

на необходимость выявления условий, способствующих проявлению максимальной биологической активности экстрактов ксилотрофных базидиомицетов. Проведена оценка вклада АО свойств и состава липидов мицелия *Laetiporus sulphureus* и чаги в обеспечение биологической активности экстрактов.

ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ МЕСТНОГО ШТАММА *INONOTUS OBLIQUUS*

Щерба В.В.¹, Бабицкая В.Г.¹, Иконникова Н.В.¹, Бисько Н.А.²

¹ — Институт микробиологии НАН Беларуси

Минск, Беларусь

² — Институт ботаники НАН Украины

Киев, Украина

В последние годы резко возрос интерес исследователей, а также крупных фармацевтических компаний к высокомолекулярным пигментам фенольной природы меланинам. Это связано с тем, что природные меланины обладают широким спектром фармакологического действия: антиоксидантным, генопротекторным, радиопротекторным, иммуномодулирующим, гепатопротекторным. Меланиновые пигменты могут быть также использованы и в качестве косметологических средств, обладающих фотопротекторной активностью, сорбентов радионуклидов и ионов тяжелых металлов. Ранее нами было исследовано образование и характеристика меланиновых пигментов синтезируемых коллекционными культурами родов *Inonotus* и *Phellinus*.

В данной работе представляло интерес исследовать факторы регуляции синтеза меланиновых пигментов у вновь выделенных из природных источников штаммов *Inonotus*.

Отбор плодовых тел представителей *Inonotus* проводили в 11 районах Минской, Могилевской, Гродненской и Витебской областей. Критерием оценки меланинсинтезирующих грибов был выбран коэффициент цветности (D465/D650) меланиновых экстрактов. Скрининг, проведенный среди 23 коллекционных культур грибов, относящихся к 10 родам, показал, что лучшими продуцентами меланина оказались штаммы *Inonotus obliquus*, что явилось основанием для поиска местных штаммов среди представителей данного рода. Отобранные 11 изолятов грибов р. *Inonotus* при высеве на сусло-агар давали радиальные темноокрашенные колонии. Гифальная система грибов мономитическая. Гифы септированные, тонкостенные, гиалиновые до желтоватых, ветвящиеся, переходящие в толстостенные, ржаво-бурые, параллельно расположенные. Полное зарастание газона чашки происходило на 9–10 сут. По коэффициенту цветности меланиновых экстрактов лучшими продуцен-

тами оказались изоляты грибов №№ 2; 3; 7; 8; 11. При глубинном культивировании отобранных изолятов грибов на глюкозо-пептонной среде выход меланина составлял от 0,35 до 0,55 г/л к 10 сут. роста. Наиболее активным продуцентом меланина оказался изолят гриба №11, который и был отобран для дальнейших исследований. По выходу меланина он превосходил коллекционный штамм *Inonotus obliquus* в 2 раза.

На основании изучения культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков отобранный штамм был идентифицирован как *Inonotus obliquus* № 11.

Известно, что синтез вторичных метаболитов, в том числе и меланиновых пигментов детерминирован не только генетически, но и в определенной мере зависит от внешних факторов, таких как источники углерода, азота и их соотношения, минеральных компонентов питательной среды, а также температуры, pH среды и интенсивности аэрации.

В качестве источников углерода для *I. obliquus* № 11 служили арабиноза, ксилоза, галактоза, глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, лактоза, целлобиоза, манит, сорбит, крахмал, ржаная мука, На-янтаринокислый, щавелевокислый, малоновокислый. Максимальный выход меланина (0,87г/л) наблюдался на среде, содержащей целлобиозу. *I. obliquus* № 11 также активно использовал глюкозу, арабинозу, ксилозу, манит и сорбит, где выход меланина составил 0,60 – 0,65 г/л. То, что на среде с целлобиозой гриб синтезировал наибольшее количество пигмента видимо связано с его питанием в природных условиях, где целлюлоза под действием гидролитических ферментов расщепляется до целлобиозы и используется как источник углерода. В связи с тем, что количественный выход меланина на указанных углеводах характеризовался величинами одного порядка, в дальнейших исследованиях мы остановились на использовании глюкозы в качестве источника углерода. Исследование источников азотного питания показало, что минеральный азот не оказывал существенного влияния на синтез меланина *I. obliquus* № 11, а среди органического азота лучшим оказался пептон.

Из литературы известно, что внесение в среду культивирования ионов меди в определенной концентрации стимулирует рост грибов и синтез вторичных метаболитов. Проведенные исследования показали, что оптимальное содержание ионов меди для синтеза меланина составило 0,008%. Исследование влияния на меланиногенез ароматических соединений показало, что моноциклические добавки пирокатехин, тирозин, бензойная и пара-оксибензойная кислоты стимулируют синтез меланина, тогда как фенол и бициклическая добавка 2-нафтол, напротив, ингибируют его.

Среди физических факторов регуляции биосинтетической активности высших базидиомицетов, в том числе и лекарственных, одним из важнейших является кислотность питательной среды. Этот фактор влияет на растворимость солей, ионное состояние источника углерода,

морфологию клеток и их структуру, транспорт питательных веществ, мембранные реакции, а, следовательно, и на скорость роста культуры. Подавляющее большинство грибов класса Basidiomycetes растет в широком диапазоне кислотности среды, хотя для многих из них оптимальные значения этого показателя находятся в пределах 5,0–6,0. Наряду с pH питательной среды, не менее важными факторами регуляции метаболизма являются температура и аэрация.

Продуцент меланиновых пигментов *Inonotus obliquus* № 11 рос и синтезировал меланин в интервале исходного pH от 4,0 до 9,0. При этом оптимум pH составил 7,0–8,0 как для накопления биомассы, так и для синтеза меланина. Интервал температур, в которых рос *I. obliquus* № 11, находился в пределах 18–30° С, однако активный синтез меланиновых пигментов происходил при температуре 20–25° С.

Исследование влияния аэрации на образование меланина позволило установить следующую закономерность: при увеличении насыщенности питательной среды кислородом с 0,155 до 0,550 г O₂ /л/ч, выход биомассы составлял 7,55–14,8 г/л, тогда как максимальная биосинтетическая активность *I. obliquus* № 11 по меланину наблюдалась при 0,210–0,325 г O₂ /л/ч и составила 2,4 г/л.