в диапазоне измерений от 0 до 500 мОсм/л составляла 2,0; температуры замерзания в диапазоне от -0,930 до -3,720 °С

составляла $\pm 0,010$ °С. Исследуемый раствор объемом 0,3 мл помещали в пластиковую кювету, погружали в неё измерительный элемент и устанавливали в термостатируемую камеру прибора.

На следующем этапе исследования проводили замораживание клеток в среде, содержащей глицерин и глицерин с ЭНП. В качестве биологического объекта для криоконсервирования использовали гепаринизированную венозную кровь здоровых женщин-добровольцев (23–40 лет). При этом оценивали жизнеспособность лейкоцитов, как наиболее чувствительных к факторам замораживания-отогрева клеток крови, содержащих ядро и ферментативный гранулярный комплекс. Кровь смешивали с криоконсервантом (1:1), содержащим ЭНП, классический криопротектор проникающего действия глицерин (Самарамедпром, Россия) в низкотоксичной (7,0%) концентрации и антикоагулянт трилон Б – 1%.

Охлаждение клеток осуществляли по ранее разработанным медленным нелинейным программам с использованием электрических морозильников. После 15 минут экспозиции лейкоцитов с криоконсервантом при комнатной температуре в полимерном контейнере «Компопласт 300» (Синтез, Россия), последний помещали на 15 мин в спиртовую ванну (96% этиловый спирт), охлаждаемую при -20 °С в электроморозильнике «Derby» (Дания). После этого контейнер переносили для дальнейшего замораживания и хранения в воздушную среду камеры электроморозильника на -80 °С «Vestfrost» (Дания). Средняя скорость охлаждения от $+20$ до -20 °С составила $2,6$ °/мин, далее до -80 °С по $3,5$ °С/мин. Через 1 сут хранения образцы отогревали в 20-литровой водяной ванне ($+38$ °С) при интенсивном покачивании контейнера в течение 20 сек.

После отогрева образцов оценивали методом световой микроскопии (Nikon H550S, Япония), как описано ранее [22]: общее количество лейкоцитов в камере Горяева; степень криоустойчивости различных популяций клеток в мазках, окрашенных по Май-Грюнвальду и Романовскому; целостность клеточной мембраны лейкоцитов в пробах с 1,0% раствором суправитального красителя эозина; процент фагоцитирующих нейтрофилов с использованием инертных частиц латекса диаметром 0,08 мкм (Sigma-Aldrich, Германия).

При статистической обработке данных для каждого показателя вычисляли среднее арифметическое значение и среднее квадратичное отклонение ($M \pm \delta$). Для выявления статисти-

чески значимых различий между группами применяли непараметрический критерий Уилкоксона [23] с использованием компьютерной программы «BIOSTAT».

Результаты исследований и их обсуждение

На первом этапе исследования определяли криоосмотические характеристики используемых в работе веществ: осмолярность, характеризующую создаваемое растворами осмотическое давление, и температуру замораживания. В зависимости от видовой принадлежности трутовиков осмолярность 1% растворов грибных ЭНП изменялась от 24 до 35 мОсм/л, т. е. была очень низкой (табл. 1).

При этом замораживание 1%-ных растворов ЭНП трутовых грибов происходило в диапазоне температур от $-0,05$ до $-0,077$ °С, тогда как температура замораживания дистиллированной воды составляет $-0,002$ °С. Наиболее высокой осмолярностью характеризовался используемый в работе 3,5%-ный раствор глицерина – 476 мОсм/л, температура его замораживания составила $-0,876$ °С.

Далее были исследованы среды, включающие комбинации 3,5%-ного раствора глицерина с ЭНП трутовиков, взятых в концентрационных рядах (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0%). Выявлено, что только добавление к глицерину ЭНП *T. ochracea* в концентрациях от 0,5 до 1,0% способствует повышению осмолярности смеси, что сопровождалось понижением температуры замораживания раствора (рис. 1).

ЭНП других исследованных трутовиков (*T. hirsute*, *T. versicolor*, *C. unicolor*) в комбинации с 3,5%-ным глицерином оказывали на криоосмотические свойства получаемых смесей аналогичное действие, однако их влияние было статистически менее значимым и прослеживалось лишь в узком диапазоне концентраций (данные не приведены). Повышение осмолярности смеси ЭНП *T. ochracea* с глицерином и, как следствие, понижение температуры её замораживания, обусловлено, вероятно, тем, что имеющиеся в составе молекул полисахаридов функциональные группы образуют с гидроксильными группами глицерина связи, формируя тем самым сеть, удерживающую большее количество молекул воды, чем каждый компонент смеси по отдельности.

Выявленная особенность ЭНП *T. ochracea*, по нашему мнению, может способствовать снижению риска повреждений клеток при замораживании. Известно, что смещение

Таблица 1

Криосмотические характеристики используемых в работе веществ

Вещество	Осмолярность, мОсм/л	Криоскопическая точка, °С
Дистиллированная вода	0	-0,002
Глицерин (3,5%) бут. 1992 ГОСТ	476	-0,876
Трилон Б 0,1%	9	-0,015
Глицерин 7% + трилон Б 0,1%	799	-1,483
ЭНП <i>T. ochracea</i> 1%	24	-0,050
ЭНП <i>T. hirsute</i> 1%	35	-0,077
ЭНП <i>T. versicolor</i> 1%	27	-0,063
ЭНП <i>T. suaveolens</i> 1%	28	-0,065
ЭНП <i>C. unicolor</i> 1%	30	-0,071

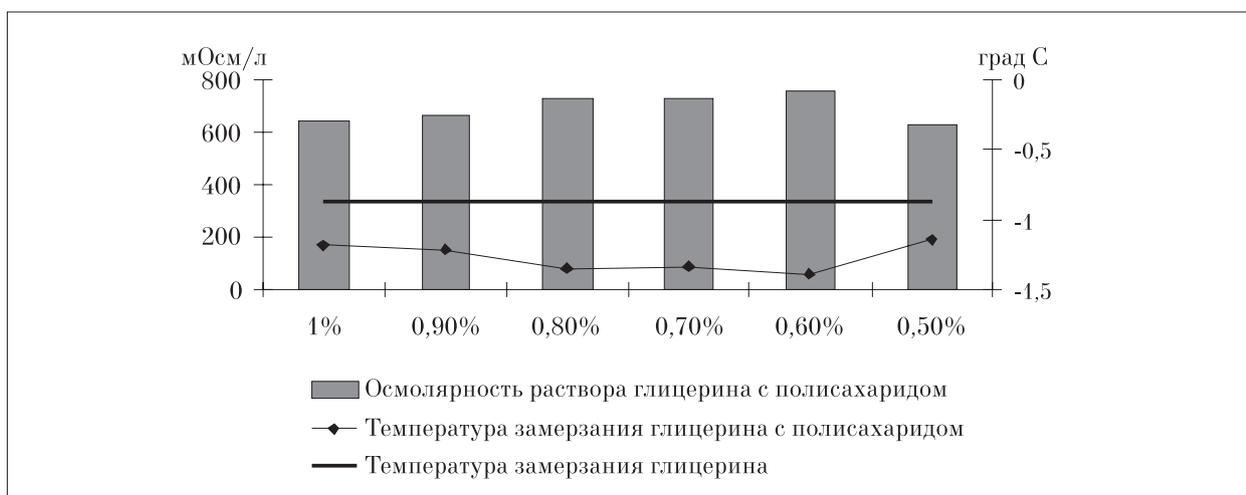


Рис. 1. Изменение температуры замерзания 3,5%-раствора глицерина при наличии в среде эндополисахаридов *T. ochracea* в концентрационном ряду

температуры кристаллизации воды в клетках в диапазон более низких температур на начальных этапах охлаждения способствует постепенному «вымораживанию» воды с образованием мелкочаеистой, менее травматичной структуры льда [20].

Для проверки данной гипотезы клетки крови были заморожены в среде глицерина (3,5%), в смеси глицерина (3,5%) с ЭНП *T. ochracea* (0,5%), а также в смеси глицерина (3,5%) с ЭНП *T. versicolor* (0,5%). Определение методом световой микроскопии степени криоустойчивости различных популяций клеток, перенесших воздействие температуры -80 °С в течение 1 сут с последующим отогреванием при 38 °С в течение 20 сек, позволило установить, что применение для криоконсервации среды, включающей комбинацию 3,5%-ного раствора глицерина с ЭНП *T. ochracea*, в сравнении с однокомпонентным раствором глицерина привело к более высоким значениям сохранности лейкоцитов (рис. 2, см. обложка с. 3), т. е. эндополисахариды

T. ochracea способны статистически значимо усилить криозащитный эффект глицерина, что подтверждается значениями показателей сохранности клеток в процентах по отношению к уровню до замораживания, принятому за 100 (табл. 2).

При замораживании клеток в среде глицерина с ЭНП *T. versicolor* сохранность гранулоцитов и устойчивость мембран клеток к озону не отличалась от показателей при замораживании в однокомпонентной среде глицерина, а показатель сохранности фагоцитирующих нейтрофилов значительно снизился. Необходимо отметить, что при добавлении к глицерину ЭНП *T. versicolor* в ряду концентраций от 0,5 до 1% повышение осмолярности смеси не происходило.

Заключение

Таким образом, полученные результаты о сохранности лейкоцитов при замораживании в среде глицерина с ЭНП *T. ochracea* подтвер-

Влияние грибных ЭНП (0,5%) на криозащитный эффект глицерина (3,5%) по показателям сохранности лейкоцитов

Серия n=10	Показатели сохранности (количество), М±σ		
	лейкоциты с мембраной, непроницаемой для эозина	гранулоциты	фагоцитирующие нейтрофилы
Лейкоциты с глицерином	73±7,1	68±9,8	45±4,3
Лейкоциты с глицерином и ЭНП <i>T. versicolor</i>	72±7,3	60±9,2	31±4,8*
Лейкоциты с глицерином и ЭНП <i>T. ochracea</i>	89±6,3*	87±5,2*	69±6,8*

Примечание: * – различие с величиной показателя «лейкоциты с глицерином» значимо ($p < 0,05$).

дили наше предположение о том, что снижение температуры замедления раствора глицерина в присутствии грибного эндополисахарида может способствовать снижению риска повреждений клеток при криоконсервации.

В свете современных исследований, посвящённых поиску новых эффективных криозащитных средств, полученные в работе данные свидетельствуют о перспективе использования эндогенных полисахаридов представителя траметоидных трутовики *T. ochracea* при разработке новых криозащитных растворов для сохранности биологических объектов в условиях температур электрических морозильников.

Литература

1. Стороженко В.Г., Крутов В.И., Руоколайнен А.В., Коткова В.М., Бондарцева М.А. Атлас-определитель деструктурирующих грибов лесов Русской равнины. М.: Аквариус, 2016. 200 с.
2. Мухин В.А. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины. Екатеринбург: Наука, 1993. 232 с.
3. Ниемеля Т. Трутовые грибы Финляндии и прилегающей территории России. Хельсинки: Norrlinna 8. 2001. 120 с.
4. Tomsovsy M., Kolarik M., Pazoutova S., Homolka L. Molecular phylogeny of European *Trametes* (Basidiomycetes, Polyporales) species based on LSU and ITS (nrDNA) sequences // *Nova Hedwigia*. 2006. V. 82. No. 3–4. P. 269–280.
5. Corner E.J.H. Ad Polyporaceas VI. The genus *Trametes* // *Beih. Nova Hedwigia*. 1990. N. 97. 206 p.
6. Бондарцева М.А., Пармасто Э.Х. Определитель грибов России. Порядок Афилофоровые. Вып. 2. Санкт-Петербург: Наука, 1998. С. 326.
7. Рагимова М.М., Мурадов П.З. Биосинтез окислительных ферментов ксилотрофными базидиальными грибами семейства *Coriolaceae* // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2010. № 1. С. 264–265.
8. Mikiashvili N., Elisashvili V., Wasser S.P., Nevo E. Comparative Study of lectin activity of higher basidiomycetes // *Int. J. of Med. Mushr.* 2006. V. 8. No. 1. P. 31–38.
9. Yamac M., Bilgili F. Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelia cultures of some mushroom isolates // *Pharm. Biol.* 2006. V. 44. No. 9. P. 660–667.
10. Morozova O.V., Shumakovich G.P., Shleev S.V., Yaropolov Ya.I. Laccase-mediator systems and their applications: A review // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2007. T. 43. No. 5. С. 523–535.
11. Королёв А.В., Куликова Н.А., Филиппова О.И., Ландесман Е.О., Кляйн О.И., Королёва О.В. Получение компоста с использованием биопрепарата на основе базидиомицета *Trametes hirsuta* // *Проблемы агрохимии и экологии*. 2012. № 2. С. 31–35.
12. Чхенкели В. А., Горяева Н.А., Чхенкели Л.Г., Мартынова А.Ю., Калинович А.Е. Некоторые аспекты изучения антимикробной активности грибов-ксилотрофов рода *Trametes* // *Сибирский медицинский журнал*. 2011. № 2. С. 82–86.
13. Чхенкели В.А. Биологически активные вещества базидиомицета *Coriolus pubescens* (Schum.: Fr.) Quel. и их использование. Новосибирск: Сиб. отделение РАСХН: ИФИЭВС и ДВ, 2006. 288 с.
14. Иванова Т.С., Бисько Н.А., Мегалинская А.П. Антибактериальная и гемагглютинирующая активность *Schizophyllum commune* и *Trametes versicolor* // *Успехи медицинской микологии*. 2014. Т. 13. С. 304–305.
15. Садыкова В.С., Ковалева К.Г., Чиждотря Н., Гаврилова А.Г., Громовых Т.И., Новицкий И.А. Антимикробная активность грибов рода *Trichoderma* и *Trametes* в отношении условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus* // *Сибирский медицинский журнал*. 2016. № 8. С. 18–20.
16. Теплякова Т.В., Косонова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск: Вектор, 2014. 298 с.
17. Антоненко Л.А., Клечак И.Р. Биохимический состав мицелия базидиального гриба *Trametes versicolor* // *Успехи медицинской микологии*. 2014. Т. 12. С. 215–216.
18. Cui J., Chisti Yu. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production // *Biotechnol Adv.* 2003. V. 21. P. 109–122.

19. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздиков Т.С. Новые биологически активные добавки на основе глубокого мицелия базидиальных грибов // Успехи медицинской микологии. 2006. Т. 7. С. 178–180.

20. Белоус А.М., Грищенко В.И. Криобиология. Киев: Наукова Думка, 1994. 432 с.

21. Solomina O.N., Svedentsov E.P., Zaitseva O.O., Polezhaeva T.V., Ovodova R.G., Golovchenko V.V., Laptev D.S., Khudyakov A.N., Stepanova E.S., Ovodov Y.S. Cryoprotective properties of some pectins // Doklady Biological Sciences. 2010. V. 430. No. 1. С. 20–22.

22. Polezhaeva T.V., Zaitseva O.O., Khudyakov A.N., Laptev D.S., Golovchenko V.V., Gordiyenko E.A., Kuleshova L.G. Use of pectin polysaccharides for cryopreservation of biological objects // Arch. Biol. Sci. 2014. V. 66. No. 3. P. 1025–1033.

23. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.

References

1. Storozhenko V.G., Krutov V.I., Ruokolaynen A.V., Kotkova V.M., Bondartseva M.A. Atlas-determinant of wood-destroying fungi of the forests of the Russian Plain. Moskva: Akvarius, 2016. 200 p. (in Russian).

2. Mukhin V.A. Biota of xylotrophic basidiomycetes of the West Siberian Plain. Ekaterinburg: Nauka, 1993. 232 p. (in Russian).

3. Niyemelya T. Trout fungi of Finland and the adjoining territory of Russia. Khelsinki: Norrlinna 8. 2001. 120 p. (in Russian)

4. Tomsovsky M., Kolarik M., Pazoutova S., Homolka L. Molecular phylogeny of European *Trametes* (Basidiomycetes, Polyporales) species based on LSU and ITS (nrDNA) sequences // Nova Hedwigia. 2006. V. 82. No. 3–4. P. 269–280.

5. Corner E.J.H. Ad Polyporaceas VI. The genus *Trametes* // Beih. Nova Hedwigia. 1990. H. 97. 206 p.

6. Bondartseva M.A., Parmasto E.Kh. The determinant of mushrooms of Russia. Order Afillophorovy. V. 2. Sankt-Peterburg: Nauka, 1998. P. 326 (in Russian).

7. Ragimova M.M., Muradov P.Z. Biosynthesis of oxidative enzymes with xylotrophic basidiomycetes of the family *Coriolaceae* // Immunopatologiya, Allergologiya, Infektologiya. 2010. No. 1. P. 264–265 (in Russian).

8. Mikiashvili N., Elisashvili V., Wasser S.P., Nevo E. Comparative Study of lectin activity of higher basidiomycetes // Int. J. of Med. Mushr. 2006. V. 8. No. 1. P. 31–38.

9. Yamac M., Bilgili F. Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelia cultures of some mushroom isolates // Pharm. Biol. 2006. V. 44. No. 9. P. 660–667.

10. Morozova O.V., Shumakovich G.P., Shleev S.V., Yaropolov Ya.I. Laccase-mediator systems and their applications: A review // Applied Biochemistry and Microbiology. 2007. V. 43. No. 5. P. 523–535.

11. Korolev A.V., Kulikova N.A., Filippova O.I., Landesman E.O., Klyayn O.I., Koroleva O.V. Compost production using biomedical based on basidiomycete *Trametes hirsute* // Problemy agrokhimii i ekologii. 2012. No. 2. P. 31–35 (in Russian).

12. Chkhenkeli V.A., Goryayeva N.A., Chkhenkeli L.G., Martynova A.Yu., Kalinovich A.E. Some aspects of studying antimicrobial activity of fungi-xylotrophs of the genus *Trametes* // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2011. No. 2. P. 82–86 (in Russian).

13. Chkhenkeli V.A. Biologically active substances of Basidiomycetes *Coriolus pubescens* (Schum.: Fr.) Quel. and their use. Novosibirsk: Sibirskoye Otdeleniye RASKhN: IFIEVS I DV, 2006. 288 p. (in Russian).

14. Ivanova T.S., Bisko N.A., Megalinskaya A.P. Antibacterial and haemagglutinating activity of *Schizophyllum commune* and *Trametes versicolor* // Uspekhi meditsinskoj mikologii. 2014. V. 13. P. 304–305 (in Russian).

15. Sadykova V.S., Kovaleva K.G., Chizhmotrya N., Gavrilo A.G., Gromovykh T.I., Novitskiy I.A. Antimicrobial activity of fungi of the genus *Trichoderma* and *Trametes* in relation to conditionally pathogenic microorganisms of the genus *Staphylococcus* // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2016. No. 8. P. 18–20 (in Russian).

16. Teplyakova T.V., Kosogova T.A. Higher mushrooms of Western Siberia are promising targets for biotechnology of medicines. Novosibirsk: Vektor, 2014. 298 p. (in Russian).

17. Antonenko L.A., Klechak I.R. Biochemical composition of the mycelium of the basidiomycete *Trametes versicolor* // Uspekhi meditsinskoj mikologii. 2014. V. 12. P. 215–216 (in Russian).

18. Cui J., Chisti Yu. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production // Biotechnol Adv. 2003. V. 21. P. 109–122.

19. Babitskaya V.G., Shcherba V.V., Gvozdikova T.S. New biologically active additives based on deep mycelium of basidiomycetes // Uspekhi meditsinskoj mikologii. 2006. V. 7. P. 178–180 (in Russian).

20. Belous A.M., Grishchenko V.I. Cryobiology. Kiyev: Naukova dumka, 1994. 432 p. (in Russian).

21. Solomina O.N., Svedentsov E.P., Zaitseva O.O., Polezhaeva T.V., Ovodova R.G., Golovchenko V.V., Laptev D.S., Khudyakov A.N., Stepanova E.S., Ovodov Y.S. Cryoprotective properties of some pectins // Doklady Biological Sciences. 2010. V. 430. No. 1. P. 20–22.

22. Polezhaeva T.V., Zaitseva O.O., Khudyakov A.N., Laptev D.S., Golovchenko V.V., Gordiyenko E.A., Kuleshova L.G. Use of pectin polysaccharides for cryopreservation of biological objects // Arch. Biol. Sci. 2014. V. 66. No. 3. P. 1025–1033.

23. Glants S. Medico-biological statistics. Moskva: Praktika, 1998. 459 p. (in Russian).