

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ІМ. М. Г. ХОЛОДНОГО

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ІМ. М. Г. ХОЛОДНОГО

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

РЕГЕДА ЛЮБОВ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 582.282.162

ДИСЕРТАЦІЯ

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ

ВИДІВ РОДУ *PHOLIOTA* (FR.) P. KUMM. У КУЛЬТУРІ

091 Біологія

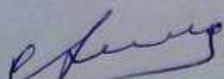
09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ Л. В. Регеда

Науковий керівник Бісько Ніна Анатоліївна, доктор біологічних наук, професор, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки

Київ – 2021

Всі примірянки ідентичні 

АНОТАЦІЯ

Регада Л. В. Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.)P.Kumm. у культурі – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія. – Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню морфолого-культуральних, фізіологічних та біосинтетичних характеристик 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (IBK), зокрема 6 штамів 3 видів роду *Pholiota*, виділених здобувачем з карпофорів, зібраних на території України.

В результаті проведених молекулярно-генетичних досліджень для 5 видів роду *Pholiota* – *P. adiposa*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. squarrosa* було підтверджено видову приналежність культур.

Дослідження морфолого-культуральних характеристик роду *Pholiota* (8 видів 18 штамів) дозволило виявити, що морфологічні особливості колоній були видоспецифічними, проте у всіх досліджених видів ця ознака змінювалась в залежності від складу живильного середовища. За результатами дослідження встановлено характеристики, які необхідно враховувати для підтвердження таксономічної приналежності культур видів роду *Pholiota* – морфологія та забарвлення вегетативного міцелію. Наявність додаткових ознак було відмічено лише для деяких видів – тяжі вегетативного міцелію формувалися під час росту культур *P. aurivella* (глюкозо-пептон-дріжджовий агар) та *P. limonella* (глюкозо-пептон-дріжджовий агар, мальц-екстракт агар), виділення крапель ексудату на мальц-екстракт агарі спостерігалось для *P. aurivella*, *P. squarrosa* та *P. subochracea*, забарвлення реверзumu колоній змінювалось на обох середовищах у штамів видів *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. squarrosa* та на мальц-екстракт агарі – у *P. populnea*.

Штамових особливостей досліджених нами культур за ознакою морфології колоній не було виявлено.

Встановлена різниця у швидкості радіального росту для культур різних видів роду *Pholiota* та штамів одного виду залежно від складу живильного середовища. Відмічено, що за показниками швидкості росту кращим середовищем для більшості штамів є глюкозо-пептон-дріжджовий агар, на якому цей параметр становив від $0,72 \pm 0,13$ до $2,24 \pm 0,18$ мм/добу. За даними радіальної швидкості росту досліджені нами штами видів роду *Pholiota* можна віднести до повільнозростаючих.

Досліджено мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур (ІБК). За допомогою сканувальної електронної мікроскопії вперше проведено детальне дослідження мікроструктур штамів *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* для встановлення морфологічної характеристики та ідентифікації цих таксонів у чистій культурі. Вперше виявлено існування таких структур вегетативного міцелію як анастомози для *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*; кондіальне спороношення – для *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. populnea*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*; кристали – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. populnea*, *P. nameko*, *P. subochracea*; міцеліальні плівки – для *P. nameko*, *P. subochracea*; хламідоспори – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. subochracea*. Для *P. populnea* вперше було відмічено існування секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі, а для *P. subochracea* – орнаментацию гіф вегетативного міцелію. Отримано нову інформацію про наявність гіфальних кілець для трьох видів роду *Pholiota* – *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

Встановлено, що представники роду *Pholiota* не здатні до росту в умовах підвищених температурних значень – жоден із штамів досліджених видів не ріс за температури 36 °С. Граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту вегетативного міцелію досліджених штамів видів роду *Pholiota*, варіювали від 36°C (*P. squarrosa* 2606) до 41°C (*P. aurivella*).

Виявлено вплив кислотності живильного середовища на накопичення біомаси. З'ясовано, що рН 5,5-6,5 (залежно від виду роду *Pholiota*) є оптимальними для продукції біомаси досліджених штамів на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі порівняно із більш високими та низькими значеннями кислотності середовища – вихід біомаси становив від 2,70 г/л (*P. alnicola*) до 6,26 г/л (*P. limonella*, *P. aurivella*).

Вперше отримано дані щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів у вегетативному міцелії 7 видів роду *Pholiota*. Показники вмісту ендополісахаридів варіювали від $1,44 \pm 0,10$ до $2,85 \pm 0,16\%$ сухої біомаси для *P. subochracea* та *P. adiposa* відповідно. Найнижчі показники продуктивності накопичення ендополісахаридів становили 50 ± 3 мг/л для *P. alnicola*, найвищі спостерігали для *P. nameko*, а саме, 120 ± 10 мг/л.

Вперше встановлено наявність та кількісні показники вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у міцелії представників роду *Pholiota*. Досліджені штами значною мірою відрізнялись за вмістом тритерпенових кислот – від $2,31 \pm 0,12$ мг/г (*P. limonella*) до $13,24 \pm 0,57$ мг/г (*P. subochracea*). Максимальна продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу була отримана для *P. aurivella* та *P. subochracea* – $29,87 \pm 1,08$ мг/л і $50,58 \pm 2,20$ мг/л відповідно. Мінімальне значення цього показника було зафіксовано для видів *P. limonella* ($14,45 \pm 0,75$ мг/л), *P. nameko* ($15,41 \pm 1,25$ мг/л) та *P. squarrosa* ($15,86 \pm 2,37$ мг/л).

Вперше встановлено вміст та продуктивність синтезу фенольних речовин представниками роду *Pholiota* в біомасі та культуральній рідині. Найбільший вміст цих речовин у вегетативному міцелії зафіксовано для штамів *P. alnicola*, *P. squarrosa*, найменший – для *P. nameko* та *P. aurivella*. Для культуральної рідини отримані дані варіювали від $0,48 \pm 0,01$ мг/г (*P. aurivella*) до $10,83 \pm 0,78$ мг/г (*P. limonella*). Максимальний показник продуктивності синтезу фенольних сполук у міцелії фіксували для *P. limonella* ($222,92 \pm 6,0$ мг/л), мінімальний становив $103,54 \pm 3,43$ мг/л для *P. alnicola*. Для екстрактів культуральної рідини ці показники варіювали від $1,19 \pm 0,17$ мг/л до $27,08 \pm 2,40$ мг/л для *P. aurivella* і *P. limonella* відповідно.

У результаті проведеного антимікробного скринінгу досліджених штамів виявлено антифунгальну активність екстрактів культуральної рідини *P.adiposa* 2169 відносно *Aspergillus niger* (зона інгібування становила 44 мм), *Penicillium pollonicum* (зона інгібування 35 мм) та *Mucor globosus* (зона інгібування 57 мм).

Вперше досліджено вплив біомаси видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus* (концентрація біомаси складала 0,625 мкг/мл). Біомаса представників роду *Pholiota* не впливала на процес проростання насіння *L. sativum* та *C. sativus*. Алелопатичний ефект біомаси вегетативного міцелію всіх досліджених видів роду *Pholiota* спостерігали для різних частин проростка – як кореня, так і пагону. Значні алелопатичні властивості були виявлені для трьох видів роду *Pholiota* – *P. adiposa*, *P. nameko* та *P. subochracea*, де пригнічувальний ефект на обидва види насінних проростків становив понад 50%. Зафіксовано зміни в опушенні, кількості і розмірах бічних коренів рослин залежно від біомаси дослідженого виду роду *Pholiota*.

Вперше визначено величину та межі варіювання антиоксидантної активності біомаси та культуральної рідини для штамів семи видів роду, а саме *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*. Порівнюючи отримані дані, можна зробити висновок про значно вищу ефективність антиоксидантної дії у випадку метанольних екстрактів біомаси – показники варіювали від $65,98 \pm 0,98\%$ (*P.nameko*) до $83,6 \pm 1,4\%$ (*P.alnicola*). Для екстрактів культуральної рідини максимальні значення були зафіксовані у випадку *P. limonella* ($38,3 \pm 1,14\%$), а мінімальні відмічали для *P.subochracea* ($7,37 \pm 0,46\%$)

Ключові слова: мікологія, *Pholiota*, штам, вегетативний міцелій, мікроструктура, рН, алелопатія, антиоксидантна активність, полісахариди, фенольні сполуки.

SUMMARY

Reheda L.V. Biological features of *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. species in culture – Qualifying scientific work, manuscript.

Thesis for a PhD, Program Subject Area 091 Biology. – M. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to studying cultural and morphological, physiological, and biosynthetic characteristics of 18 strains of 8 *Pholiota* species from the IBK Mushroom Culture Collection, particularly six strains of 3 *Pholiota* species, isolated by the applicant from carpophores collected in Ukraine.

As a result of molecular and genetic studies for 5 strains of *Pholiota* species – *P.adiposa*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, and *P. squarrosa* confirmed the species affiliation of cultures.

Study of morphological and cultural characteristics of 8 species of 18 strains of *Pholiota* genus revealed that the morphological features of the colonies were species-specific, but in all studied species, this feature varied depending on the nutrient medium composition. According to the results of the study, the characteristics that must be taken into account to confirm the taxonomic affiliation of *Pholiota* species cultures – colony morphology and color of the vegetative mycelium. The presence of additional features was noted only for some species – strands of vegetative mycelium were formed during the growth of *P.aurivella* (glucose-peptone-yeast agar) and *P. limonella* (glucose-peptone-yeast agar, malt extract agar) cultures, the release of exudate droplets on malt extract agar was observed for *P. aurivella*, *P. squarrosa* and *P.subochracea*, the color of the reverse changed on both media in the strains of *P.alnicola*, *P. nameko*, *P.squarrosa* and on the malt extract agar in *P. populnea*. Strain features of the studied cultures on the basis of the colonies morphology were not detected.

The difference in the radial growth rate for cultures of different *Pholiota* species and strains of the same species depending on the nutrient medium composition. It was noted that in terms of growth rate, the best medium for most strains is glucose-peptone-yeast agar, on which this parameter ranged from

0,72±0,13 to 2,24 ± 0,18 mm / day. According to the radial growth rate, the studied strains of *Pholiota* species can be attributed to slow-growing.

The micromorphological features of the vegetative mycelium of *Pholiota* genus (8 species and 18 strains) from the *IBK Culture Collection* were studied. For the first time, a detailed study of the microstructures of *P. alnicola*, *P. limonella*, *P.nameko* and *P.subochracea* was performed to establish the morphological characteristics and identification of these taxa in pure culture using scanning electron microscopy. For the first time the existence of such vegetative mycelium structures as anastomoses for *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P.subochracea* was revealed; conidial sporulation – for *P. alnicola*, *P. nameko*, *P.populnea*, *P. squarrosa*, *P.subochracea*; crystals – for *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. populnea*, *P. nameko*, *P.subochracea*; mycelial spots – for *P.nameko*, *P.subochracea*; chlamydospores – for *P.alnicola*, *P. limonella*, *P.nameko*, *P.subochracea*. For *P. populnea*, the existence of secretory hyphae and vacuolated mycelium was observed for the first time in pure culture, and for *P.subochracea*, ornamentation of vegetative mycelial hyphae was noted. New information on the presence of hyphal rings for three species of the genus *Pholiota* – *P. alnicola*, *P.limonella* and *P.subochracea*.

Limit temperatures have been established, after the influence of which the growth of vegetative mycelia of the studied strains of *Pholiota* species is not restored. These values ranged from 36 °C (*P. squarrosa* 2606) to 41 °C (*P.aurivella*).

The influence of nutrient acidity on biomass accumulation is revealed. It was found that pH 5,5-6,5 (depending on the *Pholiota* species) are optimal for biomass production of the studied strains on glucose-peptone-yeast medium, compared with higher and lower values of acidity of the medium – the biomass yield was from 2,70 g / l (*P. alnicola*) to 6,26 g / l (*P. limonella*, *P. aurivella*).

Data on the accumulation and productivity of endopolysaccharide synthesis in the vegetative mycelia of seven *Pholiota* species were obtained. Endopolysaccharide content ranged from 1,44 ± 0,10 to 2,85 ± 0,16% of dry biomass for *P. subochracea* and *P. adiposa*, respectively. The lowest

endopolysaccharide accumulation rate was 50 ± 3 mg/l for *P. alnicola*; the highest was observed for *P. nameko*, namely 120 ± 10 mg/l.

The presence and quantitative indicators of the lanostane type triterpene acids content and synthesis productivity in *Pholiota* genus have been established. The study found triterpene acids in the vegetative mycelia of all strains in various amounts – from $2,31 \pm 0,12$ mg/g (*P. limonella*) to $13,24 \pm 0,57$ mg/g (*P. subochracea*). The maximum lanostane type triterpene acids productivity of synthesis was obtained for *P. aurivella* and *P. subochracea* – $29,87 \pm 1,08$ mg/l and $50,58 \pm 2,20$ mg/l, respectively. The minimum value of this indicator was recorded for *P. limonella* ($14,45 \pm 0,75$ mg/l), *P. nameko* ($15,41 \pm 1,25$ mg/l) and *P. squarrosa* ($15,86 \pm 2,37$ mg/l).

The phenolic compounds content and productivity of synthesis in *Pholiota* genus in biomass and culture fluid were established. The highest content of these compounds in the vegetative mycelia was recorded for *P. alnicola* and *P. squarrosa* strains, the lowest – for *P. nameko* and *P. aurivella*. For culture fluid, the obtained data ranged from $0,48 \pm 0,01$ mg/g (*P. aurivella*) to $10,83 \pm 0,78$ mg/g (*P. limonella*). The maximum productivity of phenolic compounds synthesis in mycelia was observed for *P. limonella* ($222,92 \pm 6,0$ mg/l); the minimum was $103,54 \pm 3,43$ mg/l for *P. alnicola*. For culture fluid, these values ranged from $1,19 \pm 0,17$ mg/l to $27,08 \pm 2,40$ mg/l for *P. aurivella* and *P. limonella*, respectively.

Antimicrobial screening of the studied species extracts was performed. The antifungal activity of *Pholiota adiposa* 2169 culture fluid methanolic extracts against *Aspergillus niger* (inhibition zone was 44 mm), *Penicillium pollonicum* (35 mm inhibition zone) and *Mucor globosus* (57 mm inhibition zone) was detected.

The influence of *Pholiota* species biomass on seed germination and seedling growth of *Lepidium sativum* and *Cucumis sativus* was studied for the first time (the biomass concentration was $0,625$ µg/ml). The presence of *Pholiota* biomass did not affect the seeds germination of *L. sativum* and *C. sativus*. Vegetative mycelial biomass allelopathic effect of all studied *Pholiota* species was observed on

different parts of the seedling – both root and shoot. Significant allelopathic properties were found for 3 *Pholiota* species – *P.adiposa*, *P. nameko*, and *P. subochracea*, where the inhibitory effect on both types of seedlings was more than 50%. Changes in pubescence, number and size of lateral roots of plants are recorded depending on the *Pholiota* species biomass.

For the first time the magnitude and limits of antioxidant activity variation of biomass and culture fluid extracts were determined for seven species of the genus, namely *P.adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*. Comparing the obtained data, we can conclude that the efficiency of antioxidant activity is much higher in the case of biomass methanol extracts – the indicators ranged from $65,98 \pm 0,98\%$ (*P.nameko*) to $83,6 \pm 1,4\%$ (*P.alnicola*). For culture fluid extracts, the maximum values were recorded in the case of *P.limonella* ($38,3 \pm 1,14\%$), and the minimum was observed for *P.subochracea* ($7,37 \pm 0,46\%$).

Keywords: mycology, *Pholiota*, strain, vegetative mycelium, microstructure, pH, allelopathy, antioxidant activity, polysaccharides, phenolic compounds

**Статті у періодичних наукових виданнях держав, які входять до
Організації Економічного Співробітництва**

1. Regeda L.V., Bisko N.A. (2020). The effect of initial pH on production mycelial biomass of *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) species in liquid static culture. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*, 2(1), 1-3.

(*Особистий внесок здобувача*: ізольовано деякі культури грибів, виконано усі експериментальні роботи з культивування об'єктів дисертації за різних умов, проаналізовано отримані результати, написано текст статті у співпраці з науковим керівником)

**Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових видань
України**

1. Regeda L. V., Bisko N. A. (2019). Micromorphological characteristics of the species of *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) in pure culture. *Ukrainian Botanical Journal*, 76(2), 114-20.
(*Особистий внесок здобувача*: здобувачем були ізольовані культури грибів, проведені усі дослід з культивування культур базидієвих грибів та підготовки зразків для сканувальної електронної мікроскопії, написано основну частину тексту статті)
2. Регада Л. В., Бісько Н.А. (2020). Культурально-морфологічні характеристики видів роду *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 77(1), 56-63.
(*Особистий внесок здобувача*: виконання досліджень щодо культивування об'єктів дисертації на агаризованих середовищах різного складу, аналіз отриманих результатів, написання тексту роботи разом з науковим керівником)
3. Regeda L. V., Bisko N. A., Al-Maali G. (2021). Influence of *Pholiota* spp. (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) mycelial biomass on seed germination and

seedlings growth of *Lepidium sativum* L. and *Cucumis sativus* L. Visnyk of Taras Shevchenko National University of Kyiv: Biology, 84(1), 53-60.

(*Особистий внесок здобувача*: здобувачем було проведено усі досліді щодо алелопатичних властивостей культур роду *Pholiota*, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

Публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій

1. Regeda L. V. (2018). *Morphological features of species of genus Pholiota (Fr.) P. Kumm. in pure culture*. “Біотехнологія: звершення та надії”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с.126-127), Київ.
2. Регада Л. В. (2019). *Мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію видів роду Pholiota (Fr.) P. Kumm. у чистій культурі*. “Актуальні проблеми ботаніки та екології”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 66), Харків.
3. Regeda L. (2019). *Variation in cultural and morphological properties of Pholiota species in pure culture*. “Сьогодення біологічної науки”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 137-139), Суми.
4. Regeda L. (2021). *The phenolic substances content in methanol extracts of Pholiota species (Strophariaceae, Basidiomycota)*. “Planta+. Наука, практика та освіта”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 36-38), Київ.

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1. Загальна характеристика видів роду <i>Pholiota</i> (Fr.) P. Kumm.	21
1.1. Систематичне положення, морфологія, поширення видів.....	21
1.2. Біологічно-активні речовини видів роду <i>Pholiota</i>	26
1.3. Лікарське значення видів роду <i>Pholiota</i>	36
1.4. Дослідження видів роду <i>Pholiota</i> у культурі	43
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи	46
2.1. Об'єкти досліджень	46
2.2. Виділення чистих культур із природного матеріалу.....	48
2.3. Живильні середовища	48
2.4. Молекулярно-генетичні дослідження	49
2.5. Морфолого-культуральні дослідження	50
2.6. Дослідження мікроморфології вегетативного міцелію.....	51
2.6.1. Світлова мікроскопія	51
2.6.2. Сканувальна електронна мікроскопія	51
2.7. Дослідження впливу умов культивування на ріст міцелію та накопичення біомаси	52
2.7.1. Швидкість росту вегетативного міцелію	52
2.7.2. Дослідження впливу критичних температур на життєздатність міцелію	52
2.7.3. Дослідження впливу рН живильного середовища на накопичення біомаси	53
2.8. Біосинтетична активність культур	53
2.8.1. Вміст ендополісахаридів	53
2.8.2. Вміст тритерпенових кислот ланостанового типу.....	54
2.8.3. Вміст фенольних сполук	55
2.8.4. Приготування екстрактів міцелію та культуральної рідини.....	55
2.8.5. Антимікробна активність	56
2.8.6. Алелопатична активність	57
2.8.9. Антиоксидантна активність	59
2.9. Статистична обробка результатів	59
РОЗДІЛ 3. Морфолого-культуральна характеристика вегетативного міцелію	61

3.1.	Молекулярно-генетичні дослідження.....	61
3.2.	Морфологічні особливості вегетативного міцелію	63
3.3.	Дослідження мікроморфології вегетативного міцелію.....	74
РОЗДІЛ 4. Вплив умов культивування на ріст міцелію і накопичення біомаси		86
4.1.	Швидкість росту	86
4.2.	Вплив критичних температур на життєздатність вегетативного міцелію	90
4.3.	Вплив рН живильного середовища на ріст культур і накопичення біомаси	94
РОЗДІЛ 5. Біосинтетична активність культур <i>Pholiota</i> (Fr.) P. Kumm.		101
5.1.	Вміст ендополісахаридів	101
5.2.	Вміст тритерпенових кислот ланостанового типу.....	105
5.3.	Вміст фенольних сполук	109
5.4.	Антимікробна активність	112
5.5.	Алелопатична активність.....	115
5.6.	Антиоксидантна активність	127
ВИСНОВКИ		132
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		135
ДОДАТОК А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ		165
ДОДАТОК Б. ОСОБЛИВОСТІ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ ПО ЗБЕРЕЖЕННЮ ВЕГЕТАТИВНОГО МІЦЕЛІЮ ШТАМІВ РОДУ <i>PHOLIOTA IN VITRO</i>		167

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГА	голодний агар
ГПД	глюкозо-пептон-дріжджове середовище
ГПДА	глюкозо-пептон-дріжджовий агар
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
МЕА	мальц-екстракт агар
МХА	Мюллера-Хінтона агар
СА	агаризоване пивне сусло
СЕМ	сканувальна електронна мікроскопія
СМ	світлова мікроскопія
ПЛР	полімеразно-ланцюгова реакція
ITS	внутрішній транскрибований спейсер

ВСТУП

Актуальність теми. Базидієві гриби за таксономічними, екологічними та фізіологічними параметрами є дуже різноманітною групою еукаріотичних організмів (Asatiani et al., 2010). Значний інтерес до вивчення грибів цієї групи та їх біологічно-активних компонентів пов'язаний з їхнім великим біотехнологічним потенціалом.

Види роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. використовуються як для промислового отримання плодових тіл, а саме *P. nameko* (T. Ito) S. Ito. та *P. adiposa* (Batsch) P. Kumm.) (Pegler, 2003; Gizaw, 2015), так і для отримання біологічно-активних речовин з лікувальними властивостями. Значна кількість публікацій присвячена медико-біологічним властивостям плодових тіл та вегетативного міцелію деяких видів роду *Pholiota*. Наразі встановлено антиоксидантні (Deng et al., 2011; Sun et al., 2012; Wang et al., 2014; Liu et al., 2018; Zhu et al., 2018; Sung et al., 2020; Yu et al., 2020; Zheng et al., 2020), антимікробні (Dulger, 2004; Nowacka et al., 2014; Wang et al., 2014; Chou et al., 2019; Zhu et al., 2019; He et al., 2019; Sung et al., 2020), гепатопротекторні (Gan et al., 2012; Zheng et al., 2014), протипухлинні (Kawagishi et al., 1999; Clericuzio et al., 2004; Gan et al., 2011; Gan et al., 2015) та імуномоделюючі (Minato, Kasahara, 2006; Minato, 2010) властивості компонентів, що виділяють з міцелію та плодових тіл представників цього роду. Однак щодо біологічних властивостей вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota*, виділених у культуру з плодових тіл, зібраних на теренах України, наявні лише окремі відомості (Бухало, 1988; Ломберг, 2005; Buchalo et al., 2011; Бисько и др., 2012). Вищезазначений факт унеможлиблює використання практичних ресурсів видів роду *Pholiota* у повному об'ємі. Тому вивчення біологічних особливостей базидієвих грибів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України та поповнення Колекції новими штамми видів цього роду з території України є актуальним і доцільним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки

ім.М.Г.Холодного НАН України відповідно до планів НДР за темами № 433 «Біологічні особливості штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ІБК*» (№ державної реєстрації – 011U002001) та № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ІБК*» (№ державної реєстрації – 0120U101111).

Мета роботи. Дослідження біологічних особливостей штамів видів роду *Pholiota* за різних умов культивування.

Для досягнення мети було визначено низку завдань:

1. Виділити чисті культури нових штамів роду *Pholiota* з плодових тіл, зібраних на території України.
2. Підтвердити видову приналежність досліджених штамів видів роду *Pholiota*.
3. Дослідити залежність морфолого-культуральних особливостей і швидкості росту вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota* від складу агаризованих живильних середовищ.
4. Дослідити мікроструктури вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota*.
5. Встановити граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту вегетативного міцелію досліджених штамів видів роду *Pholiota*.
6. Виявити вплив кислотності живильного середовища на накопичення біомаси досліджених штамів.
7. Провести скринінг штамів роду *Pholiota* за накопиченням і продуктивністю ендopolісахаридів.
8. Встановити вміст і продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у представників роду *Pholiota*.
9. Встановити вміст та продуктивність синтезу фенольних сполук у біомасі і культуральній рідині представників роду *Pholiota*.
10. Провести антимікробний скринінг біомаси та культуральної рідини, а також тритерпенових кислот ланостанового типу видів роду *Pholiota*.

11. Дослідити вплив біомаси видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*.
12. Визначити величину і межі варіювання антиоксидантної активності екстрактів біомаси та культуральної рідини штамів видів роду *Pholiota*.

Об'єкт дослідження. 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* (Fr.) P.Kumm. з Колекції культур шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України.

Предмет дослідження. Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P.Kumm. з Колекції культур *IBK*.

Методи дослідження. Загальноприйняті мікробіологічні, мікологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні методи роботи з чистими культурами грибів, світлова та сканувальна електронна мікроскопія, спектрофотометрія, статистичні та математичні методи обробки результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше проведено дослідження морфолого-культуральних характеристик 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. У результаті експериментальних досліджень з'ясовано критичні температури інкубації вегетативного міцелію, при яких штами зберігають життєздатність. Встановлено сприятливі для продукції біомаси значення рН живильного середовища для кожного з досліджених видів роду *Pholiota*. Уперше отримано відомості щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів у вегетативному міцелії семи видів даного роду, а також результати щодо вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у представників роду. Уперше встановлено вміст і продуктивність синтезу фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині представників роду *Pholiota*. Проведено дослідження антимікробних властивостей екстрактів біомаси, культуральної рідини, а також тритерпенових кислот ланостанового типу семи видів даного роду. Уперше досліджено вплив біомаси видів роду на проростання насіння, ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*.

Уперше визначено антиоксидантну активність екстрактів біомаси і культуральної рідини досліджених штамів видів роду *Pholiota*.

Практичне значення отриманих результатів. Поповнено Колекцію культур шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України 6 штамми 3 видами роду *Pholiota*, які були виділені з карпофорів, зібраних на території України. Молекулярно-генетичними методами підтверджено видову приналежність 5 штамів 5 видів роду *Pholiota* з Колекції *IBK* та депоновано відповідні молекулярні послідовності до міжнародної бази даних GenBank. Досліджено мікроструктури вегетативного міцелію восьми видів роду *Pholiota*, які доповнюють критерії оцінки таксономічної приналежності штамів при зберіганні *in vitro*. Надано рекомендації щодо зберігання вегетативного міцелію 7 культур 7 видів *Pholiota in vitro*, з указанням умов культивування та біологічних особливостей штамів.

Отримані результати можуть слугувати підґрунтям для подальшого використання досліджених видів грибів у фармакології та агровиробництві.

Особистий внесок. Робота є самостійним дослідженням здобувача, яким проаналізовано наукову літературу, виконано основний обсяг експериментальних досліджень, узагальнено результати, систематизовано і статистично оброблено дані експериментів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені та обговорені на засіданнях відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Міжнародній науково-практичній конференції “Біотехнологія: звершення та надії” (Київ, 2018), Міжнародній конференції молодих учених “Актуальні проблеми ботаніки та екології” (Харків, 2019), Міжнародній науково-практичній конференції “Сьогодення біологічної науки” (Суми, 2019), Міжнародній науково-практичній конференції “Planta+. Наука, практика та освіта” (Київ, 2021).

Обсяг і структура роботи. Дисертація складається зі вступу, 5 розділів, висновків та списку літератури (281 найменування, з них 257 англійських). Загальний обсяг роботи складає 164 сторінок. Основна

частина дисертації викладена на 135 сторінках, ілюстрована 12 таблицями, 46 рисунками та 2 додатками.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДІВ РОДУ *PHOLIOTA* (FR.) P. KUMM.

Можливість використання базидієвих грибів для створення профілактичних та лікувальних засобів, вирощування плодових тіл у промислових масштабах стала реальною після багаторічних фундаментальних досліджень процесів життєдіяльності макроміцетів, в тому числі особливостей їх росту та розвитку, характеру та механізмів метаболічної та ферментативної активності (Wasser, 2010; Petre, 2015; Agrawal, Dhansakaran, 2019).

1.1. Систематичне положення, морфологія, поширення видів

Першою згадкою про види роду *Pholiota* можна вважати роботу «Elenchus fungorum» («Вказівник грибів») німецького натураліста Batsch, де він описав та навів рисунки для двох видів *Agaricus adiposus* та *Agaricus aurivellus*. Згідно автору, відміни спостерігались у розмірах, забарвленні та виглядом лусок на шапинці (Batsch, 1786). У 1821 році шведський ботанік та міколог Fries виділив дві групи роду *Pholiota* – Tribe XXII (*Pholiota of Agaricus*) та Tribe XXV (*Flammula*), тому можна сказати, що історія роду починається з публікації «Systema Mycologicum», оскільки ця дата вважається офіційним початком їх номенклатури (Fries, 1821). Німецький міколог та бріолог Kummer став першим дослідником, хто в 1871 році надав родову назву цим двом групам, що виділяли Batsch та Fries, створивши дві нові номенклатурні назви *Pholiota adiposa* (Batsch) P. Kumm. та *Pholiota aurivella* (Batsch) P. Kumm.

У 1878 році американський міколог, ботанік та бріолог Peck опублікував опис нового виду лускатки, поширеного на території Північної Америки – *Agaricus limonellus*. Автор описував його як яскравий лимонно-жовтий гриб з коричневими лусками (Peck, 1878).

Всесвітньо відомий міколог та натураліст, засновник Французького мікологічного товариства Quélet у 1886 році запропонував рід *Dryophila* для

об'єднання обох груп, але потім все таки поділив їх на підроди *Pholiota* та *Flammula* (Quélet, 1886). Проте, це створило неузгодженість між дослідниками – одні підтримували концепцію Quélet, інші схилились до існування груп як окремих родів. Дослідники Singer та Smith висловили думку, що загальні відмінності між *Pholiota* та *Flammula* у розумінні авторів були занадто незначними, щоб виправдати існування обох родів (Singer, Smith, 1946).

Наступною стала праця північноамериканських мікологів Smith і Hesler – монографія «The North American species of *Pholiota*». Оскільки попередні таксономічні дані щодо північноамериканських видів *Pholiota* та *Flammula* не базувались на вивченні мікроскопічних ознак базидіокарпів, метою їх роботи був перегляд оцінки видових концепцій навіть для так званих загальних видів. Результатом їх роботи стала праця, де наведені макро- та мікроскопічні особливості видів роду *Pholiota*, приведено авторські ілюстрації, описано 75 нових для науки видів (Smith, Hesler, 1968).

У 1889 році швейцарський міколог Fayod запропонував іншу концепцію поділу роду. Він вніс пропозицію класифікувати трибу *Pholiota* як окремі роди: *Pholiota*, *Ryssospora* і *Мухосубе* (Fayod, 1889). Слід згадати інших науковців, які займались проблемою систематики роду – американський міколог и ботанік Earle (1909), німецький священник та міколог Ricken (Ricken, 1915), американські спеціалісти Overholts, Kauffman (Overholts, Kauffman, 1924), голандські дослідники Kuiper, Tjallingii-Beukers (Kuiper, Tjallingii-Beukers, 1986), датський міколог Lange (Lange, 1938), шведський науковець Jacobsson (Jacobsson, 1987, 1990), чеський дослідник Holec (Holec, 1998, 2001), голандський міколог Noordeloos (Noordeloos, 2011) та ін.

На сьогодні, види роду *Pholiota* належать до родини Strophariaceae порядку Agaricales класу Agaricomycetes відділу Basidiomycota царства Fungi (Kirk et al., 2001; Moncalvo et al., 2002; <http://www.indexfungorum.org>). Приблизна їхня кількість – близько 200-300, про 25 з них повідомляється в Україні (Зерова, 1979; Дудка та ін., 2009).

Більшість видів цього роду – це сапротрофи, що є активними дереворуйнівними організмами, іноді паразитами. Зростають на живій чи відмерлій деревині різноманітних листяних, зрідка хвойних порід дерев у період з середини літа (червень) і до осені (жовтень) (Smith, Hesler, 1968; Дудка, 1987). Можуть зростати також на згарищах, ґрунті (Дудка, Вассер, 1979), але жоден із видів не формує ектотрофну мікоризу (Cho, 2003).

Представникам роду *Pholiota* властиве загальне покривало (у деяких видів нестійке, швидко зникаюче), плодові тіла середнього та великого розмірів, іноді дрібні. Шапинка спочатку напівсферична, згодом стає плоско- або опукло-розпростертою, зазвичай яскраво-забарвлена – жовта, вохряна, руда, коричнева різних відтінків, іноді білувата, кремова; волокнисто-луската або стовбурчастолуската (рис. 1.1.1, 1.1.2.). Пластинки прирослі, зрідка злегка спускаються на ніжку, коричневі, різних відтінків. Трама пластинок правильна. Спорова маса іржаво- або вохряно-коричнева. Спори гладенькі, жовтуваті- або вохряно-коричнюваті. Ніжка центральна з кільцем, щільна луската, іноді гола, клейка, суха (Зерова, 1979). Об'єктом нашого дослідження стали штами таких видів роду *Pholiota* (Fr.) P.Kumm. з Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України:

Pholiota adiposa (Batsch) P. Kumm. Вид дуже пластичний, росте як у природних, так і в антропогенних місцях, найчастіше як субстрат вказується бук європейський (*Fagus sylvatica* L.) (Smith, Hesler, 1968) (рис.1.1.1.А);

Pholiota alnicola (Fr.) Singer зростає на стовбурах і пнях листяних порід (*Alnus* Mill., *Salix* L.), часом і на хвойних деревах (Smith, Hesler 1968) (рис.1.1.1. В);

Pholiota aurivella (Batsch) P. Kumm. зростає на стовбурах і колодах листяних порід (*Acer* L., *Tilia* L., *Ulmus*, *Fagus* L., *Betula* L.) та хвойних дерев (Smith, Hesler 1968) (рис. 1.1.1.С);

Pholiota limonella (Peck) Sacc. зростає як на живих деревах, так і на повалених і сухостійних стовбурах або пнях листяних порід дерев, особливо

Betula L. та *Alnus Mill.*, також *Fraxinus L.*, *Salix L.*, набагато рідше – *Fagus L.*, *Populus L.*, іноді на деревині хвойних порід (Noordeloos, 2011) (рис. 1.1.1.D);

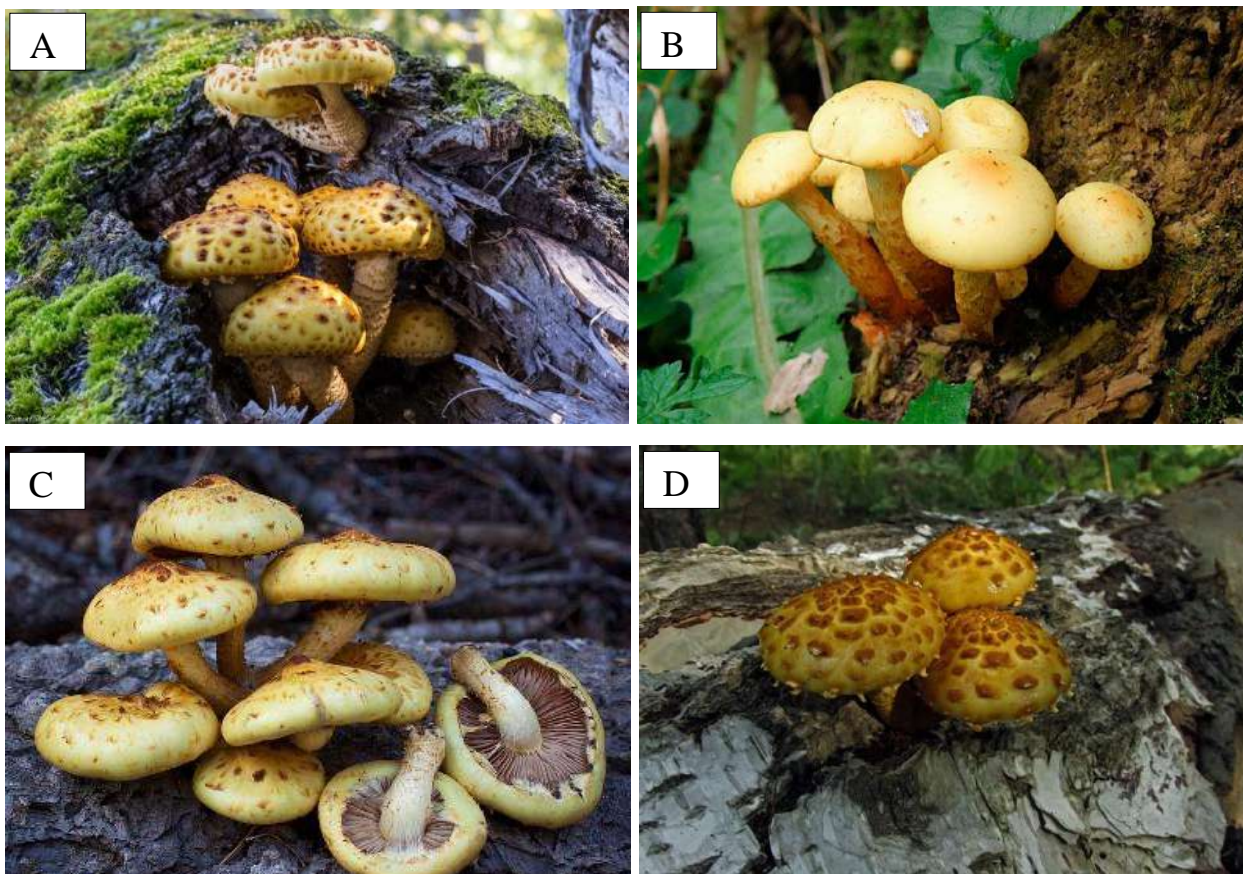


Рис.1.1.1. Плодові тіла *Pholiota adiposa* (A) (фото з інтернет-ресурсу <https://mycology.su/>), *P. alnicola* (B) (<https://lesnoygrib.ru/>), *P. aurivella* (C) (<http://lvgira.narod.ru/>), *P. limonella* (D) (<https://mycology.su/>).

Pholiota nameko (T. Ito) S. Ito & S. Imai зростає на деревах листяних порід таких як *Fagus crenata* Blume, *Fagus japonica* Maxim., *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb. (Gizaw, 2015) (рис. 1.1.2.A);

Pholiota squarrosa (Oeder) P. Kumm. зростає в основі стовбурів дерев, переважно листяних порід (*Fagus L.*, *Salix L.*, *Fraxinus L.*, *Malus Mill.*, *Betula L.*, *Populus L.* та ін.), іноді трапляється на хвойних (*Picea Mill.*) (Smith, Hesler 1968) (рис. 1.1.2.B);

Pholiota subochracea (A. H. Sm.) A.H.Sm. & Hesler. Вид надає перевагу деревині на пізніх стадіях гниття і трапляється на опалих стовбурах і гілках хвойних порід (Smith, Hesler, 1968; Holec, 1997) (рис. 1.1.2.C).

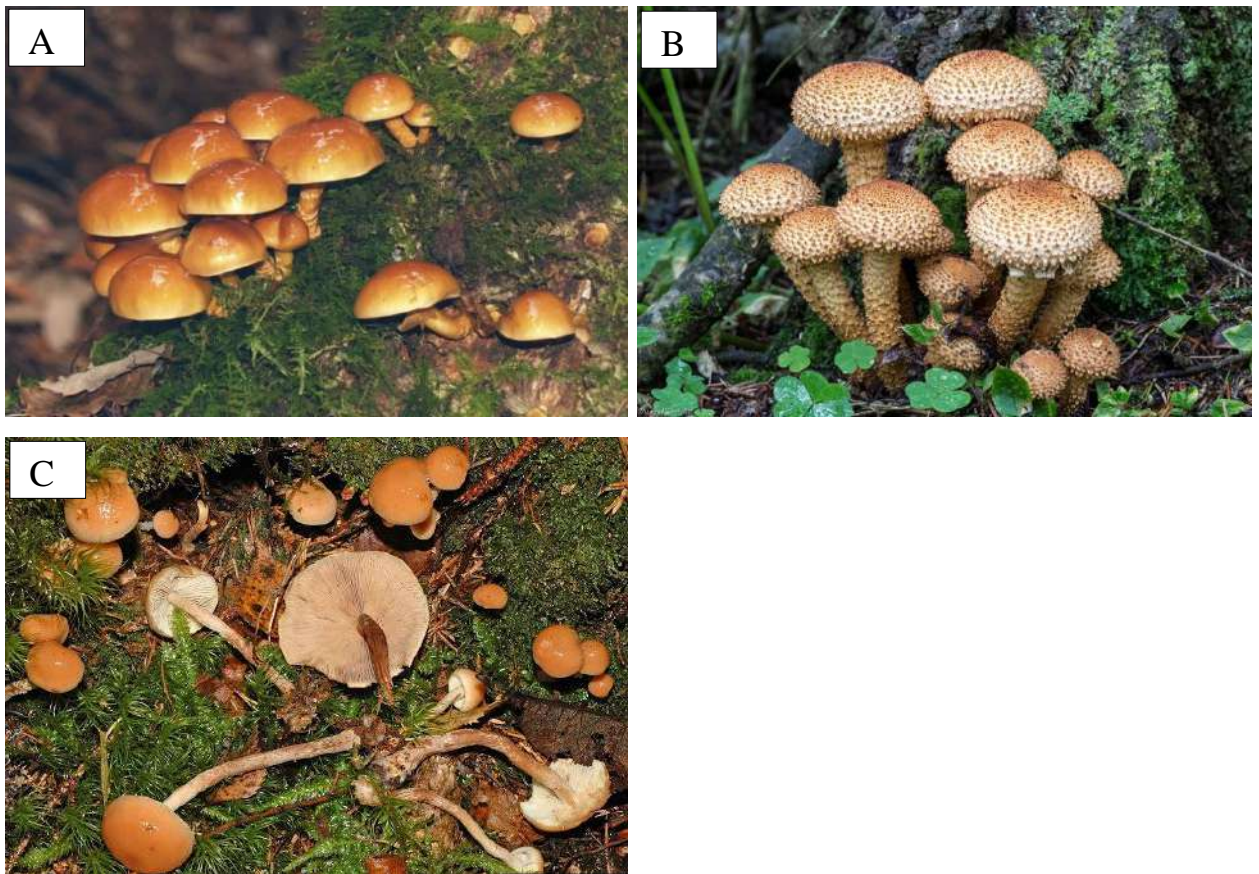


Рис.1.1.2. Плодові тіла *P. nameko* (A) (фото з інтернет-ресурсу <https://wikigrib.ru/>), *P. squarrosa* (B) (<https://mycology.su/>), *P. subochracea* (C) (<http://www.huntsearch.ru/>).

Ареал поширення зазначених вище видів – Північна Америка (північний схід, тихоокеанський північний захід, Каліфорнія) (Smith, 1968), Європа (Holec, 2014), Азія (Tewari, 1973; Zhuang, 2001). На території України види трапляються повсюдно – Карпати, Правобережне та Лівобережне Полісся, Розтоцько-Опільські Ліси, Лівобережний Лісостеп, Правобережний та Лівобережний Злаково-Лучний Степ, Злаковий Степ (Зерова, 1979; Дудка та ін., 2009).

Більшість видів неїстівні через коркуватий, гіркуватий м'якуш, деякі види їстівні, отруйні відсутні. Плодові тіла *P. nameko* та *P. adiposa* культивуються у промислових масштабах у країнах Південно-Східної Азії як цінні їстівні гриби (Pegler, 2003; Gizaw, 2015).

Окрім класичних методів, у роботі з видами роду *Pholiota* сучасні мікологи користуються методами молекулярного аналізу як для підтвердження нових видів (Holec et al., 2014; Lee et al., 2014; Tian et al.,

2016), так і для проведення ревізій роду, що теж вносить свої корективи у систематику (Matsumoto, 2003; Jacobsson, 2012; Matheny et al., 2018; Kuhar et al., 2019; Lee, 2020).

1.2. Біологічно-активні речовини видів роду *Pholiota*

Як відомо з багаторічного досвіду народної медицини Китаю, Японії, Кореї та інших південно-східних країн Азії, плодові тіла багатьох макроміцетів характеризуються рядом властивостей, що обумовлюють смакові та харчові якості, а також лікувально-профілактичні характеристики (Белова, 2004; Petre, 2015; Agrawal, Dhansakaran, 2019). Проте на даний час людство використовує лише незначну частину цього величезного природного потенціалу. Наприклад, лише базидієві гриби містять невичерпний запас антипухлинних та імуностимулюючих полісахаридів (Ng, 1998; Daba, Ezeronye, 2003; Lee, 2003; Sridhar, Deshmukh, 2019).

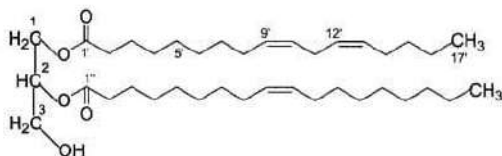
Біологічно-активні компоненти було знайдено у базидієвих грибах 651 виду, що належать до 182 родів класів *Hetero-* та *Homobasidiomycetes* (Wasser, 2010). Встановлено, що зібрані у природних біотопах чи штучно вирощені плодові тіла, міцелій та культуральна рідина макроміцетів містять біологічно-активні речовини (Wasser, 2010; Duru, Çayan, 2015). Гриби роду *Pholiota* також є джерелом величезної різноманітності природних сполук, що надає унікальні можливості для їх використання. У складі плодових тіл *P.nameko* встановлено близько 44,4% білків, 4,4% жирів та 44,6% вуглеводів (глюкоза, фруктоза, трегалоза та ін.), а також спирти (гліцерол, арабітол, манітол) (Yoshida et al., 1996). У складі плодових тіл цього виду знайдені мінеральні елементи – Ca, K, Mg, P, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Zn (Niedzielski et al., 2007). Доведено, що у плодових тілах *P. nameko* синтезуються такі органічні кислоти: мурашина, оцтова, молочна, щавлева, бурштинова, фумарова, яблучна, α -кетоглутарова, пуроглутамінова, лимонна, ізоцитринова (Yoshida et al., 1996).

Вторинні метаболіти

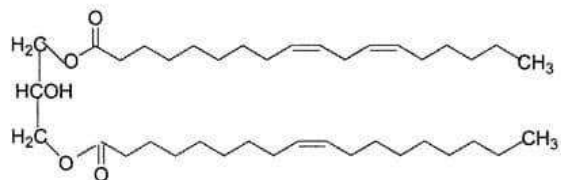
Як плодові тіла, так і міцелій видів роду *Pholiota* містять ряд вторинних метаболітів, таких як фенольні сполуки, полікетиди, терпеноїди тощо (Clericuzio et al., 2004; Chung et al., 2005; Liu et al., 2008; Niu et al., 2019; Wu, Kawagishi, 2020).

Одним із перших досліджень щодо з'ясування активних компонентів у представників роду *Pholiota* стала робота корейських вчених (Chung et al., 2005). В результаті проведеної роботи їм вдалось виділити сім нових речовин в плодових тілах *P.adiposa*: 1-ліноленовий-2-олеїн ($C_{39}H_{70}O_5$) (рис. 1.2.1.A), 1-ліноленовий-3-олеїн ($C_{39}H_{70}O_5$) (рис. 1.2.1.B), стигмастерол ($C_{29}H_{48}O$) (рис. 1.2.1.C), 1- (N,N,N-триметил етил амінофосфорил)-2,3-дилінолеїн іон ($C_{44}H_{81}O_8PN$) (рис. 1.2.1.D), 1,4-глюкопіранозил-1',4'-глюкопіранозил-1'',4''-глюкопіранозид ($C_{18}H_{32}O_{16}$) (рис. 1.2.1.E), гліцерилфосфатаза ($C_3H_9O_6P$) (рис. 1.2.1.F) та 2',3'-дифосфорил-1'- β -D-глюкопіранозид ($C_9H_{20}O_{14}P_2$) (рис. 1.2.1.G) (Chung et al., 2005).

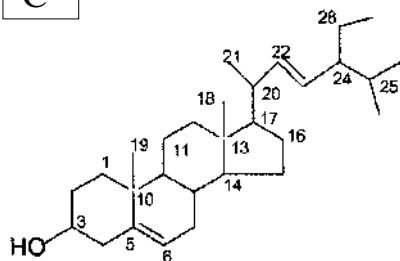
A



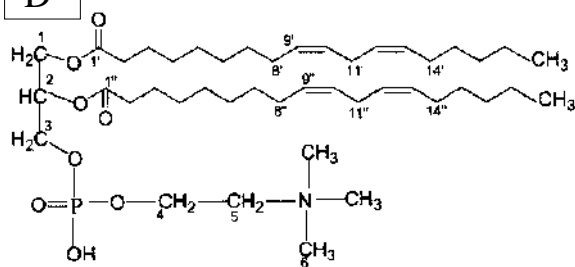
B



C



D



E

F

G

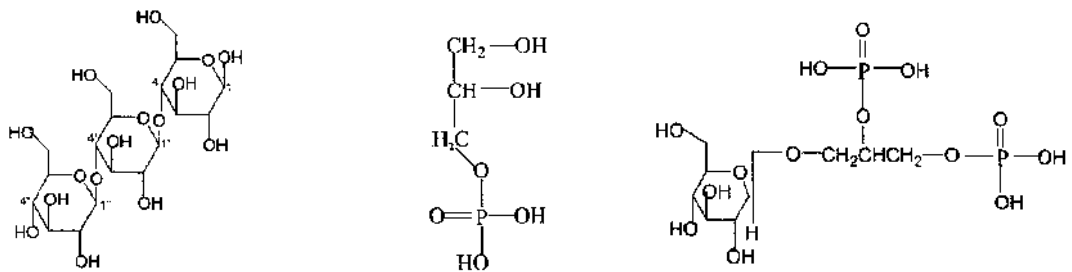
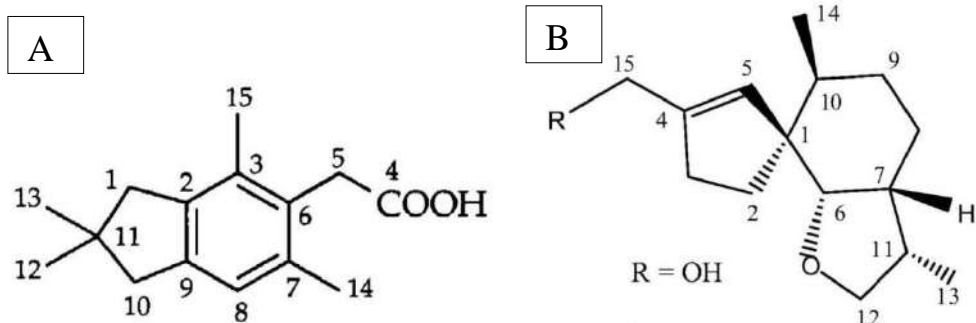
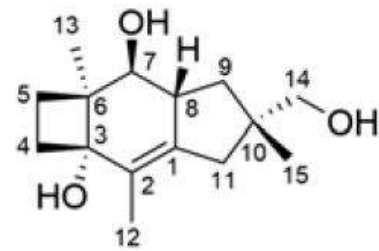


Рис. 1.2.1. Ізольовані сполуки з плодового тіла *Pholiota adiposa*: 1-ліноленовий-2-олеїн (А), 1-ліноленовий-3-олеїн (В), стигмастерол (С), 1-(N,N,N-триметил етил амінофосфорил)-2,3-дилінолеїн іон (D), 1,4-глюкопіранозил-1',4'-глюкопіранозил-1'',4''-глюкопіранозид (Е), гліцерилфосфатаза (F) та 2',3'-дифосфорил-1'-β-D-глюкопіранозид (G) (Chung et al., 2005).

Терпеноїди. Сесквітерпени. У 1994 році Becker зі співавторами (Becker et al., 1994) повідомили про ілюдалановий сесквітерпен з хімічною формулою $C_{15}H_{20}O_2$ – фоліотичну кислоту, виділену з міцелію *P. destruens* (рис. 1.2.2.A). Наступною сполукою, вперше виділеною з культуральної рідини *P. adiposa*, став спіроаксановий сесквітерпен (15-гідрокси-6α,12-епокси-7β,10αH,11βH-спіроакс-4-ен) (рис. 1.2.2.B) (Liu et al., 2008). У 2018 році Yang з колегами повідомив про виділення та ідентифікацію двох нових сесквітерпенів з міцелію *P. nameko* (Yang et al., 2018). Ще одним відомим для цього роду стерпурановим сесквітерпеном є (3R,6S,7S,8R,10S)-3,7,14-тригідрокси-1-стерпурен (рис. 1.2.2.C), виділений з міцелію *P. nameko* (Niu et al., 2019).



C



D

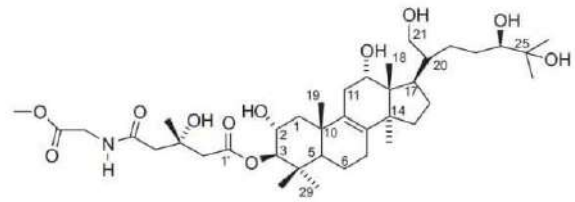


Рис. 1.2.2. Сесквітерпени, ізольовані: з міцелію *Pholiota destruens* (Becker et al., 1994) (A); з культуральної рідини *Pholiota adiposa* (Liu et al., 2008) (B); з міцелію *Pholiota nameko* (C) (Niu et al., 2019); ланостановий тритерпеноїд, ізольований з плодових тіл *Pholiota spumosa* (D) (Clericuzio et al., 2004).

Ланостанові тритерпеноїди. Фасцикулол E (рис.1.2.2.D) був виділений як один із метаболітів плодових тіл *P. spumosa* (Fr.) Singer. Цей клас речовин пов'язують з властивостями інгібувати кальмодулін (Clericuzio et al., 2004).

Полікетони. Фоліотон A ($C_{16}H_{26}O_4$) – новий для роду полікетон, ізольований з екстрактів плодових тіл *Pholiota* sp. (рис.1.2.3.). Окрім цієї сполуки, вченим вдалось виділити та ідентифікувати з плодових тіл *Pholiota* sp. триходерміни A та B, а також конінгіни B та E (He et al., 2020).

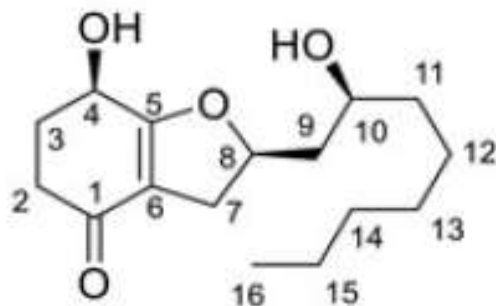


Рис. 1.2.3. Ізольований фоліотон A з плодових тіл *Pholiota* sp. (He et al., 2020).

Ще один скринінг біологічно-активних складових плодових тіл був проведений на прикладі *P. limonella* (Zhang et al., 2020). Вчені виділили та ідентифікували 11 сполук, а саме – цервістерол ($C_{28}H_{46}O_3$), біс(2-

етилбутил)фталат ($C_{20}H_{30}O_4$), карбоциклічний інозин ($C_{11}H_{14}N_4O_4$), фенілаланін ($C_9H_{11}NO_2$), цикло-(Leu-Val) ($C_{11}H_{16}N_2O_2$), уридин ($C_9H_{12}N_2O_6$), саліциловий альдегід ($C_7H_6O_2$), ергоста-5,22- дієн-3 β -ол ($C_{28}H_{46}O$). Три з виділених речовин виявились новими для роду *Pholiota*: 1,2-циклопентандіол,3-(гідроксиметил)-5-(6-метокси-9H-пурин-9-іл)-, (1 α ,2 α ,3 β ,5 β)-(9Cl) ($C_{12}H_{16}N_4O_4$), цитрузин С ($C_{16}H_{12}O_7$), 4-(4-гідроксифеніл) - 3-бутен-2-он ($C_{10}H_{10}O_2$).

Фенольні сполуки. Існують дані щодо фенольних сполук в плодових тілах двох видів роду, а саме: *P. adiposa* та *P. nameko*. Спільними для них виявились р-гідроксибензойна кислота, гомогентизинова кислота та протокатехоева кислота, окрім цих сполук, у складі *P. adiposa* було відмічено галову кислоту (Guo et al., 2012).

У 2020 році Jing Wu, Hirokazu Kawagishi доповнили вже існуючу інформацію щодо біологічно-активних речовин у плодових тілах представників роду, а саме *P. lubrica* (Pers.) Singer (рис.1.2.4). Слід зазначити, що серед цих речовин зазначається про новий цинамідин (рис.1.2.4.A) та сполуку, вперше виділену з природніх джерел (рис.1.2.4.B) (Wu, Kawagishi, 2020).

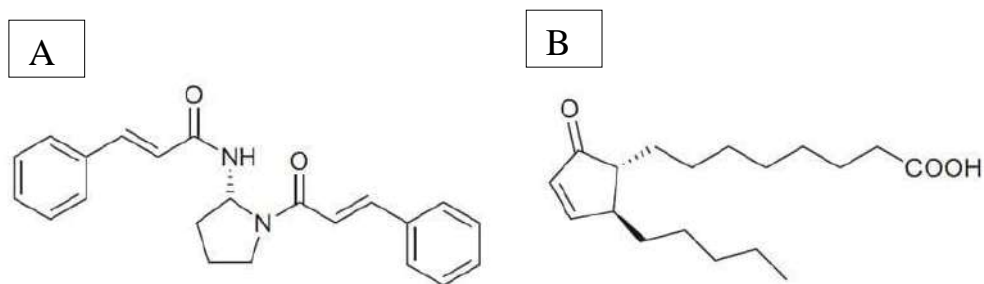


Рис. 1.2.4. Ізольовані сполуки із плодових тіл *Pholiota lubrica* (Wu, Kawagishi, 2020).

Сполука НЕВ (рис. 1.2.5.A) була виділена та очищена з плодових тіл виду *P. adiposa* та визначена як метилгалат ($C_8H_8O_5$; 184,1 кДа). НЕВ виявляв низьку цитотоксичність та сильну антиоксидантну активність. Інгібування гемолізу еритроцитів та утворення супероксидних аніонних радикалів

становило 82,4% та 71,4% відповідно. Окрім того, речовина проявляла значну анти-ВІЛ-активність (Wang et al., 2014).

Фенілпропаноїди. Новою сполукою для цього класу став скверозидин ($C_{27}H_{20}O_9$) (рис. 1.2.5.В), виділений з плодових тіл *P. squarrosa*, що проявляв помітний інгібуючий ефект ксантиноксидази (Wangun, Hertweck, 2007).

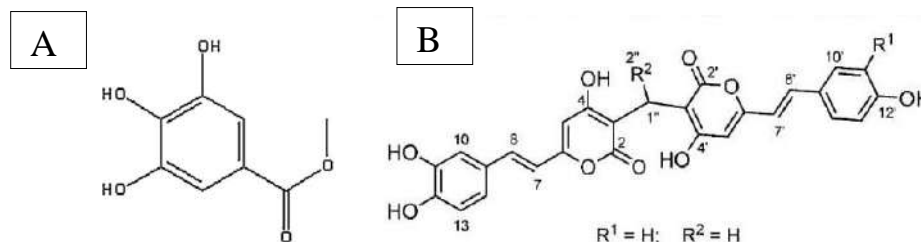


Рис. 1.2.5. НЕВ, виділений з плодових тіл *Pholiota adiposa* (А); скверозидин, виділений з плодових тіл *Pholiota squarrosa* (В) (Wangun, Hertweck, 2007).

Слід зазначити, що більшість наведених вище біологічно-активних сполук були виділені з плодових тіл грибів роду *Pholiota*, що свідчить про перспективність досліджень таких речовин у вегетативному міцелії представників.

Полісахариди

Вивчення полісахаридів видів роду *Pholiota* є актуальним через низку цінних властивостей – антиоксидантну (Deng et al., 2011; Sun et al., 2012; Zheng et al., 2015; Chou et al., 2019; Yu et al., 2020), протипухлинну (Hu et al., 2012; Gan et al., 2015; Zhu et al., 2018; Zou et al., 2019; Sung et al., 2020), імунну (Li et al., 2012), гепатопротекторну (Zheng, 2014). Саме тому дослідники звертають увагу також як на методи оптимізації умов для їх отримання (Sun et al., 2012; Yu-Hong, 2013), так і на встановлення структур цих вторинних метаболітів (Zheng et al., 2014; Zheng et al., 2015; Zhu et al., 2017; Chou et al., 2019).

Визначення хімічної структури полісахаридів проводили для *P. adiposa* та *P. nameko*. Аналіз складу моносахаридів показує, що полісахариди *P. nameko* належать до гетерополісахаридів, до яких входять галактоза, глюкоза

та манноза в різних співвідношеннях (Zheng et al., 2014; Zheng et al., 2015; Zhu et al., 2017; Chou et al., 2019). Gan також виявив, що глюкоза була переважаючим моносахаридом у складі полісахариду міцелію з *Pholiota dinghuensis* Z. S. Bi (Gan et al., 2012). Такі ж дані наводяться і щодо *P. adiposa* (Zou et al., 2019).

Полісахарид виділений з міцелію *P. nameko* SW-03, складається з глюкози, манози, глюкуронової кислоти, галактози, галактуронової кислоти та арабінози в молярному співвідношенні 172,59← 5,29← 4,61← 4,20← 1,01←1,00 та молекулярною масою 13,63 кДа (Zheng et al., 2015). PNP полісахарид плодових тіл цього ж виду в основному складався з глюкози та манози. Є дані, що ця сполука є комплексом полісахаридів та поліфенолів (Zhu et al., 2017). Проте, слід зазначити, що основний полісахарид, виділений іншими дослідниками з плодових тіл *P. nameko*, складався з арабінози, галактози, глюкози, ксилози та маннози в молярному співвідношенні 29,6←13,6←8,4←6,2←1. Тому можна зробити висновок про певні відмінності у структурній характеристиці полісахаридів у міцелії та плодових тілах *P. nameko* (Zheng et al., 2014; Zhu et al., 2017).

Chou зі співавторами зазначають про наявність у складі полісахаридів плодових тіл *P. nameko* глікопротеїну, що складається з β-глюкану, білка та уронової кислоти у різних співвідношеннях (Chou et al., 2019).

Полісахариди PAP (PAP30-2a, PAP60-2b та PAP80-2a) були виділені з міцелію *P. adiposa*. В результаті досліджень з'ясувалось, що це полісахаридно-білкові комплекси, що складаються з полісахариду (32,5-70,1%) та пептиду (23,4%-60,7%), причому вміст полісахаридної частини зростає зі збільшенням молекулярної маси комплексу (Hu et al., 2012). Подальший аналіз PAP80-2a надав більше інформації для розуміння структури цієї речовини. Полісахаридний компонент зазначеної сполуки складався з глюкози, рамнози, ксилози та галактози у співвідношенні 10,00←2,09←4,09←1,13. Структура його вуглеводневого ланцюга виглядала як [α-Rha (1 → 3)-]_n (Zou et al., 2019).

Білки

Результати досліджень амінокислотного складу білків плодів тїл *P.nameko* свідчать про наявність наступних амінокислот, сім з яких є незамінними – аргініну, валіну, ізолейцину, лейцину, лізину, треоніну, фенілаланіну, а також аланіну, аспарагіну, аспарагінової кислоти, гістидину, гліцину, глютамінової кислоти, глютаміну, орнітину, проліну, серину, цистатіоніну, 3-метилгістидину та β -аміноізомалянової кислоти (Yoshida et al., 1996).

Новий білок, виділений з плодового тіла *P. nameko* – PNPA, молекулярна маса цього білку становить 18,5 кДа, а N-кінцева послідовність виявлена як AGRTFIGYNG. Автори повідомляють про значну антиоксидантну активність цього білку завдяки ефективному знешкодженню гідроксильних та 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразильних радикалів, а також зазначають про ефективність дії білке проти ракових клітин, таких як MCF7 та Hela (Zhang et al., 2014; Zhang et al., 2020).

Лектини. Першим виділеним та описаним лектином з родини Strophariaceae став білок PAA, виділений з плодового тіла *P. aurivella*. Цей лектин здатний до аглютинації еритроцитів людини незалежно від групи крові (Kawagishi et al., 1991).

У 2009 році вчені очистили PAL – лектин з плодового тіла *P. adiposa*, що складався з двох однакових субодиниць, кожна з молекулярною масою 16 кДа. N-кінцева послідовність цього лектину була DILMGTYGML та мала вуглеводну специфічність. Лектин пригнічував проліферацію пухлинних клітин Hep G2 та MCF, виявляв інгібуючу активність зворотної транскриптази ВІЛ-1 (Zhang et al., 2009).

Було описано лектин PhoSL, виділений з плодового тіла *P. squarrosa*. Білок представлено 40 амінокислотами без вуглеводневих радикалів чи фосфатних груп, що складається з трьох або чотирьох субодиниць масою 4,5 кДа кожен. Унікальною властивістю PhoSL є його точна специфічність до зв'язування цукру до α 1–6Fuc. Однією з найважливіших модифікацій олігосахаридів у канцерогенезі є α 1–6 фукозилювання. Саме тому цей лектин, здатний диференціювати первинні та метастатичні тканини раку

товстої кишки в експресії α 1-6 фукозилювання, є біотехнологічно перспективним (Kobayashi et al., 2012)

Поліаміни. З плодових тіл *Pholiota spumosa* (Fr.) Singer виділили путресцин-1,4-дицинамід (рис. 1.1.4.), похідний фенілпропаноїду, з'єданого з путресцином поліаміну, який ніколи раніше не виділяли як природну сполуку. Останнім часом з'явилися аналоги поліамінів, які за своєю структурою схожі з природними поліамінами, але не можуть імітувати їх функції, необхідні для клітинного росту та диференціації (Clericuzio et al., 2007; Russo et al., 2007).

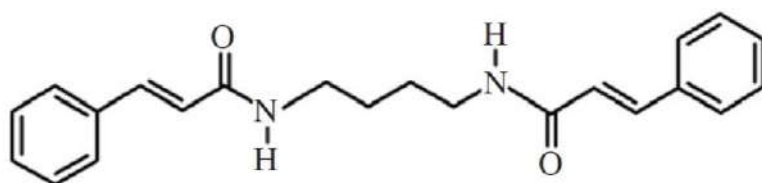


Рис. 1.1.4. Структура путресцин-1,4-дицинаміду, виділеного з плодових тіл *Pholiota spumosa* (Clericuzio et al., 2007).

Ферменти. Тирозиназу (монофенол, 3,4-дигідрокси L-фенілаланін (L-DOPA): оксигеноредуктаза, ЕС 1.14.18.1) виділяли з плодових тіл *P. nameko*. Очищений фермент являв собою мономер з молекулярною масою 42000 кДа. N-кінець очищеного ферменту не вдалося виявити розкладанням за Едманом, тоді як С-кінцева послідовність ферменту була визначена як -Ala-Ser-Val-Phe-OH. Послідовність амінокислот складалася з 625 амінокислотних залишків і містила два мідьзв'язуючі сайти, висококонсервативні у тирозиназах різних організмів. Припускається, що тирозиназа *P. nameko* експресується як профермент з подальшим специфічним розщепленням для отримання зрілого ферменту (Kawamura-Konishi et al., 2007).

Кислу фосфатазу виділено японськими вченими з міцелію *P. nameko*. Фермент виявляв найвищу реакційну здатність щодо р-нітрофенілфосфату та високий рівень активності щодо досліджених фосфатів нуклеозидів та

фосфатів цукру (Joh et al., 1996). Продовжуючи дослідження, вони виявили значну субстратну специфічність до глюкозо-1-фосфату (Joh et al., 1998).

Лаказа. Аналіз супернатанту міцелію *P. highlandensis* (Peck) A.H. Sm. & Nesler показав ферментативну смугу з молекулярною масою близько 90 кДа, що свідчить про наявність вищезгаданого ферменту в міцелії цього виду (Choi et al., 2015).

Серинову протеазу було ізольовано з плодового тіла *P. nameko*. Встановлено, що це мономерний білок з молекулярною масою 19 кДа та N-кінцевою послідовністю ARTPEAPAEEV (Guan et al., 2011).

1.3. Лікарське значення видів роду *Pholiota*

Видовий склад грибів на Землі становить приблизно 150 000 (Wasser, 2011), серед них щонайменше 2000 видів їстівні, а близько 200 – застосовують для лікувальних цілей у альтернативній медицині (Sanchez, 2004). Результати культивування міцелію базидієвих грибів у чистій культурі збільшують перспективи їх широкого використання в харчовій промисловості та у сфері охорони здоров'я (Hobbs, 1995; Wasser, Weis, 1999; Shamtsyan, 2010; Wani et al., 2010).

На сьогодні встановлено низку лікарських властивостей біологічно-активних компонентів, що виділяють з міцелію та плодових тіл представників роду *Pholiota* (Cho, 2003; Jagtap et al., 2012; Li et al., 2017).

Антиоксидантні властивості. Поліненасичені жирні кислоти зазнають окислення в присутності кисню, іонів металів і світла. Вони виробляють реакційноздатні форми кисню, які мають широкий спектр патологічних ефектів, таких як спричинення пошкодження ДНК, канцерогенез та деградація клітин (Fu, Shieh; 2002). Серед різних речовин, що трапляються в природі, гриби є одним з потенційних кандидатів у пошуку ефективних антиоксидантів (Liu et al. 1997). Повідомляється про ряд видів з роду *Pholiota*, що мають антиоксидантні властивості як міцелію (Asatiani et al., 2010; Deng et al., 2011; Gong et al., 2012; Sun et al., 2012; Wang et al., 2013; Wang et al., 2014; Zhang et al., 2015; Hu et al., 2015; Zheng et al., 2015;

Rodrigues et al., 2016; Liu et al., 2018; Zhu et al., 2018; Sung et al., 2020; Yu et al., 2020; Zheng et al., 2020), так і плодових тіл (Jo et al., 2010; Gong et al., 2012; Guo et al., 2012; Kim et al., 2013; Kim et al., 2014; Noh et al., 2014; Zhang et al., 2014; Nguyen et al., 2015; Ji et al., 2015; Qian et al., 2016; Hyung-Eun et al., 2016).

Антимікробні властивості. Інфекційні хвороби все ще є основною загрозою для здоров'я людини. Класифікують п'ять основних груп збудників хвороб: віруси, бактерії, гриби, найпростіші та метазої (зазвичай гельмінти) (Bannister et al., 2000; Gao, 2005). Загальновідомий факт, що природні сполуки, виділені з мікроорганізмів, були джерелом для синтезу більшості антибіотиків, що зараз представлені на ринку. Відкриття пеніциліну та його використання в 1940-х роках призвело до подальших досліджень антимікробних сполук, що стало причиною відкриття величезної кількості антибіотиків, виділених зокрема з актиноміцетів та грибів (Pelaez, 2006). Лікарські засоби на основі природних сполук можуть представляти безпечні та корисні доповнення до існуючих антимікробних методів лікування інфекційних захворювань (Martin, Ernst, 2003b). Види роду *Pholiota* також є перспективними для вивчення таких властивостей, зважаючи на наявність біологічно-активних сполук у своєму складі (Pujol et al., 1990; Suay et al., 2000; Rascola et al., 2001; Dulger, 2004; Yamacé, Bilgili, 2006; Intiaj, Lee, 2007; Ефременкова и др., 2012; Nie 2012; Ranadive et al., 2013; Nowacka et al., 2014; Wang et al., 2014; Chou et al., 2019; Zhu et al., 2019; He et al., 2019; Sung et al., 2020).

Гепатопротекторні властивості. Печінка є важливим органом для детоксикації шкідливих для людини речовин (Nitha et al., 2013). Однак, захворювання печінки стають серйозною проблемою здоров'я у всьому світі. Більшість гепатотоксинів викликають пошкодження тканин після того, як вони метаболізуються до вільних радикалів і викликають подальше пошкодження клітин за допомогою механізму ковалентного зв'язування та перекисного окислення ліпідів (Kanter et al., 2005).

Після 28 днів експерименту Lan Zheng зі співавторами порівнювали морфологію клітин печінки трьох груп мишей – контрольної групи без зовнішніх впливів, першої модельної групи, підданій впливу емульсії з високим вмістом жиру, та другої модельної групи, підданій впливу емульсії з високим вмістом жиру з додаванням полісахаридів *P. nameko*. В результаті структура пошкоджених гепатоцитів у модельній групі з додаванням полісахаридів міцелію змінилась. При цьому морфологічні структури були значно відновлені. Після внесення полісахаридів жирові вакуолі помітно зменшились, а дегенерація гепатоцитів зменшилася. Гістопатологічні дослідження виявили, що полісахариди міцелію *P. nameko* позитивно впливають на пригнічення морфологічних змін тканин печінки, спричинених стеатозом клітин печінки (найпоширеніший вид гепатозу, при якому в клітинах печінки відбувається накопичення жиру) (Zheng et al., 2014).

Були отримані схожі дані в дослідях зі щурами щодо *P. dinghuensis* Z.S. Ві. Було зафіксовано захист тканин печінки від індукованого CCl_4 (карбон тетрахлориду) запалення та інфільтрації завдяки попередній обробці полісахаридами міцелію *P. dinghuensis* (Gan et al., 2012).

Гіперліпідемічні властивості. Серцево-судинні захворювання є основною причиною смерті по всьому світу, згідно даних Всесвітньої Організації Охрони Здоров'я (WHO) з цим діагнозом щорічно помирають близько 17,9 млн. пацієнтів (<https://www.who.int/>). Одними з основних факторів ризику серцево-судинних захворювань є гіперхолестеринемія (високий рівень холестерину в крові) та гіперліпідемія (підвищений рівень ліпідів і/або ліпопротеїнів низької щільності в крові людини). Тому розробка нових, ефективних та безпечних заходів щодо зниження рівня холестерину в крові є важливою та актуальною проблемою.

Гриби, у яких виявлені антисклеротичні властивості, здатні знизити рівень холестерину в крові (Jeong et al., 2010; Bobek et al., 1995; Gunde-Simerman, 1999; Shamtsyan et al., 2014). Вони можуть бути перспективними для використання у медичній галузі як цінні лікувальні і харчові добавки (Wasser, Weis, 1999; Shamtsyan, 2010).

Дослідження Li зі співавторами продемонструвало потенційні гіполіпідемічні ефекти полісахаридів, ізольованих з плодових тіл *P. nameko*, на гіполіпідемічній моделі щурів, раціон яких був збагачений холестерином (Li et al., 2014). Автори зазначають про здатність компонентів полісахаридів знижувати вміст ліпідів в сироватці крові (загальний холестерин, тригліцериди, ліпопротеїди низької щільності та фосфоліпіди) та у печінці (загальна кількість ліпідів, загальний холестерин, тригліцериди та фосфоліпіди), підвищувати рівень ліпопротеїдів високої щільності, зменшувати вміст малонового діальдегіду, збільшувати активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза), послаблювати атеросклеротичне ураження та сприяти зменшенню надмірної ваги тіла та вісцерального ожиріння (Li et al., 2014).

У 2014 році групою науковців було проведено дослідження щодо впливу полісахаридів міцелію *P. nameko* на низку параметрів у досліджуваних мишей, таких як вага тіла, морфологічні зміни печінки, ліпіди крові та печінки (Zheng et al., 2014). В результаті проведеної роботи автори зробили висновок про антигіперліпідемічну, антиоксидантну та гепатопротекторну активності полісахаридів на основі отриманих показників. Щодо результатів ліпідів крові та печінки, повідомляється про значні зниження рівнів низки показників у порівнянні з такими у контрольній групі. Окрім того, миші, у яких в раціоні були присутні полісахариди, набрали меншу масу тіла, ніж модельні контрольні миші. Ці результати вказують на те, що харчові добавки на основі полісахаридів *P. nameko* можуть певною мірою стримувати збільшення ваги людини.

Протипухлинні властивості. Рак є основною причиною смерті в економічно розвинених країнах та другою за поширенням причиною смерті в країнах, що розвиваються (World Health Organization, 2008; Jemal et al., 2011). Останнім часом в намаганнях знайти ефективні засоби для протипухлинної терапії вчені звертаються до грибних сполук (Smith, 2002; Taguchi, 1987; Han et al., 2009; Zhang et al., 2011; Xu et al., 2012). Біологічно-активні речовини лікарських грибів з протипухлинною дією включають в себе полісахариди

(Chihara et al., 1969; Zong et al, 2012), полісахаридно-білкові комплекси (Ooi, Liu, 2010; Maehara et al., 2012), харчові волокна (Wasser, Weis, 1999), певні типи білків (Li et al., 2010; Zhao et al., 2010; Xu et al., 2011), терпеноїди (Kimura et al., 2002; Lin et al., 2003; Yu et al., 2004), стероїди (Bok et al., 1999; Kobori et al., 2006) та феноли (Ivanova et al., 2014).

Полісахариди грибів є найбільш дослідженими серед усіх компонентів грибів. Окрім запобігання канцерогенезу та метастазуванню, вони проявляють опосередковану імунними клітинами протипухлинну активність (Zong et al, 2012; Chen, Xiang, 2013).

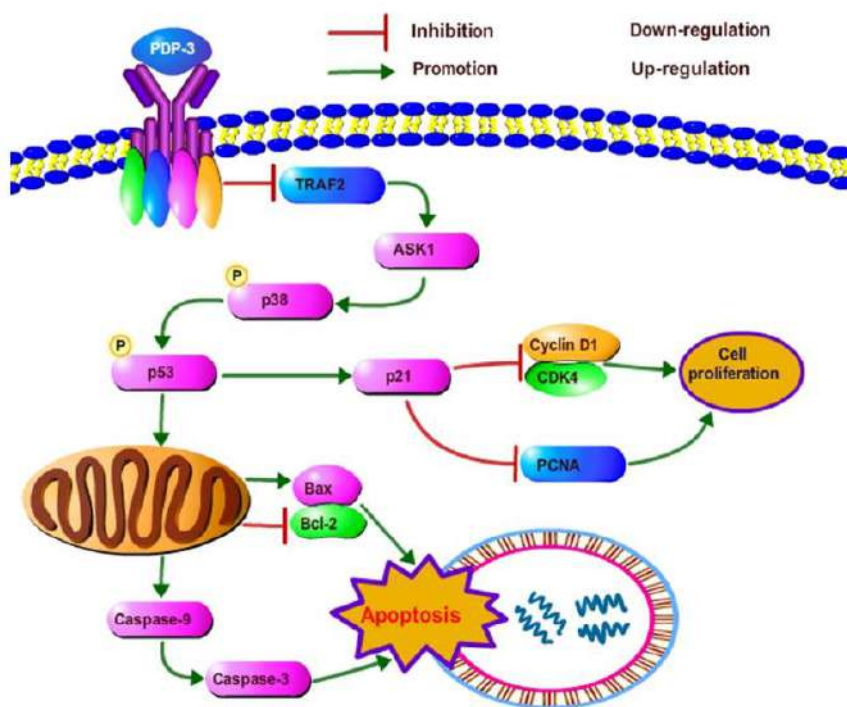


Рис. 1.3.1 Потенційний механізм дії PDP-3 у регуляції проліферації та апоптозу клітин MCF-7 раку молочної залози людини через сигнальні шляхи передачі p38 / MAPK (Gan et al., 2015).

Gan з колегами виявили антипроліферативну активність *in vitro* полісахаридів, виділених з міцелію *P. dinghuensis*, на клітинах раку шлунка людини (Gan et al., 2011). Далі вони продовжили дослідження (Gan et al., 2015) та виявили, що PDP-3 (полісахаридна фракція з міцелію *P. dinghuensis* Ві) регулював білок p21 і знижував експресію генів PCNA, цикліну D1 та CDK4 в клітинах раку молочної залози лінії MCF-7 залежно від дози. Отже, антипроліферативна активність PDP-3 щодо лінії клітин MCF-7

здійснювалася через опосередковану регуляцію клітинного циклу та допоміжний фактор ДНК-полімерази PCNA (рис. 1.3.1)

Білки формують ще одну важливу частину функціональних компонентів грибів, які також привертають все більшу увагу завдяки їх фармацевтичному потенціалу та можливості застосовувати білкову інженерію із заданими властивостями (Ivanova et al., 2014). Білки грибів з протипухлинною активністю можна розділити на дві групи: білки з безпосередньою антипроліферативною дією на ракові клітини та імуномодуючі білки. Лектини утворюють групу, якій притаманні обидва механізми дії (Sridhar, Deshmukh, 2019), і саме ці сполуки були знайдені у плодових тілах *P. adiposa* (Zhang, 2009). Вперше виділений лектин з *P. adiposa* має значну інгібуючу активність щодо зворотної транскриптази HIV-1 ($IC_{50} = 1.9 \mu M$) та антипроліферативну активність ($IC_{50} = 2-3 \mu M$). Проте, не всі види роду *Pholiota* мають такі особливості – для лектину, виділеного з плодового тіла *P. aurivella*, багато властивостей, включаючи антифунгальну, антипроліферативну та інгібуючу активність HIV-1 RT, не було виявлено (Kawagishi et al., 1999).

У 2007 році вчені виявили здатність пригнічувати ріст ракових клітин сполукою, що була вперше виділена у представників царства Fungi з плодових тіл *P. spumosa* (Clericuzio et al., 2004). Путресцин-1,4-дицинамід за допомогою системи транспорту поліамінів інгібує ріст ракових клітин простати людини, що викликає клітинну загибель шляхом апоптозу (Russoa et al., 2007). Ще два нових аміді – N1, N8-дициннамоїлспермідин та фоліотична кислота виявили інгібуючий ефект на ріст клітин андроген-нечутливих клітин раку простати (Clericuzio et al., 2007).

Для білково-полісахаридного комплексу, екстрагованого з міцелію *P. adiposa*, виявлено імуностимулюючу та протипухлинну дію *in vivo*. Серед трьох очищених полісахаридів (PAP30-2b, PAP60-2b або PAP80-2a), PAP80-2a виявив найзначніший ефект у протидії пухлинам (показник інгібування становив 73%) та стимулюванні проліферації Т-лімфоцитів (Hu et al., 2012; Zou et al., 2019).

Імуномодельючі та протизапальні властивості. Багато грибних сполук демонструють свої унікальні властивості як модифікатори біологічної відповіді. Відомо, що вони посилюють або пригнічують імунну відповідь через безліч факторів, а саме – дозування, спосіб введення, механізм імуномодулюючої дії та їх активні ділянки (Minato, 2010).

Дані, отримані у 2006 році японськими вченими, свідчать, що плодове тіла *P. nameko* мають сильну імуномодулюючу активність за рахунок синтезу цитокінів (Minato, Kasahara, 2006).

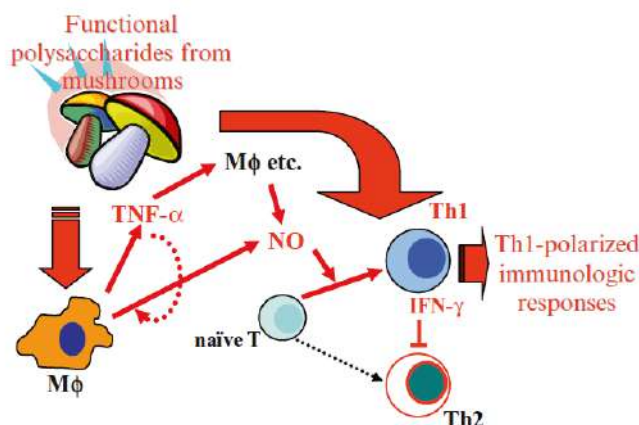


Рис. 1.3.2. Гіпотеза імуномодулюючої дії функціонального полісахариду з їстівних грибів. Гриби можуть забезпечити вихідні матеріали для розробки Th1-поляризуючого імуномодулятора (Minato, 2010).

Minato встановив, що порошок, отриманий з плодових тіл *P. nameko*, посилює імуномодулюючу дію синтезу TNF-а (фактор некрозу пухлин) з макрофагів. Більш того, введення у раціон мишей порошку плодових тіл *P. nameko* суттєво збільшило кількість CD³⁺, CD⁴⁺ Т-клітин у селезінці досліджуваних мишей. Було продемонстровано посилення секреції IFN-γ цитокіну Th1 типу та ослаблення продукції цитокіну Th2 типу IL-4 з лімфоцитів селезінки. Отримані результати дозволяють припустити, що сполуки плодових тіл *P. nameko* здатні активувати імунокомпетентні клітини, такі як макрофаги та лімфоцити, і могли б надавати вихідні матеріали для розвитку Th1-поляризуючого імуномодулятора (рис. 1.3.2) (Minato, 2010).

Ще одне дослідження щодо ефективності використання сполук видів роду *Pholiota* було проведено з використанням полісахаридів плодових тіл *P.nameko*. Було продемонстровано протизапальну активність полісахариду PNPS1 при різних моделях запалення у мишей, особливо без будь-якої активності, що може бути результатом інгібування синтезу простагландинів, інгібуванням підвищеної проникності судин, інгібування міграції нейтрофілів у запалені тканини та стимулювання накопичення лімфоцитів, що може посилити відновлення тканин (Li et al., 2008).

1.4. Дослідження видів роду *Pholiota* у культурі

Існуючі дані щодо досліджень представників роду *Pholiota* різнобічні, проте інформації про особливості цих грибів у чистій культурі не достаньо. Зазвичай, вчені зупиняють свою увагу саме на плодових тілах видів роду *Pholiota*, зібраних у природних ареалах, як на об'єктах дослідження (Clericuzio et al., 2004; Chung et al., 2005; Kawamura-Konishi et al., 2007; Russo et al., 2007; Zhang et al., 2009; Jo et al., 2010; Gong et al., 2012; Kobayashi et al., 2012; Kim et al., 2013; Wang et al., 2014; Ji et al., 2015; Nguyen et al., 2015; Qian et al., 2016; Zou et al., 2019; Wu, Kawagishi, 2020).

Важливою складовою для вивчення грибів у чистій культурі є дослідження морфолого-культуральних характеристик колоній міцелію (Stamets, 2000; Cho et al., 2003; Buchalo et al., 2009; Badalyan, Gharibyan, 2017), швидкості росту (Бухало, 1988; Ломберг, 2005; Dyakov et al., 2010; Badalyan, Gharibyan, 2017) та впливу рН середовища на накопичення біомаси (Maziero et al., 1999; Wang, Lu, 2004), проте навіть вищезазначені дослідження не розкривають повністю біологічні особливості представників роду *Pholiota* на стадії міцеліального росту.

Серед досліджень щодо визначення особливостей мікроморфології представників роду *Pholiota* можна зазначити роботи японського вченого Yoshinori зі співавторами (Yoshinori et al., 1999), українських мікологів (Buchalo, Didukh, 2005; Buchalo et al., 2009, 2011) та російських дослідників (Dyakov et al., 2010).

Не менш важливим залишається з'ясування складу, структури та біологічних особливостей грибних сполук в міцелії видів роду, оскільки наявні дані (Joh et al., 1996; Becker et al., 1994; Liu et al., 2008; Hu et al., 2012; Choi et al., 2015; Zheng et al., 2015; Yang et al., 2018; Niu et al., 2019; Zou et al., 2019) не надають повної картини в порівнянні з існуючими щодо плодових тіл (Kawagishi et al., 1991; Yoshida et al., 1996; Clericuzio et al., 2004; Chung et al., 2005; Kawamura-Konishi et al., 2007; Niedzielski et al., 2007; Russo et al., 2007; Wangun, Hertweck, 2007; Zhang et al., 2009; Guan et al., 2011; Guo et al., 2012; Kobayashi et al., 2012; Wang et al., 2014; Zhu et al., 2017; Chou et al., 2019; He et al., 2020; Zhang et al., 2020; Wu, Kawagishi, 2020).

Проте, виходячи із наявної інформації, ми можемо констатувати перспективність досліджень вторинних метаболітів (Liu et al., 2008; Yang et al., 2018; Niu et al., 2019), полісахаридів (Zheng et al., 2015; Zou et al., 2019) та білків (Joh et al., 1998; Choi et al., 2015) у складі міцелію та культуральної рідини видів роду *Pholiota*.

Чимало дослідників надають особливого значення антиоксидантним властивостям міцелію видів роду *Pholiota*, отриманого в культурі (Asatiani et al., 2010; Deng et al., 2011; Gong et al., 2012; Sun et al., 2012; Wang et al., 2013; Wang et al., 2014; Zhang et al., 2015; Hu et al., 2015; Zheng et al., 2015; Rodrigues et al., 2016; Liu et al., 2018; Zhu et al., 2018; Sung et al., 2020; Yu et al., 2020; Zheng et al., 2020).

Менш дослідженими є антимікробні властивості, попри те, що для вивчення цих особливостей в переважаючій більшості використовувались види та штами чистих культур (Suay et al., 2000; Imtiaj, Lee, 2007; Dyakov et al., 2010; Ефременкова и др., 2012), а не плодові тіла з природних ареалів (Dulger, 2004; Nowaska et al., 2014). Аналізуючи існуючі результати, можна зробити висновок про недостатність проведених досліджень для повного розуміння особливостей міцелію видів роду *Pholiota* у культурі.

Аналіз вищенаведених літературних даних вказує на те, що основні напрями досліджень грибів роду *Pholiota* стосуються дослідження ареалів

поширення та їх особливостей, використовуючи як об'єкт лише плодові тіла представників цього роду.

Водночас, інформація щодо результатів вивчення різних видів та штамів роду *Pholiota*, виділених у чисту культуру, незначна. Існують дані щодо морфолого-культуральних та мікроморфологічних особливостей вегетативного міцелію, визначення оптимального рН живильного середовища для росту видів роду *Pholiota* у чистій культурі та низки грибних сполук, що синтезуються. Зазначається також про вивчення антиоксидантної та антимікробних властивостей.

Проте, навіть зважаючи на вже існуючу інформацію, слід зазначити про необхідність її доповнення у зв'язку з невеликою кількістю взятих до розгляду видів роду *Pholiota*. Це стосується і занадто обмеженої інформації щодо вторинних метаболітів, зокрема тритерпенів та полісахаридів, виділених з вегетативного міцелію видів. Окрім недостатності інформації щодо властивостей міцелію таких як алелопатична, антиоксидантна, антимікробна, повністю відсутня інформація щодо властивостей культуральної рідини видів роду *Pholiota*. Слід відмітити, що вивчення особливостей штамів видів роду *Pholiota*, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, не проводилось. Тому ми вважаємо, що дослідження видів роду *Pholiota* у культурі є актуальним.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти досліджень

Об'єктами досліджень були чисті культури 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* (табл.2.1.1.), що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2020).

Таблиця 2.1.1.

Список досліджених штамів видів роду *Pholiota*

Вид	Номер штаму в колекції ІВК	Походження культури, рік надходження до колекції ІВК
<i>Pholiota adiposa</i> (Batsch) P. Kumm.	2169	Україна, м. Київ, 2011
<i>P. alnicola</i> (Fr.) P. Kumm. (syn. <i>Flammula alnicola</i> (Fr.) P. Kumm.)	2406	Україна, Івано-Франківська обл., м. Галич, Галицький національний природний парк, 2015
<i>P. aurivella</i> (Batsch) P. Kumm.	2334	Україна, м. Київ, 2013
	2371	Україна, м. Київ, 2014
	2538	Україна, Київська обл., с. Кийлів, 2017
	2605*	Україна, Київська обл., смт Васильків, 2018
<i>P. limonella</i> (Peck) Sacc.	2335	Україна, м. Кам'янець-Подільський, 2013
<i>P. nameko</i> (T. Ito) S. Ito & S. Imai	1976	Японія, 2009
	2153	Україна, м. Мелітополь, Таврійський державний

		агротехнологічний університет імені Дмитра Моторного, 2011
	2154	Україна, м. Мелітополь, Таврійський державний агротехнологічний університет імені Дмитра Моторного (штам АМ2), 2011
<i>P. populnea</i> (Pers.) Kuiper & Tjall.- Beuk.	2602*	Україна, м. Київ, 2018
	2610*	Україна, Київська обл., с. Гатне, 2018
	2611*	Україна, Київська обл., смт Васильків, 2018
<i>P. squarrosa</i> (Oeder) P. Kumm.	2008	Російська Федерація, м. Москва, Московський державний університет імені М.В. Ломоносова (штам 3937), 2009
	2010	Російська Федерація, м. Москва, Московський державний університет імені М.В. Ломоносова (штам 3935), 2009
	2606*	Україна, м. Київ, 2018
	2609*	Україна, м. Київ, 2018
<i>P. subochracea</i> (A.H.Sm.) A.H.Sm. & Hesler	2535	Україна, Київська обл., с. Кийлів, 2017

Примітки: «*» – культури ізолювано дисертантом із плодових тіл грибів

2.2. Виділення чистих культур із природного матеріалу

Для виділення обирали молоді, непошкоджені плодові тіла. Зібраний матеріал стерилізували, обробляли поверхню 96% етиловим спиртом або занурюючи на декілька секунд в 3% розчин перекису водню. Із середини плодового тіла стерильно відокремлювали частину тканини розміром 3-5 см. і переносили на агаризоване поживне середовище. Виділяли інокулюм із різних частин плодового тіла: шляпки, ніжки, місця переходу шляпки в ніжку, гіменіального шару. Шматочки плодового тіла розміщували на живильне середовище ГПДА з ампіциліном (ПАТ «Arterium», Україна). Інокулюм поміщали зверху на агар або частково занурювали в агаризоване середовище. Чашки з інокулюмом поміщали в термостат за температури $26 \pm 1^\circ\text{C}$ (Билай, 1982).

2.3. Живильні середовища

При вивченні морфолого-культуральних та біосинтетичних особливостей вегетативного міцелію представників роду *Pholiota* використовували такі живильні середовища.

1. Глюкозо-пептон-дріжджовий агар (ГПДА), г/л: глюкоза – 25,0, пептон – 3,0, дріжджовий екстракт – 3,0, MgSO_4 – 0,25; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; агар – 22,0;
2. Глюкозо-пептон-дріжджове середовище (ГПД), г/л: глюкоза – 25,0, пептон – 3,0, дріжджовий екстракт – 3,0, MgSO_4 – 0,25; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0;
3. Мальц-екстракт агар (МЕА) – готове середовище виробництва Pronadisa, Іспанія;
4. Мюллера-Хінтона агар (МХА) – готове середовище виробництва Himedia, Індія;
5. Агаризоване пивне сусло (СА) – пивне сусло, сахаристість 8° за Балінгом – 1л., агар – 20,0;
6. Голодний агар (ГА), г/л: агар – 10,0.

2.4. Молекулярно-генетичні дослідження

Для підтвердження видової приналежності штамів представників роду *Pholiota*, що використовували у дисертаційній роботі, було визначено ДНК-послідовності генів малої рибосомальної субодиниці (5,8 S). Для виділення зразків ДНК використовували вегетативний міцелій видів роду *Pholiota* (Raja et al., 2016). Дослідження проводили на базі Life Science University (Китайська Народна Республіка).

Внутрішній транскрибований спейсер (ITS) ядерної рДНК ампліфікували із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції. Для ПЛР використовували універсальні праймери (White, 1990) (табл. 2.4.1.).

Таблиця 2.4.1.

Універсальні праймери для полімеразної ланцюгової реакції

Локус	Праймери	Олігонуклеотидна послідовність праймеру (5`->3`)
ITS-1	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
	ITS2	GCTGCGTTCTTCATCGATGC
ITS-2	ITS3	GCATCGATGAAGAACGCAGC
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

Для проведення ПЛР готували суміш (загальний об'єм 25 мкл): 10x буфер (Promega), 2,0 mM MgCl₂ (Promega), 0,2 mM dNTPs, 0,08 μM кожного з праймерів, 10 ng геномної ДНК та 1,3 Tag-полімерази (Круподьорова, 2009). 28 циклів ампліфікації проводили за допомогою приладу Eppendorf Mastercycler Gradient, з такими параметрами циклів: преденатурація (2 хвилини при 95 °C), відпалювання (30 секунд при 62 °C), елонгація (1 хвилина при 72 °C), денатурація (30 секунд при 95 °C). Останнім циклом здійснювали елонгацію (10 хвилин при 72 °C) (White et al., 1990).

Якість отриманих ДНК-зразків оцінювали за допомогою гелю електрофорезу: 1,5% агарозний гель (Bio-Raid) з 1xTris-acetate – EDTA буфером та бромистим етидієм (C₂₁H₂₀BrN₃) (Круподьорова, 2009).

Візуалізація отриманих ампліконів відбувалась до допомогою ультрафіолетової транслюмінації з подальшим їх секвенуванням.

Дані обробляли й аналізували за допомогою комп'ютерних програм - BioEdit та MEGA7 (Kumar et al., 2016). Сіквенси ITS кожного зразка були скориговані за допомогою BioEdit та депоновані до міжнародної бази даних NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (табл. 2.4.1.). Послідовності вирівнювали з ITS послідовностями видів роду *Pholiota*, отриманими з бази даних NCBI GenBank. Вирівнювання перевіряли вручну, а після перевірки коригували неоднозначні ділянки.

2.5. Морфолого-культуральні дослідження

Як посівний матеріал використовували міцелій культур, вирощених на середовищі ГПДА. Диски міцелію діаметром 5 мм вирізали стерильною сталевією трубкою на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії та поміщали у центр чашки Петрі діаметром 90 мм з живильним середовищем (MEA або ГПДА). Міцелій інкубували в термостаті за температури 26 ± 1 °C.

Морфологічна характеристика колоній включала опис текстури, забарвлення, щільності, зональності, появи ексудату, утворення тяжів, кольору реверзуму та краю колонії (Stalpers, 1978). Дослідження морфології колоній проводили кожні 2-3 дні культивування (Бухало, 1988).

2.6. Дослідження мікрморфології вегетативного міцелію

2.6.1. Світлова мікроскопія

Вивчення мікроструктур вегетативного міцелію проводили за допомогою світлового мікроскопа. Вегетативний міцелій для світлової мікроскопії (СМ) брали з культур у фазі активного росту (3-10 діб) та при тривалому культивуванні вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* (2 місяці). Зразки для світлової мікроскопії готували з використанням дистильованої води, 10% КОН або препаративної суміші (гліцерин: етанол: вода = 1:1:1) (Билай, 1982). Фотографії отримували за допомогою програми AxionVision.

2.6.2. Сканувальна електронна мікроскопія

Зразки для сканувальної електронної мікроскопії (SEM) готували з використанням модифікованого методу Кваттельбаума та Карнера (Quattelbaum, Carner, 1980). Культури грибів вирощували на середовищі ГПДА. Одночасно зі внесенням інокуляту штамів чотири стерилізовані квадратні шматочки 4×4 мм покривного скла поміщали на агаризоване середовище. Покривні скельця видаляли з агарового середовища, коли вегетативний міцелій повністю покривав поверхню. Потім покривні скельця поміщали в герметичну скляну посудину, заповнену парами тетроксиду осмію (1% розчин OsO₄) на 8 годин. Після фіксації скельця переносили в порожню чашку Петрі для висихання протягом 72 годин. Після висихання зразки покривали золотом у вакуумному розпилювачі JI-4X з обертанням (Buchalo, Didukh, 2005). Зразки досліджували за допомогою сканувального електронного мікроскопу Jeon JSM-6060 LA (Японія) та вивчали при збільшеннях ×1000-10000 (Buchalo et al., 2009).

2.7. Дослідження впливу умов культивування на ріст міцелію та накопичення біомаси

2.7.1. Швидкість росту

Як посівний матеріал використовували міцелій культур, вирощених на середовищі ГПДА. Диски міцелію діаметром 5 мм вирізали стерильною сталеву трубною на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії та поміщали у центр чашки Петрі діаметром 90 мм з живильним середовищем (MEA або ГПДА). Міцелій інкубували в термостаті за температури 26 ± 1 °C.

Для вимірювання швидкості росту культур радіуси колоній вимірювали в чотирьох взаємно перпендикулярних напрямках на 4, 6, 8, 11, 13, 15 та 18-ту доби культивування. Для розрахунку середньої швидкості радіального росту (V_R , мм/доба) будували криві залежності радіусу міцеліальної колонії

від часу культивування. У фазі лінійної залежності приросту радіуса від часу визначали середню швидкість росту (V_R , мм/доба) за формулою:

$$V_R = \frac{R_1 - R_0}{t_1 - t_0},$$

де R_1 – радіус колонії в кінці фази лінійного росту, R_0 – радіус колонії на початок фази лінійного росту, $t_1 - t_0$ – тривалість лінійної фази росту (доба) (Бисько и др., 2012).

2.7.2. Дослідження впливу критичних температур на життєздатність міцелію

Визначення впливу екстремальних значень температури на життєздатність різних видів проводили в пробірках зі скошеним середовищем СА. Інокульовані міцеліальною культурою пробірки поміщали в термостат за температури в інтервалі від $36 \pm 0,1$ °C до $42 \pm 0,1$ °C з кроком в 1 °C. Після 10 діб інкубації фіксували наявність чи відсутність росту вегетативного міцелію. Пробірки, на яких ріст не спостерігався, переносили в термостат з температурою $26 \pm 0,1$ °C для перевірки їх життєздатності. Поновлення росту або втрату життєздатності оцінювали після 10 діб інкубації.

2.7.2. Дослідження впливу рН живильного середовища на накопичення біомаси

Культури грибів вирощували на рідкому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі (ГПД). Модулюючі добавки до середовища ГПД для доведення рН живильного середовища до необхідних значень складають, г / л: K_2HPO_4 – 2,0 (рН 4,0-5,5); KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0 (рН 6,0); K_2HPO_4 – 2,0 (рН 6,5-7,5). Кислотність усіх середовищ перед стерилізацією регулювали до певних значень рН за допомогою 2,8 N розчину КОН та 1N розчину НСІ. Контрольні вимірювання вихідних значень рН середовища проводили після стерилізації живильних середовищ з використанням рН-150М (РУП "Гомельський завод вимірювальних приладів", Білорусь).

Інокулюм досліджуваних штамів вирощували на середовищі ГПДА. Чотири диска міцелію діаметром 5 мм вирізали стерильною сталеву трубною на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії і поміщали в 100 мл колби з 50 мл рідкого середовища ГПД за температури $26 \pm 0,1$ °С. Міцеліальну біомасу відокремлювали від культуральної рідини фільтруванням через капроновий фільтр на 21-шу добу культивування. Кінцеве значення рН вимірювали у фільтраті. Біомасу двічі промивали дистильованою водою та переносили у бюкси для подальшого висушування до постійної ваги за температури $105 \pm 0,1$ °С. Кількість сухої біомаси розраховували в г/л з урахуванням маси інокулюму (Ломберг, 2005).

2.8. Біосинтетична активність культур

2.8.1. Вміст ендopolісахаридів

Культури грибів вирощували на рідкому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі (ГПД). Як інокулюм використовували штами, вирощені на середовищі ГПДА. Міцеліальні диски діаметром 5 мм вирізали стерильною сталеву трубною на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії та поміщали в колби з середовищем ГПД (200 мл). Міцелій інкубували за температури $26 \pm 0,1$ °С протягом 21 доби. Біомасу промивали дистильованою водою і сушили за температури $60 \pm 0,1$ °С.

Екстракцію ендopolісахаридів з біомаси проводили дистильованою водою у співвідношенні 1:5 упродовж 16 год у духовій шафі за $t^{\circ} 98 \pm 0,1$ °С. Отриманий екстракт осаджували 96%-м етиловим спиртом у співвідношенні 1:2 до об'єму впродовж 24 год за $4 \pm 0,1$ °С. Суміш центрифугували (5000 об/хв упродовж 25 хв), супернатант видаляли, преципітат ресуспендували в гарячій дистильованій воді (90 ± 1 °С). Отриману фракцію ендopolісахаридів висушували до постійної маси за $60 \pm 0,1$ °С. Кількість ендopolісахаридів визначали гравіметрично та розраховували у відсотках від сухої маси міцелію (Бисько и др., 2012).

Продуктивність синтезу ендopolісахаридів визначали як кількість ендopolісахаридів (г), утворену міцелієм, на одиницю об'єму живильного середовища (л) впродовж певного часу культивування (Аль-Маалі, 2016).

2.8.2. Вміст тритерпенових кислот ланостанового типу

Культури грибів вирощували на рідкому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі (ГПД). Як інокулюм використовували вегетативний міцелій штамів, вирощених на середовищі ГПДА. Міцеліальні диски діаметром 5 мм вирізали стерильною сталевною трубкою на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії та поміщали в колби з середовищем ГПД (200 мл). Міцелій інкубували при температурі $26 \pm 0,1$ °C протягом 21 доби. Біомасу промивали дистильованою водою і сушили при $60 \pm 0,1$ °C.

Біомасу штамів видів роду *Pholiota* (100 мг) екстрагували 70% метиловим спиртом (3 мл) протягом одного тижня. Процедуру повторювали двічі. Для відділення міцелію використовували центрифугування при 5000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант випаровували насухо при $50 \pm 0,1$ °C у вакуумі. Залишок розчиняли в дистильованій воді з наступною екстракцією хлороформом. Ланостанові кислоти з екстракту хлороформу екстрагували водним розчином 5% NaHCO₃. Хлороформ видаляли за допомогою 2N HCl, рН водної фази доводили до значень 2,5-3,0. Тритерпени з водної фази екстрагували хлороформом. Після видалення хлороформу випаровуванням при $40 \pm 0,1$ °C залишок, що містить тритерпенові кислоти ланостанового типу, розчиняли в абсолютному метанолі. Отримані тритерпенові кислоти ланостанового типу в метанолі зберігали в темноті при температурі $-5 \pm 0,1$ °C для подальших досліджень біосинтетичної активності.

Поглинання отриманих кислот вимірювали при 245 нм на спектрофотометрі SF 46 LOMO (СРСР) (Fang et al., 2002). Продуктивність синтезу визначали як кількість тритерпенових кислот типу ланостану в біомасі (мг сухої речовини), синтезованих на одиницю живильного середовища (л) під час культивування.

2.8.3. Вміст фенольних сполук

Загальний вміст фенольних сполук кожного метанольного екстракту (культуральної рідини чи міцелію) визначали за допомогою реактиву Фоліна-Чокальтеу (Sigma) згідно методики Donkor зі співавторами (Donkor et al., 2012). Аліквоту метанольного екстракту (0,5 мл) змішували з 0,5 мл реагенту

Фоліна-Чокальтеу. Після 3 хв інкубації при кімнатній температурі додавали 10 мл розчину NaHCO_3 (75 г/л) і 5 мл дистильованої води, перемішували та інкубували протягом 1 години за кімнатної температури у темряві. Поглинання отриманого розчину вимірювали при 750 нм за допомогою УФ-спектрофотометра SF 46 LOMO (СРСР). Як контроль використовували розчин тимолу замість екстракту.

2.8.4. Приготування екстрактів міцелію та культуральної рідини

Для отримання метанольного **екстракту міцелію** видів роду *Pholiota* вегетативний міцелій культивували на середовищі ГПД. Міцеліальну біомасу відокремлювали від культуральної рідини фільтруванням через капроновий фільтр на 21-шу добу культивування, висушували при $60 \pm 0,1$ °С та подрібнювали до порошкоподібного стану. До грибної біомаси додавали метиловий спирт у співвідношенні 1:3. Екстракцію проводили протягом 7 діб при температурі $26 \pm 0,1$ °С з наступним центрифугуванням, прозорий супернатант зберігали при $5 \pm 0,1$ °С для подальшого аналізу (Эбрахимзаде и др., 2019).

Для отримання метанольного **екстракту культуральної рідини** використовували середовище ГПД. Культуральну рідину відокремлювали від міцеліальної біомаси фільтруванням через капроновий фільтр на 21-шу добу культивування. До 400 мл культуральної рідини додавали 200 мл етилацетату (у співвідношенні 2:1 відповідно) та інкубували в темряві при температурі $5 \pm 0,1$ °С протягом доби. Верхню етилацетатну фракцію відділяли за допомогою ділильної воронки, після чого випарювали за допомогою вакуумного випарювача при $40 \pm 0,1$ °С, сухий залишок розчиняли в 5 мл метанолу. Екстракт зберігали при $5 \pm 0,1$ °С для наступного дослідження (Dyakov et al., 2010).

2.8.5. Антимікробна активність

Для виконання експериментів щодо визначення антимікробної активності видів роду *Pholiota* використовували тест-культури бактерій та мікроміцетів (табл. 2.7.5.1).

Список використаних штамів тест-культур мікроорганізмів

Вид	Номер штаму	Місце депонування культури
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg 1835) Cohn	UCM B-901 (ATCC 6633)	Українська колекція мікроорганізмів (UCM, Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України)
<i>Escherichia coli</i> (Migula, 1895) Castellani & Chalmers	UCM B-906 (ATCC 25922)	
<i>Staphylococcus aureus</i> Rosenbach	UCM B-4001 (ATCC 65388)	
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	VURV-F 822	Колекція культур мікроорганізмів Інституту рослинництва (Прага, Чехія)
<i>Penicillium polonicum</i> K.Zaleski	VURV-F 823	
<i>Mucor globosus</i> A.Fisch	DFR-542	Національний університет харчових технологій (Київ, Україна)

Для культивування тест-культур мікроорганізмів та виконання досліджень щодо антимікробних властивостей видів роду *Pholiota* використовували живильне середовище Мюллера-Хінтона агар (МХА) для бактерій та ГПДА – для культивування мікроміцетів. Бактерії та мікроміцети інкубували за різних температур – $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ та $26^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ відповідно.

Антимікробну активність визначали методом лунок (Билай, 1982). В товщі агарового середовища (МХА або ГПДА) робили лунки діаметром 5мм. В лунки вносили досліджувані зразки (екстракти міцелію та культуральної рідини, тритерпенових кислот ланостанового типу) штамів видів роду *Pholiota*. На поверхню чашок Петрі з середовищем наносили суспензію спорової маси тест-культур методом газону. Метиловий спирт

використовували як контроль. Після 24-годинної для бактерій та 72-годинної для мікроміцетів інкубації чашок при температурі, оптимальній для розвитку тест-культур – $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ та $26^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ відповідно, вимірювали діаметри зон затримки росту тест-культури (Билай, 1982).

2.8.6. Алелопатична активність

Культури грибів вирощували на рідкому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі (ГПД). Як інокулюм використовували штами видів роду *Pholiota*, вирощені на середовищі ГПДА. Міцеліальні диски діаметром 5 мм вирізали стерильною сталевною трубкою на відстані 8-10 мм від краю активного росту колонії та поміщали в колби з середовищем ГПД (200 мл). Міцелій інкубували при температурі $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ протягом 21 доби. Біомасу промивали дистильованою водою і сушили при $60 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Для визначення алелопатичного ефекту міцеліальної біомаси використовували модифіковану методику – сендвіч метод, описаний Osivand зі співавторами (Osivand et al., 2018). Суху біомасу (0,1 г) подрібнювали до порошкоподібного стану і стерилізували під ультрафіолетовим випромінюванням протягом 2 годин. В якості субстрату використовували агаризоване середовище без живильних речовин та мікроелементів (ГА). Біомасу міцелію рівномірним шаром наносили в чашку Петрі діаметром 85 мм і додавали 8 мл ГА, чекаючи повного застигання, згодом вносили ще 8 мл середовища ГА зверху і знову залишали, щоб це середовище знову затверділо (концентрація біомаси складає 0,625 мг/мл). Десять насінин крес-салату (*Lepidium sativum* L.) або огірка (*Cucumis sativus* L.) розкладали на поверхні цього агаризованого середовища на однаковій відстані. В якості контролю використовували чашки Петрі з ГА та насінням огірка чи крес-салату без додавання біомаси міцелію. Дослідження алелопатичної активності проводили в термостаті при температурі $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

На 3-тю добу фіксували кількість пророщених насінин та вимірювали довжину коріня та пагону рослини. Під час аналізу даних також звертали

увагу на такі параметри: відсоток проростання насінин, довжина кореня, його опушення, розвиток бічних коренів, довжина пагона, загальна довжина рослини.

Відсоток коефіцієнта росту корінців та гіпокотилів паростків салату та огірка розраховували для кожної проби у порівнянні з контролем за такою формулою: коефіцієнт росту (%) = $100 \times (\text{середнє значення довжини досліджуваної групи} / \text{середнє значення довжини контрольної групи})$. Коефіцієнт росту розраховували, як для рослини в цілому, так і для пагону і кореня окремо. Інгібуючий ефект розраховували як математичну різницю між 100% та значенням коефіцієнта росту.

2.8.7. Антиоксидантна активність

Дослідження антиоксидантних властивостей екстрактів культуральної рідини та міцелію визначали методом з використанням DPPH реагенту (Ayyash et al., 2018).

Визначення активності знешкодження радикалів за допомогою 1,1-дифеніл-2-пікрілгідразилу (DPPH реагент) проводили за методом Elfahri зі співавторами (Elfahri et al., 2016). 800 мкл реагенту DPPH (0,1 мМ DPPH, розчиненого в 95% метиловому спирті) додавали до 200 мкл метанольного екстракту культуральної рідини, метанольного екстракту міцелію чи тритерпенових кислот ланостанового типу в скляних пробірках. Зразки енергійно струшували та інкубували в темряві при кімнатній температурі протягом 30 хв. Абсолютний метиловий спирт використовували як контроль. Поглинання зразків вимірювали при 517 нм на спектрофотометрі SF 46 LOMO (СРСР). Величину активності з видалення вільних радикалів S (%) визначали за формулою:

$$S(\%) = \left(\frac{P_c - P_s}{P_c} \right) \times 100,$$

де S – величина активності з видалення вільних радикалів, P_c – показник абсорбції контрольної реакції, P_s – показник абсорбції досліджуваного зразка (Ayyash et al., 2018).

2.9. Статистична обробка результатів

Для отримання достовірних результатів експериментальні дослідження в залежності від умов аналізу проводили в три- та п'ятикратних повторностях. Кількісні результати, отримані при порівняльному вивченні видів та штамів у всіх проведених експериментах, оброблено статистичними методами аналізу (Молотов, 1965; Доспехов, 1973) та виконано розрахунки значень середніх квадратичних відхилень, коефіцієнтів варіації та довірчих інтервалів за допомогою пакетів Microsoft office Excell (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) та StatSoft Statistika.

У таблицях та рисунках наведено середні статистично достовірні дані при 95% ймовірності.

МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕГЕТАТИВНОГО МІЦЕЛІЮ

При вирішенні питань систематики макроміцетів у сучасній мікології в якості додаткових характеристик використовують морфолого-культуральні ознаки вегетативної стадії розвитку цих грибів (Cho et al., 2003; Bisko et al., 2012). Вивчення цих особливостей штамів макроміцетів дає можливість виявити додаткові таксономічні характеристики грибної культури, а також підібрати оптимальний склад живильних середовищ для культивування та збереження штамів у належному фізіологічному стані (Бисько и др., 2012; Мукчайлова et al., 2019).

Наше дослідження було спрямовано на вивчення морфологічних особливостей та мікроскопічних структур вегетативного міцелію восьми видів роду *Pholiota*.

3.1. Молекулярно-генетичні дослідження

В останні роки використання молекулярних методів вважається необхідним для підтвердження спорідненості видів Basidiomycetes та для підтримки морфологічних, фізіологічних та біохімічних методів дослідження. Для генетичного аналізу різних груп організмів було розроблено багато різних молекулярних методів. Методика полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), що супроводжується поліморфізмом довжини фрагментів рестрикції (PCR-RFLP), яка аналізує рибосомну ДНК (рДНК), стає все більш популярною для ідентифікації та філогенетичних досліджень родів або видів у багатьох групах грибів (Vilgalys, Gonzalez, 1990; Matsumoto et al., 2003). Швидкий розвиток методів секвенування ДНК, філогенетичної теорії та біоінформатики дозволив систематикам представити філогенетичну класифікацію всіх гілок дерева життя (Savolainen et al., 2000; Moncalvo et al., 2002). Для грибів темпи з'ясування інформації щодо природних

взаємозв'язків також значно прискорені новими доказами молекулярної систематики, переважно з використанням даних про послідовності рибосомних ДНК (Moncalvo et al., 2002).

Питанням молекулярної філогенії роду займались Moncalvo зі співавторами (Moncalvo et al., 2002), Matsumoto із групою дослідників (Matsumoto et al., 2003), Tian та Matheny (Tian, Matheny, 2020), група корейських дослідників (Lee et al., 2020).

Одним із етапів нашої роботи було проведення молекулярно-генетичного аналізу культур п'яти видів роду *Pholiota* з колекції Колекції культур *IBK* для підтвердження їх видового статусу. Раніше молекулярна філогенія представників роду *Pholiota* з Колекції *IBK* не проводилась, саме тому дослідження є актуальним.

Результатом генетично-молекулярного аналізу ампліконів п'яти видів роду *Pholiota* стало визначення їх нуклеотидних послідовностей (рис. 3.1.). Кожен із сіквенсів містив 683 нуклеотиди для *P. adiposa*, *P. aurivella*, *P. limonella*, 695 для *P. nameko* та 701 у випадку послідовності *P. squarrosa*. Отримані послідовності були зареєстровані у міжнародній базі даних GenBank (табл. 3.1.).

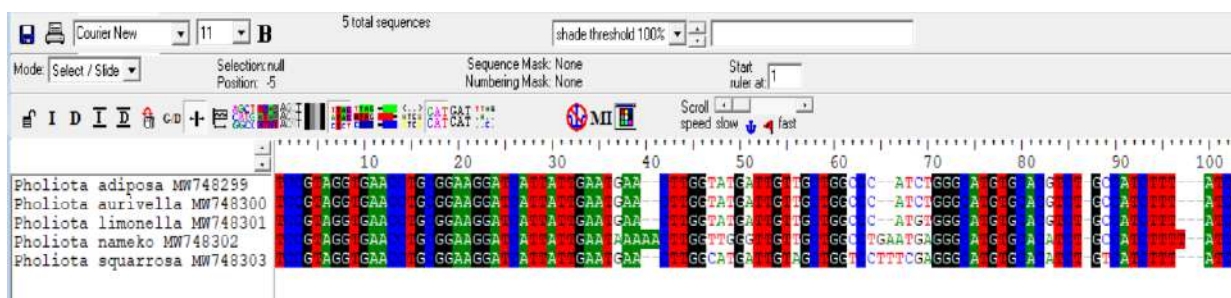


Рис. 3.1. Сіквенси генів малих рибосомальних субодиниць досліджених штамів видів роду *Pholiota*

Таблиця 3.1.

Список використаних видів з їх номерами приєднання GenBank

Вид, номер штаму в колекції IBK	Номер приєднання GenBank
<i>Pholiota adiposa</i> 2169	MW 748299
<i>Pholiota aurivella</i> 2605	MW 748300
<i>Pholiota limonella</i> 2335	MW 748301
<i>Pholiota nameko</i> 2154	MW 748302
<i>Pholiota squarrosa</i> 2010	MW 748303

3.2. Морфологічні особливості вегетативного міцелію

Вивчення морфології колоній вегетативного міцелію грибів у культурі є важливою стадією роботи з цими представниками, що широко досліджено для низки родів – *Fomes*, *Morchella*, *Ganoderma*, *Schizophyllum* тощо (Campbell, 1938; Ohta, 1994; Михайлова, Бухало, 2005; Ліновицька, Бухало, 2005; Круподьорова, 2009; Ko et al., 2017; Ліновицька, 2020). Проте, на сьогоднішній день дані щодо морфологічних особливостей міцеліальних колоній на агаризованих середовищах для більшості видів роду *Pholiota* обмежені (Cho et al., 2003; Buchalo et al., 2009; Badalyan, Gharibyan, 2017), як і питання підбору оптимального складу живильного середовища, оскільки саме його резерви мають слугувати фактором гарного росту вегетативного міцелію в культурі (Бухало, 1988).

Метою цього дослідження було вивчення морфологічних характеристик вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* для доповнення існуючих таксономічних даних.

Таблиця 3.2.1.

Морфологічна характеристика колоній досліджуваних штамів видів роду *Pholiota* на агаризованих живильних середовищах різного складу.

Вид	Живильне середовище	
	МЕА	ГПДА
<i>Pholiota adiposa</i>	колонія ватоподібна, середньої щільності, колір білий, з віком стає ледь жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією	колонія повстиста, середньої щільності, колір білий, з віком стає ледь жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією
<i>P. alnicola</i>	колонія повстиста, розріджена, зонального росту вегетативного міцелію не спостерігалось, колір коричневий, середовище навколо колонії забарвлюється в жовтий колір, реверзум спочатку безбарвний, з віком набуває темно-коричневого кольору, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією	колонія повстиста (рис. 3.2.2В), розріджена, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір вохрянний, реверзум спочатку безбарвний, з віком набуває коричневого кольору з концентричною зональністю, край піднятий з торочкуватою зовнішньою лінією
<i>P. aurivella</i>	колонія ватоподібна, навколо інокулюму зона притиснутого до субстрату міцелію, низької або середньої щільності, колір білий, спостерігалось утворення невеликої кількості крапель ексудату, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією	колонія пухнаста, дуже щільна, колір білий, потім стає жовтим або світло-коричневим, спостерігалось утворення тяжів, реверзум колонії безбарвний, з віком набуває жовтого кольору, край піднятий з перистою зовнішньою лінією
<i>P. limonella</i>	колонія клочкувато-повстиста, потім спостерігалось утворення тяжів, щільна або дуже щільна, колір білий, з віком стає жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією	колонія клочкувато-повстиста (рис. 3.2.5А), потім спостерігалось утворення тяжів, щільна або дуже щільна, колір білий, з віком стає жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією
<i>P. nameko</i>	колонія борошністо-	колонія пухнасто-повстиста

	повстиста (рис. 3.2.4А), низької або середньої щільності, характер росту вегетативного міцелію – зональний, навколо інокулюму зона притиснутого міцелію, колір білий, з віком стає ледь жовтим, реверзум спочатку безбарвний, потім набуває жовтого кольору, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами	(рис. 3.2.4В), щільна або дуже щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, потім стає ледь коричневим, реверзум спочатку безбарвний, з віком набуває коричневого кольору з концентричною зональністю, край піднятий. з перистою зовнішньою лінією з виступами
<i>P. populnea</i>	колонія ватоподібна, низької або середньої щільності, характер росту вегетативного міцелію – зональний, навколо інокулюму зона прижатого міцелію, колір білий, реверзум колонії безбарвний, з віком стає темно-коричневим, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами	колонія борошніста, середньої щільності або щільна, колір білий, потім стає ледь коричневим, реверзум колонії безбарвний і не змінює свого кольору з часом, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами
<i>P. squarrosa</i>	колонія повстиста, щільна або дуже щільна, колір білий, потім стає коричневим, реверзум спочатку безбарвний, з віком набуває темно-коричневого кольору, спостерігалось утворення коричневих крапель ексудату, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами	колонія пухнасто-повстиста, дуже щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, потім стає коричневим, реверзум спочатку безбарвний, з віком набуває темно-коричневого кольору, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами
<i>P. subochracea</i>	колонія клочкувато-повстиста (Рис. 3.2.5В), щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, з віком набуває жовтих, коричневих відтінків, реверзум колонії безбарвний, спостерігалось утворення великої кількості жовтих крапель ексудату,	колонія пухнасто-повстиста, щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, потім жовтіє, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

	край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами	
--	-----------------------------------------------------------	--

Отримані результати свідчать про те, що колір колоній всіх культур видів роду *Pholiota*, за винятком *P. alnicola* 2406 (рис. 3.2.2В), з віком змінюється – молоді колонії білі, з віком набувають жовтих, рудих чи коричневих відтінків (рис. 3.2.1), що збігається із даними Бухало зі співавторами, які досліджували ріст штамів *P. adiposa* (Buchalo et al., 2009) та Badalyan та Gharibyan стовно морфології *P. populnea* (Badalyan, Gharibyan, 2017). Загалом подальша зміна білого кольору вегетативного міцелію притаманна не лише представникам роду *Pholiota*. Забарвлення колоній видів роду *Ganoderma* P. Karst., *Morchella* Dill. ex Pers. варіює від світлих відтінків до темно-каштанових тощо (Круподьорова, 2009; Бисько и др., 2012). В окремих випадках колонії забарвлені в характерний колір плодового тіла цього виду, наприклад, фіолетовий для *Laccaria amethystina* Cooke (Бухало, 1988).

Бухало зі співавторами досліджували ріст *P. adiposa* на мальц екстракт агарі – колонії були жовтуваті, від жовтого до жовто-коричневого кольорів, повстяні, гранульовані або ущільнені в деяких місцях (Buchalo et al., 2009). Badalyan при вивченні морфологічних ознак *P. populnea* описувала колонії як білі, червонувато-коричневі, шерстисті, а в деяких місцях відмічала ділянки з ущільненою структурою (Badalyan, Gharibyan, 2017). Stamets, описуючи вегетативний міцелій, вказував на те, що *P. nameko* спочатку формує білий повздовжньо радіальний міцелій, який згодом від центру стає світло-оранжевим або темно-коричневим. На стерилізованому зерні міцелій щільний бавовняно-білий, а з часом набуває жовтувато-оранжевих краплень (Stamets, 2000). Скринінг проведений групою китайських дослідників для 45 штамів *P. adiposa*, *P. aggericola* (Peck) Sacc., *P. aurivella*, *P. carbonaria* (Fr.) Singer, *P. flammans* (Batsch) P. Kumm., *P. highlandensis*, *P. lucifera* (Lasch) Qué!, *P. malicola* (Kauffman) A.H. Sm., *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. terrestris*

Overh. виявив, що вегетативний міцелій більшості штамів був білого кольору і лише декілька зразків набували коричневого забарвлення (Cho et al., 2003).

Колонії міцелію *P. alnicola* 2406 вже на початкових стадіях росту були вохряного кольору при культивуванні на обох досліджуваних живильних середовищах (рис. 3.2.2В). Відмінностей у забарвленні колоній різних штамів одного виду на однакових за складом середовищах відмічено не було, що узгоджується з даними літератури і для видів інших родів (Ліновицька, 2020).

Для колоній штамів видів *P. alnicola* (рис. 3.2.2В) та *P. squarrosa* (рис. 3.2.2А) на середовищі ГПДА, для *P. nameko* (рис. 3.2.2В) та *P. subochracea* – на обох середовищах, для *P. populnea* – на середовищі МЕА спостерігався зональний характер росту колоній. Концентричний характер росту характерний і для міцеліальних колоній представників інших родів – *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Macrolepiota rhacodes* (Vittad.) Singer тощо (Бухало, 1988).

Досліджені колонії за морфологією умовно можна розділити на основні (ватоподібна, повстиста, пухнаста, борошниста) і змішані типи (клочкувато-повстиста, борошнисто-повстиста, пухнасто-повстиста) (табл. 3.2.1.). Такі типи морфології міцеліальних колоній на агаризованих середовищах трапляються і у випадку інших видів макроміцетів – *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Wettst., *Fomitopsis pinicola* (Schwein.: Fr.) P. Karst., *Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) Gray, *Lentinula edodes* (Berk.) Singer, *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Ломберг, 2005).

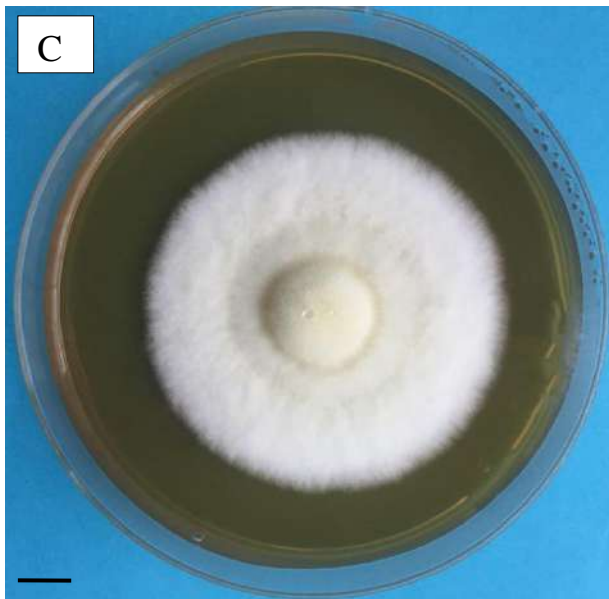
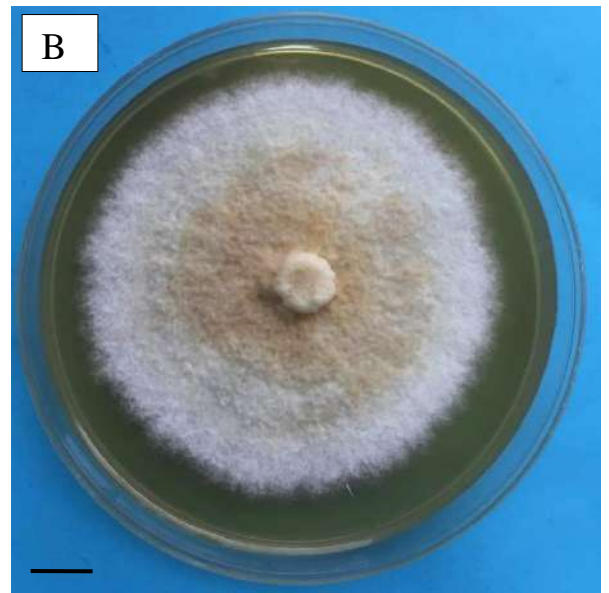
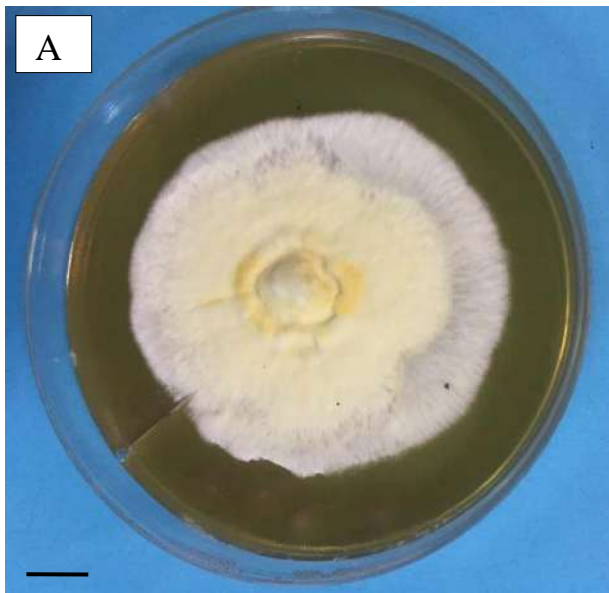


Рис. 3.2.1. Міцеліальні колонії: *Pholiota subochracea* 2535(A), *Pholiota squarrosa* 2609 (B), *Pholiota aurivella* 2605 (C); середовище ГПДА, 18-та доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, довжина штриха 15 мм

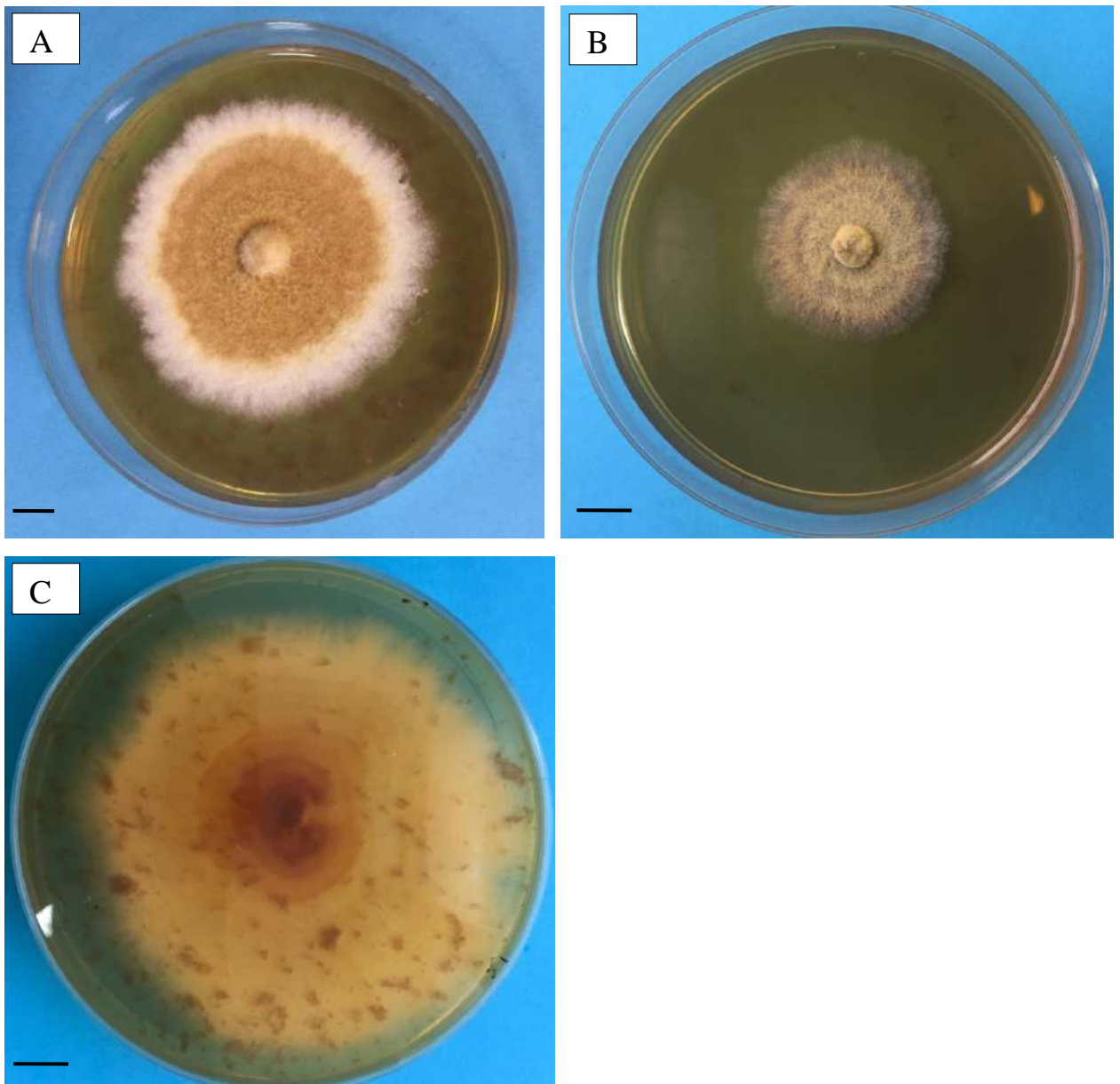


Рис. 3.2.2. Зональний характер росту вегетативного міцелію *Pholiota squarrosa* 2008 (А) та *Pholiota alnicola* 2406; зональний характер забарвлення реверзumu *Pholiota nameko* 1976 (В); середовище ГПДА, 18-та доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, довжина штриха 15 мм

Досліджені колонії за морфологією умовно можна розділити на основні (ватоподібна, повстиста, пухнаста, борошніста) і змішані типи (клочкувато-повстиста, борошністо-повстиста, пухнасто-повстиста) (табл. 3.2.1.). Такі типи морфології міцеліальних колоній на агаризованих середовищах трапляються і у випадку видів макроміцетів – *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Wettst., *Fomitopsis pinicola* (Schwein.: Fr.) P. Karst., *Grifola frondosa*

(Dicks.: Fr.) Gray, *Lentinula edodes* (Berk.) Singer, *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Ломберг, 2005).

Під час росту колоній усіх штамів видів *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. squarrosa* (на обох досліджених середовищах), *P. aurivella* – на середовищі ГПДА та *P. populnea* – на середовищі МЕА безбарвний реверзум з часом стає блідо-жовтим, різних відтінків рудого та коричневого (рис. 3.2.3). Згідно з існуючими даними літератури, вищезгадані зміни спостерігали і у випадку *Agrocybe aegerita* (Brig.) Singer, *Coprinus comatus* (Müll.: Fr.) Pers. та *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Ломберг, 2005). Автор також наголошує на варіюванні забарвлення в залежності від складу використовуваного живильного агаризованого середовища. У деяких представників роду *Pholiota* також спостерігалась зональність реверзуму (рис. 3.2.2В), а саме *P. squarrosa*, *P. nameko*. Проте ця особливість при культивуванні властива не всім дослідженим нами видам. Змін у забарвленні реверзуму штамів *Schizophyllum commune* Fr. та *Grifola frondosa* при вивченні на чотирьох живильних середовищах за різних температурних режимів (4 °С, 20 °С, 28 °С та 37 °С) не спостерігалось (Ліновицька, 2020).

З огляду на штамову різноманітність видів та різне походження культур слід відмітити, що при дослідженні морфолого-культуральних характеристик роду *Pholiota* штамоспецифічних особливостей в залежності від країни походження відмічено не було. Зроблені нами висновки узгоджуються з результатами досліджень представників інших родів. Для штамів базидієвого макроміцета *Grifola frondosa*, отриманих з України, Чеської республіки та Японії, відміни у морфології вегетативного міцелію зазначали лише у випадку вивчення особливостей на різних живильних середовищах, проте штамових особливостей відмічено не було (Ліновицька, 2020).

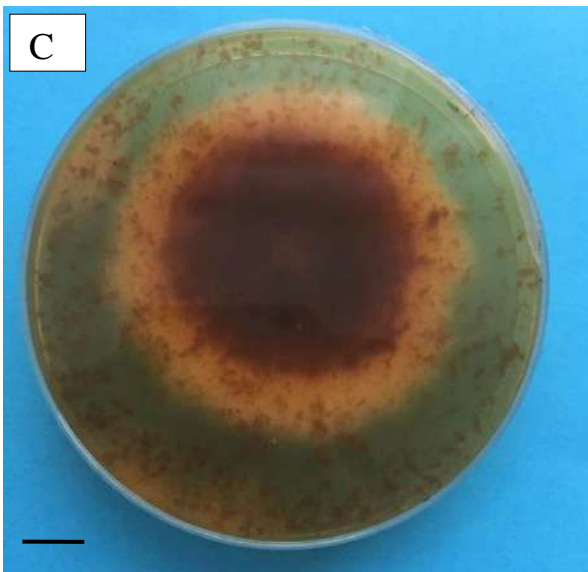
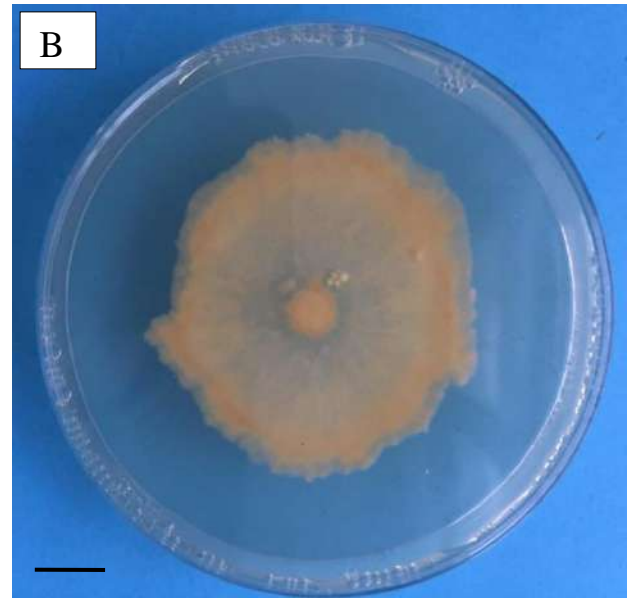
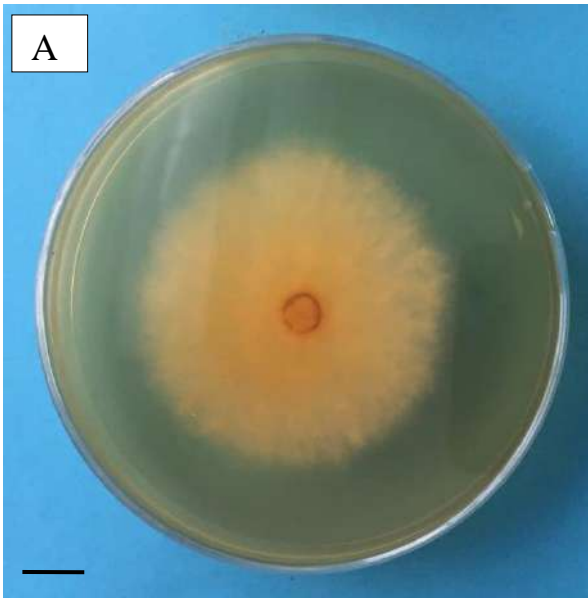


Рис. 3.2.3. Реверзум колоній: *Pholiota aurivella* 2334(A) (МЕА); *Pholiota nameko* 1976 (ГПДА) (В), *Pholiota squarrosa* 2008 (ГПДА) (С); середовище ГПДА, 18-та доба культивування, температура інкубації $26\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, довжина штриха 15 мм

Висота та щільність колоній досліджених штамів варіювали залежно від складу живильного середовища. Колонії штамів, що культивували на ГПДА, були більш щільними та з більшою кількістю повітряного міцелію, ніж колонії на МЕА, оскільки це середовище багатше на живильні компоненти (рис. 3.2.4), Вищезазначена інформація збігається з даними літератури – культури вегетативного міцелію *P.nameko* на картопляно-декстрозному агарі були щільніші ніж на таких живильних середовищах як мальц-екстракт агар чи дріжджовий мальц агар (Cho et al., 2003).

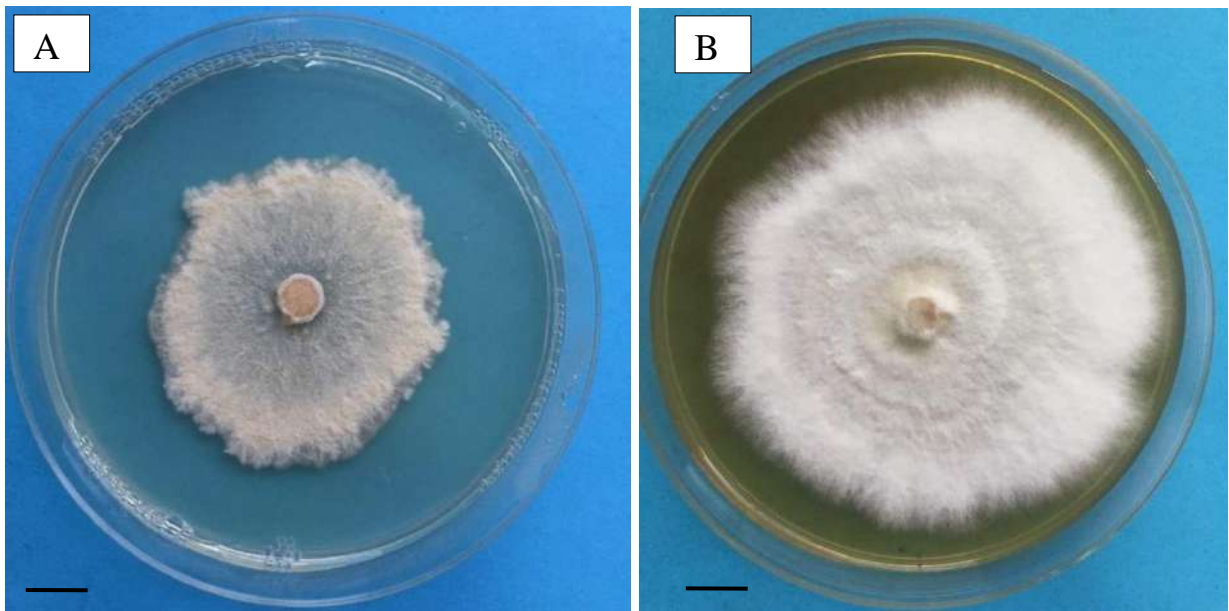


Рис. 3.2.4. Міцеліальні колонії *Pholiota nameko* 1976 на живильних середовищах різного складу: А – МЕА, В – ГПДА; 18-та доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °С, довжина штриха 15 мм

При визначенні видової приналежності культур може бути використана ознака появи тяжів, яка була відмічена для штамів двох видів – *P. aurivella* на середовищі ГПДА та *P. limonella* на обох середовищах (рис. 3.2.5А). Ця особливість була відмічена і для міцеліальних колоній представників інших родів: *Lycoperdon pyriforme* Willd., *L. perlatum* Pers., *Phallus impudicus* L., *Lentinus edodes* тощо (Бухало, 1988).

На поверхні колоній *P. aurivella*, *P. squarrosa* та *P. subochracea* при культивуванні на середовищі МЕА було відзначено виділення крапель ексудату (рис. 3.2.5В). Вчені зазначають про характерне виділення крапель рідини також при вирощуванні на агаризованих живильних середовищах міцелію видів *Pleurotus ostreatus* (Ломберг, 2005) та *Gloeophyllum sepiarium* (Wulfen) P. Karst. (Бухало, 1988).

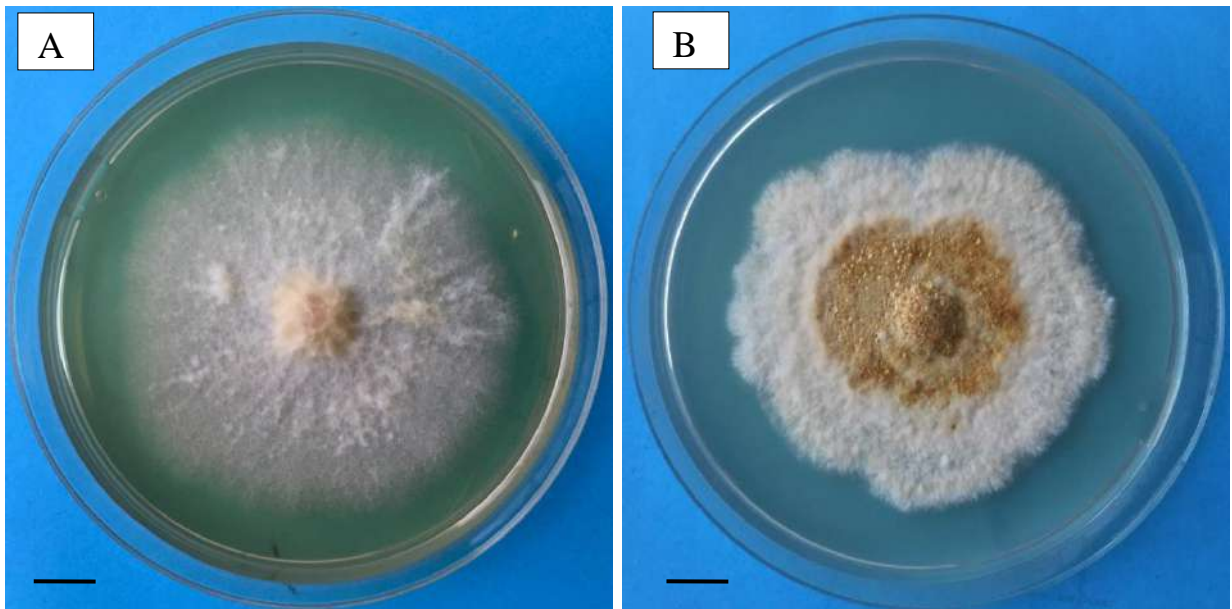


Рис. 3.2.5. Утворення тяжів *Pholiota limonella* 2335 на середовищі ГПДА (А) та виділення ексудату *Pholiota subochracea* 2535 на середовищі МЕА (В); 18-та доба культивування, температура інкубації $26\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, довжина штриха 15 мм

Уперше нами вивчено характер росту та морфологію колоній вегетативного міцелію видів *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. subochracea* на агаризованих живильних середовищах МЕА та ГПДА.

За результатами дослідження встановлено морфолого-культуральні характеристики, які необхідно враховувати для підтвердження таксономічної приналежності культур видів роду *Pholiota* – морфологія колоній та забарвлення вегетативного міцелію. Наявність додаткових ознак було відмічено лише для деяких видів – тяжі вегетативного міцелію формувалися під час росту культур *P. aurivella* (середовище ГПДА) та *P. limonella* (ГПДА, МЕА), виділення крапель ексудату на середовищі МЕА спостерігалось для *P. aurivella*, *P. squarrosa* та *P. subochracea*, забарвлення реверзума змінювалося на обох середовищах у штамів видів *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. squarrosa* та на середовищі МЕА у *P. porulnea*.

Підсумовуючи результати, варто зазначити про суттєві відмінності у морфології міцеліальних колоній в залежності від складу обраного живильного агаризованого середовища. Це підтверджують дані літератури щодо інших видів – при вивченні особливостей восьми видів роду *Morchella*

на шести живильних агаризованих середовищах. Дані свідчать, що спостерігали зміни щільності та характеру росту вегетативного міцелію (від павутинистого до войлочного), кольору колоній (білі, сіруваті, кремові тощо), здатності утворювати склероції та навіть зміни кольору реверзуму (відтінки коричневого, каштанового тощо) (Бисько и др., 2012).

Штамових особливостей досліджених нами культур за ознакою морфології колоній не було виявлено. Дані літератури свідчать про те, що аналогічні висновки були зроблені для *Schizophyllum commune* та *Grifola frondosa*, де характер росту міцелію не залежав від штаму обраного виду (Ліновицька, 2020). Хоча різні автори зазначають про існування такої тенденції. Так, для восьми штамів виду *G. lucidum* автор зазначає про відмінності як типу колонії (бархатиста, повстяна, борошиста, шовковиста, шкіряста, ватоподібна тощо), так і кольору (від білого до коричневого), щільності, зональності, краю колонії та навіть зовнішньої лінії (Ломберг, 2005). Зазначені особливості узгоджуються і з результатами Круподьорової для штамів *G. applanatum* та *G. lucidum* (Круподьорова, 2009).

3.3. Дослідження мікроморфології вегетативного міцелію

Важливою систематичною ознакою для ідентифікації макроміцетів у чистій культурі є дослідження мікроморфологічних структур. Мікроморфологічні характеристики базидієвих грибів враховують сукупність мікроскопічних ознак, таких як наявність пряжок або псевдопряжок, ширину та типи гіф відповідно до традиційної класифікації Stalpers (Stalpers, 1978), наявність анастомозів та різноманітних структур, що утворюються під час диференціації гіф у культурі (гіфальні кільця, ризоморфи, інкрустовані гіфи, кристали на гіфах тощо), наявність структур нестатевого розмноження (Михайлова, 2014).

Вивчення мікроструктур представників роду *Pholiota* традиційно проводились з плодовими тілами, зібраними у природних ареалах (Sawyer, 1917; Smith, Hesler, 1968; Farr et al., 1977; Farr, 1985; Adamcik et al., 2006; Kirk et al, 2008; Chang, Hayes, 2013). Дослідження видів у чистій культурі не були

детальними – мікроструктури вивчали лише для деяких видів з роду *Pholiota*– *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. lenta*, *P. squarrosa* (Yoshinori et al., 1999; Buchalo, Didukh, 2005; Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010; Buchalo et al., 2011; Kües et al., 2016). Тому, зважаючи на вищевикладені факти, дослідження, зосереджене на мікроморфологічних особливостях восьми видів роду *Pholiota*, що зберігаються у Колекції культур *IBK*, є актуальним.

Важливою таксономічною особливістю для ідентифікації базидієвих грибів у чистій культурі є наявність унікальної структури – пряжок, що формуються на вегетативному міцелії багатьох видів цього відділу (Stalpers, 1978; Jacobsson, 1989; Buchalo, Didukh, 2005) (рис. 3.3.1.).

Для переважаючої кількості представників *Basidiomycota* характерно формування на міцелії особливих дугоподібних клітин – пряжки, які знаходяться біля поперечної септи гіфи та з'єднують дві сусідні клітини. Ця структура гомологічна до гачка аскогенної гіфи і її функція представлена відновленням двоядерності клітини. Наявність пряжок на гіфах є таксономічною ознакою для представників грибів різного рангу – від порядку до виду. Пряжки не характерні для порядків *Uredinales*, *Russulales*, видів родів *Tricholoma* (Fr.) Staude, *Armillaria* (Fr.) Staude, *Lycoperdon* Pers. (Dyakov et al., 2010).

Регулярні пряжки з отворами або без них спостерігали для вегетативного міцелію у всіх досліджуваних нами видів роду *Pholiota* (рис. 3.3.1), що узгоджується з даними літератури (Buchalo, Didukh, 2005; Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010; Buchalo et al., 2011).

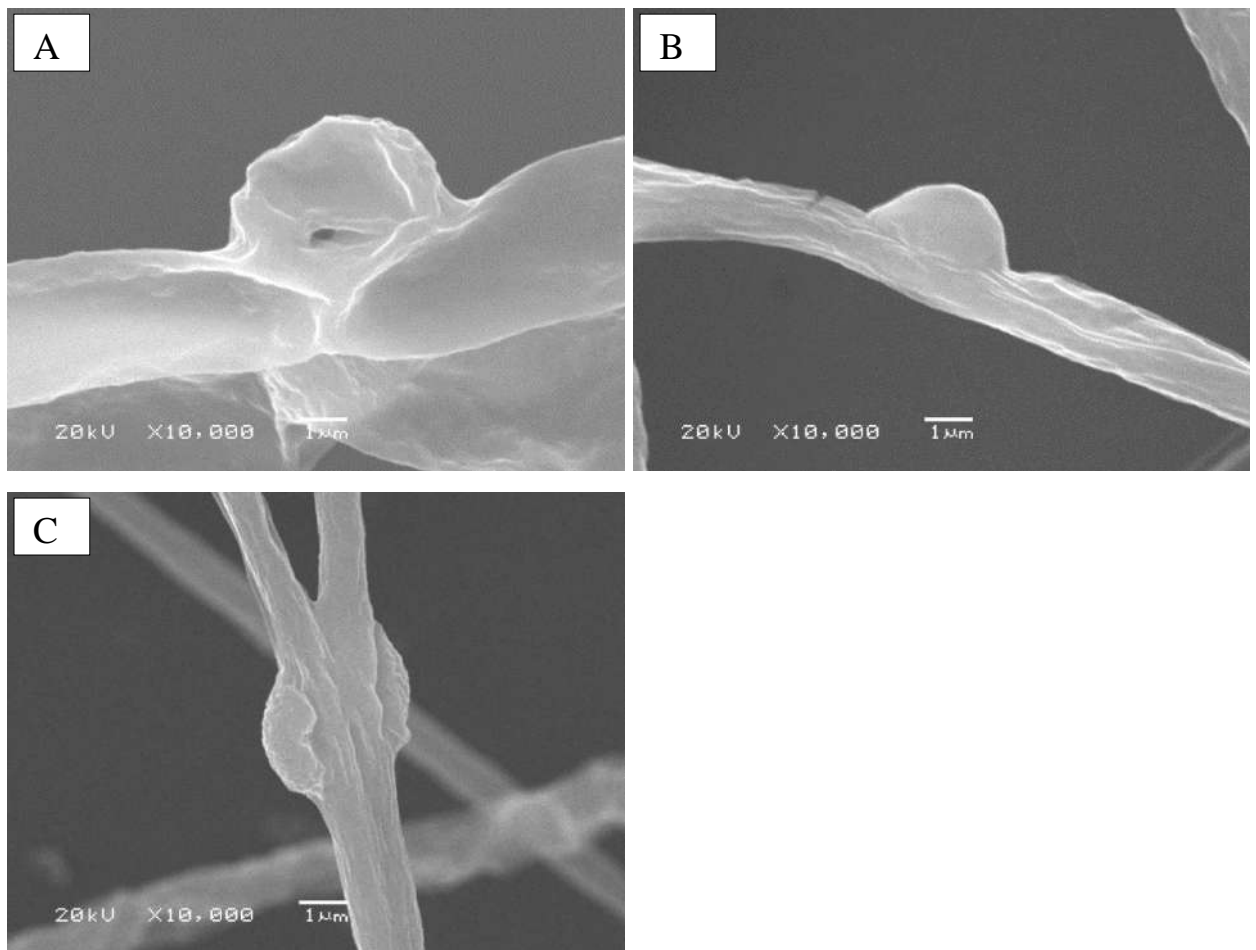


Рис. 3.3.1. Пряжки на вегетативному міцелії *Pholiota populnea* 2602 (А), *Pholiota adiposa* 2169 (В), *Pholiota squarrosa* 2010 (С), СЕМ (x10000).

Вегетативна система представників *Basidiomycota*, як і більшості видів грибів, представлена міцелієм. Він має пористу структуру та складається з трубчастих фламентів, які називаються гіфами і є варіацією системи гілок, що галузяться (різняються між собою шириною, довжиною клітин, товщиною клітинних стінок, характеру галуження) (Бухало, 1988). Діаметр гіф може коливатись в межах 2-150 мкм, але зазвичай становить 5-10 мкм (Buchalo et al., 2009).

Вегетативний міцелій видів роду *Pholiota* у чистій культурі представлений тонкостінними, помірно розгалуженими, регулярно септованими незабарвленими гіфами діаметром 1-3 мкм (рис. 3.3.2А), з анастомозами, що утворюються між гіфами (табл. 3.3.1., рис. 3.3.2В) та міцеліальними плівками на вегетативному міцелії (табл. 3.3.1., рис. 3.3.2С). Злиття гіф відбувається за допомогою анастомозів та міцеліальних плівок на вегетативному міцелії, що є універсальним явищем для *Basidiomycota*.

Анастомози – це видозміни міцелію грибів у вигляді виростів (сполучних містків), що забезпечують з'єднання або зрощення двох гіф міцелію зі встановленням сполучення між ними. Вони виконують декілька функцій, а саме, зміцнення міцеліальних структур, забезпечуючи додаткові переплетення; міграцію клітинних ядер з однієї гіфи в іншу при утворенні диплоїдного міцелію та гетерокаріозу гаплоїдного міцелію (Kirk et al., 2001; Buchalo et al., 2009).

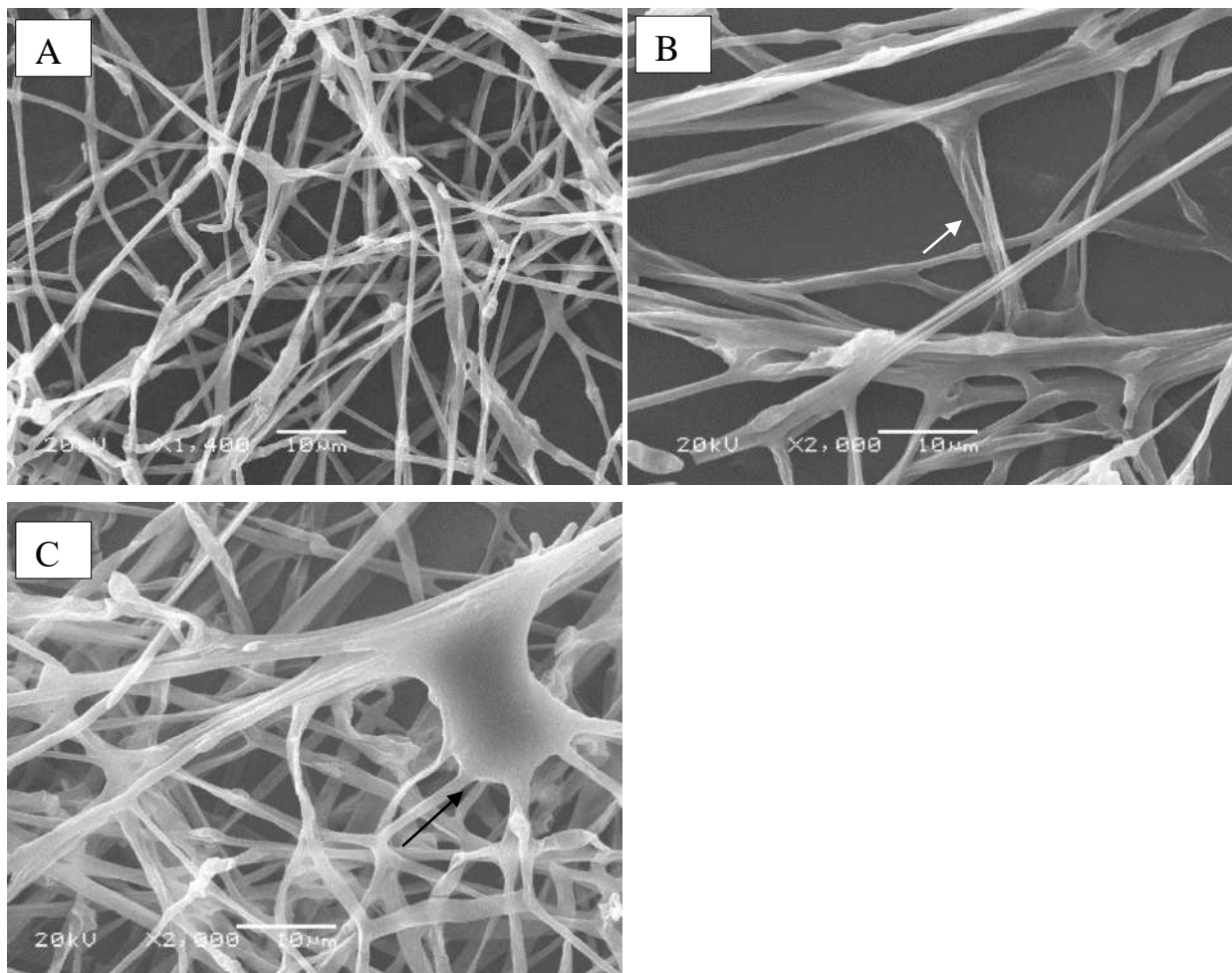


Рис. 3.3.2. Вегетативний міцелій *Pholiota squarrosa* 2010 (A), СЕМ (x1400); анастомози *Pholiota nameko* 2154 (B) та міцеліальні плівки *Pholiota squarrosa* 2010 (C), СЕМ (x 2000).

З віком було помічено утворення секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у культурах лише для одного представника роду, а саме *P. populnea* 2602 (рис. 3.3.3). згідно літературних даних секреторні гіфи були відмічені для *P. aurivella*, *P. limonella* та *P. squarrosa* (Walther, Weiß, 2008). Подібні секреторні гіфи були виявлені для *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With. (Buchalo

et al., 2009), *Lepista nuda* (Bull.) Cooke (Badalyan, Gharibyan, 2017) та вакуолізованого міцелію у *Coprinopsis strossmayeri* (Schulzer) Redhead, Vilgalys, Moncalvo, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma adpersum* (Schulzer) Donk (Badalyan, Gharibyan, 2017).

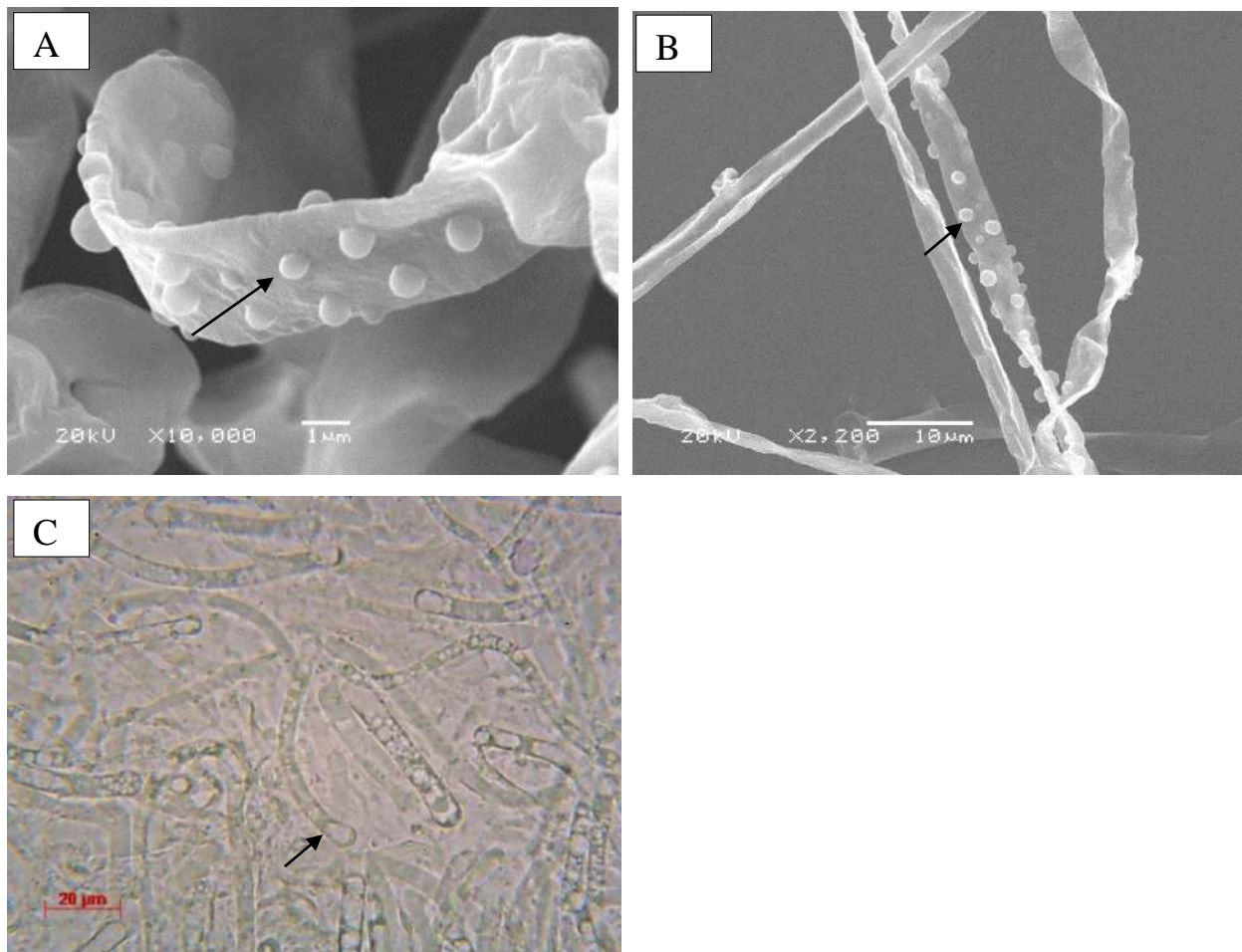


Рис. 3.3.3. *Pholiota populnea* 2602: ексудат на гіфах (А, В), СЕМ (x10000) та вакуолізований вегетативний міцелій (С), СМ (x40)

Орнаментация гіф, яку відмічали для культур *P. subochracea*, та гіфальні кільця, що з віком з'являлись у культурах *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*, можуть слугувати таксономічними критеріями (рис. 3.3.4).

Дослідження 177 видів 72 родів *Agaricales* у культурі встановили наявність гіфальних кілець у штамів *Coprinus comatus*, *Mycena inclinata* (Fr.) Qué1., *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Rolland, *Pleurotus eryngii* (DC.) Qué1., *Coprinellus bisporus* (J.E. Lange) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, *Coprinellus curtus* (Kalchbr.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire, *Daedalea*

quercina (L.) Pers., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. Слід зазначити, що це літературне джерело свідчить про присутність вищезазначених структур і у культурах *P. populnea*, чого у нашій роботі не було виявлено (Badalyan, Gharibyan, 2017).

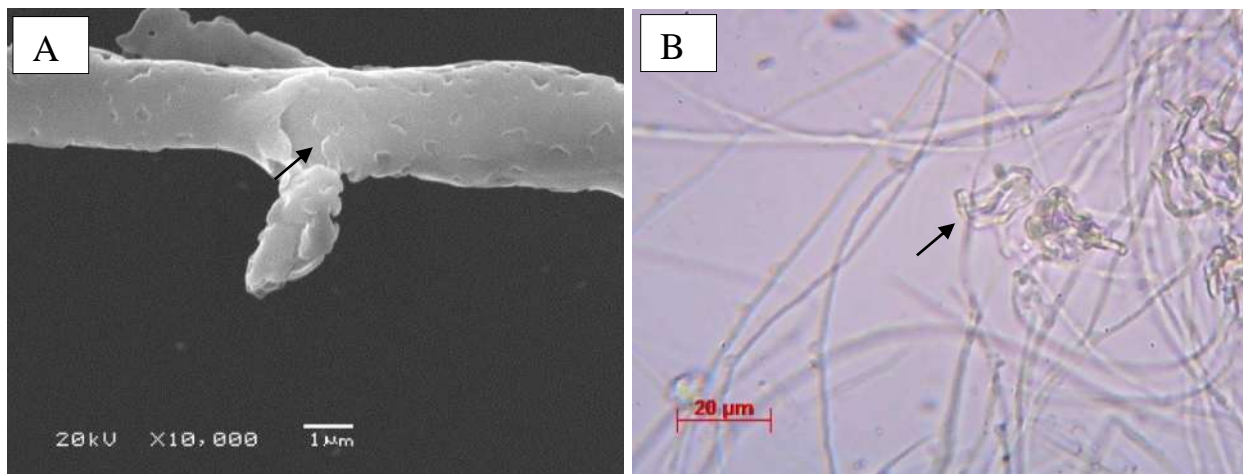


Рис. 3.3.4. *Pholiota subochracea*: орнаментация гіф (А), СЕМ (x10000) та гіфальні кільця (В), СМ (x40)

Види макроміцетів утворюють різні структури нестатевого розмноження (анаморфи). Хламідоспори та артроспори – найпоширеніші структури агамогенезу *Basidiomycota*. Бластоконідії та хламідоспори приурочені до дикаріотичної фази, в той час як зазвичай артроконідії спостерігають на монокаріотичному міцелії (Buchalo, Diduch, 2005; Buchalo et al., 2011). Проте дослідники зазначають, що у деяких видів (*Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Pholiota aurivella*) описано утворення артроконідій як на моно- так і на дикаріотичному міцелії (Бухало, 1988; Jacobsson, 1989; Walther, Weiß, 2008). Анаморфи можна використовувати в якості таксономічного критерію для видів або іноді навіть вищих таксономічних рівнів. Дані літератури свідчать, що конідії *Pholiota* sp. розвиваються на дикаріотичному міцелії з пряжками на симподіально розгалужених конідієносцях або на коротких гілочках, що відходять від гіфи (Buchalo et al., 2011). Конідії можуть бути в ланцюжках або поодинокими (Бухало, 1988) і характерні для видів *Agaricus arvensis* Schaeff., *Agrocybe aegerita*, *Flammulina velutipes*, *Fistulina hepatica* тощо (Buchalo et al., 2009). Ми спостерігали

конідіальне спороношення у всіх досліджуваних видів (рис. 3.3.5), за винятком культур *P. adiposa*.

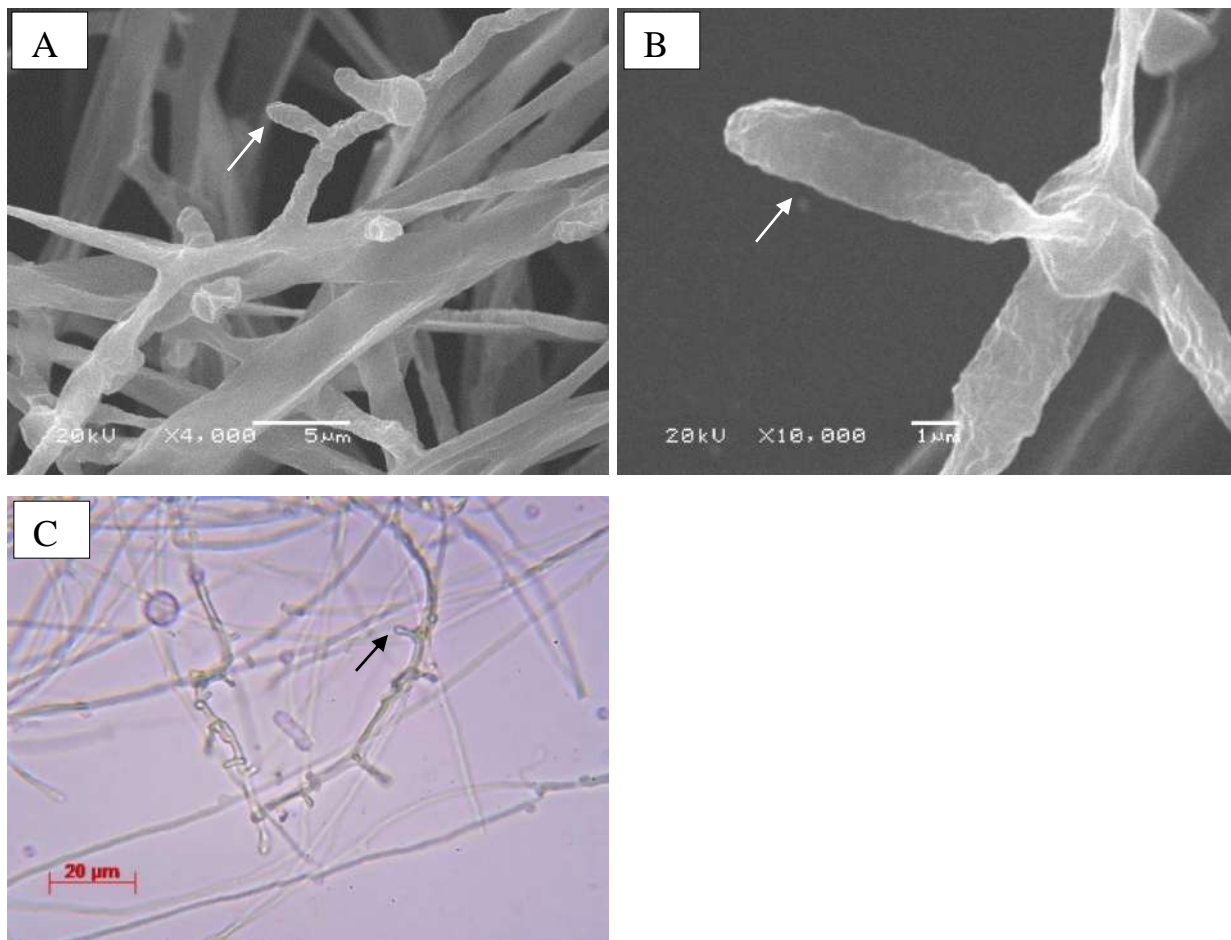


Рис. 3.3.5. Конідіальне спороношення: *Pholiota aurivella* 2605(A) , СЕМ (x4000); *Pholiota alnicola* 2406 (B), СЕМ (x10000), та *Pholiota subochracea* 2535(C), СМ (x40).

Хламідоспори – талічні, товстостінні, не опадаючі клітини спокою, що розміщені інтеркалярно або термінально на міцелії. На базальному міцелії, як правило, хламідоспори поодинокі, та їх кількість значно більша ніж на повітряному міцелії (Stalpers, 1978).

За даними літератури для міцелію *P. adiposa* характерні термінальні хламідоспори на коротких бічних гілках дикаріотичного міцелію (Buchalo et al., 2009), на міцелії *P. alnicola* хламідоспори спостерігали в термінальних або інтеркалярних ланцюгах і складатись із 2-3 набряклих спор без протоплазматичного скорочення (Kües et al., 2016).

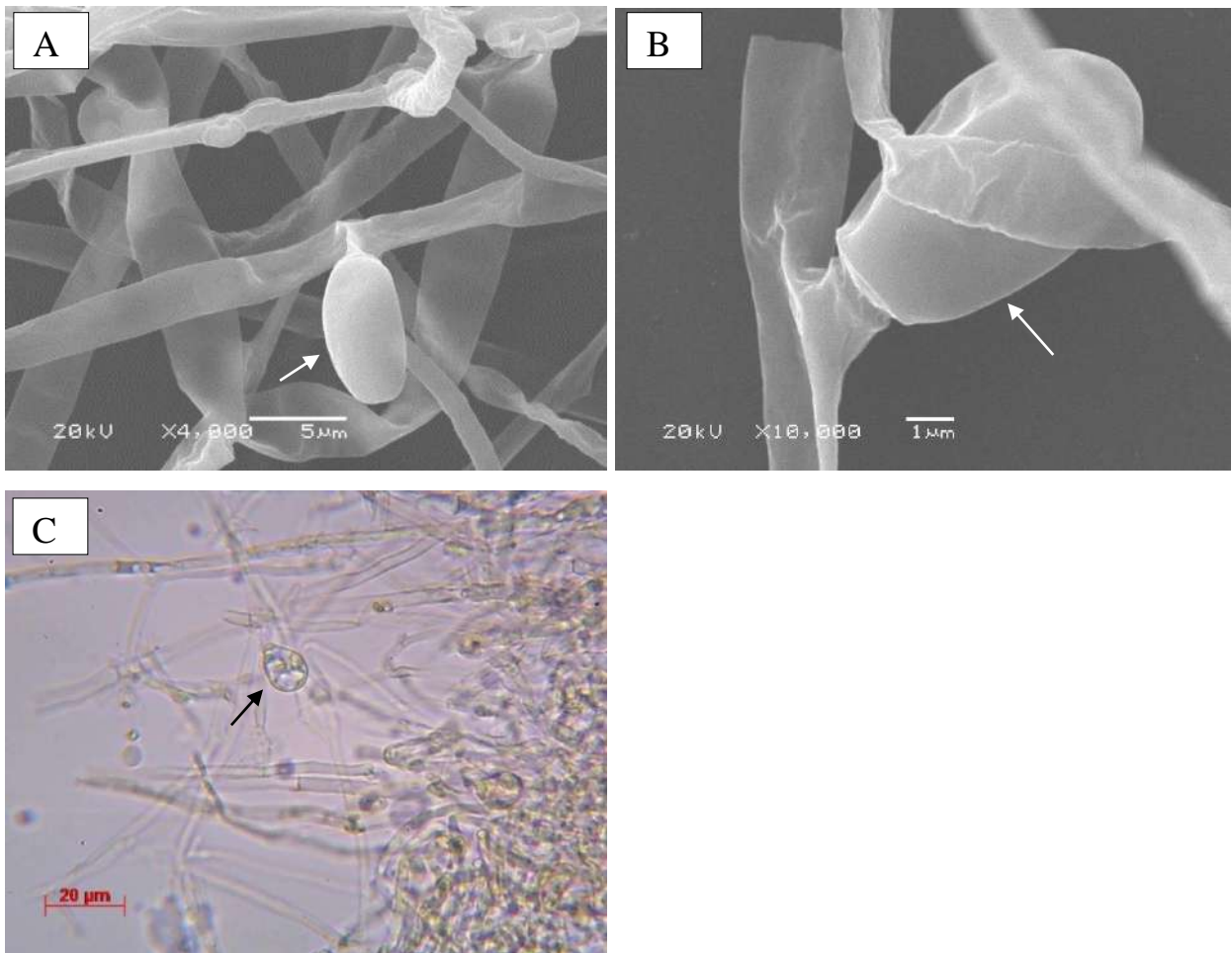


Рис. 3.3.6. Хламідоспори: *Pholiota limonella* 2335 (A), СЕМ (x4000); *Pholiota aurivella* 2605 (A), SEM (x10000) та *Pholiota alnicola* 2406 (C), СМ (x40).

Поодинокі інтеркалярні хламідоспори фіксували у випадку шести культур – *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* (табл. 3.3.1., рис. 3.3.6). Badalyan та Gharibyan у своїй роботі стверджують, що фіксували наявність хламідоспор і у випадку культур *P. populnea* разом з *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer, *Coprinellus ellisii* (P.D. Orton) Redhead, Vilgalys & Moncalvo, *Coprinopsis cothurnata* (Godey) Redhead, Vilgalys & Moncalvo, *Lepista nuda*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma adpersum* та ін. (Badalyan, Gharibyan, 2017).

Артроконідіогенез – це процес перетворення гіфи на велику кількість конідій. Вони, як правило, циліндричні, що потім часто називаються оїдіями, або можуть мати дещо округлі кінці після звільнення. У деяких випадках артроконідії можуть бути еліпсоїдними, дещо товстостінними та

пігментованими до звільнення (Stalpers, 1978). Артроспори формують представники родів *Coprinus* Pers., *Flammulina* P. Karst., *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm., *Hypholoma* (Fr.) P. Kumm., *Kuehneromyces* Singer & A.H. Sm., *Lepista* (Fr.) W.G. Sm., *Fomes* (Fr.) Fr., *Ganoderma* тощо (Badalyan, Gharibyan, 2017).

Згідно з даними літератури (Buchalo, Didukh, 2005; Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010), вегетативний міцелій видів *P. adiposa*, *P. aurivella*, *P. squarrosa* здатен формувати структури нестатевого розмноження – мітотичні спори (артроспори). В умовах нашого експерименту було виявлено ці структури лише у міцелії *P. aurivella*, *P. adiposa* та *P. limonella* (рис. 3.3.7).



Рис. 3.3.7. Артроспори *Pholiota limonella* 2335, СМ (x40).

Біомінералізація – явище утворення кристалів живими організмами. Здатність формувати кристали широко поширена для багатьох видів та іноді залежить від складу живильних середовищ та віку деяких грибних культур (Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010). Представниками царства Fungi, що здатні до кристалізації біологічно індукованих матеріалів, є *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, *Agrocybe aegerita*, *Armillariella mellea* (Vahl) P. Karst., *Coriolus versicolor* (L.) QuéL., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *Hypsizygos marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow, *Lyophyllum decastes* (Mauri)Blanco-Dios тощо (Buchalo et al., 2009).

Утворення кристалів спостерігали майже у всіх досліджених видів роду *Pholiota* (табл. 3.3.1., рис. 3.3.8). Фіксували дуже різну морфологію кристалів – призматичну, кубічну, шестигранну, іноді кристали невизначеної форми.

Максимальна довжина кристалів становила 12,2 мкм, мінімальна – 0,5 мкм, товщина – 0,3-6,1 мкм.

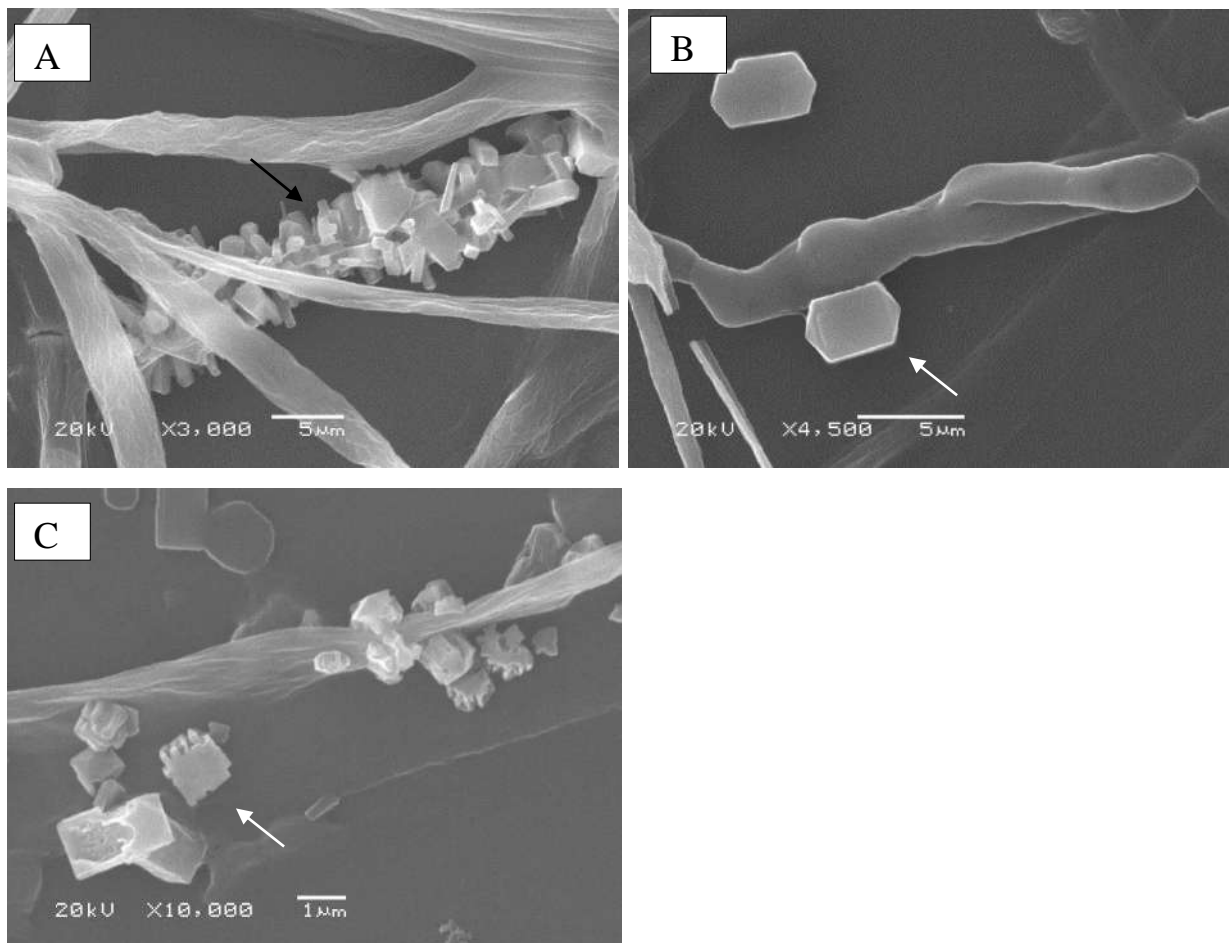


Рис. 3.3.8. Кристали *Pholiota adiposa* 2169 (А), СЕМ (x3000); *Pholiota alnicola* 2406 (В), СЕМ (x4500), та *Pholiota populnea* 2602 (С), СЕМ (x10000)

Наявність пряжок, здатність утворювати анастомози та міцеліальні плівки на вегетативному міцелії, утворення конідіального спороношення, артроспор та хламідоспор, здатність формувати різні за формою та розмірами кристали спостерігалось у всіх досліджуваних видів роду *Pholiota*. Отримані нами результати збігаються з даними літератури (Buchalo, Didukh, 2005; Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010; Buchalo et al., 2011).

Дані щодо мікроморфологічних характеристик досліджуваних представників роду *Pholiota* наведені в таблиці 3.3.1.

Таблиця 3.3.1.

Мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію видів роду *Pholiota*

Вид, штам	Анастомози	Артоспори	Гіфальні кільця	Екsudат на гіфах	Конідіальне спороношення	Кристали	Міцеліальні плівки	Пряжки	Хламідоспори
<i>Pholiota adiposa</i> 2169	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Pholiota alnicola</i> 2406	-	-	+*	-	+*	+*	-	+*	+*
<i>Pholiota aurivella</i> 2605	+	+	-	-	+	-	+	+	+
<i>Pholiota limonella</i> 2335	+*	-	+*	-	+	+*	-	+*	+*
<i>Pholiota nameko</i> 2154	+*	-	-	-	+*	+*	+*	+*	+*
<i>Pholiota populnea</i> 2602	+*	-	-	+*	+*	+*	-	+*	-
<i>Pholiota squarrosa</i> 2010	+*	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>Pholiota subochracea</i> 2535	+*	-	+*	-	+*	+*	+*	+*	+*

Примітки: + структури були виявлені

- структури не були виявлені

* нові дані для цього виду

Аналіз рибосомальної ДНК став стандартним методом у систематиці грибів (Moncalvo et al., 2002). Проведено верифікацію штамів Колекції IBK із застосуванням молекулярно-генетичних методів дослідження. Отримано нуклеотидні сіквенси для п'яти штамів видів роду *Pholiota*, що депонуються в Колекції IBK. Поєднання філогенетичних даних щодо видів роду *Pholiota*, отриманих у цій роботі та вже існуючої інформації, дає змогу сформувавши уявлення щодо еволюційних взаємозв'язків всередині роду та його положення в царстві Fungi.

Досліджено мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію восьми видів роду *Pholiota* з Колекції культур IBK. Вперше проведено детальне дослідження мікроструктур *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* для встановлення морфологічної характеристики та ідентифікації цих таксонів у чистій культурі. Було відзначено наявність усіх типових для цих видів особливостей, характерних роду *Pholiota*.

Отримані нові дані щодо мікроморфологічних особливостей представників роду *Pholiota*. Для *P. populnea* було відмічено існування секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі, а для *P. subochracea* – орнаментацию гіф вегетативного міцелію. Отримано нову інформацію про наявність гіфальних кілець для трьох видів роду *Pholiota* – *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА РІСТ МІЦЕЛІЮ І НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ

Для більш глибокого розуміння біологічних особливостей видів грибів у чистій культурі необхідним є проведення досліджень впливу факторів, що можуть регулювати продуктивність синтезу біомаси, фізіологічні зміни, накопичення метаболітів тощо.

З метою вирішення цієї задачі нами були проведені дослідження швидкості росту 18 штамів восьми видів роду *Pholiota* на агаризованих середовищах різного складу, а також вивчено особливості культивування цих штамів на рідких середовищах за умов різних показників рН та температури.

4.1. Швидкість росту

Одним із важливих питань є дослідження швидкості росту вегетативного міцелію та підбір складу оптимальних живильних середовищ. Вищезазначеним питанням займалися дослідники щодо багатьох груп грибів – *Auricularia* Bull. ex Juss., *Fomes* (Fr.) Fr., *Ganoderma* P. Karst., *Grifola* Gray, *Schizophyllum* Fr., *Marasmius* Fr. тощо (Campbell, 1938; Бухало, 1988; Ломберг, 2005; Круподьорова, 2009; Бисько и др., 2012; Ліновицька, 2020).

Дані щодо швидкості радіального росту вегетативного міцелію для більшості видів роду *Pholiota* в літературі відсутні або недостатньо описані. Параметри швидкості росту вегетативного міцелію були встановлені для штамів *P. adiposa*, *P. aurivella*, *P. lenta*, *P. nameko*, *P. squarrosa* (Бухало, 1988; Cho et al., 2003; Ломберг, 2005; Buchalo et al., 2009; Dyakov et al., 2010; Gizaw, 2015; Badalyan, Gharibyan, 2017). У той же час, досі залишається нерозкритим залежність швидкості росту від складу обраного живильного середовища майже для всіх представників роду *Pholiota* (Cho et al., 2003; Ломберг, 2005). Актуальність нашого дослідження пояснюється не тільки необхідністю доповнення існуючих даних, але і розробкою необхідних рекомендацій по вибору оптимальних середовищ для проведення наступних досліджень та для збереження цих культур.

Одним із етапів нашої роботи було дослідження швидкості росту вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* на агаризованих живильних середовищах різного складу.

Результати визначення швидкості радіального росту культур на агаризованих середовищах наведені в табл. 4.1.1.

Таблиця 4.1.1.

Швидкість радіального росту досліджуваних штамів видів роду *Pholiota* на агаризованих живильних середовищах різного складу (V_R , мм/доба), температура інкубації $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Вид	Штам <i>IBK</i>	Швидкість росту, мм/доба	
		МЕА	ГПДА
<i>Pholiota adiposa</i>	2169	0,83±0,05	1,52±0,11*
<i>P. alnicola</i>	2406	0,60±0,12	0,76±0,16
<i>P. aurivella</i>	2334	0,81±0,11	1,50±0,09*
	2371	1,00±0,10	1,22±0,17
	2538	0,58±0,22	1,77±0,50*
	2605	0,61±0,10	1,36±0,15*
<i>P. limonella</i>	2335	1,27±0,10	1,40±0,07*
<i>P. nameko</i>	1976	1,39±0,29	1,46±0,22
	2153	2,14±0,31	2,24±0,18
	2154	1,42±0,30	1,31±0,03
<i>P. populnea</i>	2602	1,24±0,13	1,14±0,12
	2610	1,31±0,22**	0,72±0,13
	2611	1,26±0,68	0,70±0,16
<i>P. squarrosa</i>	2008	0,95±0,09	1,75±0,06*
	2010	0,52±0,08	0,96±0,15*
	2606	1,09±0,19	2,19±0,12*
	2609	1,03±0,22	2,15±0,15*
<i>P. subochracea</i>	2535	1,60±0,15	1,80±0,17

* різниця швидкості росту на середовищі ГПДА статистично достовірно вища, ніж на МЕА, $p \geq 0,095$; ** різниця швидкості росту на середовищі МЕА статистично достовірно вища, ніж на ГПДА, $p \geq 0,095$.

Відмічена різниця у швидкості радіального росту для культур різних видів роду *Pholiota* та штамів одного виду залежно від складу живильного середовища. Результати, представлені в табл. 4.1.1., свідчать, що більшість досліджуваних культур (9 штамів) мали статистично вищу швидкість росту на живильному середовищі ГПДА. У той же час, швидкість радіального росту штаму *P. populnea* 2610 була статистично достовірно вище на середовищі МЕА, ніж на ГПДА. Варто зазначити що при порівняльному вивченні швидкості росту на вищезазначених агаризованих середовищах інших родів грибів на середовищі МЕА показники були значно вищими (Михайлова, 2014). Такі висновки були зроблені і щодо березової губки (*P. betulinus*) – для усіх 11 досліджуваних штамів за температури $26 \pm 0,1$ °C зафіксовано вищу швидкість радіального росту на середовищі МЕА (від $4,8 \pm 0,3$ мм/добу до $8,9 \pm 0,1$ мм/добу в залежності від штаму) (Михайлова, 2014). Таку тенденцію виявили і для опенька зимового (*F. velutipes*), де показники швидкості радіального росту становили $5,2 \pm 0,1$ - $7,7 \pm 0,2$ мм/добу (МЕА) та $3,6 \pm 0,3$ – $6,8 \pm 0,3$ мм/добу (ГПДА) (Колосова, 2015). Сприятливішим для росту середовище МЕА є і для гнойовика звичайного (*Coprinopsis cinerea* (Schaeff.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo), де швидкість радіального росту становила $7,2 \pm 0,4$ мм/добу на МЕА та $1,6 \pm 0,2$ мм/добу у випадку використання ГПДА (Бисько и др., 2012). Для 8 штамів видів роду *Pholiota* достовірної різниці у швидкості росту на досліджених агаризованих середовищах виявлено не було, схожі результати зазначали інші дослідники для штамів *Coprinellus ephemerus* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo та *C. xanthothrix* (Romagn.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson (Бисько и др., 2012).

Штам *P. nameko* 2153 серед усіх досліджуваних показав найвищі статистично достовірні показники швидкості радіального росту на обох середовищах – $2,14$ - $2,24$ мм/добу (табл. 4.1.1.). Наразі три з чотирьох штамів *P. aurivella* мали достовірно більшу швидкість радіального росту на ГПДА, ніж на МЕА, а між показниками швидкості росту штамів *P. nameko* на середовищах МЕА та ГПДА не було достовірної різниці (табл. 4.1.1.).

У роботі використовували культури не лише українського походження, але і штами, отримані з Японії (*P. nameko* 1976) і Російської Федерації (*P. squarrosa* 2008 та 2010). Проте, за результатами досліджень особливих відмінностей у швидкості росту цих штамів порівняно з культурами, що були виділені з карпофорів, зібраних в Україні, виявлено не було (табл. 4.1.1.).

За даними радіальної швидкості росту досліджені нами штами видів роду *Pholiota* можна віднести до повільно зростаючих (швидкість росту менша ніж 4 мм/добу) (Бисько и др., 2012), що збігається з результатами інших дослідників. Так Badaulyan та Gharibyan наводять дані щодо радіальної швидкості росту *P. populnea*, яка становила 2,6 мм/добу (Badalyan, Gharibyan, 2017).

За швидкістю росту на середовищі Сабуро за температури 28 °С досліджені штами роду *Pholiota* Бухало умовно розділила на дві групи. *P. squarrosa* разом з *Armillaria mellea*, *Flammulina velutipes* було віднесено до повільнорослих видів, інші – *P. aurivella*, *P. adiposa*, *P. nameko* разом з *Lycoperdon pyriforme*, *Oudemansiella brunneomarginata* Lj.N. Vassiljeva та *Tricholomopsis rutilans* (Schaeff.) Singer до групи грибів із середньою швидкістю росту (Бухало, 1988).

У своїй роботі Ломберг вивчала радіальну швидкість росту міцелію двох видів роду *Pholiota* на 4 різних за складом живильних середовищах. За отриманими даними було зроблено висновок, що на картопляно-глюкозному агарі швидкість росту штаму *P. nameko* була вищою за наведеними нами для штамів цього виду показники на ГПДА, але вона не перевищувала 4,5 мм/добу (Ломберг, 2005). В той самий час, для штамів *P. adiposa* за даними цього дослідника максимальне значення становило $6,5 \pm 0,0$ мм/добу (Бисько и др., 2012).

За даними Дьякова зі співавторами культури *P. aurivella*, *P. lenta*, *P. squarrosa* були віднесені до видів із середніми темпами росту, разом з *Coprinus comatus*, *Macrolepiota procera* (Scop.) Singer, оскільки діаметр колонії на 7 добу культивування сягав 1-5 см (Dyakov et al., 2010).

Cho зі співавторами провели скринінг 45 штамів 13 видів роду *Pholiota* на 4 різних за складом живильних середовищах, а саме – картопляно-декстрозному середовищі (PDA), декстрозо-пептон-дріжджовому агарі, мальт-екстракт агарі та дріжджовому мальт агарі. Діаметр колоній вегетативного міцелію роду *Pholiota* на різних середовищах становив 8,0-63,7 мм та 19,0-87,0 мм на сьому та чотирнадцяту добу культивування відповідно. Автори зазначають, що в більшості випадків найкращий ріст спостерігали при культивуванні представників роду *Pholiota* на середовищі PDA, проте, були відмічені певні штамові особливості більш високої швидкості росту на середовищі іншого складу (Cho et al., 2003).

Таким чином, отримані результати підтверджують залежність радіальної швидкості росту міцелію видів роду *Pholiota* як від біологічних особливостей штаму, так і від складу живильних середовищ.

4.2. Вплив критичних температур на життєздатність вегетативного міцелію

Одним із вагомих факторів існування та поширення видів в різних географічних умовах є їх здатність до росту та збереження життєздатності при впливі на вегетативний міцелій підвищених параметрів температури. Загальновідомо, що для росту більшості базидієвих грибів мінімальні та максимальні температурні межі становлять 3 °C та 44 °C відповідно (Бухало, 1988), за згідно інших джерел ці показники становлять 4 °C та 37 °C (Беккер, 1988). Культури грибів досліджуваних штамів роду *Pholiota* зберігаються в Колекції шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України на скошеному сусло-агаровому середовищі при +4-5 °C і не втрачають життєздатності за цієї температури з подальшим відновленням росту при 26 °C. Верхня і нижня граничні (критичні) температури інкубації для культур базидієвих грибів – це температури, за яких ріст міцелію не спостерігається, але можливе відновлення процесів росту та розвитку після перенесення в оптимальний температурний режим.

Відомості щодо представників роду *Pholiota* майже відсутні і представлені лише для *P. aurivella* (Бухало, 1988) та *P. nameko* (Ломберг, 2005), тому тематика роботи є актуальною, з огляду на важливість підбору оптимальних температур для росту та зберігання досліджених штамів.

Одним із завдань нашої роботи стало вивчення впливу граничних температур на життєздатність вегетативного міцелію 18 штамів 8 видів роду *Pholiota*.

Резюмуючи представлені у табл. 4.2.1. дані, можна зробити висновок, що представники цього роду не здатні до росту в умовах підвищених температурних значень – жоден із досліджених видів не ріс за температури 36 °С. Аналогічні результати отримані для вегетативного міцелію *Ganoderma lucidum*, *Panus tigrinus* (Bull.) Singer, *Calocybe gambosa* (Fr.) Donk (Бухало, 1988; Круподьорова, 2009). На відміну від них штами *Schizophyllum commune* Fr. здатні рости навіть за температури 37 °С і вище (Ліновицька, 2020). Проте, слід відмітити, що наші дані не співпадають з результатами, отриманими Бухало щодо виду *P. aurivella* – автор відмічає здатність вегетативного міцелію цього виду рости при 37°С (Бухало, 1988). Наші результати узгоджуються з даними для *P. nameko*, вегетативний міцелій якого не ріс при вищезгаданій температурі та не відновлював ріст навіть при зниженні параметрів інкубації до 26°С (Ломберг, 2005).

Таблиця 4.2.1.

Життєздатність вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota* за високих температур інкубації

Вид, номер штаму <i>IBK</i>	Температура інкубації, °С													
	36→26	37→26	38→26	39→26	40→26	41→26	42→26	43→26	44→26	45→26	46→26	47→26	48→26	49→26
<i>Pholiota adiposa</i>														
2169	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ¹⁰	-	-	-	-	-	-
<i>P. alnicola</i>														
2406	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aurivella</i>														
2334	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁴	-	+ ⁸	-	+ ¹⁰	-	-

2371	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁴	-	+ ⁸	-	+ ¹⁰	-	-
2538	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁴	-	+ ⁴	-	+ ⁸	-	+ ¹⁰	-	-
2605	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁴	-	+ ⁷	-	+ ⁸	-	+ ¹⁰	-	-
<i>P. limonella</i>														
2335	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁵	-	+ ⁷	-	+ ⁸	-	-	-	-
<i>P. nameko</i>														
1976	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ¹⁰	-	-	-	-	-	-
2153	-	+ ⁷	-	+ ³	-	+ ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-
2154	-	+ ⁶	-	+ ⁶	-	+ ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. populnea</i>														
2602	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-
2610	-	+ ⁷	-	+ ⁷	-	+ ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-
2611	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ⁵	-	+ ⁷	-	-	-	-	-	-
<i>P. squarrosa</i>														
2008	-	+ ¹⁰	-	+ ¹²	-	+ ¹³	-	-	-	-	-	-	-	-
2010	-	+ ⁷	-	+ ⁷	-	+ ¹⁰	-	-	-	-	-	-	-	-
2606	-	+ ²⁹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2609	-	+ ⁶	-	+ ⁶	-	+ ⁷	-	+ ⁷	-	-	-	-	-	-
<i>P. subochracea</i>														
2535	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітки: - відсутність росту вегетативного міцелію

+^{3,4,5,6,7,8,10,12,13,29} – поновлення росту вегетативного міцелію на 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13 чи 29-ту добу інкубації

Незважаючи на неспроможність досліджених штамів видів роду *Pholiota* рости в умовах підвищених температурних значень ($t^{\circ} \geq 36^{\circ}\text{C}$), було зафіксовано здатність вегетативного міцелію до відновлення росту при інкубації в умовах $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ після впливу підвищених температур (табл. 4.2.1.). Мінімальна критична температура, після якої штам не відновлював ріст, становила $36 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ для *P. squarrosa* 2606, а максимальна становила $41 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ у випадку усіх досліджуваних штамів *P. aurivella*. Інкубація за температури 42°C виявилась критичною для росту міцелію цього виду, навіть за умови подальшої інкубації при $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (табл. 4.2.1.). Це свідчить про невисоку термотолерантність видів роду *Pholiota*, що в цілому є характерним для базидієвих грибів, хоча існують і винятки. Для штамів *Schizophyllum commune* критична температура, за якої ріст не відбувався і не відновлювався після перенесення в умови 26°C становила $57-58^{\circ}\text{C}$ (Ліновицька, 2020).

Дослідження впливу факторів підвищеної температури на ріст міцелію сприяє виявленню видових та штамових відмінностей в залежності від різного географічного походження. Штам *P. nameko* 1976, що походить з

Японії, мав вищу критичну температуру, після якої за $26\pm 0,1$ °C було помітно відновлення росту на десяту добу ($39\pm 0,1$ °C), для інших штамів цього виду граничне значення становило $38\pm 0,1$ °C (табл. 4.2.1.). Критична температура для *P. squarrosa* 2606 становила $36\pm 0,1$ °C, а для 2609 – $39\pm 0,1$ °C, причому обидва штами виділені з одного регіону – м.Київ (табл. 4.2.1.). Проте, варто зазначити, що штамові відмінності спостерігались і для культур зі схожим географічним походженням (*P. populnea*) (табл. 4.2.1.).

Виявлено залежність терміну відновлення росту міцелію досліджених штамів за $26\pm 0,1$ °C від показника початкової високої температури. Найкраще зазначений факт ілюструє випадок штамів *P. aurivella* – після $36\pm 0,1$ °C вже на третю добу міцелій відновлював ростові процеси, а після впливу температури $41\pm 0,1$ °C термін зріс до десяти діб. Проте, існують і інші дані для двох видів, а саме *P. alnicola* та *P. subochracea*, міцелій яких у всіх випадках зберігав здатність відновлювати ріст на третю добу інкубування при температурі $26\pm 0,1$ °C, незалежно від значення початкової високої температури (табл. 4.2.1.).

Значення нижньої граничної температури для всіх штамів роду *Pholiota* становило 4°C, після якої вегетативний міцелій був здатний до відновлення ростових процесів. Схожі дані зазначають також щодо *Trametes hirsuta* (Wulfen) Pilát, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Piptoporus betulinus*, *Flammulina velutipes* (Бисько и др., 2012; Михайлова, 2014; Колосова, 2015). Штамових особливостей щодо нижніх критичних температур представників роду *Pholiota* не було зафіксовано. Проте вчені зазначають існування таких особливостей для деяких базидієвих грибів. Для різних штамів *Trametes pubescens* (Schumach.) Pilát було виявлено дві граничні температури, а саме 4°C та 8 °C (Бисько и др., 2012).

Отже, було встановлено граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту досліджених штамів видів роду *Pholiota*. Ці показники варіювали від $36\pm 0,1$ °C до $41\pm 0,1$ °C. Відмічено залежність стійкості вегетативного міцелію до підвищених температур в залежності від виду та біологічних особливостей штаму роду *Pholiota*. Також варто

зазначити, що при нижній граничній температурі $4\pm 0,1$ °C ріст не спостерігали, проте було зафіксовано відновлення процесів життєдіяльності при перенесенні в умови температури $26\pm 0,1$ °C.

4.3. Вплив рН живильного середовища на ріст культур і накопичення біомаси

Значення рН живильних середовищ суттєво впливає на характер метаболічних процесів грибів, зокрема, надходження поживних речовин до клітин, активність ферментів, пігментацію, здатність продукувати метаболіти тощо. Загалом клітини певного виду можуть рости лише в межах певного діапазону рН. Водневий показник живильного середовища впливає на синтез метаболітів (Бухало, 1988), тому важливо встановлення оптимальних значень рН середовища для підвищення продуктивності фізіологічних процесів. Показано, що в деяких випадках міцелій базидієвих грибів навіть змінює кислотність середовища до більш сприятливих для свого росту значень (Бухало, 1988). Вивчення впливу рН живильного середовища на ріст та накопичення біомаси дає можливість підібрати оптимальні умови для культивування та збереження видів *Pholiota* у належному фізіологічному стані (Бисько и др., 2012; Мукчайлова et al., 2019).

Оптимальні умови вирощування можуть забезпечити кількість та якість продукції міцелію видів *Pholiota*, однак така інформація в літературі обмежена (Maziero et al., 1999; Wang Y.-X., Lu Z.-X., 2004). Дані щодо впливу вихідних значень рН живильних середовищ на накопичення біомаси видів *Pholiota* відомі лише для двох видів – *P. squarrosa* та *P. nameko* за умов глибинного культивування (Maziero et al., 1999; Wang Y.-X., Lu Z.-X., 2004). Інформація щодо інших видів та для всіх видів роду *Pholiota* в умовах поверхневого культивування, відсутня. Саме тому наше дослідження є актуальним.

Одним із завдань нашого дослідження було встановлення впливу вихідних значень рН живильних середовищ на накопичення біомаси міцелію видами роду *Pholiota*.

Результати впливу початкового рН рідкого живильного середовища на ріст міцелію видів *Pholiota* представлені на рис. 4.3.1.

За даними літератури для більшості видів базидієвих грибів характерна здатність міцелію рости при широкому діапазоні концентрацій йонів H^+ у живильному середовищі. Оптимальний для росту міцелію діапазон значень рН середовища для значної кількості видів макроміцетів становить 5,0-6,5 (Бухало, 1988; Zhou et al., 2015; Mohamad et al., 2015). Так, для *Coprinus comatus* найсприятливішим показником концентрації H^+ для активного росту вегетативного міцелію встановлено значення близько 6,5 (Бисько и др., 2012). Вищезазначені факти збігаються з отриманими нами даними – представники роду *Pholiota* мають здатність рости в широкому діапазоні значень рН – 4,0-7,2 (рис. 4.3.1.) (Бисько и др., 2012).

Нами встановлено, що досліджені штами видів роду *Pholiota* мали одне значення рН для максимального накопичення біомаси (табл. 4.3.1.). Максимальна кількість біомаси була отримана у культурах роду *Pholiota*, вирощених при початковому рН живильного середовища, в межах 5,3-6,5 (рис. 4.3.1.), що збігається з даними літератури (Бисько и др., 2012). Проте Бухало зазначає про два оптимуми для *P. adiposa* – 6,0 та 9,0 (Бухало, 1988).

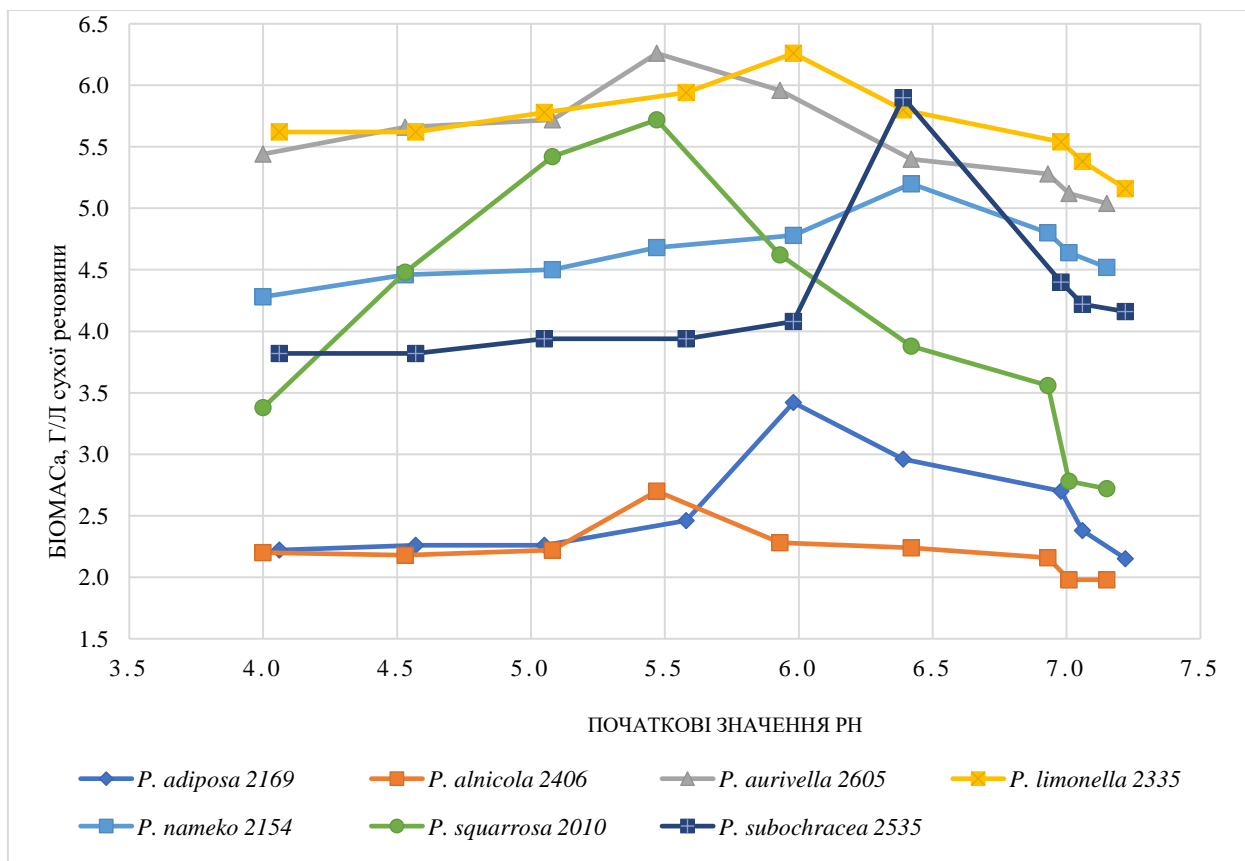


Рис. 4.3.1. Вплив початкових значень рН живильного середовища на накопичення біомаси видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

Нами встановлено, що досліджені штами видів роду *Pholiota* мали одне значення рН для максимального накопичення біомаси (табл. 4.3.1.). Максимальна кількість біомаси була отримана у культурах роду *Pholiota*, вирощених при початковому рН живильного середовища в межах 5,3-6,5 (рис. 4.3.1.), що збігається з даними літератури (Бисько и др., 2012). Проте Бухало зазначає про два оптимуми для *P. adiposa* – 6,0 та 9,0 (Бухало, 1988).

При найбільш сприятливих для активного росту міцелію видів роду *Pholiota* значеннях рН вихід біомаси становило від 2,70 г/л (*P. alnicola*) до 6,26 г/л (*P. limonella*, *P. aurivella*), як показано в таблиці 4.3.1.

Таблиця 4.3.1.

Оптимальне початкове значення рН живильного середовища для найбільшого накопичення біомаси видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура $26 \pm 0,1$ °C

Вид, номер штаму <i>IBK</i>	Оптимальне початкове значення рН	Кількість накопиченої біомаси (г/л сухої речовини)
<i>Pholiota adiposa</i> 2169	5,98	3,42±0,14
<i>P. alnicola</i> 2406	5,47	2,70±0,04
<i>P. aurivella</i> 2605	5,47	6,26±0,08
<i>P. limonella</i> 2335	5,98	6,26±0,00
<i>P. nameko</i> 2154	6,42	5,20±0,06
<i>P. squarrosa</i> 2010	5,47	5,72±0,00
<i>P. subochracea</i> 2535	6,39	5,90±0,00

Результати скринінгу 56 видів базидієвих грибів при глибинному культивуванні за ознакою накопичення біомаси варіювали від 0,19 г/л для *Agaricus* sp. до 6,01 г/л у випадку *Gloeophyllum striatum* (Fr.) Murrill. (Maziero et al., 1999). Зазначені авторами показники кількості накопичення біомаси *P. nameko* відрізнялися від отриманих нами (5,20±0,06 г/л) і становили 1,64 г/л, проте, варто відмітити, що це результати чотирнадцятої доби культивування (Maziero et al., 1999).

Резюмуючи отримані дані 52 експериментів з відповідними комбінаціями дріжджового екстракту, фруктози, мальтози, сульфату магнію, хлориду цинку та початкових значень рН, Wang та Lu запропонували для *P. squarrosa* оптимальне початкове значення рН для глибинного культивування міцелію – 5,3. За результатами наших досліджень оптимальним рН для *P. squarrosa* є 5,47 (Wang, Lu, 2004).

Отримані в ході нашого експерименту дані показали, що всі досліджені культури знижували початкове значення рН рідкого середовища. У випадках максимального синтезу біомаси міцелій видів роду *Pholiota* знижував початкове значення рН на 0,5-0,7 одиниць. В процесі росту культур *Piptoporus betulinus* концентрація водневих йонів знижувалась до 3,7-4,2, *Flammulina velutipes*– 4,3-4,5 (Бисько и др., 2012). Підкислення середовища в процесі культивування також характерно для міцелію інших видів – *Agaricus*

bisporus, *Armillaria mellea*, *Marasmius scorodoni* (Fr.) Fr. тощо (Бухало, 1988).

Досліджувані види роду *Pholiota* відрізнялись між собою не тільки здатністю синтезувати різну кількість біомаси при оптимальному рН (5,5-6,0) живильного середовища, але і різним ступенем чутливості до змін рН, що теж мало вплив на накопичення біомаси. Найбільш виражено це для *P.subochracea*, де при оптимальному значенні рН (6,39) біомаса становить $5,90 \pm 0,00$ г/л, а при інших значеннях концентрацій йонів H^+ в жодному з випадків не перевищувала показника $4,40 \pm 0,01$ г/л (рис. 4.3.1.). У той самий час для *P. alnicola* відміни між максимальними значеннями накопичення біомаси ($2,70 \pm 0,04$ г/л) при оптимальному значенні рН (5,47) та показниками при більш кислих чи лужних значеннях живильного середовища (від 1,98 г/л до 2,28 г/л) були незначними.

Лише один вид *P. squarrosa* був чутливим до змін у діапазоні значень середовища рН з 4,0 до 5,5 (рис. 4.3.1.). Міцелій інших видів майже не змінює інтенсивність синтезу біомаси при початковому рН від 4,0 до 5,0 (*P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko*) та 6,0 (*P. subochracea*). У випадку лужного середовища було помічено значне зниження синтезу біомаси із збільшенням початкового рН живильних середовищ.

При порівнянні значень накопичення біомаси при оптимальному, максимальному та мінімальному значеннях рН виявлені відмінності між видами (рис. 4.3.1.). Найбільш помітно кількість біомаси залежала від значень рН при культивуванні *P. squarrosa*. При оптимальному показнику рН 5,5 вміст біомаси в середовищі становило $5,72 \pm 0,00$ г/л. Проте, якщо порівнювати вищевказаний показник з найнижчими (рН 4,0) і найвищими (рН 7,2) значеннями кислотності середовища, синтез біомаси зменшується на 41, 82% та 52,63% відповідно. Вплив рН середовища на накопичення біомаси був значно меншим при вирощуванні *P. alnicola*, де кількість біомаси зменшилась лише на 18,51% (при рН 4,0) та 25,93% (при рН 7,2) порівняно з виходом біомаси при оптимальному початковому рН (5,47).

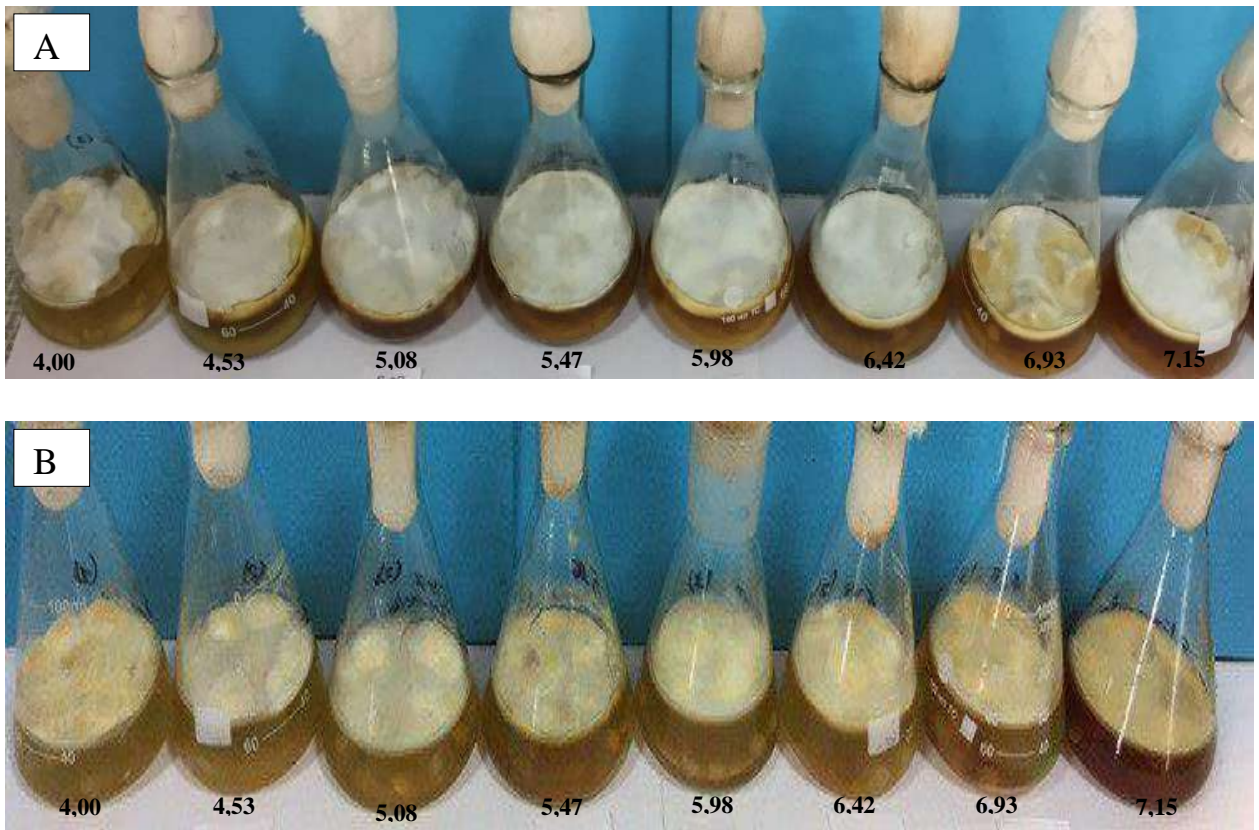


Рис. 4.3.2. Вегетативний міцелій *Pholiota nameko* 2154 (А) та *Pholiota limonella* 2335 (В) в умовах різних початкових значень рН живильного середовища; середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °С

Отримані нами результати щодо морфології вегетативного міцелію за різних значень рН живильного середовища збігаються із такими щодо морфологічних характеристик колоній видів роду *Pholiota* на агаризованих живильних середовищах (рН 6,0) (Розділ 3.2). Види роду *Pholiota* утворюють білі колонії, а потім стають світло-жовтими або від оранжевого до темно-коричневого, за винятком *P. alnicola*, яка була вохряного кольору відразу (Regeda, Bisko 2020). Характер росту вегетативного міцелію та інтенсивність забарвлення колоній майже не залежали від значень рН живильного середовища (рис. 4.3.2А.), але набували дещо темніших відтінків при максимальних та мінімальних значеннях рН порівняно з оптимальними показниками (рис. 4.3.2В.).

Вперше було проведено детальне дослідження накопичення біомаси міцелію при поверхневому культивуванні штамів *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella* та *P. subochracea*. Отримані нові дані щодо видів роду

Pholiota в чистій культурі, що дозволяють доповнити існуючу характеристику цього роду і стверджувати, що сприятливі для росту міцелію значення рН живильного середовища специфічні та залежать від конкретного виду роду *Pholiota*.

Показано, що на синтез біомаси міцелію представниками роду *Pholiota* суттєво впливали початкові показники рН живильних середовищ. Встановлено, що діапазон рН живильного середовища, оптимальний для накопичення біомаси штамами роду *Pholiota* становить 5,3-6,5. Під час культивування зафіксовано зниження початкових значень рН середовища. Міцелій досліджених штамів видів роду *Pholiota* демонстрував різну ступінь чутливості процесу синтезу біомаси до змін рН середовища.

З часом колір міцелію досліджених видів у рідкій поверхневій культурі змінювався від білого до світло-жовтого або набував темно-коричневих відтінків, незалежно від рН живильного середовища.

РОЗДІЛ 5

БІОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ КУЛЬТУР ВИДІВ РОДУ *PHOLIOTA*

Гриби вважаються активними продуцентами різноманітних первинних та вторинних біоактивних метаболітів (алкалоїдів, жирних кислот, лектинів, нуклеїнових кислот, нуклеозидів, пептидів, фенольних речовин, полісахаридів, білків, статинів, стероїдів, терпеноїдів тощо), що зумовлюють їх високі фармакологічні властивості (антибактеріальні, антифунгальні, протизапальні, антиоксидантні, антипроліферативні, протипухлинні, противірусні, гіпоглікемічні, гіпотензивні, імуномодулюючі та ін. (Badalian, 1999; Badalian, Serrano, 1999; Hanson, 2008; Agrawal, Dhasekaran, 2019).

Одним із завдань нашого дослідження було встановити вміст ендopolісахаридів, тритерпенових кислот ланостанового типу та фенольних сполук у міцелії семи штамів семи видів роду *Pholiota*, а також у дослідити антимікробну, алелопатичну та антиоксидантну активності цих штамів.

5.1. Вміст ендopolісахаридів у вегетативному міцелії

Проведені дослідження показали, що полісахариди є одними з основних біоактивних сполук у грибах (Wasser, Weis, 1999; Fang et al., 2002; Lee et al., 2003; Chung et al., 2005; Zhang et al., 2007; Hanson, 2008; Deng et al., 2011; Hu et al., 2012; Maehara et al., 2012; Chou et al., 2019).

Інформація щодо полісахаридів видів роду *Pholiota* дуже обмежена, але навіть існуючі дані стосуються досліджень, що проводились з використанням плодових тіл, а не вегетативного міцелію. Зазвичай вчені акцентували увагу на ендopolісахаридах плодових тіл (Zhu et al., 2018; Chou et al., 2019; Sung et al., 2020) або на екзopolісахаридах, отриманих в умовах культивування міцелію на рідких живильних середовищах (Wang, Lu, 2004; Deng et al., 2011).

Існують дослідження щодо оптимізації параметрів глибинного культивування для отримання ендopolісахаридів видів роду *Pholiota* (Deng et

al., 2011). На прикладі *P. adiposa* Deng зі співавторами досягли високих значень синтезу ендopolісахаридів – 20, 51% від сухої маси міцелію.

Проте дані щодо кількісних характеристик ендopolісахаридів у вегетативному міцелії при поверхневому культивуванні та роботи щодо порівняльного аналізу вмісту ендopolісахаридів у міцелії різних видів роду *Pholiota* відсутні.

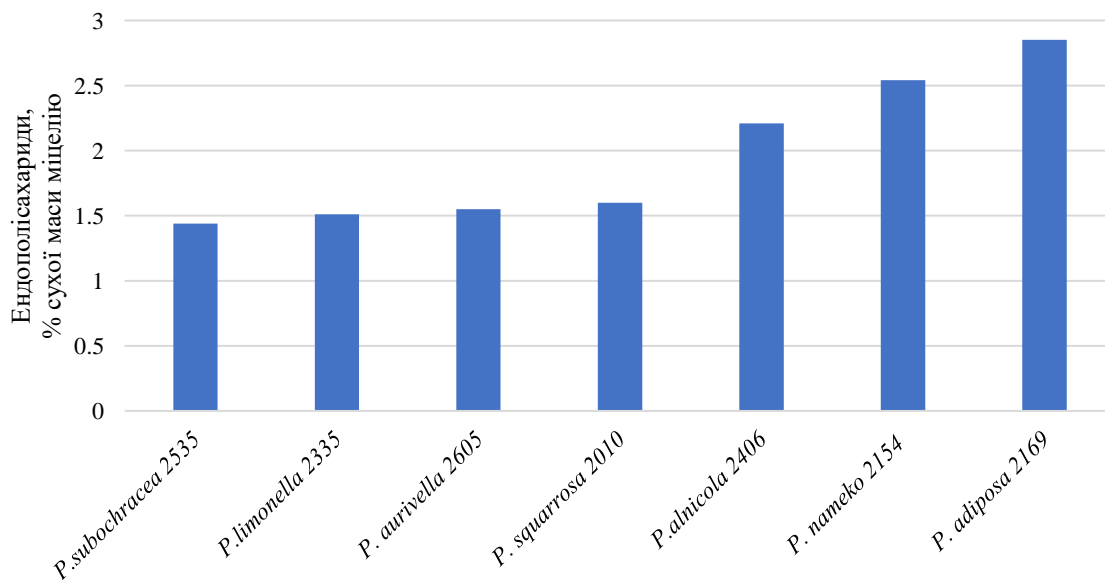


Рис. 5.1.1. Накопичення ендopolісахаридів видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Отримані результати вказують на різну здатність представників роду *Pholiota* до накопичення ендopolісахаридів при поверхневому культивуванні в залежності від виду (рис. 5.1.1). Найвищі показники було зафіксовано для *P. nameko* та *P. adiposa* – $2,54 \pm 0,04$ % та $2,85 \pm 0,16$ % від сухої біомаси. Найнижче значення накопичення ендopolісахаридів було відмічено для одного виду, а саме *P. subochracea* ($1,44 \pm 0,10$ %).

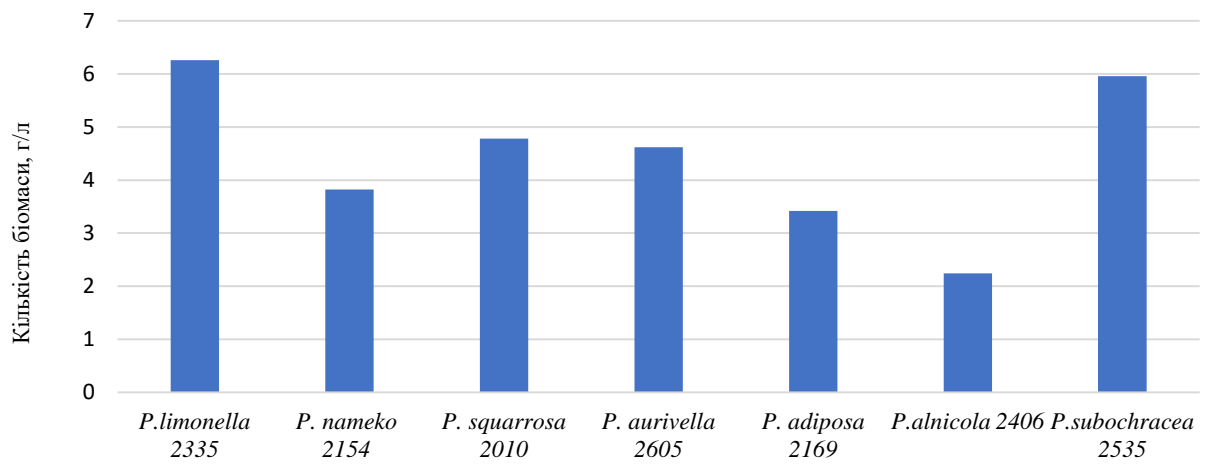


Рис. 5.1.2. Накопичення біомаси видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °С

У результаті аналізу даних щодо продуктивності синтезу ендополісахаридів, де враховується накопичення біомаси представниками роду, змінюються види, у яких фіксували мінімальні та максимальні показники (рис. 5.1.3.). Це можна пояснити впливом показника синтезу біомаси дослідженими видами (рис. 5.1.2.). Згідно визначенню радіальної швидкості росту всі досліджені штами і види роду *Pholiota* належать до повільно зростаючих (Regeda, Bisko, 2019). Цим фактом можна обґрунтувати низький рівень накопичення біомаси – від $2,24 \pm 0,04$ г/л (*P. alnicola*) до $6,26 \pm 0,00$ г/л для *P. limonella*.

Найменші показники продуктивності накопичення ендополісахаридів становили $0,05 \pm 0,00$ г/л для *P. alnicola*, найвищі спостерігали для *P. nameko*, а саме $0,12 \pm 0,01$ г/л (рис. 5.1.3).

Порівнюючи отримані дані щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів видами роду *Pholiota* при поверхневому культивуванні з цими показниками для інших видів лікарських макроміцетів, можна зробити висновок, що досліджувана група не знаходиться серед високо продуктивних видів. Для порівняння, Бороменський у роботі з видами роду *Ganoderma* наводить значно вищі показники продуктивності ендополісахаридів при поверхневому культивуванні культур цього роду

(Бороменський, Бісько, 2020). При використанні методу поверхневого культивування найвищий вміст ендopolісахаридів у міцелії – 8,2% (близько 8 г/л) виділено з біомаси *Ganoderma oregonense* Murrill. Найнижчі показники вмісту ендopolісахаридів авторами зафіксовано для *G. tsugae* Murrill – приблизно 3 г/л.

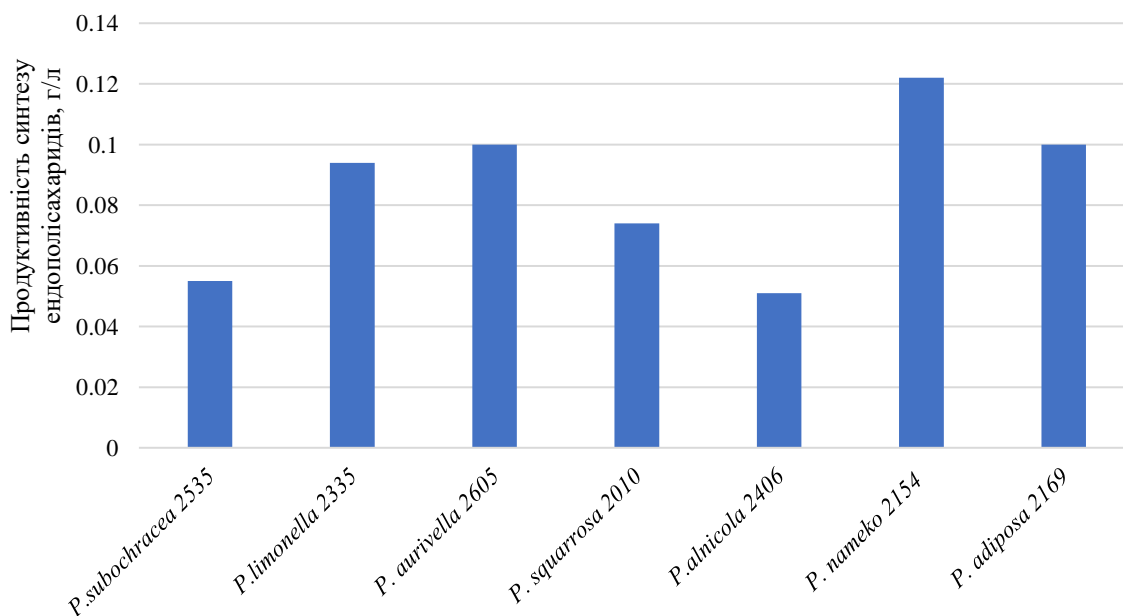


Рис. 5.1.3. Продуктивність синтезу ендopolісахаридів видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

В результаті встановлено кількісні показники вмісту та продуктивності синтезу ендopolісахаридів при поверхневому культивуванні видами роду *Pholiota*. Вперше такі показники наводяться для вегетативного міцелію видів *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*.

5.2. Вміст тритерпенових кислот ланостанового типу

Вивчення біологічної активності базидієвих грибів призвело до виділення та визначення різної складності структур терпеноїдних сполук, серед яких

найчисленнішу групу біоактивних низькомолекулярних вторинних метаболітів утворюють тетрациклічні тритерпени ланостанового типу (Белова, 2016). Багато з них є фармакологічно активними, оскільки було встановлено, що тритерпеноїдні сполуки, виділені з грибів, мають антибактеріальні (Liu et al., 2010), антипроліферативні (Kim et al., 2013), протипухлинні властивості (Lu et al., 2013) та антиоксидантну активність (Rios, Andujar, 2015).

Більшість грибних тритерпеноїдних сполук є тритерпеноїдами ланостанового типу (Duru et al., 2015). Ланостанові сполуки виявлені в різних частинах багатьох видів грибів: у плодових тілах *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma hainanense* J.D. Zhao, L.W. Hsu & X.Q. Zhang, *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm., *Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat. та ін.; склероціях *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát, *Wolfiporia cocos* F.A. Wolf Ryvarden & Gilb. та вегетативному міцелії *Perenniporia ochroleuca* (Berk.) Ryvarden, *Taiwanofungus camphoratus* (M. Zang & C.H. Su) Sheng H. Wu, Z.H. Yu, Y.C. Dai & C.H. Su (Ino et al., 1984; Liu et al., 2010; Kim et al., 2013; Ozturk et al., 2015; Rios, Andujar, 2015; Li et al., 2016).

Вищезазначені види належать до екологічної групи дереворуйнівних грибів, так само як і представники роду *Pholiota* (Smith, Hesler, 1968). Отже, цей факт дозволяє припустити можливу присутність тритерпенових кислот ланостанового типу в міцелії грибів цього роду. Дані щодо таких досліджень в науковій літературі обмежені (Clericuzio et al., 2004; Yaoita et al., 2014).

Результати дослідження щодо вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу в міцелії видів роду *Pholiota* представлені на рис. 5.2.1, 5.2.2.

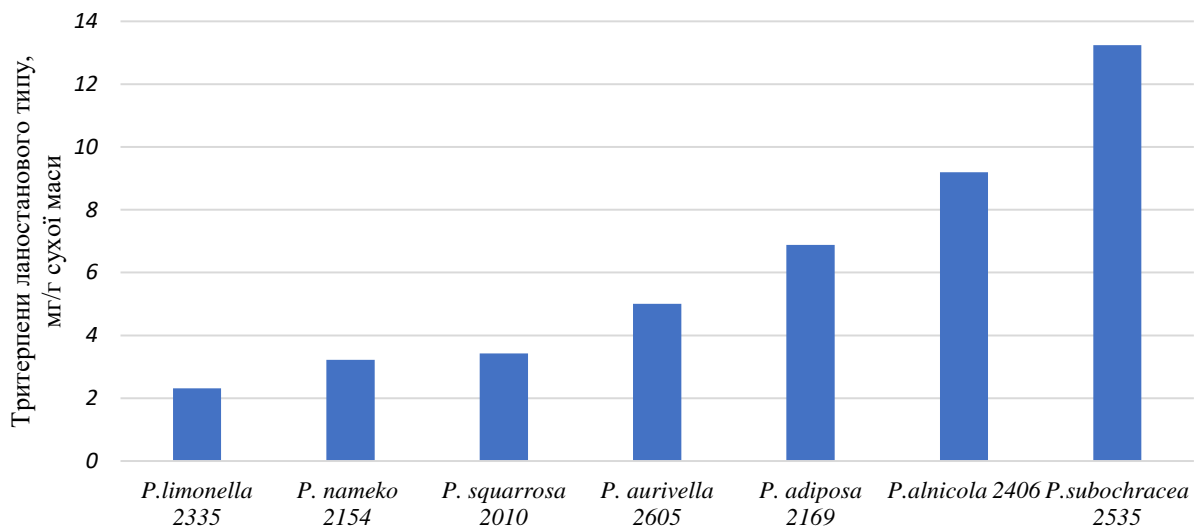


Рис. 5.2.1. Вміст тритерпенових кислот ланостанового типу в міцелії видів роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C.

Кількість тритерпенових кислот ланостанового типу суттєво відрізнявся у різних представників роду *Pholiota*. Дослідження виявило наявність кислот у міцелії всіх досліджених видів, проте, у різних кількостях – від $2,31 \pm 0,12$ мг/г до $13,24 \pm 0,57$ мг/г. Як показано на рис. 5.2.1, максимальний вміст тритерпенів в міцелії серед семи видів *Pholiota* був отриманий для *P. alnicola* та *P. subochracea* – $9,19 \pm 0,15$ мг/г та $13,24 \pm 0,57$ мг/г відповідно. Найнижча кількість тритерпенових кислот ланостанового типу була виявлена для міцелію *P. limonella* ($2,31 \pm 0,12$ мг/г).

Оскільки продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу (рис. 5.2.2.) визначали з урахуванням накопичення біомаси (рис. 5.1.2.), отримані дані відрізняються від зазначених вище показників вмісту кислот у міцелії. Максимальна продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу була отримана для *P. aurivella* та *P. subochracea* – $29,87 \pm 1,08$ мг/л та $50,58 \pm 2,20$ мг/л відповідно. Мінімум було зафіксовано для видів *P. limonella* ($14,45 \pm 0,75$ мг/л), *P. nameko* ($15,41 \pm 1,25$ мг/л) та *P. squarrosa* ($15,86 \pm 2,37$ мг/л) (рис. 5.2.2.).

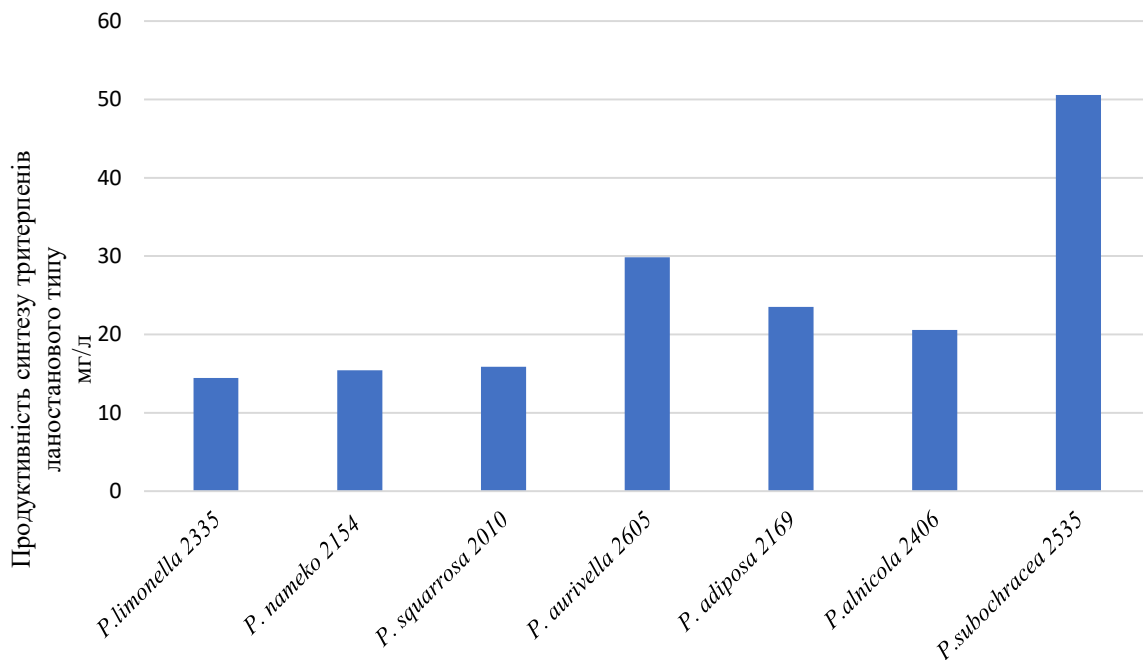


Рис. 5.2.2. Продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

Дані про тритерпенові кислоти ланостанового типу з вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* обмежені і відомі лише для двох видів – *P. spumosa* (Clericuzio et al., 2004) та *P. nameko* (Yaoita et al., 2014). Однак, навіть для цих видів кількісні значення не вказуються. Аналізуючи результати встановлення вмісту тритерпенових кислот ланостанового типу (включаючи ганодерові кислоти – високоокислені ланостанові тритерпеноїди) в інших групах грибів, можна зробити висновок, що вміст і продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу досліджених нами представників роду *Pholiota* в поверхневій культурі є досить високі (Ху, 2010). Опубліковані дані щодо шести ганодерових кислот (C2, В, АМ1, К, Н та D) в плодових тілах видів роду *Ganoderma*. Загальна кількість кислот в залежності від виду коливалась в межах від $11,551 \pm 0,238$ мг/г до $2,108 \pm 0,220$ мг/г (*G. lucidum*), від $1,918 \pm 0,352$ до $0,378 \pm 0,015$ мг/г (*G. sinense*), від $10,513 \pm 0,974$ до $0,737 \pm 0,009$ мг/г (*G. amboinense*), від $1,380 \pm 0,025$ до $0,167 \pm 0,000$ мг/г (*G. sessile*), для *G. atrum* становила $0,508 \pm 0,008$ мг/г, для *G. tropicum* – $8,974 \pm 0,078$ мг/г (Wang et al., 2006). Дослідження кількісного вмісту

компонентів ланостанової природи в плодкових тілах чотирьох штамів *Antrodia cinnamomea* Chang та Chou виявили варіювання цих показників в залежності від конкретної сполуки та тривалості культивування (3, 6, 9 та 12 місяців). Отримані кількісні показники на третій місяць експерименту склали $10,312 \pm 0,511$ мг/г та $18,058 \pm 1,357$ мг/г для дегідроебурикової і дегідросульфуронової кислот відповідно, які є різновидами тритерпенових кислот ланостанового типу (Lin et al., 2003). Автори зазначають, що кількість тритерпенових кислот ланостанового типу зменшувалась зі збільшенням часу культивування, на відміну від таких сполук ергостанового типу. Одним із пояснень такого є можливість перетворення тритерпенових кислот ланостанового типу в тритерпенові кислоти ергостанового типу в процесі дозрівання плодкових тіл (Lin et al., 2003).

Скринінг вегетативного міцелію *Ganoderma orbiforme* (Fr.) Ryvarden на наявність тритерпенових кислот ланостанового типу виявив 17 компонентів цієї природи. Серед виділених речовин найбільшу частку складав гарнорформін D (40 мг/г), найменше було виділено компонентів №16 та №18 (по 1 мг/г) (Isaka et al., 2013).

Цей висновок вказує на необхідність подальшого вивчення та перспективи практичного використання біологічно-активних сполук роду *Pholiota*. Оскільки ланостанові сполуки є попередниками холестерину та вітаміну D (Белова, 2004), можна прогнозувати потенційну медичну значимість досліджуваних видів.

Уперше встановлено наявність та кількісно охарактеризовано вміст та продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у вегетативному міцелії семи видів роду *Pholiota*.

5.3. Вміст фенольних сполук

Біоактивність фенолів може бути пов'язана з їх здатністю хелатувати метали, інгібувати ліпоксигеназу та поглинати вільні радикали (Decker, 1997). Саме тому існують дані щодо кореляції між біологічною активністю екстрактів грибів та вмістом в них фенольних сполук (Mattila et al., 2001; Cheung et al.,

2003; Puttaraju et al., 2006; Kim et al., 2008; Jayakumar et al., 2009). Це і пояснює важливість проведення досліджень щодо вмісту фенольних сполук у вегетативному міцелії видів роду *Pholiota* для подальшого вивчення властивостей зазначених грибів. Аналізуючі існуючі дані літератури, можна зробити висновок, що такі відомості є лише для двох видів – *P. nameko* та *P. adiposa* (Guo et al., 2015; Rodrigues et al., 2015; Rodrigues et al., 2016). Це свідчить про актуальність аналізу вмісту фенольних сполук видів роду *Pholiota*.

Результати дослідження щодо вмісту фенольних сполук в екстрактах міцелію та культуральної рідини видів роду *Pholiota* представлені на рис. 5.3.1.

Наші дані (рис. 5.3.1) свідчать, що досліджені штами роду *Pholiota* характеризувались різним вмістом фенольних сполук. Вміст цих речовин у представників роду *Pholiota* варіював, як у біомасі так і у культуральній рідині. Для екстрактів біомаси максимум фіксували для *P. alnicola* та *P. squarrosa* – $46,22 \pm 1,55$ мг/г та $45,89 \pm 1,06$ мг/г відповідно, мінімальні показники становили $34,17 \pm 0,87$ мг/г (*P. nameko*) та $34,50 \pm 1,02$ мг/г (*P. aurivella*) (рис. 5.3.1.). У порівнянні з вищеописаними даними щодо вегетативного міцелію, кількісний вміст фенольних сполук в метанольних екстрактах культуральної рідини був значно менший. Отримані дані варіювали від $0,48 \pm 0,01$ мг/г (*P. aurivella*) до $10,83 \pm 0,78$ мг/г (*P. limonella*).

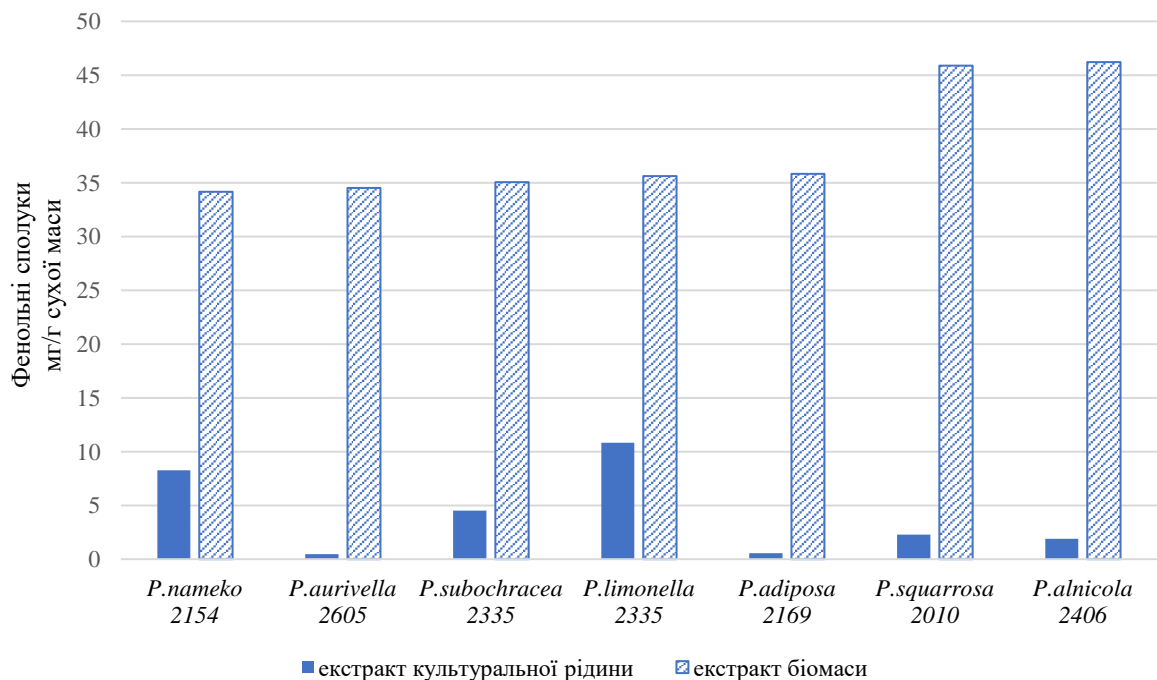


Рис. 5.3.1. Вміст фенольних сполук в екстрактах міцелію та культуральної рідини видів роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C.

Беручи до уваги особливості накопичення біомаси видами роду *Pholiota* (рис. 5.1.2.), ми отримали відмінні від вмісту дані продуктивності синтезу фенольних сполук вегетативним міцелієм (рис. 5.3.2.). Так, максимальний показник продуктивності синтезу фенольних сполук вегетативним міцелієм відмічали для *P. limonella* ($222, 92 \pm 6,0$ мг/л), мінімальний становив $103,54 \pm 3,43$ мг/л для *P. alnicola*.

Показники продуктивності синтезу цих сполук для екстрактів культуральної рідини та екстрактів міцелію варіювали від $1,19 \pm 0,17$ мг/л до $27,08 \pm 2,40$ мг/л для *P. aurivella* і *P. limonella* відповідно (рис. 5.3.2.).

Rodrigues зі співавторами займалась дослідженнями хімічного складу та поживної цінності ряду грибів, серед яких наводяться дані для *P. nameko*. Загальний вміст фенольних сполук в культивованому міцелії цього представника становив 675 ± 44 мг/г (Rodrigues, 2015), що відрізняється від отриманих нами результатів для іншого штаму зазначеного виду, а саме $34,17 \pm 0,87$ мг/г (рис. 5.3.1.). Вищезазначені факти можуть бути пов'язані з відмінностями у методиках визначення. Крім того, вміст фенольних сполук

залежить від живильного середовища, на якому проводили культивування, а також від умов культивування.

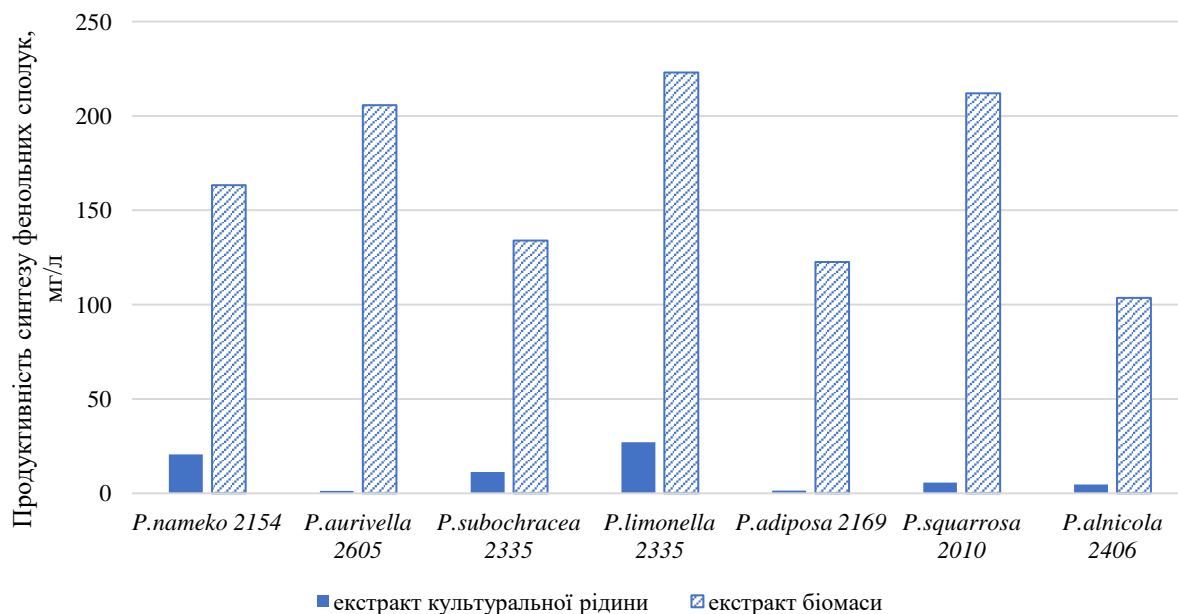


Рис. 5.3.2. Продуктивність синтезу фенольних сполук видами роду *Pholiota*, середовище ГПД, 21-ша доба культивування, температура інкубації $26\pm 0,1$ °C.

Окрім цього, існують дані щодо вмісту фенольних сполук у плодових тілах грибів. Guo зі співавторами наводять показники для двох видів роду *Pholiota* – *P. nameko* та *P. adiposa* – $5,15\pm 0,04$ мг/г та $5,31\pm 0,23$ мг/г відповідно (Guo et al., 2012). Для плодових тіл того ж самого виду *P. nameko* Rodrigues зі співавторами зазначає показники, що варіювали в межах від 158 мг/г до 182 мг/г (Rodrigues et al., 2016). Тому порівняння існуючих результатів з отриманими нами даними дає підставу зробити висновок щодо більшого вмісту фенольних сполук у плодових тілах представників роду *Pholiota* ніж у вегетативному міцелії.

Вперше проведено дослідження вмісту фенольних сполук в метанольних екстрактах біомаси та культуральної рідини видів роду *Pholiota* при поверхневому культивуванні. Наведено порівняльну характеристику вмісту та продуктивності синтезу фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині семи видів, а саме *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P.limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*.

5.4. Антимікробна активність

Інфекційні захворювання залишаються однією з основних загроз для здоров'я людей. Незважаючи на те, що для ефективного знищення патогенних мікроорганізмів було виділено чи синтезовано ряд природних та синтетичних протимікробних засобів, глобальна антимікробна стійкість є зростаючою проблемою для людського здоров'я (WHO, 2014). Саме тому постійно відбувається пошук нових антимікробних засобів з різних біологічних джерел.

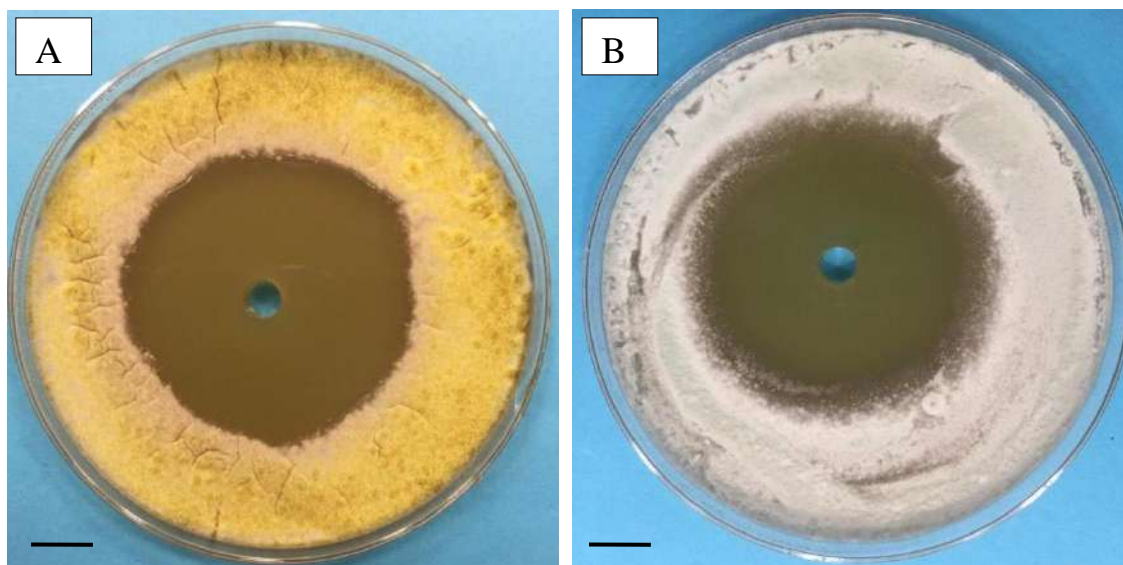
Антибіотична активність була виявлена при аналізі плодових тіл чи міцелію у понад 2000 видів грибів (Suay et al., 2000; Rosa et al., 2003; Yamacı, Bilgili, 2006). Інформація щодо антимікробних властивостей представників роду *Pholiota* досить обмежена і стосується лише антибактеріальних властивостей плодових тіл та міцелію *P. adiposa* (Dulger, 2004; Imtiaj, Lee, 2007) та *P. mutabilis* (Nowacka et al., 2014) або культуральної рідини *P. aurivella*, *P. lenta*, *P. squarrosa*, *P. carbonaria* та *P. populnea* (Suay et al., 2000; Dyakov et al., 2010). Дані щодо інгібування бактеріальних культур тритерпеновими кислотами ланостанового типу видів роду *Pholiota* в літературі не наведено. Проте, беручи до уваги результати, існуючі для представників інших видів грибів, можна зробити висновок щодо потенційної ефективності тритерпенових кислот проти мікробних культур (Liu et al., 2010; Chepkirui et al., 2018).

Зважаючи на вищевикладені аргументи, дослідження антибактеріальних та антифунгальних властивостей екстрактів біомаси, культуральної рідини та тритерпенових кислот ланостанового типу видів роду *Pholiota* є актуальним.

Наші результати свідчать про те, що жоден з варіантів вивчених сполук не мав впливу на грам-позитивні (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) та грам-негативні (*Escherichia coli*) види бактерій – зони інгібування не фіксували.

Дані досліджень інших вчених щодо антибактеріальних властивостей вегетативного міцелію або культуральної рідини певних видів роду *Pholiota* різняться між собою. Suay з колегами в результаті скринінгу 204 видів базидіоміцетів виявили значну антибактеріальну активність екстрактів культуральної рідини *P. carbonaria* (зона інгібування становила ≥ 15 мм) та *P. populnea* (≤ 15 мм) проти тест культури *Bacillus subtilis* (Suay et al., 2000). Антибактеріальна активність екстрактів культуральної рідини *P. lenta* була відсутня (Dyakov et al., 2010). Щодо скринінгу антимікробних властивостей тритерпенових кислот ланостанового типу досліджуваними видами інформація повністю відсутня. Проте вчені зазначають про антибактеріальні властивості цього класу сполук. У дослідженнях щодо біологічної активності екстрактів *Fomitopsis rosea* з плодових тіл було виділено п'ять компонентів тритерпенової природи ланостанового типу. При подальших дослідженнях цих ізолятів щодо впливу на життєдіяльність бактерій, відмічено затримку росту *Staphylococcus aureus* (зони інгібування становили від 14 мм до 24 мм) (Porova et al., 2009).

Екстракти біомаси та тритерпенові кислоти ланостанового типу досліджених видів роду *Pholiota* не показали значного антифунгального ефекту. Значну активність екстрактів культуральної рідини було встановлено лише для одного із видів – *P. adiposa* (рис. 5.4.1.).



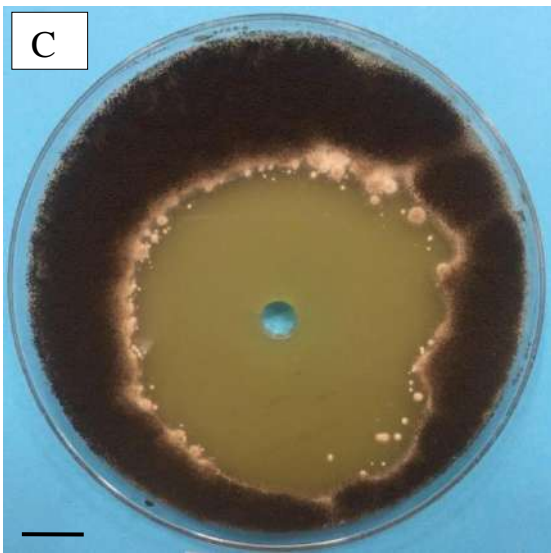


Рис. 5.4.1. Вплив екстрактів культуральної рідини *Pholiota adiposa* на ріст *Aspergillus niger* (A); *Penicillium pollonicum* (B); *Mucor globosus* (C), середовище ГПДА, 3-тя доба культивування, температура інбації $26 \pm 0,1$ °C, довжина штриха 15 мм

На третю добу культивування зони затримки росту міцелію мікроміцетів фіксували у випадку всіх тест-культур – *Penicillium pollonicum* (зона інгібування становила 35 мм), *Aspergillus niger* (зона інгібування 44мм), *Mucor globosus* (зона інгібування 57 мм), що свідчить про високу активність екстракту культуральної рідини *P. adiposa*, навіть у порівнянні з представниками інших груп грибів (Dyakov et al., 2010; Alves et al., 2013). Літературні дані підтверджують отримані результати наявністю відомостей щодо антифунгальних властивостей метанольних екстрактів культуральної рідини ще одного з представників роду – *P. lenta*. Зони затримки росту *A. niger* при цьому варіювали від 10 мм до 18 мм (Dyakov et al., 2010).

Вперше проведено антимікробний скринінг екстрактів (біомаси та культуральної рідини), а також тритерпенових кислот ланостанового типу семи видів роду *Pholiota* (*P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*).

Дослідження екстрактів біомаси, культуральної рідини та тритерпенових кислот ланостанового типу представників роду *Pholiota* вказало на існування антифунгальної активності лише у випадку екстракту культуральної рідини *P. adiposa*.

5.5. Алелопатична активність

Алелопатія – це хімічна взаємодія між рослинами, включаючи стимулюючий та інгібуючий впливи (Molisch, 1937). Алелопатія включає всі типи хімічних взаємодій між рослинами та мікроорганізмами. Алелохімічні речовини впливають на схожість насіння та ріст проростків, захист рослин від хелатування, запобігання поглинанню поживних рослин та регулюванню ґрунтової біоти способами, що впливають на розкладання та родючість ґрунту (Einhellig, 1995; Inderjit et al., 2011; Salim et al., 2020; Panda, Mahalik, 2020).

Алелопатичний ефект в основному вивчали з точки зору взаємодії рослин (Fujii, 2009; Inderjit et al., 2011; Kato-Noguchi et al., 2017; Lebedev et al., 2019; Iqbal, 2020), рідше – відносно інших організмів (Lohmann et al., 2009; Qasem, Foy, 2001; Osivand et al., 2018; Ridwan et al., 2018). Дані про алелопатичний вплив грибів на рослини з'явилися нещодавно, проте, все ще існує багато видів грибів, активність яких не описана належним чином, включаючи види роду *Pholiota*. Дані щодо алелопатичного ефекту вегетативного міцелію грибів на інші організми обмежені (Osivand et al., 2018; Ridwan et al., 2018).

Метою цього дослідження була необхідність більш широкого вивчення алелопатичних властивостей представників роду *Pholiota*, а саме біомаси семи штамів семи видів із колекції культур *IBK*, на модельні рослини *Lepidium sativum* (*Brassicaceae*) та *Cucumis sativus* (*Cucurbitaceae*).

Отримані результати свідчать про те, що біомаса всіх досліджених видів роду *Pholiota* не впливала на проростання насінин *Cucumis sativus*. Проростання спостерігали вже на першу добу експерименту. Загальний відсоток проростання насіння *C. sativus* з додаванням біомаси представників роду *Pholiota* становив 100%, як і у контрольних варіантах.

В той же час, у результаті експерименту було виявлено пригнічення росту як коренів, так і пагонів проростків огірка внаслідок впливу біомаси видів роду *Pholiota* (рис. 5.5.1-5.5.4, табл. 5.5.1). Довжина проростку

варіювала від $9,24 \pm 0,80$ см для *P. squarrosa* до $1,30 \pm 0,21$ см для *P. subochracea*, контрольні показники складали $10,10 \pm 0,45$ см (рис. 5.5.1).

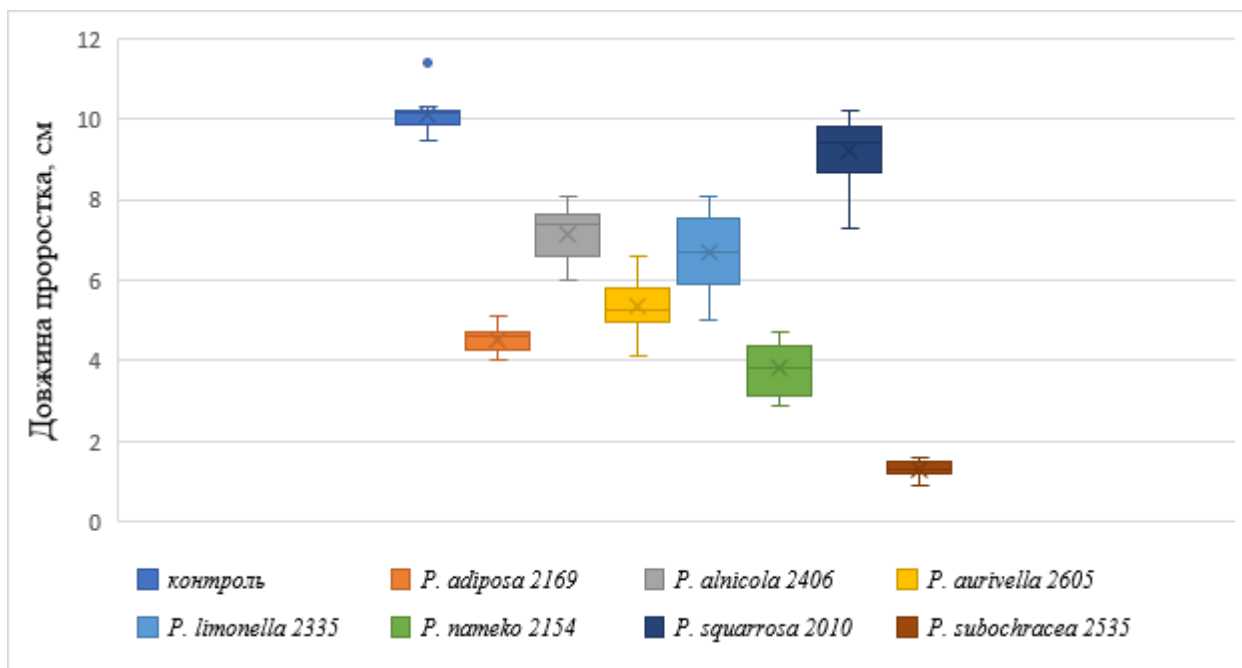


Рис. 5.5.1. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину проростків *Cucumis sativus*, середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

Як видно з рис. 5.5.1. та рабл. 5.5.1., інгібування росту проростків *C. sativus* біомасою видів роду *Pholiota* зафіксовано у всіх випадках порівняно з контрольними зразками. Біомаса *P. subochracea* найбільш негативно впливає на ріст проростків, на відміну від біомаси *P. squarrosa*, яка майже не впливає на цей показник (табл. 5.5.1). Найвищий коефіцієнт росту проростків був зафіксований для біомаси *P. squarrosa* – 91,39%, найнижчий – у випадку *P. subochracea* – 12,96% (табл.5.5.1.).

Виміри довжини кореня проростка огірка під впливом біомаси видів роду *Pholiota* показало коливання у межах від $6,26 \pm 0,60$ см (*P. squarrosa*) до $0,72 \pm 0,19$ см (*P. subochracea*) (рис. 5.5.3.). Варто зазначити, що показники контрольного зразка без додавання біомаси становили $6,91 \pm 0,35$ см.

Окрім порівняльного аналізу довжини коренів для вивчення впливу біомаси представників роду *Pholiota* на проростання насіння *C. sativus* було проведено порівняння коефіцієнта росту коренів (рис. 5.5.3., табл. 5.5.1.). Додавання вегетативного міцелію *P. squarrosa* викликало найменше

пригнічення росту кореня *C. sativus*, середнє значення довжини кореня в цьому випадку зменшилось на 9,6% порівняно з контрольною групою (коефіцієнт росту кореня становив 90,4%). Більше того, ми не зафіксували жодних морфологічних змін у характері опушення або кількості бічних коренів (рис. 5.5.2А, рис. 5.5.2В). На відміну від попереднього випадку, внаслідок впливу біомаси *P. subochracea* на насіння огірків коефіцієнт росту кореня становив лише 10,4%. Крім того, були зафіксовані суттєві зміни у зовнішньому вигляді коренів – майже відсутнє опушення та значні відмінності у кількості та довжині додаткових коренів (рис. 5.5.2С). Для інших видів роду *Pholiota* коефіцієнт росту коренів коливався від 42,1% (*P. nameko*) до 79,3% (*P. limonella*) (рис. 5.5.3). Було відмічено зміни в характері опушення коренів в дослідях з біомасою *P. adiposa*, *P. aurivella* та *P. limonella* порівняно з контрольними зразками (табл. 5.5.1.).

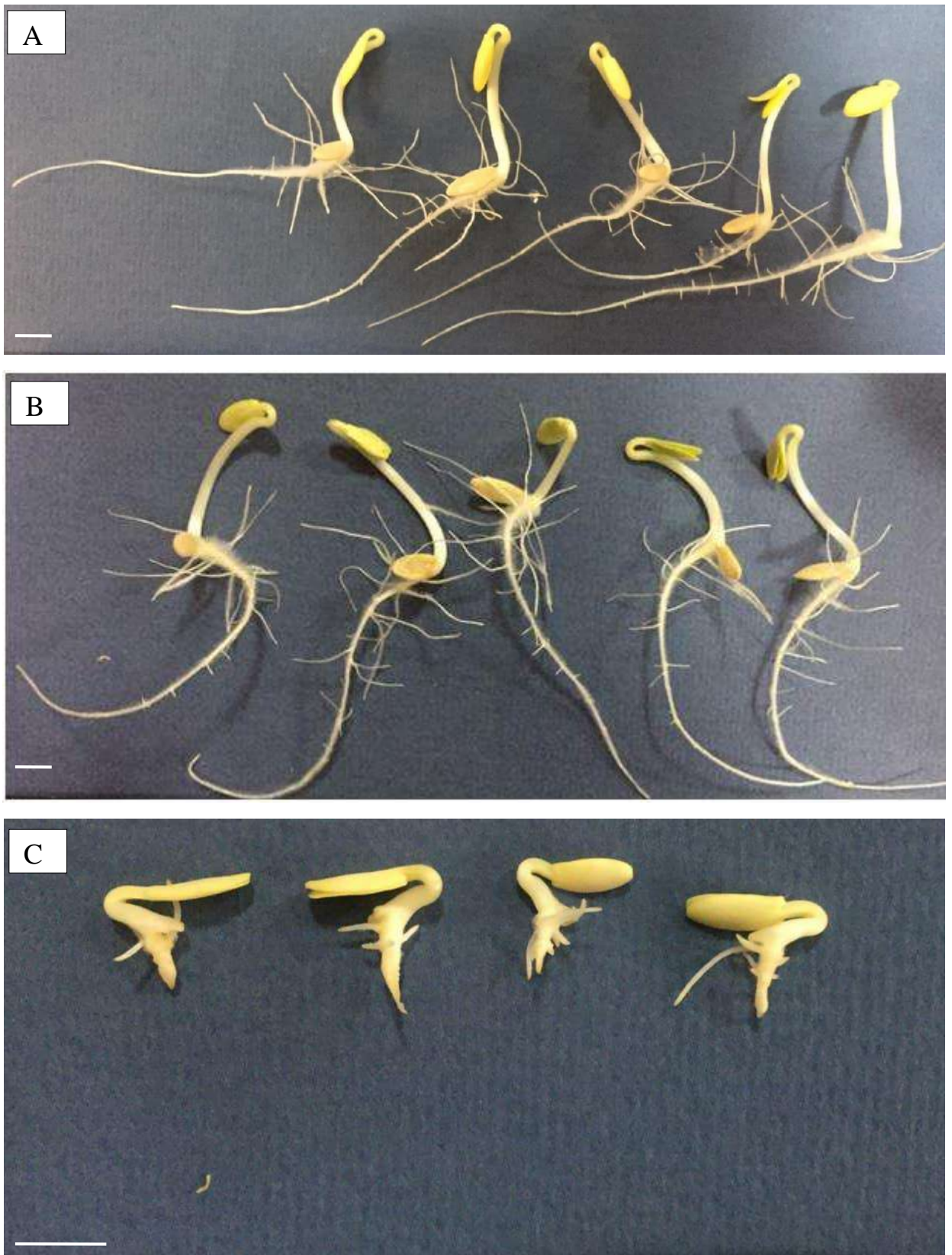


Рис. 5.5.2. Проростки *Cucumis sativus*: контроль (А); з додаванням біомаси *Pholiota squarrosa* 2010 (В) та біомаси *Pholiota subochracea* 2535 (С), середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °С, довжина штриха 10 мм

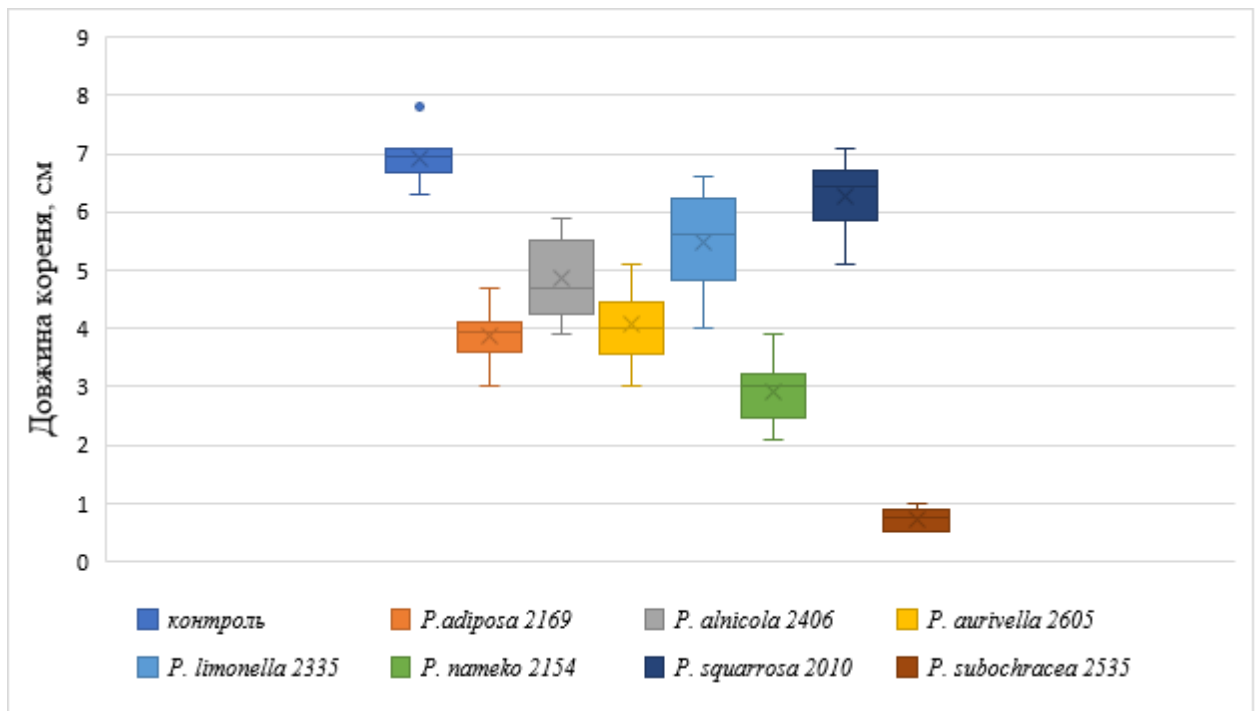


Рис. 5.5.3. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину коренів *Cucumis sativus*; середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

Як і у випадку з коренями, довжина пагона в контрольному експерименті ($3,19 \pm 0,25$ см) була більшою, ніж у дослідях з використанням біомаси представників роду *Pholiota*, що свідчить про інгібуючу дію вегетативного міцелію цих видів (рис. 5.5.4., табл. 5.5.1.). Найвищі показники довжини пагонів фіксували при додаванні біомаси *P. squarrosa* – $2,98 \pm 0,25$ см, найнижчі – для *P. subochracea*, а саме $0,58 \pm 0,17$ см (рис. 5.5.4). Максимальний та мінімальний коефіцієнт росту пагонів, як і в попередньому випадку, спостерігали для *P. squarrosa* та *P. subochracea*, вони становили 93,1% та 18,2% відповідно (табл. 5.5.1). При цьому морфологія пагонів у порівнянні з контрольними зразками не змінювалась.

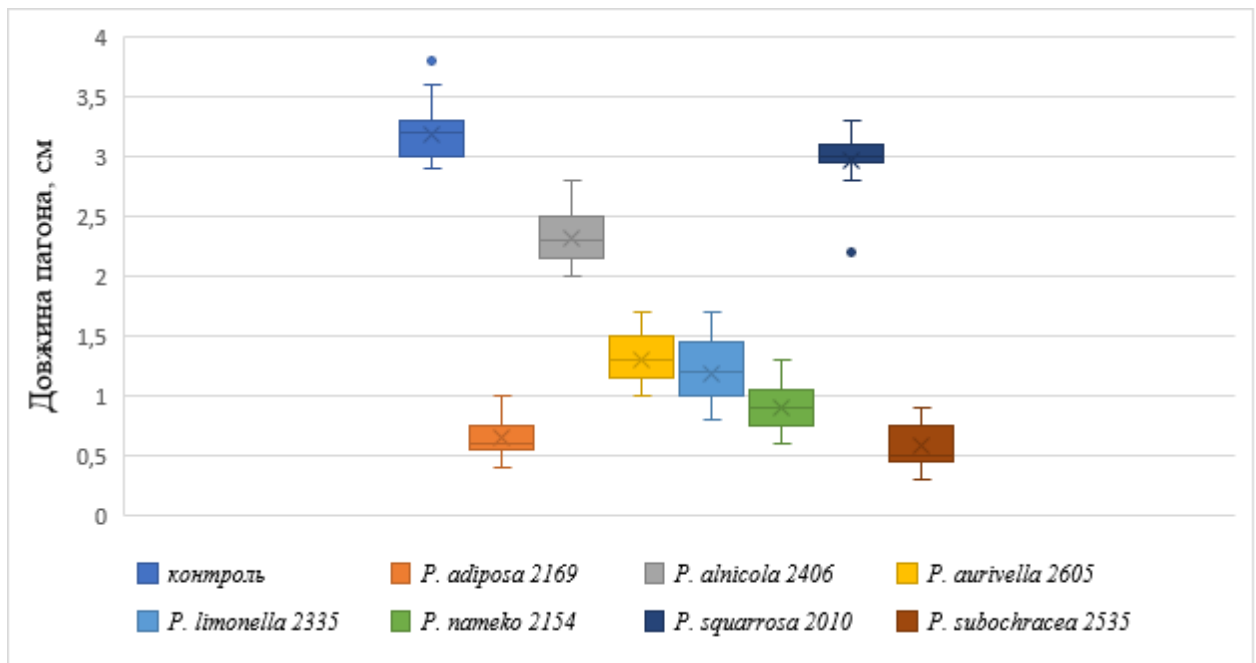


Рис. 5.5.4. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину пагонів *Cucumis sativus*, середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура інкубації $26 \pm 0,1$ °C

Таблиця 5.5.1.

Показники впливу біомаси видів роду *Pholiota* на коефіцієнт росту *Cucumis sativus* та опущення кореня проростків.

Варіант досліджу	Коефіцієнт росту (%)			Характер опущення кореня
	Проросток	Пагін	Корінь	
<i>P. adiposa</i> 2169	44,81	29,69	56,00	Слабке
<i>P. alnicola</i> 2406	70,82	71,78	70,00	Слабке
<i>P. aurivella</i> 2605	53,12	40,44	59,00	Середнє
<i>P. limonella</i> 2335	66,17	37,61	79,30	Ледь помітне
<i>P. nameko</i> 2154	37,78	28,21	42,10	Сильне
<i>P. squarrosa</i> 2010	91,39	93,10	90,59	Сильне (рис.5.5.2В)
<i>P. subochracea</i> 2535	12,96	18,18	10,40	Ледь помітне (рис.5.5.2С)
Контроль (без додавання біомаси)	100	100	100	Сильне (рис.5.5.2А)

Додавання біомаси видів роду *Pholiota* не впливало також на проростання насіння *Lepidium sativum*. Було зафіксовано 100% проростання

насіння як у контрольних, так і у дослідних зразках. Проростання спостерігали вже на першу добу експерименту.

Зміна довжини коренів та пагонів проростків салату внаслідок впливу біомаси представників роду *Pholiota* наведено на рис. 5.5.5.-5.5.8, табл. 5.5.2.

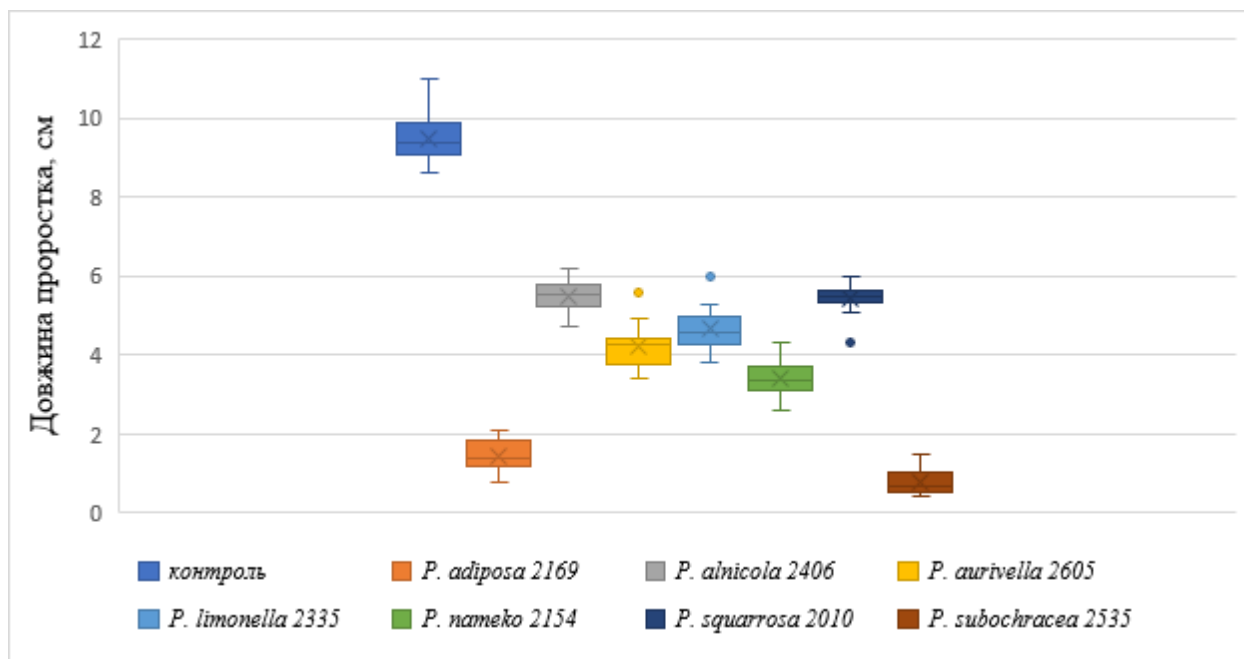


Рис. 5.5.5. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину проростків *Lepidium sativum*, середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура інкубації $26\pm 0,1$ °C.

Для біомаси всіх видів було виявлено значний алелопатичний ефект на ріст як коренів (рис. 5.5.7.), так і пагонів (рис. 5.5.8.) *L. sativum*, а отже, і на рослину в цілому (рис. 5.5.5., табл. 5.5.2). Довжина пагонів без внесення біомаси (контроль) становила $9,50\pm 0,63$ см, а при додаванні міцелію представників роду *Pholiota* варіювала в межах від $5,49\pm 0,46$ см до $0,78\pm 0,34$ см для *P. alnicola* та *P. subochracea* відповідно (рис. 5.5.5). Найбільш сильний інгібуючий ефект на ріст проростків чинила біомаса ряду видів, а саме *P. subochracea* та *P. adiposa* – 91,8% та 84,85% відповідно (рис. 5.5.6., табл. 5.5.2.). Біомаса інших видів впливала на зменшення коефіцієнту росту проростків салату на 42,8%-64,4% порівняно з контрольною групою (табл. 5.5.2.).

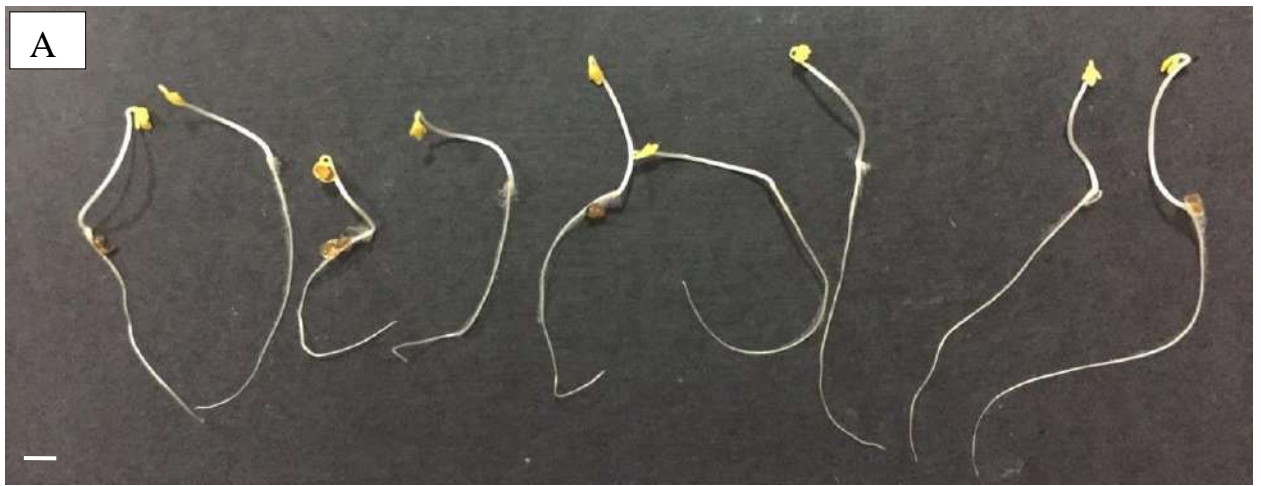


Рис. 5.5.6. Проростки *Lepidium sativum*: контроль (А); з додаванням біомаси *Pholiota adiposa* 2169 (В) та біомаси *Pholiota subochracea* 2535 (С), середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, довжина штриха 10 мм

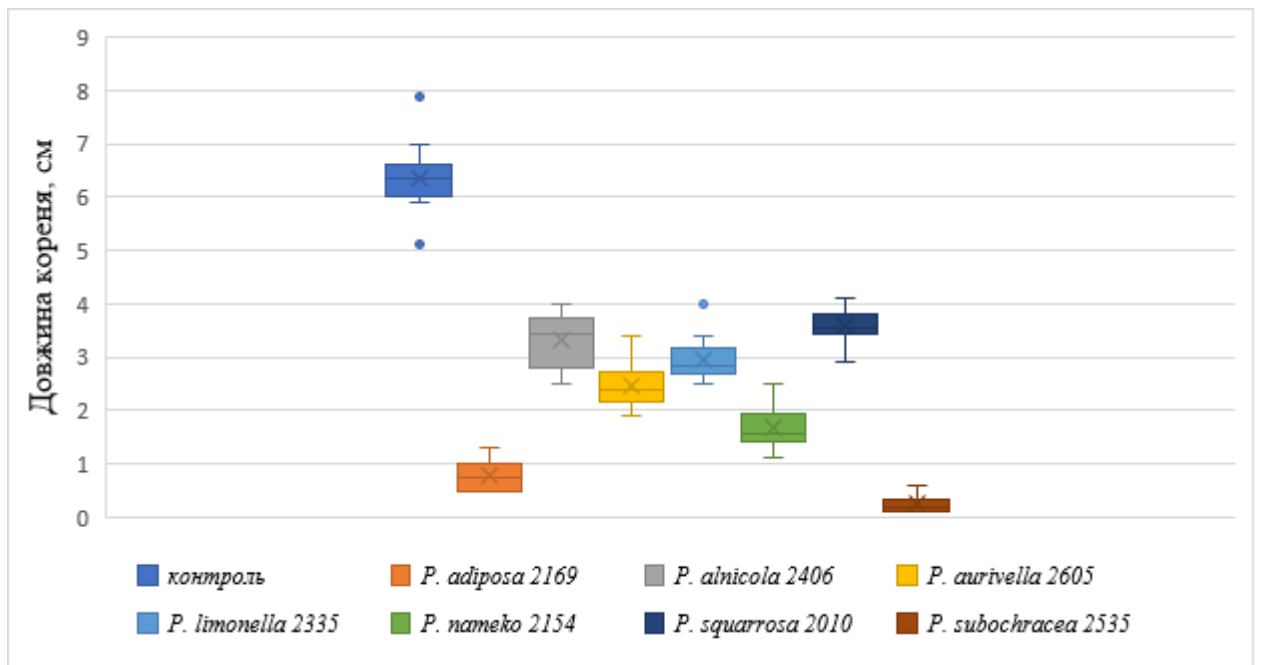


Рис. 5.5.7. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину коренів *Lepidium sativum*; середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Були отримані показники довжини коренів при додаванні біомаси грибів роду *Pholiota*. Найвищі значення були характерні при додаванні *P. squarrosa* та *P. alnicola* – $3,57 \pm 0,31$ см та $3,30 \pm 0,49$ см відповідно, найнижчі – для *P. subochracea* ($0,24 \pm 0,16$ см) (рис. 5.5.7), контрольні показники без додавання вегетативного міцелію становили $6,35 \pm 0,63$ см.

Дані, наведені на рис. 5.5.7., вказують, що у разі додавання біомаси видів роду *Pholiota* до насіння салату, ріст коренів у всіх випадках гальмується. Найпомітніший алелопатичний ефект на ріст коренів мали два види – *P. adiposa* та *P. subochracea*, де коефіцієнт росту коренів становив лише 12,1% та 3,78% відповідно. Варто також відзначити зменшення опушення коренів у 100% випадках додавання біомаси представників роду *Pholiota* порівняно з контрольними проростками (табл. 5.5.2.). Найвищий коефіцієнт росту коренів, а отже і найменший інгібуючий ефект, був виявлений у випадку *P. alnicola* (52,1%) та *P. squarrosa* (56,4%) (рис. 5.5.7.).

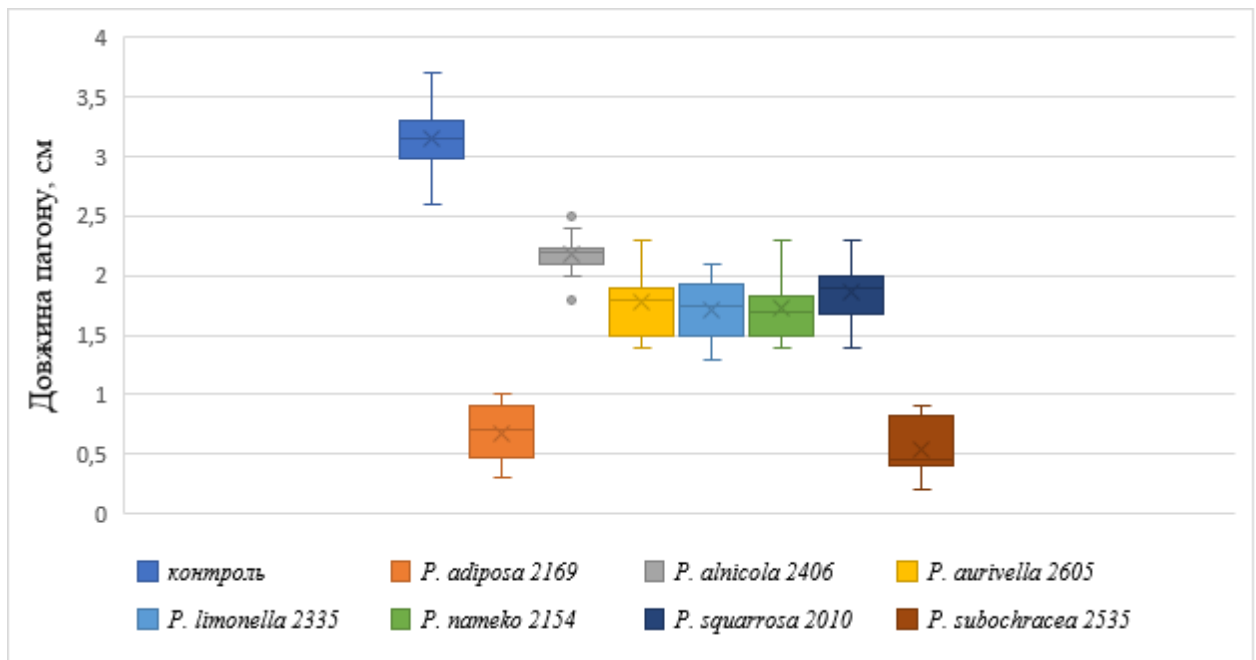


Рис. 5.5.8. Вплив біомаси видів роду *Pholiota* на довжину пагонів *Lepidium sativum*; середовище ГА, 3-тя доба експерименту, температура $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Максимальна довжина пагонів під впливом біомаси видів роду *Pholiota* становила $2,19 \pm 0,16$ см, а мінімальна – $0,54 \pm 0,23$ см для *P. alnicola* та *P. subochracea* відповідно (рис. 5.5.8). Контрольний показник довжини пагонів салату без додавання міцелію складав $3,15 \pm 0,28$ см. Аналізуючи дані, представлені на рис. 5.5.8 та табл. 5.5.2., можна стверджувати, що найбільше пригнічення росту пагонів відбулось завдяки додаванню біомаси видів *P. adiposa* та *P. subochracea*, де коефіцієнт росту пагонів становив 21,3% та 17,1% відповідно. Найменший інгібуючий ефект було відмічено для *P. alnicola*, де коефіцієнт росту пагонів становив 69,2%. Змін у морфології пагона, порівнюючи з контрольними зразками, не спостерігали (рис. 5.5.6.).

Таблиця 5.5.2.

Показники впливу біомаси видів роду *Pholiota* на коефіцієнт росту *Lepidium sativum* та опушення кореня проростків

Варіант досліджу	Коефіцієнт росту (%)			Ступінь опушення кореня
	Проросток	Пагін	Корінь	
<i>P. adiposa</i> 2169	15,15	21,27	12,13	Ледь помітне (рис.5.5.6С)
<i>P. alnicola</i> 2406	57,79	69,21	52,13	Ледь помітне
<i>P. aurivella</i> 2605	44,42	56,19	38,58	Ледь помітне
<i>P. limonella</i> 2335	49,05	54,29	46,46	Майже відсутнє
<i>P. nameko</i> 2154	35,58	54,60	26,14	Середнє
<i>P. squarrosa</i> 2010	57,16	58,73	56,38	Середнє
<i>P. subochracea</i> 2535	8,20	17,14	3,78	Ледь помітне (рис.5.5.6С)
Контроль (без додавання біомаси)	100	100	100	Середнє (рис.5.5.6А)

Літературні дані свідчать про те, що плодові тіла грибів, включаючи деякі види *Pholiota*, можуть мати алелопатичні властивості (Osivand et al., 2018). Види, що найсильніше інгібують ріст проростків *Lactuca sativa*, належали до родин *Mycenaceae*, *Cortinariaceae*, *Clavariaceae*, *Lyophyllaceae*, *Entolomataceae*, *Strophariaceae* та *Tricholomataceae* відділу *Basidiomycota*. Для аналізу алелопатичного ефекту попередніми дослідниками було взято плодові тіла двох видів *Pholiota* – *P. spumosa* та *P. terrestris*. Причому *P. spumosa* разом з деякими іншими видами проявляла найвищий рівень інгібування подовження гіпокотилу салату – 25,1% (Osivand et al., 2018). У нашій роботі інгібуюча активність вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* коливалася від 87,1% (*P. subochracea*) до 8,6% (*P. squarrosa*) у випадку з насінням огірку та від 91,8% (*P. subochracea*) до 42,2% (*P. alnicola*) у випадку насіння салату. На додаток до того, що ми використовували інші види роду *Pholiota*, більш високий ефект інгібування можна пояснити більшою кількістю взятої біомаси грибів, ніж у попередніх дослідженнях, виконаних Osivand з колегами (Osivand et al., 2018).

Ridwan з колегами займався визначенням структур виділених сполук з *P. lubrica* та їх подальшим аналізом взаємовідносин з насінням салату (Ridwan et al., 2018). Аналізуючи отримані авторами дані, можна зробити загальний висновок про інгібуючі властивості грибів роду *Pholiota*.

Brassicaceae використовували як модельну родину рослин для вивчення впливу на індукцію реакцій рослин, включаючи захисні механізми, оскільки вони характеризуються наявністю досить специфічної індуктивної захисної системи (Wurst et al., 2006; Martin, Müller, 2007). Отже, узагальнюючи отримані дані, можна стверджувати про суттєвий алелопатичний ефект грибів роду *Pholiota* в обох випадках – для традиційно модельної родини *Brassicaceae* (*Lepidium sativum*) та представника іншої поширеної родини – *Cucurbitaceae* (*Cucumis sativus*).

Таким чином, досліджено вплив біомаси видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*.

Присутність біомаси представників роду *Pholiota* не впливала на процес проростання насіння *L. sativum* та *C. sativus*. Інгібуючий ефект біомаси вегетативного міцелію всіх досліджених видів роду *Pholiota* спостерігали для різних частин проростка – як кореня, так і пагона.

Значні алелопатичні властивості були виявлені для 3 видів роду *Pholiota* – *P. adiposa*, *P. nameko* та *P. subochracea*, де пригнічувальний ефект на обидва види насінних проростків становив понад 50%.

Окрім очевидного інгібуючого впливу на проростки, були зафіксовані зміни морфології коренів залежно від біомаси дослідженого виду роду *Pholiota*. Для проростків *L. sativum* та *C. sativus* спостерігали зміни в опушенні порівняно з контрольними зразками, для огірка також були відзначені зміни розміру та кількості бічних коренів.

Результати цієї роботи показують, що вегетативний міцелій досліджуваних представників роду *Pholiota* містить алелохімічні сполуки, які можуть бути потенційними кандидатами для подальших досліджень.

5.6. Антиоксидантна активність

Вільні радикали виробляються під час нормального та/або патологічного метаболізму клітин. Організми захищені від пошкодження вільними радикалами окислювальними ферментами, такими як супероксиддисмутаза (SOD) та каталаза (CAT), або хімічними сполуками, такими як α -токоферол, аскорбінова кислота, каротиноїди, поліфенольні сполуки та глутатіон (Elmastas et al., 2007). Коли накопичення вільних радикалів досягає рівня, при якому їх неможливо поступово знищити, організм реагує на це окислювальним стресом. Цей процес відіграє важливу роль у розвитку хронічних та дегенеративних захворювань, таких як рак, аутоімунні розлади, старіння, катаракта, ревматоїдний артрит, серцево-судинні та нейродегенеративні захворювання. Людський організм має кілька механізмів протидії окислювальному стресу, продукуючи антиоксиданти, які або синтезуються природним шляхом *in situ*, або надходять із продуктів харчування та/або харчових добавок (Pham-Huy et al., 2008).

Інформація щодо антиоксидантних властивостей представників роду *Pholiota* обмежена і представлена вивченням полісахаридів, виділених з цих грибів, як потенційним джерелом антиоксидантів (Deng et al., 2011; Gong et al., 2012; Zheng et al., 2015; Chou et al., 2019; Zheng et al., 2020; Yu et al., 2020). Об'єктами цих досліджень ставали лише три види, а саме *P. adiposa* (Hyung-Eun et al., 2006; Deng et al., 2011; Gong et al., 2012; Guo et al., 2012; Kim, 2014; Wang et al., 2014; Liu et al., 2018; Yu et al., 2020), *P. alnicola* (Badalyan, 2003) та *P. nameko* (Joh et al., 1996; Jo et al., 2010; Guo et al., 2012; Ji et al., 2012; Zhang et al., 2014; Nguyen et al., 2015; Rodrigues et al., 2016; Zhu et al., 2018). Тому питання дослідження антиоксидантних властивостей метанольних екстрактів (біомаси та культуральної рідини) та тритерпенових кислот ланостанового типу семи видів роду *Pholiota* досі залишається нерозкритим і актуальним.

Показники антиоксидантної активності отриманих екстрактів представників роду *Pholiota* з видалення вільних радикалів DPPH наведено на рис. 5.6.1.

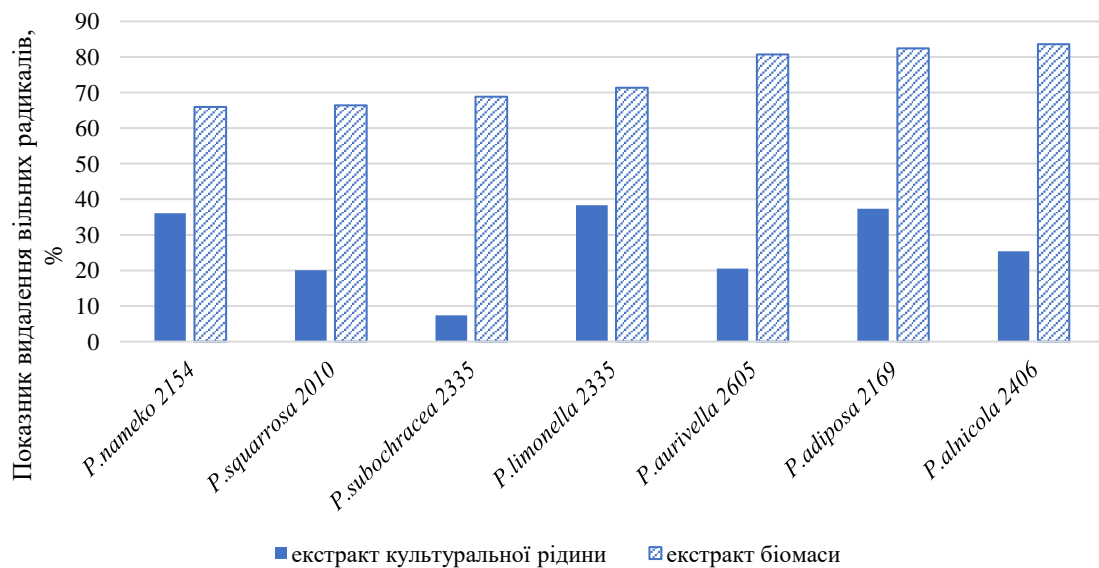


Рис. 5.6.1. Антиоксидантна активність екстрактів культуральної рідини та вегетативного міцелію видів роду *Pholiota*.

За результатами експериментів досліджені зразки як культуральної рідини так і біомаси вегетативного міцелію проявляли антиоксидантну активність (рис. 5.6.1.), окрім проб з тритерпеновими кислотами ланостанового типу. В літературі існують повідомлення, де стверджується про антиоксидантну властивість грибів за рахунок ланостанових тритерпенових кислот (Yen, Wu, 1999). Автори зазначали про успішність дослідження щодо здатності поглинання радикалів тритерпеновими кислотами з екстрактів плодових тіл *Ganoderma tsugae* Murrill. Проте, в результаті наших досліджень зазначена гіпотеза щодо цих компонентів з вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* не підтвердилась. Відсутність антиоксидантної активності у цього класу сполук також повідомляють для *Fomitopsis rosea* (Alb., Schwein.) P. Karst. (Popova et al., 2009) та *Poria cocos* F.A. Wolf (Zhou et al., 2008).

Порівнюючи отримані дані, можна зробити висновок про значно вищу ефективність антиоксидантної дії у випадку метанольних екстрактів біомаси – показники варіювали від $65,98 \pm 0,98\%$ (*P.nameko*) до $83,6 \pm 1,4\%$ (*P.alnicola*), ніж екстрактів культуральної рідини (рис. 5.6.1.). Слід зазначити, що показники очищення від вільних радикалів для екстрактів культуральної рідини та біомаси не корелювали між собою. Так, для екстрактів

культуральної рідини максимальні значення були зафіксовані у випадку *P. limonella* ($38,3 \pm 1,14\%$), а мінімальні відмічали для *P. subochracea* ($7,37 \pm 0,46\%$) (рис. 5.6.1.).

Зазвичай для оцінки антиоксидантної активності видів роду *Pholiota* вчені також використовували DPPH аналіз вилучення радикалів, при якому виробляється стабільна радикальна реакція з антиоксидантами (Hyung-Eun et al., 2006; Deng et al., 2011; Gong et al., 2012; Guo et al., 2012; Kim, 2014; Wang et al., 2014; Zheng et al., 2015; Liu et al., 2018; Chou et al., 2019; Yu et al., 2020; Zheng et al., 2020).

Порівнюючи літературні дані щодо водних чи спиртових екстрактів видів *P. nameko* та *P. adiposa* можна зазначити про досить високий рівень їхньої антиоксидантної активності. Hyung-Eun зазначає, що відсоток вилучення вільних радикалів у випадку додавання метанольних екстрактів плодових тіл *P. nameko* становив 69,5% (Hyung-Eun et al., 2006), ці високі показники підтверджуються результатами інших вчених при таких самих умовах (Nguyen et al., 2015). Проте, результати щодо етанольних екстрактів вегетативного міцелію (Jo et al., 2010) різних штамів цього ж виду та плодових тіл (Ji et al., 2012) показав зовсім незначну результативність – 5,44-12,92%. Найвищі показники для *P. nameko* отримували при дослідженнях виділених з нього полісахаридів, а саме 77,9% (Joh et al., 1996), що підтверджується також іншими літературними даними (Zhu et al., 2018). Отримані нами результати для *P. nameko* підтверджують твердження про достатньо високу ефективність метанольних екстрактів біомаси ($65,98 \pm 0,98\%$) та культуральної рідини ($36,6 \pm 1,4\%$) (рис. 5.6.1.), навіть у порівнянні з метанольними екстрактами плодових тіл представників інших видів грибів: *Lentinus edodes* (Berk.) Pegler (13,1-45,8%) чи *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer (26,3-49,6%) (Cheung et al., 2003).

Антиоксидантна активність, отримана для біомаси та культуральної рідини *P. adiposa* ($82,37 \pm 1,54\%$ та $37,3 \pm 0,5\%$ відповідно) (рис. 5.6.1.), підтверджує закономірність, раніше встановлену для *P. nameko*. Для водних екстрактів плодових тіл *P. adiposa* фіксували значення антиоксидантної

активності 57,57% (Kim, 2014). Слід зауважити, що вивчення антиоксидантних властивостей проводилось не лише на прикладах екстрактів – при дослідженнях полісахаридів вегетативного міцелію цього виду показники становили $75,20 \pm 6,73\%$ (Deng et al., 2011), а компонент НЕВ, виділений з плодових тіл *P. adiposa*, показав 85,6% ефективності (Wang et al., 2014). Експерименти Gong зі співавторами вказують на те, що *P. adiposa* та виділені з нього полісахариди можуть знешкоджувати радикали *in vitro*, але різні зразки мають різну дію в залежності від ступеня очищення вільних радикалів (Gong et al., 2012).

Аналіз антиоксидантного ефекту як біомаси так і культуральної рідини проводила Badalyan на прикладі деяких базидієвих макроміцетів, серед яких наведено дані для *P. alnicola* (Badalyan, 2003). Результатом проведеного аналізу стали показники 44% та 8% для культуральної рідини та міцеліальної біомаси відповідно. Наведені дані значно відрізняються від отриманих нами як за кількісними показниками, так і за порівнянням ефективності різних екстрактів. Проте варто зазначити, що автор використовував не екстракти, а водні витяжки біомаси та культуральну рідину (Badalyan, 2003). Результатом нашої роботи стали 25,4% ефективності для екстрактів культуральної рідини та 82,37% очищення від вільних радикалів для екстрактів біомаси (рис. 5.6.1.).

Їх антиоксидація може мати певне відношення до фенольної гідроксильної групи в різних молекулярних структурах міцелію або плодового тіла (Nagergerman et al., 1998). Фенольні сполуки можуть бути важливим фактором, що сприяє антиоксидантній здатності грибів (Guo et al., 2012). Фенольні сполуки, такі як флавоноїди, фенольні кислоти, конденсовані дубильні речовини та кумарини, зазвичай вважаються головним фактором, що сприяє антиоксидантній здатності рослин (Cai et al., 2004). Наведені факти вказують на те, що екстракти біомаси та культуральної рідини представників роду *Pholiota* можуть бути використані як природний антиоксидант, але його фармакодинаміка та механізм дії потребує подальшого вивчення.

За результатами проведених досліджень уперше визначено величину та межі варіювання антиоксидантної активності екстрактів біомаси та культуральної рідини *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nateko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*.

ВИСНОВКИ

Вивчення морфолого-культуральних, фізіологічних та біосинтетичних особливостей 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), у тому числі 6 штамів, виділених здобувачем з карпофорів, зібраних на території України, надало нову для науки інформацію щодо біологічних особливостей видів цього роду у культурі.

1. Підтверджено видову приналежність 4 штамів 5 видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) із застосуванням молекулярно-генетичних методів досліджень. Сіквенси ITS ділянок кожного зразка депоновані до міжнародної бази даних NCBI GenBank.
2. Досліджено морфолого-культуральні характеристики штамів видів роду *Pholiota*. Виявлено, що морфологічні особливості колоній змінювались в залежності від складу живильного середовища. Встановлено, що за показниками швидкості росту кращим середовищем для більшості штамів є глюкозо-пептон-дріжджовий агар. За даними радіальної швидкості росту досліджені нами штами видів роду *Pholiota* можна віднести до повільнозростаючих.
3. Проведено дослідження мікроструктур вегетативного міцелію 8 видів роду *Pholiota* з використанням сканувальної електронної мікроскопії. Вперше виявлено існування таких структур вегетативного міцелію як кондіальне спороношення – для *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. populnea*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*; хламідоспори – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. subochracea*; кристали – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. populnea*, *P. nameko*, *P. subochracea*. Для *P. populnea* вперше було відмічено існування секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі, а для *P. subochracea* – орнаментацию гіф вегетативного міцелію. Отримано нову інформацію про наявність гіфальних кілець для трьох видів роду *Pholiota* – *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

4. Встановлено граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту вегетативного міцелію досліджених штамів видів роду *Pholiota*. Мінімальна верхня критична температура становила $36\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ для *P. squarrosa* 2606, а максимальна – $41\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ у випадку усіх досліджуваних штамів *P. aurivella*.
5. З'ясовано вплив кислотності живильного середовища на накопичення біомаси досліджених штамів. З'ясовано, що параметри рН 5,5-6,5 є найбільш оптимальними для продукції біомаси на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі при поверхневому культивуванні.
6. Вперше отримано дані щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів у вегетативному міцелії семи видів роду *Pholiota*. Найбільший вміст ендополісахаридів був встановлений для *P. adiposa* 2169 – 2,85% від сухої біомаси.
7. Вперше отримано дані щодо вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у представників роду *Pholiota*. Продуктивність синтезу тритерпенових кислот у вегетативному міцелії досліджених штамів коливалась від 14,45 мг/л (*P. subochracea* 2535) до 50,58 мг/л (*P. limonella* 2335).
8. Вперше встановлено вміст фенольних сполук та продуктивність їх синтезу представниками роду *Pholiota* у біомасі та культуральній рідині. Найбільший вміст цих речовин був виявлений у екстрактах вегетативного міцелію штамів *P. alnicola* та *P. squarrosa*, найменший – для *P. nameko* та *P. aurivella*.
9. У результаті проведеного скринінгу досліджених штамів 7 видів роду *Pholiota* за антимікробною активністю, вперше виявлено антифунгальну дію екстрактів культуральної рідини після культивування штаму *Pholiota adiposa* 2169 на ріст *Aspergillus niger* (зона інгібування 44 мм), *Penicillium pollonicum* (зона інгібування 44 мм) та *Mucor globosus* (зона інгібування 44 мм).
10. Вперше досліджено вплив біомаси 7 видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus* (концентрація

біомаси складала 0,625 мкг/мл). Присутність біомаси представників роду *Pholiota* не впливала на процес проростання насіння *L. sativum* та *C. sativus*. Інгібуючий ефект біомаси вегетативного міцелію всіх досліджених видів роду *Pholiota* спостерігали для різних частин проростка – як кореня, так і пагону. Значні алелопатичні властивості були виявлені для 3 видів роду *Pholiota* – *P. adiposa*, *P. nameko* та *P. subochracea*, де пригнічувальний ефект на обидва види насінних проростків становив понад 50%. Зафіксовано зміни морфології коренів залежно від біомаси виду роду *Pholiota*.

11. Вперше визначено величину та межі варіювання антиоксидантної активності екстрактів біомаси (65-83%) та культуральної рідини (7,4-38%) штамів *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аль-Маалі, Г.А. (2016). *Вплив цитратів металів, отриманих методом аквананотехнології на біологію Ganoderma lucidum (Curtis) P.Karst. і Trametes versicolor (L.) Lloyd. у культурі.* (Автореф. дис. канд. біол. наук: спец. 03.00.21 "Мікологія"). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
2. Беккер, З. Э. (1988). *Физиология и биохимия грибов.* Москва: Изд-во МГУ
3. Белова, Н. В. (2004). Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России. *Микология и фитопатология*, 38(2), 1-5.
4. Белова, Н.В. (2016). Ланостановые тритерпеноиды и стероиды высших грибов. *Advances in Biology & Earth Sciences*, 1(1), 107-120.
5. Билай, В.И. (1982). *Методы экспериментальной микологии.* Киев: Наукова думка.
6. Бисько, Н.А., Бабицкая, В.Г., Бухало, А.С., Круподерова, Т.А., Ломберг, М.Л., Михайлова, О.Б, Пучкова, Т.А., Соломко, Э.Ф., Щерба, В.В. (2012а). *Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре*, Т. 2. С.П., Вассер (Ред.). Суми: Ляпощенко О.В.
7. Бисько, Н.А., Митропольская, Н.Ю., Антоненко, Л.А. (2012б). *Влияние температуры на скорость роста и жизнеспособность лекарственных грибов р. Trametes Fr.* Тезисы докладов третьего съезда микологов России «Современная микология в России», Москва.
8. Бороменський, Д.О., Бисько, Н.А. (2020). Вплив умов культивування на накопичення біомаси та ендополісахаридів грибами роду *Ganoderma (Ganodermataceae)*. *Український ботанічний журнал*, 77(2), 117-124.
9. Бухало, А.С. (1988). *Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре.* Киев: Наукова думка.
10. Доспехов, Б.А. (1973). *Методика полевого опыта.* Москва, Колос.

11. Дудка, И.А., Вассер, С.П. (Ред.) (1987). *Грибы, Справочник миколога и грибника*. Киев: Наукова думка
12. Дудка, І.О., Гелюта, В.П., Андріанова, Т.В., Гайова, В.П., Тихоненко, Ю.Я., Придюк, М.П., ... Сивоконь, О.В. (2009). *Гриби заповідників та національних парків Лівобережної України*. Київ: Арістей, 428 с.
13. Ефременкова, О.В., Тихонова, О.В., Толстихина, Т.Е., Васильева, Б.Ф., Дьяков, М.Ю., Камзолкина, О.В., Штаер, О.В., Поединок, Н.Л., Бисько, Н.А., Михайлова, О.Б. (2012). *Определение антимикробной активности природных изолятов штаммов базидиомицетов в условиях глубинного культивирования*. Тезисы 3-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, место издания Национальная академия микологии, Москва.
14. Зерова, М.Я. (1979). *Базидіоміцети*. Зерова, М.Я., Сосін, П.Є., Роженко, Г.Л. (Ред), *Визначник грибів України* (Т. 5, Ч. 2, 323 с.). Київ: Наукова думка.
15. Колосова, А.К., Ліновицька В.М., Михайлова О.Б. (2015). *Біологічні властивості базидіального лікарського макроміцету *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer в культурі*. «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечникова.
16. Круподьорова, Т. А. (2009). *Біологічні особливості *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. та *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst. в культурі*. (Автореф. дис. канд. біол. наук: спец. 03.00.21 "Мікологія"). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
17. Ліновицька, В. М. (2020). *Біологія лікарських базидієвих макроміцетів *Schizophyllum commune* Fr. та *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray в умовах культури*. (Автореф. дис. канд. біол. наук: спец. 03.00.21 "Мікологія"). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
18. Ліновицька, В. М., Бухало, А. С. (2005). *Культуральні та морфологічні особливості лікарського гриба *Schizophyllum commune* Fr.*

(Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 62(1), 78-86.

19. Ломберг, М.Л. (2005). *Лікарські макроміцети у поверхневій та глибокій культурі*. (Автореф. дис. канд. біол. наук: спец. 03.00.21 "Мікологія"). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.

20. Михайлова, О.Б. (2014). Морфолого-культуральні властивості лікарського гриба *Piptoporus betulinus* (Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 71(5), 603-609.

21. Михайлова, О.Б., Бухало, А.С. (2005). Культурально-морфологічні особливості представників *Morchellaceae* (Ascomycetes) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 62(4), 500-508.

22. Молотов, А.С. (1965). *Элементы вариационной статистики*. Киев, Колос.

23. Регеда, Л.В., Бісько, Н.А. (2019). Культурально-морфологічні характеристики видів роду *Pholiota* (Strophariaceae, Basidiomycota) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 77(1), 56-63.

24. Эбрахимзаде, М.А., Халили, М., Депур, А.А. (2019). Экстракты этилацетата и метанола из трех морских водорослей и их потенциальная антиоксидантная активность *in vitro*. *Альгология*, 29(1), 30-39.

25. Adamcik, S., Holec, S.J., Lizon, P., Ripkova, S., Kucera, V. (2006). Notes on taxa of the genus *Pholiota* described by C. Kalchbrenner. *Mycotaxon*, 97, 5-12.

26. Agrawal, D. C., Dhansekar, M. (Eds.). (2019). *Medicinal Mushrooms. Recent Progress in Research and Development* (1st ed). Edition, Kindle Edition.

27. Alves, M. J., Ferreira, I., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A., Pintado, M. (2013). A review on antifungal activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13, 2648-2659.

28. Araya, H. (2015). Allelopathy of mushrooms. Price, J.E. (Ed). *New Developments in Allelopathy Research*. (pp. 1-14). Nova Publisher: New York, NY, USA.
29. Asatiani, M. D., Elisashvili, V., Songulashvili, G., Reznick, A.Z., Wasser, S.P. (2010). *Higher Basidiomycetes mushrooms as a source of antioxidants*. In: Rai M., Kövics G. (eds). (pp. 39-47). Progress in Mycology. Springer, Dordrecht.
30. Ayyash, M., Johnson, S. K., Liu, S.-Q., Mesmari, N., Dahmani, S., Al-Dhaheeri, A., Kizhakkayil, J. (2018). In vitro investigation of bioactivities of solid-state fermented lupin, quinoa and wheat using *Lactobacillus* spp. *Food Chemistry*, 275, 50-58
31. Badalian, S.M., Rapior, S., Andary, C. (1999). *Biologically active metabolites of higher fungi*. In Produits naturels d'origine. Actes of IVth Colloque.
32. Badalian, S.M., Serrano, J.J. (1999). Hypoglycemic activity of the medicinal mushroom *Hypholoma fasciculare* (Fr.) Kumm. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1(3), 245-250.
33. Badalyan, S.M. (2003). Edible and medicinal higher Basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5, 153-162.
34. Badalyan, S.M., Gharibyan, N.G. (2017). *Characteristics of mycelial structures of different fungal collections*. Yerevan: YSU Press.
35. Bannister, B. A., Begg, N. T., Gillespie, S. H. (2000). *Infectious disease*. Oxford: Blackwell Science Ltd.
36. Batsch, A. J. G. K. (1786). *Elenchus fungorum*. Continuatio prima, Halae Magdeburgicae.
37. Becker, U., Anke, T., Sterner, O. (1994). A Novel bioactive illudalane sesquiterpene from the fungus *Pholiota destruens*. *Natural Product Letters*, 5(3), 171-174.
38. 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 2020-10-26.

39. Bobek, P., Ozdin, O., Mikus, M. (1995). Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat. *Physiological Research*, 44(5), 287-291.

40. Bok, J.W., Lerner, L., Chilton, J., Klingeman, H. G, Towers, G.H.N. (1999). Antitumor sterols from the mycelia of *Cordyceps sinensis*. *Phytochemistry*, 51, 891-898.

41. Buchalo A.S., Wasser, S.P., Mykchaylova, O.B., Bilay, V.T., Lomberg, M.L. (2011). *Taxonomical significance of microstructures in pure cultures of macromycetes*. In: Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products.

42. Buchalo, A.S., Didukh, M.Ya. (2005). Microbiological characteristics of culinary-medicinal mushroom and fungi cultures. *International Journal of Medicinal Mushroom*, 7, 249-261.

43. Buchalo, A.S., Mykchaylova, O.B., Lomberg, M.L., Wasser, S.P. (2009). *Microstructures of vegetative mycelia of macromycetes in pure cultures*. Nevo. Kyiv: Alterpress.

44. Cai, Y. Z., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74, 2157-2184.

45. Campbell, W. A. (1938). The Cultural Characteristics of the Species of *Fomes*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 65(1), 31-69.

46. Chang, S. T., Hayes, W. A. (2013). *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Academic Press.

47. Chen, J., Xiang, Y. (2013). Immunological and antitumor activities of the polysaccharides from *Pholiota nameko*. *Modern Food Science and Technology*, 29(8), 1800-1804.

48. Chepkirui, C., Yuyama, K. T., Wanga, L A., Decock, C., Matasyoh, J.C., Abraham, W. R., Stadler, A. M. (2018). Microporenic Acids A-G, biofilm

inhibitors, and antimicrobial agents from the Basidiomycete *Microporus* species. *Journal of Natural Products*, 81(4), 778-784

49. Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, 249-255.

50. Chihara, G, Maeda, YY, Hamuro, J. (1969). Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) *Nature*, 222, 687-688.

51. Cho, Y.-H., Kong, W.-S., Kim, G.-H., Jhune, C.-S., You, C.-H., Yoo, Y.-B., Kim, K.-H. (2003). Analysis of cultural characteristics and phylogenetic relationship of collected strains of *Pholiota* species. *Mycobiology*, 31(4), 200-204.

52. Choi, H.-J., Moon, S.-J., Jeon, S.-J. (2015). Optimizing culture conditions to maximize the production of laccase from *Pholiota highlandensis*. *Journal of Life Science*, 25(6), 673-679.

53. Chou, C.-H., Sung, T.-J., Hu, Y.-N., Lub, H.-Y., Yang, L.-C., Cheng, K.-C., Lai, P.-S., Hsieh, C.-W. (2019). Chemical analysis, moisture-preserving, and antioxidant activities of polysaccharides from *Pholiota nameko* by fractional precipitation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 1021-1031.

54. Chung, I.M., Kong, W. S., Lee, O.K., Park, J. S., Ahmad, A. (2005). Cytotoxic chemical constituents from the mushroom of *Pholiota adiposa*. *Food Science and Biotechnology*, 14, 255-258.

55. Clericuzio, M., Piovano, M., Chamy, M.C., Garbarino, J.A., Milanesio, M., Viterbo, D., Vidari, G., Vita, Finzi, P. (2004). Structural characterisation of metabolites from *Pholiota spumosa* (Basidiomycetes). *Croatica Chemica Acta*, 77(4), 605-611.

56. Clericuzio, M., Tabasso, S., Garbarino, J. A., Piovano, M., Cardile, V., Russo, A., Vidari, G. (2007). Non-phenolic dicinnamamides from *Pholiota spumosa*: isolation, synthesis and antitumour activity. *European Journal of Organic Chemistry*, 33, 5551-5559.

57. Daba, A.S., Ezeronye, O.U. (2003). Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 672-678.
58. Decker, E. A. (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants. *Nutrition Reviews*, 55, 396-407.
59. Deng, P., Zhang, G., Zhou, B., Lin, R., Jia, L., Fan, K., Liu, X., Wang, G., Wang, L., Zhang, J. (2011). Extraction and *in vitro* antioxidant activity of intracellular polysaccharide by *Pholiota adiposa* SX-02. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(1), 50-54.
60. Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains – sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 135(3), 950-959.
61. Dulger, B. (2004). Antimicrobial activity of the macrofungus *Pholiota adiposa*. *Fitoterapia*, 75, 395-397.
62. Duru, M. E., Çayan, G. T. (2015). Biologically active terpenoids from mushroom origin: a review. *Records of Natural Products*, 9(4), 456-483.
63. Dyakov, M. Yu., Kamzolkina, O. V., 1, Shtaera, O. V., Bisko, N. A., Poedinok, N. L., Mikhailova, O. B., Tikhonova, O. V., Tolstikhina, T. E., Vasil'eva, B. F., Efremenkova, O. V. (2010). Morphological characteristics of natural strains of certain species of Basidiomycetes and biological analysis of antimicrobial activity under submerged cultural conditions. *Mikologiya i Fitopatologiya*, 44(3), 225-239.
64. Earle, F. S. (1909). The genera of North American gill fungi. *Bulletin of the New York Botanical Garden*, 5, 373-451.
65. Einhellig, F. A. (1995). *Allelopathy: current status and future goals*. Washington, DC: American Chemical.
66. Elfahri, K. R., Vasiljevic, T., Yeager, T., Donkor, O. N. (2016). Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected lactobacillus helveticus strains. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 31-40.

67. Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 337-345.
68. Fang, Q-H., Tang, Y-J., Zhong, J-J. (2002). Significance of inoculation density control in production of polysaccharide and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 37, 1375-1379.
69. Farr, D. (1985). Scanning electron microscopic observations of basidiospores in *Pholiota* and related genera. *Canadian Journal of Botany*, 63(3), 603-610.
70. Farr, E.R., Miller, O.K, Farr, D.F. (1977). Biosystematic studies in the genus *Pholiota*, stirps *Adiposa*. *Canadian Journal of Botany* 55, 1167-1180.
71. Fayod, M. V. (1889). Prodrome d'une histoire naturelle des Agaricinés. *Annales des Sciences Naturelles Botanique*, 9, 181-411.
72. Fries, E. M. (1821). *Systema Mycologicum*. (Vol. I). Lund: Ex Officina Berlingiana.
73. Fu, H-Y., Shieh, D-E. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipids*, 9, 35-46.
74. Fujii, Y. (2009). *Overview of research on allelochemicals. Survey of Plant Natural Resources and isolation of allelochemicals in Monsoon Asia*. The NIAES International Symposium entitled "Challenges for Agro-Environmental Research in Monsoon Asia" W3-01, Tsukuba, JP.
75. Gan, D., Ma, L., Jiang, C., Wang, M., Zeng, X. (2012). Medium optimization and potential hepatoprotective effect of mycelial polysaccharides from *Pholiota dinghuensis* Bi against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 2681-2688.
76. Gao, Y., Tang, W., Gao, H., Chan, E., Jin, L., Li, X., Zhou, S. (2005). Antimicrobial Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma*. *Food Reviews International*, 21(2), 211-229.
77. Gizaw, B. (2015). Cultivation and yield performance of *Pholiota nameko* on different agro industrial wastes. *Academia Journal of Food Research*, 3(3), 32-42.

78. Gong, C., Hu, Q., Ji, Y. (2012). Antioxidation study of *Pholiota adiposa* (Fr.) Quel and its polysaccharides. *Advanced Materials Research*, 345, 195-200.
79. Guan, G.-P., Zhang, G.-Q., Wu, Y.-Y., Wang, H.-X., Ng, T.-B. (2011). Purification and characterization of a novel serine protease from the mushroom *Pholiota nameko*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(6), 641-645.
80. Gunde-Cimerman, N. (1999). Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. karst. (Agaricales S.I., Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 69-80.
81. Guo, Y.-J., Deng, G.-F., Xu, X.-R., Wu, S., Li, S., Xia, E.-Q., Li, F., Chen, F., Ling, W.-H., Li, H.-B. (2012). Antioxidant capacities, phenolic compounds and polysaccharide contents of 49 edible macro-fungi. *Food & Function*, 3(11), 1195-205.
82. Hagergerman, A. E., Riedl, K. M., Alexander, J. G. (1998). High molecular weight plant polyphenolics as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (5), 1887-1891.
83. Han, S-SR, Cho, Ch-K, Lee, Y-W, Yoo, H.-S. (2009). Antimetastatic and immunomodulating effect of water extracts from various mushrooms. *The Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2, 218-27.
84. Hanson, J.R. (2008). *The Chemistry of Fungi*. RSC Publishing, Cambridge, UK 1-221.
85. He, Y., Wang, R., Huang, B., Dai, Q., Lin, J. (2019). Pholiotone A, a new polyketide derivative from *Pholiota* sp, *Natural Product Research*, 34(14), 1957-1961.
86. Hobbs, C. (1995). *Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing and Culture*. Botanica Press, Santa Cruz, CA, USA.
87. Holec, J. (1997). First records of *Pholiota subochracea* and *Pholiota elegans* in the Czech Republic. *Czech Mycology*, 50(1), 45-55.
88. Holec, J. (1998). The taxonomy of *Pholiota aurivella* and *Pholiota adiposa* – a return to Batsch and Fries. *Czech Mycology*, 50 (3), 201-221.

89. Holec, J. (2001). The genus *Pholiota* in central and western Europe. Eching: IHW-VERLAG. *Libri botanici*, 20, 40-47.
90. Holec, J., Kolařík, M., Bizio, E. (2014). *Pholiota chocenensis* – a new European species of section *Spumosae* (Basidiomycota, Strophariaceae). *Mycological Progress*, 13, 399-406.
91. Hu, Q., Wang, H., Ng, T. B. (2012). Isolation and purification of polysaccharides with anti-tumor activity from *Pholiota adiposa* (Batsch) P. Kumm. (Higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(3), 271-284.
92. Hyung-Eun, Y., Soo-Muk, C., Geon-Sik, S., Byeong-Seok, L., Dae-Hyoung, L., Jong-Soo, L. (2006). Screening of Bioactive Compounds from Mushroom *Pholiota* sp. *The Korean Journal of Mycology*, 34 (1), 15-21.
93. Imtiaj, A., Lee, T.-S. (2007). Screening of Antibacterial and Antifungal Activities from Korean Wild Mushrooms. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(3), 316-321.
94. Inderjit, Wardle, D, Karban, R., Callaway, R. (2011). The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 655-662.
95. Ino, C., Hirotani, M., Furuya, T. (1984). Two perenniporiol derivatives, lanostane-type triterpenes, from cultured mycelia of *Perenniporia ochroleuca*. *Phytochemistry*, 23(12), 2885-2888.
96. Iqbal, N., Khaliq, A., Cheema, Z.A. (2020). Weed control through allelopathic crop water extracts and S-metolachlor in cotton. *Information Processing in Agriculture*, 7(1), 165-172.
97. Isaka, M., Chinthanom, P., Kongthanong, S., Srichomthong, K., Choeyklin, B. (2013). Lanostane triterpenes from cultures of basidiomycete *Ganodema orbiforme* BCC 22324. *Phytochemistry*, 87, 133-139.
98. Ivanova, T.S., Krupodorova, T.A., Barshteyn, V.Y., Artamonova, A.B., Shlyakhovenko, V.A. (2014). Anticancer substances of mushroom origin. *Experimental Oncology*, 36(2), 58-66.

99. Jacobsson, S. (1987). On the correct interpretation of *Pholiota adiposa* and a taxonomic survey of section Adiposae. *Windahlia*, 17, 1-18.
100. Jacobsson, S. (1989). Studies on *Pholiota* in culture. *Mycotaxon*, 36, 95-145.
101. Jacobsson, S. (1990). *Pholiota* in Northern Europe. *Windahlia*, 19, 1-86.
102. Jacobsson, S. (2012). *Pholiota P. Kumm.* In: Knudsen, H, Vesterholt, J, eds. *Funga nordica: agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera*. Copenhagen, Denmark: Nordsvamp, 955-962.
103. Jagtap, S.S., Dhiman, S. S., Jeya, M., Kang, Y. C., Choi, J. H., Lee, J. K. (2012). Saccharification of poplar biomass by using lignocellulases from *Pholiota adiposa*. *Bioresource Technology*, 120, 264-272.
104. Jayakumar, T., Thomas, P. A., Geraldine, P. (2009). In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 228-234.
105. Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., Forman, D. (2011). Global Cancer Statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61:69-90
106. Jeon, S.M., Wang, E.J., Ka, K.H. (2015). Growth Characteristics and Extracellular Enzyme Activities of *Pholiota* spp. *Mycological Process*, 27, 106.
107. Jeong, S. C., Jeong, Y. T., Yang, B. K., Islam, R., Koyyalamudi, S. R., Pang, G., Cho, K. Y., Song, C. H. (2010). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research*, 30, 49-56.
108. Ji, H., Zhang, L., Zhang, H., Li, G., Yang, M. (2012). Antioxidant activities of extracts from *Pholiota nameko*. *Advanced Materials Research*, (343-344), 457-462.
109. Jo, S.-H., Jin, G., Yang, Y., Jung, K.-J., Yun, H.-S., Yu, Y., Park, K.-M. (2010). Physiological activity of *Pholiota nameko* sp. ethanol extract. *The Korean Journal of Mycology*, 42(3), 207-212.

110. Joh, T., Malick, D. H., Yazaki, J., Hayakawa, T. (1996). Purification and characterization of secreted acid phosphatase under phosphate-deficient condition in *Pholiota nameko*. *Mycoscience*, 37, 65-70.
111. Joh, T., Yazaki, J., Suzuki, K., Hayakawa, T. (1998). Isolation and properties of glucose-1-phosphatase from mycelia of *Pholiota nameko*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(11), 2251-2253.
112. Kalac, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113, 9-16.
113. Kanter, M., Coskun, O., Budancamnak, M. (2005). Hepatoprotective effect of *Nigella sativa* L. and *Utrica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11, 6684-6688.
114. Kato-Noguchi, H., Kimura, F., Ohno, O., Suenaga, K. (2017). Involvement of Allelopathy in Inhibition of Understory Growth in Red Pine Forests. *Journal of Plant Physiology*, 218, 66-73.
115. Kawagishi, H., Abe, Y., Nagata, T., Kimura, A., Chiba, S. (1991). A lectin from the mushroom *Pholiota aurivella*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55, 2485-2489.
116. Kawamura-Konishi, Y., Tsuji, M., Hatana, S., Asanuma, M., Kakuta, D., Kawano, T., Mukouyama, E. B., Goto, H., Suzuki, H. (2007). Purification, characterization, and molecular cloning of tyrosinase from *Pholiota nameko*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71(7), 1752-60.
117. Kim, J. W., Kim, S. H., Yoon, H.-S., Song, D. N., Kim, M. J., Chang, W.-B., Song, I. G., Eom, H.-J. (2013a). Quality characteristics and antioxidant activities of cookies with *Pholiota adiposa* powder. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(12), 1966-1971.
118. Kim, K., Moon, E., Choi, S. Kim, S, Lee, K. (2013b). Lanostane triterpenoids from the mushroom *Naematoloma fasciculare*. *Journal of Natural Products*, 76(5), 845-851.

119. Kim, J.-H. (2014). Physiological activities of water extract and solvent fractions of an edible mushroom, *Pholiota adiposa*. *The Korean Journal of Mycology*, 42, 207-212.
120. Kim, M. Y., Seguin, P., Ahn, J. K., Kim, J. J., Chun, S. C., Kim, E. H., Seo S.-H., Kang E.-Y., Kim, S.-L., Park, Y.-J., Ro, H.-M., Chung, I.-M. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 7265-7270.
121. Kimura, Y., Taniguchi, M., Baba, K. (2002). Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. *Anticancer Research*, 22, 3309-18.
122. Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., Stalpers, J. A. (Eds.). (2001). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Ninth Edition*. Wallingford: CAB International.
123. Ko, Y.-F., Liao, J.-C., Lee, C.-S., Chiu, C.-Y., Martel, J., Lin, C.-S., Tseng, S.-F., Ojcius, D. M., Lu, C.-C., Lai, H.-C., Young, J. D. (2017). Isolation, Culture and Characterization of *Hirsutella sinensis* Mycelium from Caterpillar Fungus Fruiting Body. *PLoS ONE*, 12(1), e0168734.
124. Kobayashi, Y., Hiroaki, T., Hideo, D., Kenta, M., Eiji, M., Jun, H., Hirokazu, K. (2012). A novel core fucose-specific lectin from the mushroom *Pholiota squarrosa*. *The journal of biological chemistry*, 287(41), 33973-33982.
125. Kobori, M., Yoshida, M., Ohnishi-Kameyama, M., Takei, T., Shinmoto, H. (2006). 5 α ,8 α -epidioxy-22E-ergosta-6,9(11),22-trien-3 β ol from an edible mushroom suppresses growth of HL60 leukemia and HT29 colon adenocarcinoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 755-759.
126. K ues, U., Badalyan, S.M., Giebler, A., D ornte, B. (2016). *Asexual Sporulation in Agaricomycetes. Growth, Differentiation and Sexuality. The Mycota* (pp. 269-328). *A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research*. Springer, Cham.,

127. Kuhar, F., Truong, C., Smith, M. E., Matheny, P. B., Nouhra, E. (2019). Molecular and morphological evidence place *Pholiota psathyrelloides* from Patagonia within the ectomycorrhizal genus *Psathyroma* (Agaricales). *New Zealand Journal of Botany*, 57(4), 1-10.
128. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33 (7), 1870-1874.
129. Kummer, P. (1871). *Der Führer in die Pilzkunde*. Zerbst: Verlag von E. Luppe's Buchhandlung.
130. Kuyper, T. W., Tjallingii-Beukers, D. (1986). Notes on *Pholiota*. *Persoonia*, 13, 77-82.
131. Lange, J. E. (1938). *Flora agaricina Danica* (Vol. III). Copenhagen: Printed by Recato A/S Copenhagen.
132. Lebedev, V.G, Krutovsky, K.V., Shestibratov, K.A. (2019). Fell Upas Sits, the Hydra-Tree of Death, or the Phytotoxicity of Trees. *Molecules*, 24, 1636.
133. Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J., Yun, J. W. (2003). Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(5), 574-581.
134. Lee, J.W., Park, M.S., Park, J.-H., Cho, Y., Kim, C., Kim, C. S., Jo, J. W., Lim, Y. W. (2020). Taxonomic Study of the Genus *Pholiota* (Strophariaceae, Basidiomycota) in Korea. *Mycobiology*, 1-8.
135. Lee, W. D., Lee, H., Fong, J. J., Oh, S.-Y., Park, M. S., Quan, Y., Jung, P. E., Lim, Y. W. (2014). A Checklist of the *Basidiomycetous* macrofungi and a record of five new species from Mt. Oseo in Korea. *Mycobiology*, 42(2), 132-139.
136. Li, H., Liu, X., Li, Y., Hua, Y., Zhi, D., Pang, G. (2012). Effects of the polysaccharide from *Pholiota nameko* on human cytokine network in serum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 164-170.

137. Li, H., Lu, X., Zhang, S., Lu, M., Liu, H. (2008). Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Pholiota nameko*. *Biochemistry (Moscow)*, 73(6), 669-675.
138. Li, H., Wang, S. (2007). Kinetics of inhibition of ribonuclease A by *Pholiota Nameko* polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40, 134-138.
139. Li, H., Zhang, M., Ma, G. (2010a). Hypolipidemic effect of the polysaccharide from *Pholiota nameko*. *Nutrition*, 26, 556-562.
140. Li, W., Lou, L.-L., Zhu, J.-Y., Zhang, J.-S., Liang, A.-A., Bao, J. M., Tung, G.-H., Yin, S. (2016). New triterpenoids from the fruiting body of *Ganoderma hainanense*. *Fitoterapia*, 115, 24-30.
141. Li, X., Sang, Y., Feng, Y., Wang, X. (2017). Comparison of nutrition components of *Pholiota nameko* during different tide periods. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 17(8), 239-245.
142. Li, Y., Zhang, G., Ng, T.B. .Wang, H. (2010b). A novel lectin with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from dried fruiting bodies of the monkey head mushroom *Hericium erinaceum*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 715-716.
143. Lin T.-Y., Chieh-Yin C., Shih-Chang C., Wen-Wei H., Fang-Hua C., Wen-Hsiung Li., Chin-Chung L., Jei-Fu S., Sheng-Yang W. (2011). Metabolite profiles for *Antrodia cinnamomea* fruiting bodies harvested at different culture ages and from different wood substrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7626-7635.
144. Lin, S.-B., Li, C.-H., Lee, S.-S., Kan, L.-S. (2003). Triterpeneenriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences*, 72, 2381-90.
145. Liu, D.-Z., Jia, R.-R., Wang, F., Liu, J.-K. (2008). A New Spiroaxane Sesquiterpene from Cultures of the Basidiomycete *Pholiota adiposa*. *Zeitschrift fur Naturforschung B*, 63(1), 111-113.

146. Liu, F., Ooi, V.E., Chang, S.T. (1997). Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*, 60, 763-771.
147. Liu, X., Winkler, A., Schwan, W., Volk, T., Rott, M., Monte, A. (2010). Antibacterial compounds from mushrooms I: a lanostane-type triterpene and prenylphenol derivatives from *Jahnoporus hirtus* and *Albatrellus flettii* and their activities against *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*. *Planta Medica*, 76(2), 182-185.
148. Liu, X.-T., Winkler, A. L., Schwan, W. R., Volk, T. J., Rott, M. A., Monte, A. (2010). Antibacterial compounds from mushrooms I: a lanostane-type triterpene and prenylphenol derivatives from *Jahnoporus hirtus* and *Albatrellus flettii* and their activities against *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*. *Planta Medica*, 76(2), 182-185
149. Liu, Y., Sun, Y., Huang, G. (2018). Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 780-786.
150. Lohmann, M., Scheu, S., Müller, C. (2009). Decomposers and root feeders interactively affect plant defence in *Sinapis alba*. *Oecologia*, 160, 289-298.
151. Lu, M., El-Shazly, M, Wu, T., Du, Y., Chang, T., Chen, C., Hsu, Y., Lai, K., Chiu, C., Chang, F., Wu, Y. (2013). Recent research and development of *Antrodia cinnamomea*. *Pharmacology & Therapeutics*, 139(2), 124-156.
152. Maehara, Y, Tsujitani, S, Saeki, H. (2012). Biological mechanism and clinical effect of protein-bound polysaccharide K (KRESTIN): review of development and future perspectives. *Surgery Today*, 42, 8-28.
153. Martin, K. W., Ernst, E. (2003). Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51, 241-246.
154. Matheny, P. B., Swenie, R. A., Miller, A. N., Petersen, R. H., Hughes, K. W. (2018). Revision of pyrophilous taxa of *Pholiota* described from North America reveals four species – *P. brunnescens*, *P. castanea*, *P. highlandensis*, and *P. molesta*. *Mycologia*, 110(6), 997-1016.

155. Matsumoto, T., Obatake, Y., Fukumasa-Nakai, Y., Nagasawa, E. (2003). Phylogenetic position of *Pholiota nameko* in the genus *Pholiota* inferred from restriction analysis of ribosomal DNA. *Mycoscience*, 44, 197-202.
156. Mattila, P., Konko, K., Euroala, M., Pihlava, J. M., Astola, J., Vahteristo, L., Hietaniemi V., Kumpulainen J., Valtonen M., Piironen V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2343-2348.
157. Maziero, R., Cavazzoni, V., Bononi, V. (1999). Screening of Basidiomycetes for the production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture. *Revista Argentina de Microbiologia*, 30, 77-84.
158. Minato, K. (2010). Mushrooms: Immunomodulating Activity and Role in Health Promotion. In: Watson R., Zibadi S., Preedy V. (eds) *Dietary Components and Immune Function. Nutrition and Health*. Humana Press, Totowa, NJ., 529-539.
159. Minato, K., Kasahara, S. (2006). Immunomodulating action of edible mushrooms, *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* and *Pholiota nameko*. *8th International Mycological Congress, Medimond S. r. l., Italy*, 219-224.
160. Mizuno, T. (1996). Development of antitumor polysaccharides from mushroom fungi. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, 167, 69-85.
161. Mohamad, S.A., Awang, M.R., Rashid, R.A., Ling, L.S., Daud, F., Hamid, A.A., Ahmad, R., Yusoff, W.M.W. (2015). Optimization of Mycelial Biomass Production in Submerged Culture Fermentation of *Pleurotus flabellatus* Using Response Surface Methodology. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6, 419-426.
162. Molisch, H. (1937). *Der Einfluss einer Pflanze auf die andere- Allelopathie*. Fischer, Jena, Germany.
163. Moncalvo, J.M., Vilgalys, R., Redhead, S.A., Johnson, J.E., James, T.Y., Aime, M.C., Hofstetter, V., Verduin, S.J.W., Larsson, E., Baroni, T.J., Thorn, G., Jacobsson, S., Cle´menc¸on, H., and Miller, O.K., Jr. (2002). One

hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23, 357-400.

164. Mykchaylova, O.B., Lomberg, M.L., Bisko, N.A. (2019). *Verification and screening of biotechnologically valuable macromycetes species in vitro. Development of Modern Science: The Experience of European Countries and Prospects for Ukraine* (pp. 354-375). Riga: Baltija Publishing,

165. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet] (1988). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [cited 2017 Apr 06]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

166. Ng, T.B. (1998). A review of research on the protein-bound polysaccharide (polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes: Polyporaceae). *General Pharmacology: The Vascular System*, 30(1), 1-4.

167. Nguyen, T. K., Shin, D. B., Lee, S. M., Im, K. H., Lee, T. S., Lee, U. Y. (2015). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Methanol and Hot Water Extracts of *Pholiota nameko* Fruiting Bodies. *The Korean Journal of Mycology*, 41(2), 97-103.

168. Nie, Y., Jiang, H., Su, Y., Zhu, C., Li, J., Wen, F. (2012). Purification, composition analysis and antioxidant activity of different polysaccharides from the fruiting bodies of *Pholiota adiposa*. *African Journal of Biotechnology*, 11(65), 12885-12894.

169. Niedzielski, P., Mleczek, M., Budka, A., Rzymiski, P., Siwulski, M., Jasinska, A., Gasecka, M., Budzynrska, S. (2017). A screening study of elemental composition in 12 marketable mushroom species accessible in Poland. *European Food Research and Technology*, 243, 1759-1771.

170. Nitha, B., Fijesh, P.V., Janardhanan, K.K. (2013). Hepatoprotective activity of cultured mycelium of Morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65, 105-112.

171. Niu, W.-R., Guo, C.-L., Lou, D.-J., Li, R.-T., Xiang, Q., Zou, Y.-L., Cui, X.-M., Yang, X.-Y. (2019). One new sterpurane sesquiterpene from cultures of the basidiomycete *Pholiota nameko*, *Natural Product Research*, 34(19), 1-6
172. Noh, J.-G., Yoon, H.-S., Oh, E. Y., Kim, J. W., Kim, S. H., Kim, Y. G., Han, N. Soo., Eom, H.-J. (2014). Quality characteristics of muffins added with *Pholiota adiposa* powder. *Korean Journal of Food Preservation*, 21(6), 815-823.
173. Noordeloos, M. E. (2011). *Fungi Europaei. Strophariaceae s. l.* (13). Italia: Massimo Candusso.
174. Nowacka, N., Nowak, R., Drozd, M., Olech, M., Los, R., Malm, A. (2014). Analysis of phenolic constituents, antiradical and antimicrobial activity of edible mushrooms growing wild in Poland. *Food Science and Technology*, 59, 689-694.
175. Ohta, A. (1994). Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. *Mycoscience*, 35(1), 83-87
176. Ooi, V.E.C, Liu, F. (2000). Immunomodulation and anticancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Current Medicinal Chemistry Journal*, 7, 715-29.
177. Osivand, A., Araya, H., Appiah, K., Mardani, H., Ishizaki, T., Fujii, Y. (2018). Allelopathy of wild mushrooms – an important factor for assessing forest ecosystems in Japan. *Forests*, 9 (773), 1-15.
178. Overholts, L. O., Kauffman, C. H. (1924). 74. *Pholiota*. *North American Flora*, 10 (4), 261.
179. Ozturk, M., Tel-Cayan, G., Muhammed, A., Terzioglu, P., Duru, M.E. (2015). Mushrooms: a source of exciting bioactive compounds. *Studies in Natural Products Chemistry*, 45, 363-451.
180. Paccola, E. A. S., Maki, C. S., Nobrega, G. M.A., Paccola-Meirelles, L. D. (2001). Antagonistic effect of edible mushroom extract on *Candida albicans* growth. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 176-178.
181. Panda, A., Mahalik, G. (2020). Review on allelopathy: a natural way towards wild plant management. *Indian Journal of Natural Sciences*, 10 (60), 23069- 23075.

182. Peck, C. H. (1878). Report of the Botanist. *Annual Report on the New York State Museum of Natural History*. 31, 19-60.
183. Pegler, D.N. (2003). Useful fungi of the world: The Shiitake, Shimeji, Enoki-take, and Nameko mushrooms. *Journal of Mycology*, 17, 3-5.
184. Pelaez, F. (2006). The historical delivery of antibiotics from microbial natural products – Can history repeat? *Biochemical pharmacology*, 71, 981-990.
185. Petre, M. (2015). *Mushroom Biotechnology: Developments and Applications* (1st Ed). Elsevier, Academic Press.
186. Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89-96.
187. Popova, M., Trusheva, B., Gyosheva, M., Tsvetkova, I., Bankov, V. (2009). Antibacterial triterpenes from the threatened wood-decay fungus *Fomitopsis rosea*. *Fitoterapia*, 80 (5), 263-266
188. Pujol, V., Seux, V., Villard, J. (1990). Research of antifungal substances secreted by higher fungi in culture. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 48(1), 17-22.
189. Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmesh, S. M., Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9764-9772.
190. Qasem, J. R., Foy, C. L. (2001). Weed allelopathy, its ecological impacts and future prospects. *Journal of crop production*, 4(2), 43-119.
191. Qian, L., Yeni, Z., Fang, L. (2016). Purification and characterization of a ~43 kDa antioxidant protein with antitumor activity from *Pholiota nameko*. *The Journal of Food Science and Technology*, 96, 1044-1052.
192. Quattelbaum, D., Carner, G.R. (1980). A technique for preparing *Beauveria* spp. for scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany*, 58, 1700-1703.
193. Quelet, L. (1886). *Enchiridion Fungorum in Europa Media et praesertim in Gallia Vigentium*. Lutetiae: Octave Dion.

194. Raja, H. A., Baker, T. R., Little, J.G., Oberlies, N. H. (2017). DNA barcoding for identification of consumer-relevant mushrooms: A partial solution for product certification? *Food Chemistry*, 214, 383-392.
195. Ranadive, K. R., Belsare, M. H., Deokule, S. S., Jagtap, N. V., Jadhav, H. K., Vaidya, J. G. (2013). Glimpses of antimicrobial activity of fungi from World. *Journal on New Biological Reports*, 2(2), 142-162.
196. Regeda L. V., Bisko N. A., Al-Maali G. (2021). Influence of *Pholiota* spp. (Strophariaceae, Basidiomycota) mycelial biomass on seed germination and seedlings growth of *Lepidium sativum* L. and *Cucumis sativus* L. Visnyk of Taras Shevchenko National University of Kyiv: Biology, 84(1), 53-60.
197. Regeda, L. V., Bisko, N. A. (2019a). Micromorphological characteristics of the species of *Pholiota* (Strophariaceae, Basidiomycota) in pure culture. *Ukrainian Botanical Journal*, 76(2), 114-120.
198. Regeda, L.V., Bisko, N.A. (2019b). Cultural and morphological characteristics of the species of *Pholiota* (Strophariaceae, Basidiomycota) on agar nutrient media. *Ukrainian Botanical Journal*, 77(1), 56-63.
199. Regeda, L.V., Bisko, N.A. (2020). The effect of initial pH on production mycelial biomass of *Pholiota* (Strophariaceae, Basidiomycota) species in liquid static culture. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*, 2(1), 1-3.
200. Ribeiro, B., Lopes, R., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Gonçalves, R. F., Baptista, P., Quelhas I., Valentão P. C. (2008). Comparative study of phytochemicals and antioxidant potential of wild edible mushroom caps and stipes. *Food Chemistry*, 110, 47-56.
201. Ricken, A. (1915). *Die Blätterpilze (Agaricaceae) Deutschlands und der angrenzenden Länder, besonders Oesterreichs und der Schweiz. I. Band.* Leipzig: Verlag von Theodor Oswald Weigel.
202. Ridwan, A.Y., Matoba, R., Wu, J., Choi, J-H., Hirai, H., Kawagishi, H. (2018). A novel plant growth regulator from *Pholiota lubrica*. *Tetrahedron Letters*, 59, 2559-2561.

203. Rios, J., Andujar, I. (2015). *Lanostanoids from fungi as potential medicinal agents.*, J.H Merillon, K.G. Ramawat (eds.). *Fungal metabolites*. Springer International Publishing Switzerland.
204. Rodrigues, D. M. F., Freitas, A. C., Rocha-Santos, T. A. P., Vasconcelos, M.W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L. M., Gomes, A. M. P., Duarte, A. C. (2015). Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneo stramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. *The Journal of Food Science and Technology*, 52, 6927-6939.
205. Rodrigues, D., Freitas, A. C., Sousa, S., Amorim, M., Vasconcelos, M. W., Costa, J., Silva, A.M.S., Rocha-Santos, T.A.P., Duarte, A.C., Gomes, A.M.P. (2016). Chemical and structural characterization of *Pholiota nameko* extracts with biological properties. *Food Chemistry*, 216, 176-85.
206. Rosa, L.E., Machado, K.M.G., Jacob, C.C., Capelari, M., Rosa, C.A., Zani, C.L. (2003). Screening of Brazilian Basidiomycetes for antimicrobial activity. *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98, 967-74.
207. Russo, A., Piovanob, M., Clericuzioc, M., Lombardod, L., Tabassoe, S., Chamyb, M.C., Vidarif, G., Cardiled, V., Vita-Finzif, P., Garbarino, J.A. (2007). Putrescine-1,4-dicinnamide from *Pholiota spumosa* (Basidiomycetes) inhibits cell growth of human prostate cancer cells. *Phytomedicine*, 14, 185-191.
208. Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O. N. (2014). Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. *Food Chemistry*, 156, 264-270.
209. Salim, M.A., Linatoc, A.C, Jikan, S.S., Jamil, S., Latif, M.S. (2020). Allelopathic effects of *Imperata Cylindrica* aqueous extract on the germination of *Cucumis Sativus* and *Lolium Perenne*. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)*, 8 (6), 2503-2508.
210. Sanchez, C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, 756-762.
211. Savolainen, V., Chase, M.W., Hoot, S.B., Morton, C.M., Soltis, D.E., Bayer, C., Fay, M.F., de Bruijn, A.Y., Sullivan, S., Qiu, Y.-L. (2000).

Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* *rbcL* gene sequences. *Systematic Biology*, 49, 306-362.

212. Sawyer, W. H. (1917). Development of Some Species of *Pholiota*, *Botanical Gazette*, 64(3), 206-229.

213. Shamtsyan, M. (2010). Bioactive compounds in mushrooms. Heldman D. R., Hoover D. G., Wheeler M. B. (Eds.). *Encyclopedia of Biotechnology in Agriculture and Food* (pp. 76-81). Taylor & Francis, N.Y. USA.

214. Shamtsyan, M., Antontceva, E., Panchenko, A., Petrishev, N. (2014). Hyperlipidemic and hypocholesterolic action of submerge cultured mushrooms. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 7, 96-99.

215. Shamtsyan, M., Konusova, V., Maksimova, Y., Goloshchev, A., Panchenko, A., Simbirtsev, A., Petrishchev, N., Denisova, N. (2004). Immunomodulating and anti-tumor action of extracts of several mushrooms. *Journal of Biotechnology*, 113(1-3), 77-83.

216. Singer, R., Smith, A. H. (1946). Proposals concerning the nomenclature of the gill fungi including a list of proposed lectotypes and genera conservanda. *Mycologia*, 38, 240-299.

217. Smith, A. H., Hesler, L. R. (1968). *The North American species of Pholiota*. New York. London: Hafner Publishing Company.

218. Smith, A.H., Hesler, L.R. (1968). *The North American species of Pholiota*. New York: Hafner Publishing Company.

219. Smith, J.E., Zong, A., Rowan, N.J. (2002). *Medicinal Mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments*. London: Cancer Research UK.

220. Sokal, R.R., Michener, C.D. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409-1438.

221. Sovrani, V., Jesus, L. I., Simas-Tosin, F. F., Smiderle, F. R., Iacomini, M. (2017). Structural characterization and rheological properties of a gel-like β -D-glucan from *Pholiota nameko*. *Carbohydrate Polymers*, 169, 1-8.

222. Sridhar, K.R., Deshmukh, S.K. (Eds.) (2019). *Advances in Macrofungi: Diversity, Ecology and Biotechnology*. Taylor & Francis Group, LLC.
223. Stalpers, J. A. (1978). Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Studies in Mycology*, 16, 248.
224. Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms* (3rd ed). Washington: Ten Speed Press.
225. Suay, I., Arenal, F., Asensio, F. J., Basilio, A., Cabello, M. A., Diez, M. T., Garcia, J. B., Val, A. G., Gorrochategui, J., Hernandez P., Pelaez, F., Vicente, M. F. (2000). Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie van Leeuwenhoek* 78, 129-139.
226. Sun, Z., Tian, Y., Jia, M., Pang, L., Deng, P., Fan, K., Liu, X., Jia, S., Jia, L. (2012). Extraction and *in vitro* antioxidant activity of exopolysaccharide by *Pholiota adiposa* SX-01. *African Journal of Microbiology Research*, 6(8), 1869-1876.
227. Sung, T.-J., Wang, Y.-Y., Liu, K.-L., Chou, C.-H., Lai, P.-S., Hsieh, C.-W. (2020). *Pholiota nameko* polysaccharides promotes cell proliferation and migration and reduces ROS content in H₂O₂-induced L929 cells. *Antioxidants*, 9(1), 65-79.
228. Taguchi, T. (1987). Clinical efficacy of lentinan on patients with stomach cancer: end point results of a four year follow-up survey. *Cancer Detection and Prevention*, 1, 333-349.
229. Tewari, V.P., Singh, R.N. (1973). New records of Agaricales from India. *Norwegian Journal of Botany*, 20 (1), 21-25.
230. Tian, E., Bau, T., Ding, Y. (2016). A new species of *Pholiota* subgenus *Flammuloides* section *Lubricae* (Strophariaceae, Agaricales) from Tibet, China. *Phytotaxa*, 286 (3), 153-160.
231. Tian, E., Matheny, P. B. (2020). A phylogenetic assessment of *Pholiota* and the new genus *Pyrrhulomyces*. *Mycologia*, 1-22.
232. Travers-Martin, N., Müller, C. (2007). Specificity of induction responses in a Brassicaceae and their effects on a specialist herbivore. *Chem-Ecol*, 33, 1582-1597.

233. Vilgalys, R., Gonzalez, D. (1990). Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 80, 151-158.
234. Walther, G., Weiß M. (2008). Anamorphs in the Strophariaceae (Basidiomycota, Agaricales). *Botany*, 86, 551-566.
235. Wang, C. R., Zhou, R., Ng, T. B., Wong, J. H., Qiao, W. T., Liu, F. (2014). First report on isolation of methyl gallate with antioxidant, anti-HIV-1 and HIV-1 enzymeinhibitory activities from a mushroom (*Pholiota adiposa*). *Environmental toxicology and pharmacology*, 37, 626-637.
236. Wang, C.R., Qiao, W.T., Zhang, Y.N., Liu, F. (2013). Effects of adenosine extract from *Pholiota adiposa* (Fr.) Quel on mRNA expressions of superoxide dismutase and immunomodulatory cytokines. *Molecules*, 18, 1775-1782.
237. Wang, X.M., Yang, M., Guan, S.H., Liu, R.X., Xia, G.M., Bi, K.S., Guo, D.A. (2006). Quantative determination of six triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and related species by high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 838-844.
238. Wang, Y.-X., Lu, Z.-X. (2004). Statistical optimization of media for extracellular polysaccharide by *Pholiota squarrosa* (Pers. ex Fr.) Quel. AS 5.245 under submerged cultivation. *Biochemical Engineering Journal*, 20(1), 39-47.
239. Wangun, H. V. K., Hertweck, C. (2007). Squarrosidine and Pinillidine: 3,3'-Fused Bis(styrylpyrones) from *Pholiota squarrosa* and *Phellinus pini*. *The European Journal of Organic Chemistry*, 3292-3295.
240. Wani, B. A., Bodha, R. H., Wani, A. H. (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(24), 2598-2604.
241. Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60, 258-274.

242. Wasser, S.P. (2010). Medicinal mushrooms science: history, current status, future trends and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushroom*, 12(1), 1-16.
243. Wasser, S.P. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89, 1323-1332.
244. Wasser, S.P., Weis, A.L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *The International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 31-62.
245. White, T.J., Bruns, T. D., Lee, S. H., Taylor, J. W. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications, 315-322.
246. World Health Organization. (2008). The Global Burden of Disease: 2004 Update. Geneva: World Health Organization.
247. World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: *WHO Press*, 1-71.
248. Wu, J., Kawagishi, H. (2020). Plant growth regulators from mushrooms. *The Journal of Antibiotics*, 73(10), 657-665.
249. Wurst, S, Langel, R, Rodger, S, Scheu, S. (2006). Effects of belowground biota on primary and secondary metabolites in *Brassica oleracea*. *Chemoecology*, 16, 69-73.
250. Xu, J.-W., Xu, Y.-N., Zhong, J.-J. (2010). Production of individual ganoderic acids and expression of biosynthetic genes in liquid static and shaking cultures of *Ganoderma lucidum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 941-948.
251. Xu, W., Huang, J.J., Cheung, P.C. (2012). Extract of *Pleurotus pulmonarius* suppresses liver cancer development and progression through inhibition of VEGF-induced PI3K/AKT signaling pathway. *PLOS One*, 7, e34406.
252. Xu, X., Yan, H., Chen, J., Zhang, X. (2011). Bioactive proteins from mushrooms. *Biotechnology Advances*, 29, 667-74.

253. Yaltirak, T., Aslim, B., Ozturk, S., Alli, H. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2052-2056.
254. Yamacä, M., Bilgili, F. (2006). Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharmaceutical Biology*, 44(9), 660-667.
255. Yang, X.-Y., Niu, W.-R., Li, R.-T., Cui, X.-M., Liu, J.-K. (2018). Two new sesquiterpenes from cultures of the higher fungus *Pholiota nameko*. *Natural Product Research*, 33(14), 1992-1996.
256. Yaoitaa, Y., Kikuchib, M., Machida K. (2014). Terpenoids and Sterols from Some Japanese Mushrooms. *Natural Product Communications*, 9 (3), 419-426.
257. Yen, G.C., Wu, J.Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extract from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem*, 65, 375-379.
258. Yoshida, H., Sasaki, H., Fugimoto, S., Sugahara, T. (1996). The Chemical Components of the Vegetative Mycelia of Basidiomycetes. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 43(6),748-755.
259. Yoshinori, C.H., Takeo, T.K., Kitamoto, Y. (1999). Morphological and cytological aspects of oidium formation in a basidiomycete, *Pholiota nameko*. *Mycoscience*, 40(2), 95-101.
260. Yu, S., Jiang, J., Li, W. (2020). Co-cultured *Lepista sordida* and *Pholiota nameko* polysaccharide-iron (III) chelates exhibit good antioxidant activity. *RSC Advances*, 10, 27259-27265.
261. Yu, S.P., Zhang, J.S., Tang, Q.J., Xianmin, S., Yanfang, L., Yan, Y., Yingjie, P. (2004). Correlation between intracellular triterpenes from mycelia of *Ganoderma lucidum* in different growth stages and inhibition effect on tumor cells. *Mycosystema*, 23, 548-54.
262. Yu-Hong, Z. (2013). *Research on the optimal conditions of the polysaccharide extraction from Pholiota nameko*. International Conference on Advanced Information Engineering and Education Science (ICAIEES, 2013).

263. Zhang, G., Sun, J., Wang, H., Ng, T.B. (2010). First isolation and characterization of a novel lectin with potent antitumor activity from a *Russula* mushroom. *Phytomedicine*, 17, 775-781.
264. Zhang, G.Q., Sun, J., Wang, H.X., Ng, T.B. (2009). A novel lectin with antiproliferative activity from the medicinal mushroom *Pholiota adiposa*. *Acta Biochimica Polonica*, 56(3), 415-421.
265. Zhang, G.Q., Tian, T., Liu, Y.P., Wang, H.-X., Che, Q.-J. (2011). A laccase with antiproliferative activity against tumor cells from a white root fungus *Abortiporus biennis*. *Process Biochemistry*, 46, 2336-2340.
266. Zhang, J., Li Z., Zhao, L., Feng, H., Shui, X., Wang, L. (2020). Chemical constituents of *Pholiota limonella*. *Chemistry of Natural Compounds*, 56(1), 188-189.
267. Zhang, J., Xu, N., Wang, G., Zhao, H., Lin, L, Jia, M., Jia, L. (2015). In vitro and in vivo antioxidant effects of polysaccharides from Nameko medicinal mushroom, *Pholiota nameko* SW-01 (Higher Basidiomycetes). *The International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(7), 671-80.
268. Zhang, M., Cui, S.W., Cheung, P., Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 4-19.
269. Zhang, Y., Liu, Z., Ng, T. B., Chen, Z., Qiao, W., Liu, F. (2014). Purification and characterization of a novel antitumor protein with antioxidant and deoxyribonuclease activity from edible mushroom *Pholiota nameko*. *Biochimie*, 99, 28-37.
270. Zhang, Y., Zhang, Y., Gao, W., Zhou, R., Liu, F., Ng, T. B. (2020). A novel antitumor protein from the mushroom *Pholiota nameko* induces apoptosis of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells in vivo and modulates cytokine secretion in mice bearing MCF-7 xenografts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 3171-3178.
271. Zhao, S., Zhao, Y.C., Li, S.H., Zhao, J., Zhang, G., Wang, H., Ng, T. B. (2010). A novel lectin with highly potent antiproliferative and HIV-1 reverse

transcriptaseinhibitory activities from the edible wild mushroom *Russula delica*. *Glycoconjugate Journal*, 27: 259-65.

272. Zheng, L., Liu, M., Zhai, G.-Y., Ma, Z., Wang, L.-Q., Le, J. (2015). Antioxidant and anti-ageing activities of mycelia zinc polysaccharide from *Pholiota nameko* SW-03. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(15), 3117-3126.

273. Zheng, L., Ma, Y., Zhang, Y., Meng, Q., Yang, J., Wang, B., Liu, Q., Cai, L., Gong, W., Yang, Y., Shi, J. (2020). Increased antioxidant activity and improved structural characterization of sulfuric acid-treated stepwise degraded polysaccharides from *Pholiota nameko* PN-01. *International Journal of Biological Macromolecules*, 20, 1-10.

274. Zheng, L., Zhai, G., Zhang, J., Wang, L., Ma, Z., Jia, M., Jia, L. (2014). Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of mycelia zincpolysaccharide from *Pholiota nameko* SW-02. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 523-529.

275. Zhou, L., Zhang, Y., Gapter, L.A., Ling, H., Agarwal, R., Ng, K.Y. (2008). Cytotoxic and anti-oxidant activities of lanostane-type triterpenes isolated from *Poria cocos*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56, 1459-1462.

276. Zhou, Q., Yang, W., Lin, J-F., Guo, L.Q. (2015). Optimization of Medium pH, Growth Media Compositions and Analysis of Nutritional Components of *Ganoderma lucidum* in Submerged Culture Fermentation. *European Journal of Medicinal Plants*, 6(1), 17-25.

277. Zhu, D., Guo, R., Li, W., Song, J., Cheng, F. (2019). Improved postharvest preservation effects of *Pholiota nameko* mushroom by sodium alginate-based edible composite coating. *Food and Bioprocess Technology*, 12(4), 587-598.

278. Zhu, Z.-Y., Pan, Li.-C., Han, D., Sun, H., Chen, L.-J. (2018). Structural properties and antioxidant activities of polysaccharide from fruit bodies of *Pholiota nameko*. *Natural Product Research*, 33 (11),1563-1569.

279. Zhuang, W. (2001). *Higher fungi of tropical China*. Mycotaxon Ltd.

280. Zong, A., Cao, H., Wang, F. (2012). Anticancer polysaccharides from natural resources: a review of recent research. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1395-410.

281. Zou, Y., Du, F., Hu, Q., Wang, H. (2019). The structural characterization of a polysaccharide exhibiting antitumor effect from *Pholiota adiposa* mycelia. *Scientific Reports*, 9(1), 1724.

ДОДАТОК А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ
ДИСЕРТАЦІЇ.

**Статті у періодичних наукових виданнях держав, які входять до
Організації Економічного Співробітництва**

1. Regeda L.V., Bisko N.A. (2020). The effect of initial pH on production mycelial biomass of *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) species in liquid static culture. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*, 2(1), 1-3.

(Особистий внесок здобувача: ізольовано деякі культури грибів, виконано усі експериментальні роботи з культивування об'єктів дисертації за різних умов, проаналізовано отримані результати, написано текст статті у співпраці з науковим керівником)

**Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових видань
України**

2. Regeda L. V., Bisko N. A. (2019). Micromorphological characteristics of the species of *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) in pure culture. *Ukrainian Botanical Journal*, 76(2), 114-20.

(Особистий внесок здобувача: здобувачем були ізольовані культури грибів, проведені усі дослідження з культивування культур базидієвих грибів та підготовки зразків для сканувальної електронної мікроскопії, написання основної частини тексту статті)

3. Регеда Л. В., Бісько Н.А. (2020). Культурально-морфологічні характеристики видів роду *Pholiota* (*Strophariaceae*, *Basidiomycota*) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 77(1), 56-63.

(Особистий внесок здобувача: виконання досліджень щодо культивування об'єктів дисертації на агаризованих середовищах різного складу, аналіз отриманих результатів, написання тексту роботи разом з науковим керівником)

4. Regeda L. V., Bisko N. A., Al-Maali G. (2021). Influence of *Pholiota* spp. (Strophariaceae, Basidiomycota) mycelial biomass on seed germination and seedlings growth of *Lepidium sativum* L. and *Cucumis sativus* L. Visnyk of Taras Shevchenko National University of Kyiv: Biology, 84(1), 53-60.

(Особистий внесок здобувача: здобувачем було проведено усі дослідження щодо алелопатичних властивостей культур роду *Pholiota*, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

Публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій

1. Regeda L. V. (2018). *Morphological features of species of genus Pholiota (Fr.) P. Kunt. in pure culture*. “Біотехнологія: звершення та надії”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с.126-127), Київ.
2. Регада Л. В. (2019). *Мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію видів роду Pholiota (Fr.) P. Kunt. у чистій культурі*. “Актуальні проблеми ботаніки та екології”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 66), Харків.
3. Regeda L. (2019). *Variation in cultural and morphological properties of Pholiota species in pure culture*. “Сьогодення біологічної науки”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 137-139), Суми.
4. Regeda L. (2021). *The phenolic substances content in methanol extracts of Pholiota species (Strophariaceae, Basidiomycota)*. “Planta+. Наука, практика та освіта”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (с. 36-38), Київ.

ДОДАТОК Б. ОСОБЛИВОСТІ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ ПО ЗБЕРЕЖЕННЮ
ВЕГЕТАТИВНОГО МІЦЕЛІЮ ШТАМІВ ВИДІВ РОДУ *PHOLIOTA* IN
VITRO

Отримано дані про морфологію міцеліальних колоній восьми видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів *ІВК*. Підібрано склад і рН живильних середовищ, температуру інкубації, визначено критичні температури для росту культур, при яких вегетативний міцелій зберігає життєздатність і не втрачає своїх біологічних властивостей.

Встановлено мікроморфологічні характеристики культур на певних середовищах, які можна використовувати як критерій для таксономічного визначення культур на вегетативній стадії росту. Встановлені біосинтетичні особливості видів роду *Pholiota* у чистих культурах з метою можливого практичного застосування.

Вказані публікації, що містять інформацію щодо характеристик та особливостей штамів роду *Pholiota* в умовах культури.

ПАСПОРТ *PHOLIOTA ADIPOSA* 2169

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota adiposa (Batsch) P. Kumm., Führ. Pilzk. (Zerbst): 84 (1871)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2169

Ізолював: Ломберг М. Л.

Зібрав: Ломберг М. Л.

Дата: 2011

Ідентифікував: Регеда Л. В.

Дата: 2021

Локалітет: Київ, Україна

Географічні координати: 50°27'00" пн. ш. 30°31'25" сх. д.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Ломберг М. Л.

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, кристали

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: артороспори, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: МЕА, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: $1,52 \pm 0,11$ мм/добу

середовище МЕА: $0,83 \pm 0,05$ мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 5,98

Температура: $26 \pm 0,1$ °С

Критичні температури: 4 °С та 39 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW 748299

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °С, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія повстиста, середньої щільності, колір білий, з часом набуває світло-жовтого кольору, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією

на середовищі МЕА: колонія ватоподібна, середньої щільності, колір білий, з часом набуває світло-жовтого кольору, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $2,85 \pm 0,16$ % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу $0,10 \pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $6,88 \pm 0,38$ мг/г, продуктивність синтезу $3,42 \pm 0,14$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $35,83 \pm 1,03$ мг/г,
продуктивність синтезу $122,55 \pm 3,55$ мг/л)

культуральна рідина (вміст $0,556 \pm 0,02$ мг/г,
продуктивність синтезу $1,39 \pm 0,05$ мг/л)

Антимікробна активність: культуральна рідина – затримка росту тест-культур мікроміцетів *Aspergillus niger* (зона інгібування 44мм), *Penicillium polonicum* (35 мм), *Mucor globosus* (57 мм)

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 55,19 % та *Lepidium sativum* на 84,85 %

Антиоксидантна активність: біомаса – $82,37 \pm 1,54$ %,
культуральна рідина – $37,3 \pm 0,5$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Регеда, Бісько, 2019;
Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA ALNICOLA* 2406

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota alnicola (Fr.) Singer, Lilloa 22: 516 (1951) [1949]

(syn. *Flammula alnicola* (Fr.) P. Kumm., Führ. Pilzk. (Zerbst): 82 (1871))

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales,
Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2406

Ізолював: Михайлова О. Б.

Зібрав: Маланюк О. Б.

Дата: 2015

Ідентифікував: Маланюк О. Б.

Дата: 2015

Локалітет: Україна, Івано-Франківська обл., м. Галич, Галицький національний природний парк

Географічні координати: 49°08'21" пн. ш. 24°43'54" сх. д.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Михайлова О. Б.

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, гіфальні кільця, кристали

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: конідіальне спороношення, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: MEA, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: 0,76±0,16 мм/добу

середовище MEA: 0,60±0,12 мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 5,47

Температура: 26±0,1 °С

Критичні температури: 4 °С та 38 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА при $4\pm 0,1^\circ\text{C}$, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія повстиста, низької щільності, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір вохряний, реверзум спочатку безбарвний, з часом набуває коричневого кольору з концентричною зональністю, край піднятий з торочкуватою зовнішньою лінією

на середовищі MEA: колонія повстиста, низької щільності, зонального росту вегетативного міцелію не спостерігалось, колір коричневий, середовище навколо колонії забарвлюється в жовтий колір, реверзум спочатку безбарвний, з часом набуває темно-коричневого кольору, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $2,21\pm 0,02$ % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу $0,05\pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $9,18\pm 0,16$ мг/г, продуктивність синтезу $2,24\pm 0,04$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $46,22\pm 1,55$ мг/г,
продуктивність синтезу $103,537\pm 3,47$ мг/л)

культуральна рідина (вміст $1,89\pm 0,6$ мг/г,

продуктивність синтезу $4,716\pm 1,5$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 29,18 % та *Lepidium sativum* на 42,21 %

Антиоксидантна активність: біомаса – $83,60\pm 1,40$ % ,

культуральна рідина – $25,4\pm 0,66$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Регеда, Бісько, 2019;
Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA AURIVELLA* 2605

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota aurivella (Batsch) P. Kumm., Führ. Pilzk. (Zerbst): 83 (1871)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales,
Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2605

Ізолював: Регеда Л. В.

Зібрав: Шевченко М. В.

Дата: 2018

Ідентифікував: Регеда Л. В.

Дата: 2021

Локалітет: Україна, Київська обл., смт. Васильків

Географічні координати: 50°11'11" пн. ш. 30°19'50" сх. д.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових
грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ,
Україна) ← Регеда Л.В.

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, міцеліальні плівки

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: артроспори,
конідіальне спороношення, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: МЕА, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: 1,36±0,15 мм/добу

середовище МЕА: 0,61±0,10 мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 5,47

Температура: 26±0,1 °С

Критичні температури: 4 °С та 41 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW 748300

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за 4±0,1°С, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія пухнаста, дуже щільна, колір білий, з часом стає жовтим чи ледь коричневим, спостерігалось утворення тяжів, реверзум колонії безбарвний, потім набуває жовтого кольору, край піднятий з перистою зовнішньою лінією

на середовищі MEA: колонія ватоподібна, навколо інокулюму зона прижатого міцелію, низької або середньої щільності, колір білий, спостерігалось утворення невеликої кількості крапель ексудату, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з торочкуватою зовнішньою лінією

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст 1,55±0,09 % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу 0,10±0,00 г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст 5,01±0,18 мг/г, продуктивність синтезу 4,62±0,18 г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст 34,50±1,02 мг/г,
продуктивність синтезу 205,62±6,31 мг/л)

культуральна рідина (вміст $0,478 \pm 0,01$ мг/г,

продуктивність синтезу $1,20 \pm 0,18$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 46,88 % та *Lepidium sativum* на 55,58 %

Антиоксидантна активність: біомаса – $80,73 \pm 0,74$ %,

культуральна рідина – $20,49 \pm 0,74$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Регеда, Бісько, 2019; Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA LIMONELLA* 2335

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota limonella (Peck) Sacc., Syll. fung. (Abellini) 5: 753 (1887)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2335

Ізолював: Ломберг М. Л.

Зібрав: Ломберг М. Л.

Дата: 2013

Ідентифікував: Регеда Л. В.

Дата: 2021

Локалітет: Україна, м. Кам'янець-Подільський

Географічні координати: $48^{\circ}40'51''$ пн. ш. $26^{\circ}35'01''$ сх. д.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Ломберг М. Л.

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, гіфальні кільця, кристали

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: конідіальне спороношення, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: MEA, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: $1,40 \pm 0,07$ мм/добу

середовище MEA: $1,27 \pm 0,10$ мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 5,98

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 40 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW 748301

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА при $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія клочкувато-повстиста, потім спостерігалось утворення тяжів, щільна або дуже щільна, колір білий, з часом стає жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією

на середовищі MEA: колонія клочкувато-повстиста, потім спостерігалось утворення тяжів, щільна або дуже щільна, колір білий, з часом стає жовтим, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $1,51 \pm 0,11$ % від сухої біомаси,

продуктивність синтезу $0,94 \pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $2,31 \pm 0,12$ мг/г, продуктивність синтезу $6,26 \pm 0,00$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $35,61 \pm 0,96$ мг/г,

продуктивність синтезу $222,924 \pm 6$ мг/л)

культуральна рідина (вміст $10,833 \pm 0,78$ мг/г,

продуктивність синтезу $27,08 \pm 2,4$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 33,83 % та *Lepidium sativum* на 50,95 %

Антиоксидантна активність: біомаса – $71,31 \pm 1,14$ %,

культуральна рідина – $38,3 \pm 0,98$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Регеда, Бісько, 2019; Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA NAMEKO* 2154

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota nameko (T. Itô) S. Ito & S. Imai, Bot. Mag., Tokyo 47: 388 (1933)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2154

Ізолював: відомості відсутні

Зібрав: відомості відсутні

Дата: відомості відсутні

Ідентифікував: Регеда Л. В.

Дата: 2021

Локалітет: відомості відсутні

Географічні координати: відомості відсутні

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Україна, Мелітополь, Таврійський державний агротехнологічний університет імені Дмитра Моторного (штам АМ2)

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, кристали, міцеліальні плівки

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: конідіальне спороношення, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: МЕА, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: $2,24 \pm 0,18$ мм/добу

середовище МЕА: $2,14 \pm 0,31$ мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 6,42

Температура: $26 \pm 0,1$ °С

Критичні температури: 4 °С та 38 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW 748302

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °С, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія пухнасто-повстиста, щільна або дуже щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, з часом стає ледь коричневим, реверзум спочатку безбарвний,

потім набуває коричневого кольору з концентричною зональністю, край піднятий. з перистою зовнішньою лінією з виступами

на середовищі MEA: колонія борошністо-повстиста, низької або середньої щільності, характер росту вегетативного міцелію – зональний, навколо інокулюму зона притиснутого міцелію, колір білий, з часом стає ледь жовтим, реверзум спочатку безбарвний, потім набуває жовтого кольору, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $2,54 \pm 0,04$ % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу $0,12 \pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $3,22 \pm 0,26$ мг/г, продуктивність синтезу $3,82 \pm 0,20$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $34,17 \pm 0,87$ мг/г,
продуктивність синтезу $163,32 \pm 4,16$ мг/л)
культуральна рідина (вміст $8,28 \pm 0,8$ мг/г,
продуктивність синтезу $20,70 \pm 2$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на $62,22$ % та *Lepidium sativum* на $64,42$ %

Антиоксидантна активність: біомаса – $65,98 \pm 0,98$ %,
культуральна рідина – $36,06 \pm 0,14$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Регеда, Бісько, 2019; Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA SQUARROSA* 2010

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota squarrosa (Vahl) P. Kumm., Führ. Pilzk. (Zerbst): 83 (1871)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2010

Ізолював: відомості відсутні

Зібрав: відомості відсутні

Дата: відомості відсутні

Ідентифікував: Регеда Л. В.

Дата: 2021

Локалітет: відомості відсутні

Географічні координати: відомості відсутні

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Російська Федерація, м.Москва, Московський державний університет імені М.В. Ломоносова (штам 3935)

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, міцеліальні плівки

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: конідіальне спороношення

Умови культивування:

Середовища: МЕА, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: $0,96 \pm 0,15$ мм/добу

середовище МЕА: $0,52 \pm 0,08$ мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 5,47

Температура: $26 \pm 0,1$ °С

Критичні температури: 4 °С та 38 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW 748303

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія пухнасто-повстиста, дуже щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, з часом стає коричневим, реверзум спочатку безбарвний, потім набуває темно-коричневого кольору, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

на середовищі MEA: колонія повстиста, щільна або дуже щільна, колір білий, потім стає коричневим, реверзум спочатку безбарвний, з часом набуває темно-коричневого кольору, спостерігалось утворення коричневих крапель ексудату, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $1,60\pm 0,13$ % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу $0,08\pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $3,43\pm 0,51$ мг/г, продуктивність синтезу $4,78\pm 0,20$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $45,89\pm 1,06$ мг/г,
продуктивність синтезу $212,01\pm 4,89$ мг/л)

культуральна рідина (вміст $2,28\pm 0,35$ мг/г,

продуктивність синтезу $5,70\pm 0,88$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 8,61 % та *Lepidium sativum* на 42,84 %

Антиоксидантна активність: біомаса – 66,39±1,30 %,
культуральна рідина – 20,08±0,87 %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021

ПАСПОРТ *PHOLIOTA SUBOCHRACEA* 2535

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Pholiota subochracea (A.H. Sm.) A.H. Sm. & Hesler, The North American species of *Pholiota*: 153 (1968)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Strophariaceae, *Pholiota*

Номер штаму: 2535

Ізолював: Аль-Маалі Г. А.

Зібрав: Аль-Маалі Г. А.

Дата: 2017

Ідентифікував: Придюк М. П.

Дата: 2017

Локалітет: Україна, Київська обл., с. Кийлів

Географічні координати: 50°08'59" пн. ш. 30°53'22" сх. д.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна) ← Аль-Маалі Г. А.

Мікроморфологічні ознаки: пряжки, анастомози, гіфальні кільця, кристали, міцеліальні плівки

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: конідіальне спороношення, хламідоспори

Умови культивування:

Середовища: MEA, ГПДА

Швидкість радіального росту: середовище ГПДА: $1,80 \pm 0,17$ мм/добу

середовище MEA: $1,60 \pm 0,15$ мм/добу

Оптимальне значення рН живильного середовища ГПД для накопичення біомаси: 6,39

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 38 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія колоній: на середовищі ГПДА: колонія пухнасто-повстиста, щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, з часом жовтіє, реверзум колонії безбарвний, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

на середовищі MEA: колонія клочкувато-повстиста, щільна, характер росту вегетативного міцелію – зональний, колір білий, з часом набуває жовтих, коричневих відтінків, реверзум колонії безбарвний, спостерігалось утворення великої кількості жовтих крапель ексудату, край притиснутий з перистою зовнішньою лінією з виступами

Особливості:

Синтез ендополісахаридів:

біомаса (вміст $1,44 \pm 0,10$ % від сухої біомаси,
продуктивність синтезу $0,55 \pm 0,00$ г/л)

Синтез тритерпенових кислот ланостанового типу:

біомаса (вміст $13,24 \pm 0,58$ мг/г, продуктивність синтезу $5,96 \pm 0,12$ г/л)

Синтез фенольних сполук:

біомаса (вміст $35,06 \pm 0,58$ мг/г,
продуктивність синтезу $133,91 \pm 2,22$ мг/л)

культуральна рідина (вміст $4,50 \pm 0,47$ мг/г,
продуктивність синтезу $11,25 \pm 1,18$ мг/л)

Антимікробна активність: ні

Алелопатична активність: біомаса пригнічує ріст проростків *Cucumis sativus* на 87,04 % та *Lepidium sativum* на 91,8 %

Антиоксидантна активність: біомаса – $68,85 \pm 1,37$ %,
культуральна рідина – $7,37 \pm 0,46$ %

Перелік публікацій, в яких використовується штам: Regeda, Бісько, 2019;
Regeda, Bisko, 2019; Regeda, Bisko, 2020; Regeda, Bisko, Al-Maali, 2021