



2021

НАУКОВІ ПРАЦІ

НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Том 27 № 1

*Журнал
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»
видається з 1938 року*

КИЇВ ✧ НУХТ ✧ 2021

BIOTECHNOLOGICAL BASIS OF INTENSIVE CULTIVATION OF MEDICINAL MUSHROOM *FOMITOPSIS BETULINA* (FOMITOPSIDACEAE, POLYPORALES)

O. Mykchaylova, M. Lomberg

M. G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine

V. Krasinko

National University of Food Technologies

Key words:

The IBK Mushroom Culture Collection
Pure cultures
Biologically active substances
Liquid nutrient media
pH
Sources of carbon and nitrogen

Article history:

Received 12.01.2021
Received in revised form 26.01.2021
Accepted 09.02.2021

Corresponding author:

V. Krasinko

E-mail:

viktory.krasinko@gmail.com

ABSTRACT

The article presents results of the study on pure cultures of xylotrophic medicinal mushroom *Fomitopsis betulina* (11 strains) from the IBK Mushroom Culture Collection of the M. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine. Data on the influence of different sources of carbon and nitrogen nutrition as well as medium pH on the vegetative growth of the cultures were obtained. The maximum of mycelial biomass production in *F. betulina* strains was found under pH values ranging from 5.5 to 6.5. As the only carbon source, the following compounds were investigated: monosaccharides — glucose, xylose; disaccharides — sucrose, lactose; trisaccharide — raffinose; polysaccharide — starch. The physiological features of certain strains were studied. It was found that all cultures showed a high level of physiological homogeneity in relation to carbon consumption. The glucose and starch were the best carbon sources for vegetative growth of the studied *F. betulina* strains. As the only nitrogen source in the medium, several nitrogen-containing compounds were tested: potassium nitrate — KNO_3 , diammonium hydrogen phosphate — $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, asparagine and peptone. The organic nitrogen sources — asparagine and peptone yielded the highest indicators of mycelial biomass. The study of the different glucose (25.0; 30.0; 35.0 g/l) and peptone (3.0; 3.5; 4.0 g/l) concentrations on the *F. betulina* mycelium growth allowed to define their optimal concentration in the nutrient medium. Glucose (30.0 g/l) and peptone (3.0 g/l) were determined to be most suitable carbon and nitrogen sources with the best yield of *F. betulina* biomass. Thus, according to the results of the multistage screening, the most efficient *F. betulina* strains of the Ukrainian origin have been selected. These cultures demonstrated distinct morphological features and high biosynthetic activity on cheap non-deficient substrates in surface culture. The obtained results allow to assert the prospects for developing cultivation technologies of *F. betulina* in order to obtain the mycelial biomass and biologically active substances.

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ІНТЕНСИВНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ЛІКАРСЬКОГО БАЗИДІЄВОГО ГРИБА *FOMITOPSIS BETULINA* (FOMITOPSIDACEAE, POLYPORALES)

О. Б. Михайлова, М. Л. Ломберг

Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України

В. О. Красінько

Національний університет харчових технологій

У статті представлено результати дослідження чистих культур ксилотрофного лікарського гриба *Fomitopsis betulina* (11 штамів) з Колекції культур шапинкових грибів (акронім IBK) Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України. Отримано дані щодо впливу різних джерел вуглецевого та азотного живлення, кислотності середовища (рН) на вегетативний ріст культур. Максимальну продукцію маси міцелію у штамів *F. betulina* виявлено у діапазоні рН 5,5—6,5. Підбір оптимального моноджерела вуглецю у середовищі проводили за використання моносахаридів — глюкози, ксилози; дисахаридів — сахарози, лактози; трисахариду — рафінози; полісахариду — крохмаль. Досліджено фізіологічні особливості штамів і встановлено, що культури виявили високий рівень фізіологічної однорідності до споживання вуглецю. Для більшості досліджених культур *F. betulina* найкращими для вегетативного росту джерелами вуглецю виявились глюкоза та крохмаль. Визначення оптимального джерела азотного живлення проводили, використовуючи нітратний (KNO_3), амонійний $((NH_4)_2HPO_4)$ і органічний азот (аспарагін, пептон). Найбільші показники накопичення міцеліальної маси отримані при вирощуванні *F. betulina* на середовищах з органічними джерелами азоту (аспарагін, пептон). Найкращі результати накопичення міцеліальної маси у *F. betulina* отримані на рідкому поживному середовищі за концентрації глюкози 30,0 г/л та пептону 3,0 г/л. За результатами проведеного багатоступеневого скринінгу відібрані високотехнологічні штами *F. betulina* українського походження, які мають чіткі морфологічні ознаки й високу біосинтетичну активність на дешевих недефіцитних субстратах у поверхневій культурі. Отримані результати підтверджують перспективність розробки технологій культивування з метою отримання міцеліальної маси та біологічно активних субстанцій.

Ключові слова: Колекція культур шапинкових грибів (IBK), чисті культури, біологічно активні речовини, рідкі живильні середовища, рН, джерела вуглецевого та азотного живлення.

Постановка проблеми. Пошук нових природних джерел фізіологічно активних сполук з метою одержання ефективних і безпечних біопрепаратів є одним з пріоритетних завдань сучасної біотехнології. Значна увага до пізнання різних аспектів біології та біосинтетичної активності ксилотрофних базидієвих грибів, що спостерігається в останні роки, обумовлена передусім розширенням сфери їх практичного використання з метою одержання екологічно чистих, оздоровчих і

лікувально-профілактичних препаратів. На особливу увагу заслуговують дослідження біологічних властивостей чистих культур макроміцетів, які за сучасними даними мають імуностимулюючу, антиоксидантну, протипухлинну та антивірусну активність [2; 16]. Практичне втілення нових грибних біотехнологій у вітчизняне виробництво потребує науково обґрунтованого відбору перспективних продуцентів, розширення фундаментальних знань про їх біологічні властивості в культурі, закономірності росту та фізіологічні особливості. Одним із перспективних об'єктів біотехнології з метою отримання біологічно активних речовин (БАР) широкого спектра дії є трутовик березовий.

Fomitopsis betulina (Bull) B. K. Cui, M. L. Han & Y. C. Dai (syn. *Piptoporus betulinus* (Bull) P. Karst) (трутовик березовий або губка березова) поширений у зонах із помірним кліматом, у природі трапляється, зазвичай, на відмерлих, зрізках на живих березах з червня по грудень, спричинюючи жовто-буру або червоно-коричневу гниль деструктивного типу [1]. Цей вид добре відомий і має тривалу історію використання [2], підтвердженням чого може бути, зокрема, знахідка мумії людини епохи халколіту в Тірольських Альпах, вік якої приблизно 5300 років. Поряд із мумією були знайдені і плодові тіла трутовика березового, які, можливо, вже тоді використовувалися людиною як антибактеріальний і ларвіцидний засіб [9]. Сучасними дослідженнями доведено, що метаболіти *F. betulina*, отримані як з плодових тіл, так і з міцеліальної маси, вирощеної на рідких поживних середовищах, мають протизапальну, імуностимулюючу, антибактеріальну, протипухлинну, антивірусну дію [10—15]. Встановлено, що базидіоми *F. betulina* містять поліпоренові кислоти А, В та С. Поліпоренова кислота А має антибіотичну і протизапальну дію, яка за своєю активністю не поступається кортизону [8]. При цьому слід відмітити, що поліпоренова кислота малотоксична і не акумулюється в організмі. Доведено, що культура *F. betulina* здатна продукувати антибіотик «піптамін», який проявляє високу антибактеріальну дію до грам-позитивної аеробної бактерії *Bacillus subtilis* та грам-негативної анаеробної бактерії *Escherichia coli*, зменшує прояви хронічних дерматологічних захворювань [14]. Встановлені мікроморфологічні та культурально-морфологічні особливості трутовика березового *in vitro* [6].

Мета дослідження: проведення скринінгу штамів *F. betulina*, перспективних для практичного використання, та визначення факторів, які регулюють процеси життєдіяльності грибного організму і дають змогу контролювати найбільш важливі його функції.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були чисті культури базидієвих грибів *F. betulina* (11 штамів) з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України (акронім *IBK*). Штами зберігають за температури 4°C на агаризованому пивному суслі (8° за Балінгом) і пересівають з перевіркою чистоти кожні 10—12 місяців [7]. Штами 1554, 1555, 1556 було ізолювано з базидіом *F. betulina*, зібраних у природі на *Betulina spp.*, у Київській області (м. Тетерів) у 1997 р.; штами 1647, 1648, 1650, 1651, 1652, 1653, 1654 ізолювані з базидіом, зібраних у Київській області (сmt Клавдієво) у 1999 р.; штам 2020 ізолювано з базидіом, зібраних у Житомирській області у 2009 році.

Культивування на рідких поживних середовищах проводили в поверхневій культурі в колбах Ерленмєєра ємністю 250 мл, які містили 50 мл середовища, за температури 26±0,1°C. Інокуляцію проводили за допомогою дисків з міцелієм.

Вносили 7-добові культури, попередньо вирощені на солодовому агарі (СА). У кожну колбу з рідким середовищем вносили по три міцеліальні диски ($d = 5$ мм). Культури інкубували у стаціонарних умовах. Масу міцелію визначали на момент, коли в одному з варіантів міцелій повністю покривав поверхню середовища. Біомасу фільтрували та висушували за температури $105 \pm 0,1^\circ\text{C}$ до постійної ваги [2]. Також визначали кінцеве значення рН культуральної рідини.

Для визначення впливу кислотності середовища на ріст міцелію, потреб культур у джерелах вуглецевого й азотного живлення використовували рідке синтетичне середовище такого складу, г/л: глюкоза — 20,0; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — 4,0; KH_2PO_4 — 1,0; K_2HPO_4 — 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,005; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,005; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,003; ZnCl_2 — 0,005. Значення рН змінювали в середовищі в інтервалі від 2 до 7,8 з кроком 1 за допомогою розчинів 1н КОН і 1н НСІ. Контрольні вимірювання початкового значення рН середовища проводили після стерилізації.

Джерелами вуглецю були моносахариди (глюкоза, ксилоза), ди- (сахароза, лактоза) і трисахариди (рафіноза), полісахариди (крохмаль), які додавали в середовища в кількостях, еквівалентних 20,0 г глюкози за вуглицем, рН 6,5.

Джерелами азоту слугували KNO_3 ; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; аспарагін, пептон, які вносили в середовища у кількості, еквівалентній 3,0 г $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ за азотом. Вплив на ріст міцелію *F. betulina* різних концентрацій глюкози (25,0; 30,0; 35,0 г/л) та пептону (3,0; 3,5; 4,0 г/л) проводили в стаціонарних умовах за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Усі досліді проводили в трьох повторностях. Одержані кількісні результати при порівняльному вивченні штамів на рідких поживних середовищах були опрацьовані за допомогою комп'ютерної програми MS Excel 2010. Розраховували значення середніх квадратичних відхилень, коефіцієнтів варіації, довірчих інтервалів, у межах яких варіювали значення отриманої міцеліальної маси грибів. У таблицях та рисунках наведені середні статистично достовірні дані за 95% імовірності.

Викладення основних результатів досліджень. За сучасними уявленнями морфолого-культуральні дослідження максимальної кількості штамів дають змогу суттєво розкрити природний потенціал виду і його певні фізіологічні особливості [5]. Саме тому проведений авторами цієї статті скринінг штамів *F. betulina*, виділених на території України, надає можливість підібрати оптимальні поживні середовища для культивування й збереження штамів у належному фізіологічному стані та визначити культури, перспективні для подальшого практичного застосування.

Усі досліджені штами мали чіткі макро- та мікроморфологічні ознаки, за якими можна постійно контролювати чистоту культури. До макроморфологічних ознак виду можна віднести морфологію міцеліальних колоній: на агаризованих поживних середовищах формуються розріджені повстисті колонії білого кольору з незначною кількістю коротких, сплутаних, повітряних гіф, край колонії рівний, злегка піднятий, колір реверзую збігається із забарвленням середовища, ексудат відсутній. Після 20 діб культивування за наявності світла спостерігається поява примордіїв. За мікроморфологічними ознаками вегетативний міцелій *F. betulina* складається переважно з тонкостінних, помірно розгалужених, регулярно септованих, незабарвлених генеративних гіф, діаметром 2—4 мкм. На гіфах спостерігається значна кількість пряжок. Для *F. betulina*, окрім поодиноких пряжок,

характерні численні, мутовчасті та парні пряжки. Вони можуть значно варіювати за формою: великі та маленькі, короткі та довгі, слабо- та крутозигнуті, медальйонного типу і практично без зазору між пряжкою і гіфою. Культури *F. betulina* здатні утворювати структури нестатевого спороношення — бластоконідії. Наявність на вегетативному міцелії *F. betulina* різних за формою, розташуванням на гіфі та кількістю пряжок є однією із мікоморфологічних характеристик цього виду у вегетативній стадії розвитку [6].

Одним із важливих постійно діючих фізико-хімічних факторів середовища є водневий показник (рН), який зумовлює фізіологічну активність культур, зокрема впливає на властивості клітинних стінок, транспорт поживних речовин, мембранні реакції, швидкість росту і характер метаболізму, а також на здатність засвоювати ті або інші джерела живлення [2]. Встановлено, що дослідження впливу на ріст культур і визначення оптимальних значень рН середовища для кожного штаму є необхідним, оскільки відкриває можливості підвищення продуктивності процесу. Відомо, що багато видів здатні рости в широкому діапазоні показника кислотності, хоча для більшості придатними для росту міцелію є рН у межах 5—6.

Дослідження росту культур *F. betulina* на синтетичному рідкому середовищі із глюкозою проводили у діапазоні рН від 2,0 до 7,5 з кроком 1. Встановлено, що кислотність середовища є фактором, який регулює ріст міцелію. Для всіх штамів спостерігали початок ростових процесів за рН середовища не нижче 4,0 та активний ріст у діапазоні рН 4,0—7,0. У процесі росту культур *F. betulina* рН середовища знижувався до значень 3,7—4,2. Найсприятливішим для активного росту всіх досліджених штамів *F. betulina* є рН у межах 5,0—5,5 (табл. 1). За цих значень рН найактивнішими виявились штами 1556, 1651, 1653, 2020, вихід біомаси становив понад 4,2 г/л на 14-у добу культивування у стаціонарних умовах. Культури 1647 та 1650 в процесі росту на рідких живильних середовищах з рН 5,0—5,5 накопичували незначну кількість біомаси (не більше 2,3 г/л). За показника рН середовища вище 7,0 культури практично не росли.

Таблиця 1. Ріст штамів *Fomitopsis betulina* за встановлених оптимальних значень рН середовища (14-а доба культивування)

Штам	Значення рН		Максимальна маса міцелію, г/л (а.с.м.)
	Початкове значення рН	Кінцеве значення рН	
1554	5,5	3,8	2,8±0,3
1555	5,5	3,9	3,1±0,3
1556	5,0	4,0	4,3±0,3
1647	5,0	4,2	1,7±0,4
1648	5,5	3,7	2,7±0,4
1650	5,0	4,1	2,3±0,3
1651	5,5	3,5	4,2±0,2
1652	5,5	3,3	3,3±0,3
1653	5,5	3,5	4,6±0,4
1654	5,5	3,8	3,7±0,5
2020	5,5	3,8	4,4±0,1

Примітка: жирним шрифтом позначено найвищі показники маси міцелію.

Отже, визначено діапазон рН, за якого відбувався активний ріст вегетативного міцелію досліджених штамів *F. betulina*, що важливо для проведення подальших досліджень.

Вуглець відіграє провідну роль у живленні грибів, оскільки є необхідним компонентом живої клітини і бере участь у процесах окиснення як джерело енергії. За даними літератури [2; 5] відомо, що культури базидіоміцетів добре асимілюють глюкозу, мальтозу і крохмаль. Вивчено вплив різних джерел вуглецевого живлення на ріст досліджуваних штамів *F. betulina*. Потреби культур *F. betulina* у джерелах вуглецевого живлення перевіряли на рідких поживних середовищах за оптимального значення рН 6,5. Як єдине джерело вуглецю на синтетичному поживному середовищі використовували: моносахариди — глюкозу, ксилозу; дисахариди — сахарозу, лактозу; трисахарид — рафінозу; полісахарид — крохмаль, які додавали в середовища у кількостях, еквівалентних 25,0 г/л глюкози за вуглем.

Накопичення маси міцелію в досліджених культурах відрізнялось на поживних середовищах із різними джерелами вуглецю. Проте з'ясовано, що для всіх досліджених видів кращими джерелами вуглецю є глюкоза і крохмаль (табл. 2). Більшість культур *F. betulina* надавала перевагу глюкозі — при цьому максимальне накопичення біомаси становило 3,5 г/л. Проте штами 1647, 1648, 1650 накопичували найбільшу масу міцелію на поживних середовищах з крохмалем. Лактоза була добрим джерелом вуглецю, але маса міцелію (до 4,0 г/л) не перевищувала таку на поживних середовищах з крохмалем і глюкозою. Всі досліджені культури гірше засвоювали сахарозу та рафінозу, порівняно з глюкозою і крохмалем.

Усі досліджені штами *F. betulina* споживали ксилозу дуже слабо. Під час росту культур на середовищах із різними джерелами вуглецевого живлення рН зменшувалось.

Таблиця 2. Накопичення біомаси штамами *F. betulina* на синтетичному поживному середовищі з різними джерелами Карбону (а.с.м., г/л)

Штам	Джерело вуглецю					
	Глюкоза	Ксилоза	Сахароза	Лактоза	Рафіноза	Крохмаль
1554	2,8±0,4	2,3±0,5	—	1,8±0,3	0,9±0,3	1,7±0,2
1555	3,5±0,2	2,1±0,3	2,4±0,2	2,8±0,4	2,2±0,3	3,1±0,2
1556	3,7±0,4	—	1,7±0,3	—	1,1±0,2	1,4±0,3
1647	1,8±0,3	—	1,2±0,5	—	1,4±0,4	2,4±0,4
1648	1,2±0,3	—	0,9±0,2	—	1,2±0,2	1,5±0,4
1650	2,5±0,2	—	1,9±0,2	1,2±0,2	1,7±0,2	2,8±0,2
1651	3,9±0,2	1,8±0,3	2,1±0,3	1,1±0,2	1,6±0,3	3,3±0,2
1652	3,1±0,4	—	1,9±0,4	0,9±0,2	1,2±0,3	2,3±0,3
1653	4,1±0,3	2,7±0,3	2,2±0,4	—	1,9±0,2	3,7±0,2
1654	3,3±0,2	2,1±0,4	2,1±0,2	1,0±0,3	1,3±0,2	3,0±0,1
2020	4,7±0,3	2,05±0,2	2,6±0,3	4,0±0,2	2,5±0,2	4,4±0,4

Примітка: «—» — культури *Fomitopsis betulina* на поживному середовищі не росли.

Зниження рН середовища в процесі росту культур в основному залежало від природи джерела вуглецю і швидкості його використання штамами гриба. На

поживних середовищах із помірно доступним для споживанням джерелом вуглецю, зокрема крохмалем, значення рН знижувалось у процесі росту культур меншою мірою (рН 4,0—4,5), ніж на середовищах із легкодоступною глюкозою (рН 3,5—4,0).

Таким чином, у ході дослідження встановлено, що найліпшими для росту міцелію більшості досліджених штамів *F. betulina* виявились глюкоза і крохмаль, ксилізу й лактозу культури засвоювали гірше.

Загальновизнано, що гриби можуть використовувати як органічні, так і неорганічні сполуки азоту. За даними літератури гарними джерелами азотного живлення для росту міцелію дереворуйнівних грибів є органічний та амонійний азот, зокрема пептон, аспарагін, діамоній фосфат $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$ [2; 3; 5].

Вивчення потреб культур *F. betulina* у джерелах азотного живлення проводили на рідких поживних середовищах за оптимального значення рН 6,5. Як єдине джерело азоту використовували нітратний (KNO_3) , амонійний $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ та органічний азот (аспарагін і пептон), які вносили у середовища в кількостях, еквівалентних 3,0 г пептону за азотом.

Дослідження росту культур *F. betulina* на середовищі з різними джерелами Нітрогену показало, що найліпше всі досліджені штами росли на середовищах із органічними джерелами азотного живлення (аспарагін і пептон) (табл. 3). За використання органічних джерел Нітрогену культури накопичували до 3,7 г/л біомаси на 14-ту добу культивування. Найактивніше накопичували міцеліальну масу штами 1556, 1651, 1653, 2020. Встановлено, що всі досліджені культури засвоювали як амонійний, так і нітратний Нітроген, проте продукцію більшої маси міцелію спостерігали на поживних середовищах із амонійним Нітрогеном (табл. 3). За даними літератури [3; 4] засвоєння неорганічного Нітрогену залежить від рН субстрату, а також від характеру амфолітичних протоплазматичних білків. Використання дереворуйнівними грибами сполук неорганічного Нітрогену залежить від того, в якому вигляді він знаходиться в середовищі: або як аніон NO_3^- , або як катіон NH_4^+ за умов, що кислотність середовища нижча або вища, ніж оптимальна кислотність гриба для росту.

Таблиця 3. Накопичення біомаси штамами *F. betulina* на синтетичному поживному середовищі з різними джерелами азоту (а.с.м., г/л)

Штам	Джерело азотного живлення			
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	KNO_3	Пептон	Аспарагін
1	2	3	4	5
1554	2,1±0,2	1,5±0,3	2,9±0,3	2,5±0,2
1555	3,0±0,2	2,9±0,3	3,5±0,4	3,7±0,4
1556	3,2±0,3	2,4±0,2	4,9±0,3	3,7±0,2
1647	1,6±0,3	1,3±0,2	2,2±0,2	1,8±0,2
1648	2,2±0,5	1,8±0,4	3,4±0,2	2,7±0,3
1650	2,5±0,2	1,1±0,3	2,9±0,4	2,4±0,5
1651	3,9±0,2	2,4±0,3	4,8±0,2	4,1±0,3
1652	2,2±0,3	1,7±0,4	4,1±0,3	3,8±0,2
1653	3,4±0,2	2,0±0,2	4,7±0,2	4,5±0,3
1654	2,5±0,2	2,0±0,3	3,5±0,3	3,8±0,4
2020	3,7±0,3	2,2±0,4	4,2±0,2	4,6±0,5

При вивченні живильних потреб досліджених штамів встановлено їх специфічність стосовно джерел вуглецевого та азотного живлення. Найкращими джерелами вуглецю для росту культур *F. betulina* були глюкоза та крохмаль, азоту — пептон.

Важливим фактором, який впливає на ріст і метаболізм грибів у культурі є співвідношення вуглецю та азоту в живильному середовищі. За даними різних дослідників [2; 3], для росту базидієвих макроміцетів оптимальне співвідношення С:N в межах від 5:1 до 20:1.

Досліджено вплив різних концентрацій глюкози (25,0; 30,0; 35,0 г/л) на ріст міцелію *F. betulina* у стаціонарних умовах. Найбільшу масу міцелію культури *F. betulina* накопичували за концентрації глюкози 30,0 г/л на 14 добу культивування (рис. 1).

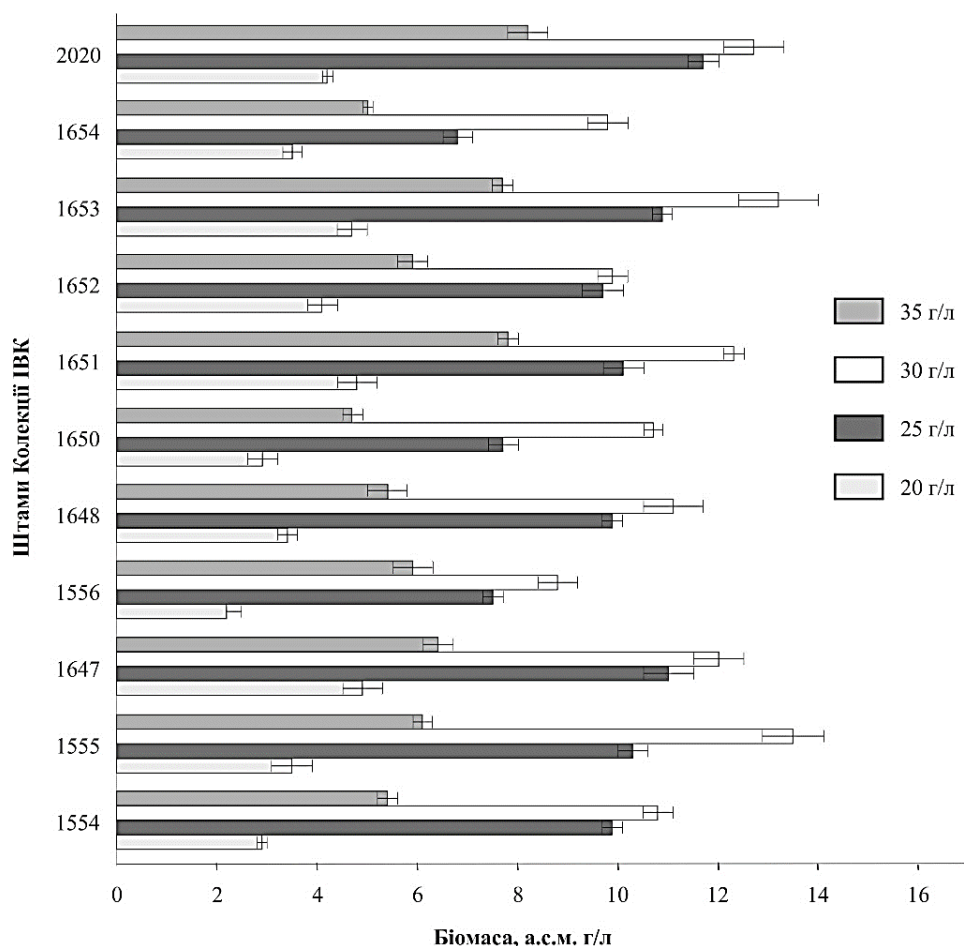


Рис. 1. Ріст штамів *F. betulina* на середовищах із різною концентрацією глюкози (20, 25, 30, 35 г/л)

Збільшення кількості глюкози в середовищі до 35,0 г/л не лише не призводило до збільшення біомаси, а, навпаки, обмежувало процеси росту. Наприклад, у середовищі, яке містило 30,0 г/л глюкози, найактивніші штами 1556, 1651, 1653,

2020 накопичували понад 12,0 г/л біомаси, тоді як при концентрації глюкози 35,0 г/л кількість біомаси зменшувалась до 7,4 г/л. Це можна пояснити тим, що збільшення концентрації глюкози при постійному значенні вмісту азоту викликає значні відхилення у вуглецевому обміні грибного організму [4]. За даними літератури [3] за умов надлишку вуглецю можливе уповільнення або навіть припинення росту. Так, за високої концентрації глюкози виникає стан, який має назву «фосфатної пастки». Метаболіти початкових етапів гліколізу накопичуються в концентраціях, які більші ніж на порядок перевищують вихідний рівень. Інша проблема, яка виникає при високому рівні вуглецевого субстрату, — накопичення в середовищі органічних кислот. У середовищі і у вегетативному міцелії накопичуються різноманітні продукти обміну (глюконові кислоти, жири), що призводить до сильного підкислення середовища до 3,0. Тому продукти обміну, які накопичуються в культурі, можуть бути чинниками, що інгібують ріст гриба. За результатами комплексного дослідження встановлено, що найбільшу масу міцелію культури *F. betulina* накопичують при 30,0 г/л глюкози в живильному середовищі.

Наступним етапом роботи було дослідження росту культур при концентрації глюкози 30 г/л та при збільшенні концентрації пептону до 4 г/л. Встановлено, що збільшення концентрації пептону в поживному середовищі з 3,0 до 4,0 г/л при постійній концентрації глюкози (30,0 г/л) не призвело до збільшення біомаси, а в деяких штамів спостерігалось незначне її зменшення. Отже, найвищу концентрацію біомаси базидієвих грибів *F. betulina* отримано на рідкому поживному середовищі за концентрації глюкози 30,0 г/л та пептону 3,0 г/л.

Висновки

Досліджено фізіологічні властивості 11 штамів *Fomitopsis betulina* на рідких поживних середовищах з різними джерелами вуглецю та азоту. Для досліджених культур встановлено сприятливі для росту вегетативного міцелію значення pH середовища та джерел вуглецевого й азотного живлення. Максимальну продукцію маси міцелію *F. betulina* виявлено у діапазоні pH 5,5—6,5. Найліпшими для росту міцелію досліджених штамів джерелами вуглецю є глюкоза і крохмаль, азоту — пептон. Найменш придатні для росту поживні середовища із ксилостою, лактозою та нітратним азотом.

Досліджено вплив різних концентрацій глюкози (25,0; 30,0; 35,0 г/л) та пептону (3,0; 3,5; 4,0 г/л) на ріст міцелію *F. betulina* у стаціонарних умовах. Найбільшу масу міцелію культури *F. betulina* накопичували за концентрації глюкози 30,0 г/л та пептону 3,0 г/л на 14 добу культивування.

За результатами проведеного скринінгу відібрані штами українського походження *F. betulina* 1555, 1653, 2020, які можуть бути перспективними для подальшого біотехнологічного застосування.

Література

1. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. М.: Из-во академии наук СССР, 1953. 1106 с.
2. Бисько Н. А., Бабицкая В. Н., Бухало А. С., Ломберг М. Л., Михайлова О. Б. и др. Биологические свойств а лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 2 / Под ред. чл.-кор. НАН Украины С. П. Вассера. Киев, 2012. 459 с.

3. Галынкин В. А., Заикина Н. А., Миндукшев И. В. Юрлова Н. А. Промышленная микология. СПб.: Изд-во СПХФА, 2003. 220 с.
4. Заикина Н. А., Коваленко А. Е., Галынкин В. А. и др. Основы биотехнологии высших грибов. СПб: «Перспектив науки», 2007. 336 с.
5. Ильина Г. В., Ильин Д. Ю., Лыков Ю. С. Роль специфики лигнинсодержащих субстратов при культивировании ксилотрофных грибов *in vitro*. *Микол. и фитопатол.* 2009. 43, № 2. С. 135—140.
6. Михайлова О. Б. Морфолого-культуральні властивості лікарського гриба *Piptoporus betulinus* (Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*. 2014. Т. 71, № 5. С. 603—609.
7. Bisko N., Lomberg M., Mykchaylova O., Mytropolska N. (2020). IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.2. The IBK Mushroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/dzdsqu> accessed via GBIF.org on 2020-12-14.
8. Bryce T. A., Campbell I. M., McCorkin N. J. Metabolites of *Polyporaceae*. Novel conjugates of polyporenic acid from *Piptoporus betulinus*. *Tetrahedron*. 1991. Vol. 72. P. 51—53.
9. Capasso L. 5300 years ago, the Ice man used natural laxatives and antibiotics. *Lancet*. 1998. Vol. 352, № 9143. P. 1864.
10. Kamo T., Asanoma M., Shibata H., Hirota M. Anti-inflammatory lanostane-type triterpene acids from *Piptoporus betulinus*. *Journal of Natural Products*. 2003. Vol. 66, № 8. P. 1104—1106. doi:10.1021/np0300479.
11. Karaman M., Mimica-Dukic N., Knezevic P., Svircev Z., Matavuly M. Antibacterial properties of selected lignicolous mushrooms and fungi from Northern Serbia. *International Journal Medicinal Mushrooms*. 2009. Vol. 11, № 3. P. 269—279. doi:10.1615/IntJMedMushr.v11.i3.60.
12. Keller C., Maillard M., Keller J., Hostettmann K. Screening of European fungi for antibacterial, antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and free-radical scavenging activities and subsequent isolation of bioactive compounds. *Pharmaceutical Biology*. 2002. Vol. 40, № 5. P. 18—525. doi:10.1076/phbi.40.7.518.14680.
13. Pleszczyńska M., Lemieszek M. K., Siwulski M. et al. Fomitopsis betulina (formerly *Piptoporus betulinus*): the Iceman's polypore fungus with modern biotechnological potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 33, № 83. doi:10.1007/s11274-017-2247-0.
14. Schlegel B., Luhmann U., Hartl A., Grafe U. Piptamine, a new antibiotic produced by *Piptoporus betulinus* Lu 9—1. *The Journal of Antibiotics*. 2000. Vol. 53, № 9. P. 973—974. doi:10.7164/antibiotics.53.973.
15. Vunduk J., Klaus A., Kozarski M., Petrovic P., Zizak Z., Niksic M., Van Griensven LJLD. Did the Iceman know better? screening of the medicinal properties of the birch polypore medicinal mushroom, *Piptoporus betulinus* (Higher Basidiomycetes). *International Journal Medicinal Mushrooms*. 2015. Vol. 17, № 12. P. 1113—1125. doi:10.1615/IntJMed- Mushrooms.v17.i12.10.
16. Wasser S. P. Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal Medicinal Mushrooms*. 2010. Vol. 12. № 1. P. 1—16. doi:10.1615/IntJMedMushr.v12.i1.10.