

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

**БОНДАРУК СВІТЛАНА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК 582.284:58.04

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**БІОТРАНСФОРМАЦІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН  
ЧИСТИМИ КУЛЬТУРАМИ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ**

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

С. В. Бондарук

Науковий керівник Аль-Маалі Галєб Аднанович, кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г.  
Холодного НАН України

Київ – 2026

## АНОТАЦІЯ

**Бондарук С. В. Біотрансформація біологічно активних речовин чистими культурами базидієвих грибів** – 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, 2026.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню біотрансформації біологічно активних речовин міцелієм обраних штамів видів базидієвих грибів: *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Laricifomes officinalis* 2497, 2498, 5004, *Pleurotus ostreatus* 297, *Schizophyllum commune* 1768, 1769. Для досягнення цієї мети було обрано такі речовини (ксенобіотики): 2,6-дихлоранілін, 3,5-дихлоранілін, адамантан, адамантан-1-ол, адамантан-2-ол, диклофенак, напроксен, N-фенілциклогексанкарбоксамід, N-циклогексилбензамід та N-циклопентилбензамід. Для забезпечення відтворюваності та стабільності процесів біотрансформації було проведено додаткові дослідження для верифікації обраних культур із Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), вивчення процесу накопичення грибної біомаси в умовах глибинного культивування з метою визначення оптимального часу внесення ксенобіотиків, впливу виду субстрату на тривале зберігання міцелію базидієвих грибів при низьких температурах та підбір умов глибинного культивування для збільшення концентрації біомаси трьох штамів *L. officinalis*.

Для проведення експериментальної роботи було обрано дев'ять штамів п'яти видів базидієвих грибів, виділених з плодових тіл, що росли на хвойних породах дерев, із Колекції культур шапинкових грибів (ІВК). Для восьми штамів за допомогою методів молекулярної біології здійснено верифікацію культур на основі двох ядерних ділянок: внутрішнього транскрибованого спейсера ядерної рДНК та генів, що кодують другу субодиницю РНК-полімерази II. Для двох

представників роду *Ganoderma* додатково було проведено молекулярні дослідження із використанням специфічних для цього роду праймерів. Отримані нуклеотидні послідовності було використано для побудови філогенетичних дерев із залученням нуклеотидних послідовностей інших представників досліджених родів, депонованих у міжнародній базі даних GenBank. Підтверджено видову приналежність восьми штамів базидієвих грибів; штами ІВК 1848 та 2566 переідентифіковано як штами *G. sichuanense*.

Вивчено вплив виду субстрату на тривале кріозберігання міцелію обраних штамів базидієвих грибів. Відмічено, що на етапі підготовки міцелію до кріозберігання міцелій досліджених штамів швидше обростає зерновий субстрат, ніж дерев'яний. Однак міцелій окремих штамів, таких як *F. pinicola* 361 та *S. commune* 1769, краще зберігав життєздатність при використанні дерев'яного субстрату, тоді як для міцелію решти досліджених штамів кращим був зерновий субстрат, що проявлялося у розмірі колонії та радіальній швидкості росту міцелію після 1 року кріозберігання.

Досліджено процес залежності накопичення біомаси від часу для обраних штамів видів базидієвих грибів, оскільки цей параметр є важливим для визначення часу внесення ксенобіотика при процесі біотрансформації. Відповідно до отриманих результатів для кожного штаму визначено час внесення досліджених ксенобіотиків у грибну культуру, що відповідає кінцю експоненційної фази росту міцелію. Для міцелію штамів *P. ostreatus* 297 та *S. commune* 1769 – це 4-та доба глибинного культивування, *S. commune* 1768 – 5-та доба, *G. sichuanense* 2566 та 1848 – 7-ма доба, *L. officinalis* 2497 – 20-та доба, а для *L. officinalis* 2498 та 5004 – 30-та доба.

Оскільки міцелій трьох штамів *L. officinalis* характеризувався повільнішою швидкістю росту під час глибинного культивування порівняно із рештою обраних штамів, проведено удосконалення процесу глибинного культивування міцелію цих штамів, що полягало у зміні рН живильного середовища та додаванні лецитину до складу живильного середовища. Встановлено, що зміна початкового рівня рН живильного середовища із 6,0 до 2,0 збільшувала

концентрацію біомаси у два рази. Додавання лецитину до складу живильного середовища та зниження початкового рівня рН до 2,0 збільшувало концентрацію отриманої біомаси у дев'ять разів, а додавання лецитину до складу живильного середовища без зміни його рН підвищувало концентрацію біомаси у тринадцять разів. Встановлено, що концентрація лецитину 20 мл/л у складі живильного середовища сприяє отриманню найбільшої концентрації біомаси штамів цього виду. Ми вперше повідомляємо про позитивний ефект від додавання лецитину до складу живильного середовища на накопичення біомаси *L. officinalis*.

Уперше наведено дані, що міцелій штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297 здатний до деградації N-циклогексилбензаміду. Для міцелію всіх досліджених штамів, крім двох штамів *S. commune* 1768 та 1769, встановлено утворення N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензаміду. Міцелій штаму *P. ostreatus* 297 проявив високу стеріоселективність у біотрансформації N-циклогексилбензаміду, оскільки на відміну від інших штамів при метаболізмі вказаної сполуки утворювався лише один стереоізомер, що є надзвичайно важливою властивістю при біотрансформації біологічно активних речовин при розробці методів біокаталізу та «зеленої хімії». Проте ця стереоселективність не відбувалася при перетворенні N-циклопентилбензаміду до N-(3-гідроксициклопентил)бензаміду та N-(2-гідроксициклопентил)бензаміду.

Дослідження біотрансформації N-циклогексилбензаміду та N-фенілциклогексанкарбоксаміду проводилися із використанням міцелію штаму *L. officinalis* 2498, вирощеного на стандартному глюкозо-пептон-дріжджовому живильному середовищі та на модифікованому живильному середовищі, що додатково містило лецитин. Однак, одержані результати не демонструють доцільність використання модифікованого живильного середовища з лецитином при проведенні біотрансформації ксенобіотиків, оскільки присутність лецитину суттєво впливає на подальші етапи виділення та очищення отриманих метаболітів, а кількість утвореного метаболіту була вищою при використанні стандартного живильного середовища.

Встановлено, що міцелії штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297 успішно здійснюють біотрансформацію 2,6- та 3,5-дихлоранілінів. Рівень деградації 2,6- дихлораніліну становив від  $97,56 \pm 2,04$  до  $99,85 \pm 0,05$  % залежно від штаму, а рівень біодеградації 3,5-дихлораніліну був нижчим – від  $83,95 \pm 5,05$  до  $95,32$  % залежно від штаму. Це свідчить про вплив положення хлору у молекулі на процес біотрансформації різних ізоформ дихлораніліну.

Уперше нами повідомляється про біотрансформацію 3,5-дихлораніліну в 3,5-дихлороацетанілід, 4-аміно-2,6-дихлоранілін, 2-аміно-4,6-дихлорфенол, 3,5-дихлорфенол та 3,5-дихлорнітробензол міцелієм базидіоміцетів. Утворення 3,5-дихлорнітробензолу та 3,5-дихлороацетаніліду відбувалося у результаті біотрансформації вказаної сполуки за участі міцелію штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297. Крім того, міцелій штаму *F. pinicola* 361 також утворював ряд гідроксильованих метаболітів вихідної речовини: 2-аміно-4,6-дихлорфенол, 4-аміно-2,6-дихлорфенол, 5-аміно-2,3-дихлорфенол та 3,5-дихлорфенол. Однак під час біотрансформації цієї речовини міцелієм інших штамів видів ці метаболіти не утворювалися, що може бути пов'язане з значенням рН культуральної рідини під час глибинного культивування міцелію штаму *F. pinicola* 361, що відрізняється від решти досліджених штамів.

Утворення гідроксильованого метаболіту – 4-аміно-3,5-дихлорфенолу – встановлено у результаті біотрансформації 2,6-дихлораніліну міцелієм штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566 та 1848, тоді як для решти досліджених штамів, за умов дослідження, виявити метаболіти не вдалося. Вперше повідомляється про утворення 4-аміно-3,5-дихлорфенолу у результаті біотрансформації 2,6-дихлораніліну міцелієм базидієвих грибів.

Досліджено здатність міцелію штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297 до біотрансформації напроксену. Рівень деградації напроксену міцелієм досліджених штамів коливався від 78,1 до 97,1 % залежно від штаму, що свідчить

про високу здатність міцелію вказаних штамів до деградації цієї сполуки. Утворення гідроксинапроксену було встановлено для міцелію чотирьох штамів базидієвих грибів: *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498 та *S. commune* 1769. Біотрансформація напроксену до деметилнапроксену здійснено міцелієм п'яти штамів трьох видів базидієвих грибів: *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004 та *S. commune* 1769. Відсутність цих метаболітів для решти штамів при значному зниженні концентрації вихідної сполуки свідчить про наявність додаткових шляхів подальшої біотрансформації утворених метаболітів з досить високою швидкістю, що потребує подальших детальних досліджень.

Здійснено аналіз біотрансформації диклофенаку міцелієм штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297 з показником деградації від 55,6 до 92,3 %. Вперше встановлено утворення 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2Н-індол-2-ону та 1-(2,6-дихлорфеніл)-5-гідрокси-1,3-дигідро-2Н-індол-2-ону під час біотрансформації диклофенаку міцелієм штамів базидієвих грибів *L. officinalis* 2498, 5004 та *F. pinicola* 361. Перетворення диклофенаку на гідроксидиклофенак здійснювалося міцелієм таких штамів: *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297 та *S. commune* 1769. А утворення 1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-ону виявлено лише для міцелію штамів *L. officinalis* 2498 та 5004.

Визначено, що біотрансформацію адамантану на адамантанол здійснює лише міцелій шести досліджених штамів базидієвих грибів: *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498, 5004 та *P. ostreatus* 297. Міцелій штаму *L. officinalis* 2498 характеризувався здатністю утворювати найбільшу кількість адамантанолу уже на 4-ту добу після внесення ксенобіотика. Однак міцелій цього штаму не біотрансформував адамантан-1-ол та адамантан-2-ол.

У підсумку, було проведено комплексну роботу, яка включала верифікацію обраних грибних культур, підбір умов довготривалого зберігання міцелію обраних культур і дослідження динаміки накопичення біомаси обраних штамів видів базидієвих грибів. Одержані результати дозволили дослідити

біотрансформацію десяти речовин міцелієм обраних штамів видів базидієвих грибів та отримати результати, що свідчать про перспективу використання міцелію досліджених базидієвих грибів у біотрансформації ксенобіотиків.

Ключові слова: Basidiomycota, *Fomitopsis pinicola*, *Laricifomes officinalis*, *Pleurotus ostreatus*, Polyporales, біорізноманіття, вирощування, гриби, екстракт, збереження, метаболіти, міцелій, параметри росту, філогенія, хроматографія

## SUMMARY

Bondaruk S.V. Biotransformation of biologically active compounds by pure culture of basidiomycetes– Qualifying scientific work, manuscript.

Thesis for a PhD, Program Subject Area 091 Biology. – M. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, Kyiv, 2026

The dissertation focuses on the biotransformation of biologically active substances by the mycelium of selected basidiomycete strains: *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Laricifomes officinalis* 2497, 2498, 5004, *Pleurotus ostreatus* 297, *Schizophyllum commune* 1768, 1769. To achieve this goal, the following compounds were used for investigation: 2,6-dichloroaniline, 3,5-dichloroaniline, adamantane, adamantan-1-ol, adamantan-2-ol, diclofenac, naproxen, N-phenylcyclohexanecarboxamide, N-cyclohexylbenzamide, and N-cyclopentylbenzamide. To ensure the reproducibility and stability of biotransformation processes, additional studies were conducted to: verify selected cultures from the IBK Mushroom Culture Collection; study the process of fungal biomass accumulation during submerged cultivation to determine the optimal time for xenobiotic application; evaluate the effect of substrate type on long-term storage of basidiomycete mycelium at low temperatures; and selection of submerged cultivation conditions to increase the biomass concentration of three strains of *L. officinalis*.

For the experimental work, nine strains of five species of basidiomycetes isolated from fruit bodies growing on conifers were selected from the IBK Mushroom Culture Collection. For eight strains, using molecular biology methods, cultures were verified based on two nuclear regions: the internal transcribed spacer region and the second subunit of RNA polymerase II region. For two representatives of the genus *Ganoderma*, additional studies were carried out using primers specific to this genus. The obtained nucleotide sequences were used to construct phylogenetic trees with the involvement of nucleotide sequences of other representatives of the studied genera deposited in the international GenBank database. The species identity of eight

basidiomycete strains was confirmed; strains IBK 1848 and 2566 were reidentified as *G. sichuanense*.

The influence of substrate type on the long-term cryopreservation of mycelium of selected basidiomycete strains was investigated. It was noted that at the stage of preparing the mycelium for cryopreservation, the mycelium of the studied strains grows faster on a grain substrate than on a wooden one. However, according to colony size and radial growth rates, the mycelia of some strains, *F. pinicola* 361 and *S. commune* 1769, better preserved viability after one year of cryopreservation on a wooden substrate, whereas the grain substrate was better for the mycelium of the rest of the studied strains.

The dependence of biomass accumulation on time for selected strains of basidiomycetes was investigated, as this is an essential parameter for determining the time of xenobiotics' introduction in the biotransformation process. According to the obtained results, the time of introduction of the studied xenobiotics into the mushroom culture for further submerged cultivation was determined for each strain. This time corresponded to the end of the exponential phase of active mycelial growth. For the mycelium of strains *P. ostreatus* 297 and *S. commune* 1769 it was the 4th day of submerged cultivation; *S. commune* 1768 – the 5th day; *G. sichuanense* 2566 and 1848 – the 7th day; *L. officinalis* 2497 – the 20th day, and for *L. officinalis* 2498 and 5004 – the 30th day.

Since the mycelium of three strains of *L. officinalis* was characterized by a slower growth rate during submerged cultivation compared to the mycelium of the rest of the selected strains, the process of the submerged cultivation of the mycelium of these strains was improved, which consisted in changing the pH of the nutrient medium and adding lecithin to the composition of the standard nutrient medium. It was found that changing the initial pH level of the nutrient medium from 6,0 to 2,0 increased the biomass concentration twofold. Both adding lecithin to the nutrient medium and lowering the initial pH to 2,0 increased the concentration of the resulting biomass ninefold, but only adding lecithin to the nutrient medium without changing its pH increased the biomass concentration thirteenfold. It was established that the lecithin

concentration of 20 ml/l in the composition of the nutrient medium contributes to the highest concentration of obtained biomass of strains of this species. For the first time, we report the positive effect of adding lecithin to the culture medium on the biomass accumulation of strains of *L. officinalis*.

For the first time, data shows that the mycelium of strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498, *S. commune* 1768, 1769, and *P. ostreatus* 297 is capable of degrading N-cyclohexylbenzamide. The formation of N-(4-hydroxy-cyclohexyl)-benzamide was shown for the mycelium of all studied strains, except for two strains of *S. commune* 1768 and 1769. The mycelium of the strain *P. ostreatus* 297 demonstrated high stereoselectivity in the biotransformation of N-cyclohexylbenzamide, because, unlike the mycelium of other strains, during the metabolism of this compound, only one stereoisomer was formed. This property of the mycelium is extremely important for the biotransformation of biologically active substances and for the development of methods in biocatalysis and “green chemistry”. However, this stereoselectivity did not occur in the biotransformation of N-cyclopentylbenzamide to N-(3-hydroxycyclopentyl)benzamide and N-(2-hydroxycyclopentyl)benzamide.

Studies of the biotransformation of N-cyclohexylbenzamide and N-phenylcyclohexanecarboxamide were carried out using mycelium of strain *L. officinalis* 2498, grown on a standard glucose-peptone-yeast nutrient medium and on a modified nutrient medium that additionally contained lecithin. However, the obtained results do not demonstrate the expediency of using a modified nutrient medium with lecithin for the biotransformation of xenobiotics, since the presence of lecithin significantly affects the following stages of isolation and purification of the obtained metabolites, and the amount of the formed metabolite was higher when a standard nutrient medium was used.

It was established that the mycelium of strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, *S. commune* 1768, 1769, and *P. ostreatus* 297 successfully biotransformed 2,6- and 3,5-dichloroaniline. The rate of degradation of 2,6-dichloroaniline was from  $97,56 \pm 2,04$  to  $99,85 \pm 0,05\%$  depending on the strain, and

the level of degradation of 3,5-dichloroaniline was lower – from 83,95±5,05 to 95,32% depending on the strain. This demonstrates the effect of the position of chlorine on the process of biotransformation of different isoforms of dichloroaniline.

For the first time, we report on the biotransformation of 3,5-dichloroaniline into 3,5-dichloroacetanilide, 4-amino-2,6-dichloroaniline, 2-amino-4,6-dichlorophenol, 3,5-dichlorophenol, and 3,5-dichloronitrobenzene by the mycelium of basidiomycetes. The formation of 3,5-dichloronitrobenzene and 3,5-dichloroacetanilide occurred as a result of biotransformation of this compound with the participation of the mycelium of the strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *S. commune* 1768, 1769, and *P. ostreatus* 297. In addition, the mycelium of the strain *F. pinicola* 361 also formed a number of hydroxylated metabolites of the initial substance: 2-amino-4,6-dichlorophenol, 4-amino-2,6-dichlorophenol, 5-amino-2,3-dichlorophenol, and 3,5-dichlorophenol. However, during the biotransformation of this substance by the mycelium of other species, these metabolites were not formed, which may be related to the pH value of the culture medium during the submerged cultivation of the mycelium of strain *F. pinicola* 361, which is different from the rest of the studied strains.

The formation of a hydroxylated metabolite – 4-amino-3,5-dichlorophenol – was established as a result of the biotransformation of 2,6-dichloroaniline by the mycelium of strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566 and 1848, while for the rest of the investigated strains under the studied conditions, formation of metabolites was not detected. We report for the first time on the formation of 4-amino-3,5-dichlorophenol as a result of the biotransformation of 2,6-dichloroaniline by the mycelium of basidiomycetes.

The ability of the mycelium of strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, *S. commune* 1768, 1769, and *P. ostreatus* 297 to biotransform naproxen was investigated. The level of naproxen degradation by the mycelium of the studied strains ranged from 78,1 to 97,1%, depending on the strain, which indicates the high ability of the mycelium of these strains to degrade this compound. The formation of hydroxynaproxen was established for the mycelium of

four strains of basidiomycetes: *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498, and *S. commune* 1769. The biotransformation of naproxen to demethylnaproxen was carried out by the mycelium of five strains of three species of basidiomycetes: *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, and *S. commune* 1769. The absence of these metabolites for other strains with a significant decrease in the concentration of the studied compound indicates a possible presence of additional pathways for further biotransformation of the formed metabolites at a fairly high rate, which requires additional detailed studies.

An analysis of the biotransformation of diclofenac by the mycelium of strains *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, *S. commune* 1768, 1769, and *P. ostreatus* 297 was carried out with a degradation rate from 55,6 to 92,3%. For the first time, the formation of 1-(2,6-dichloro-4-hydroxyphenyl)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one and 1-(2,6-dichlorophenyl)-5-hydroxy-1,3-dihydro-2H-indol-2-one were established during the biotransformation of diclofenac by the mycelium of the strains *L. officinalis* 2498, 5004, and *F. pinicola* 361. The conversion of diclofenac to hydroxydiclofenac was carried out by the mycelium of the following strains: *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297, and *S. commune* 1769. And the formation of 1-(2,6-dichlorophenyl)indolin-2-one was detected only for the mycelium of *L. officinalis* strains 2498 and 5004.

It was determined that the biotransformation of adamantane into adamantanol is carried out only by the mycelium of six studied strains of basidiomycetes: *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498, 5004, and *P. ostreatus* 297. The mycelium of the strain *L. officinalis* 2498 was characterized by the best results of adamantol formation already on the 4th day after introduction of the xenobiotic. However, the mycelium of this strain did not biotransform adamantan-1-ol and adamantan-2-ol.

In conclusion, comprehensive work was carried out, which included the verification of selected fungi cultures, the selection of conditions for long-term storage of mycelium of selected strains, and the dynamics of biomass accumulation of selected

strains of basidiomycete species. These results allowed us to investigate the biotransformation of ten compounds by the mycelium of selected basidiomycete strains, indicating the prospects for using the mycelium of the studied basidiomycota in biotransformation.

Keywords: Basidiomycota, biodiversity, chromatography, conservation, cultivation, extract, *Fomitopsis pinicola*, fungi, growth parameters, *Laricifomes officinalis*, metabolites, mycelium, phylogeny, *Pleurotus ostreatus*, Polyporales

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Статті в наукових виданнях, що індексовані у наукометричній базі даних Scopus

1. **Bondaruk S.V.**, Korzh R.A., Al-Maali G.A. 2025. Biotransformation of xenobiotics by mycelium of *Laricifomes officinalis* (Polyporales, Basidiomycota). *Ukrainian Botanical Journal*, 82(4): 336–344.

<https://doi.org/10.15407/ukrbotj82.04.336>

Внесок авторів: С.В. Бондарук – концептуалізація, одержання експериментальних даних та їх аналіз, написання оригінального рукопису; Р.А. Корж – проведення аналітичної хроматографії, Г.А. Аль-Маалі – концептуалізація, методологія, редагування, фінальне затвердження рукопису.

2. **Bondaruk S.V.**, Bulava S.O., Korzh R.A., Lesyk D.S., Polovynko V.V., Fedyk A.V., Al-Maali G.A. 2025. Biotransformation of 2,6-dichloroaniline and 3,5-dichloroaniline by the mycelium of basidiomycetes. *Ukrainian Botanical Journal*, 82(6): 594–603.

<https://doi.org/10.15407/ukrbotj82.06.594>

Внесок авторів: С.В. Бондарук – концептуалізація, одержання експериментальних даних, їх аналіз, написання оригінального рукопису; С.О. Булава – допомога у проведенні експериментального дослідження; Р.А. Корж – проведення аналітичної хроматографії; Д.С. Лесик – проведення препаративної хроматографії; В.В. Половинка – проведення ЯМР-спектроскопії; А.В. Федик – синтез речовин; Г.А. Аль-Маалі – концептуалізація, методологія, редагування, фінальне затвердження рукопису.

### Статті в наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України

1. **Бондарук, С., & Аль-Маалі, Г.** 2025. Вплив субстрату на кріозберігання міцелію дереворуйнівних базидіоміцетів.

Внесок авторів: С.В. Бондарук – концептуалізація, одержання експериментальних даних та їх аналіз, написання оригінального рукопису; Г.А. Аль-Маалі – концептуалізація, методологія, редагування, фінальне затвердження рукопису.

### **Публікації в матеріалах доповідей наукових конференцій**

1. **Бондарук С.В.**, Булава С.О., Аль-Маалі Г.А. 2022. Дослідження біотрансформації дихлоранілінів базидієвими грибами. *Матеріали IV Науково-практичної конференції PLANTA+. Наука, практика та освіта з міжнародною участю*, 1 (с. 156–157).  
*Особистий внесок: одержання експериментальних даних, їх аналіз, підготовка тексту тез.*
2. **Бондарук С.В.**, Булава С.О., Аль-Маалі Г.А. 2023. Дослідження біотрансформації адамантану чистими культурами базидієвих грибів. *Матеріали міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології»*. (с. 49).  
*Особистий внесок: одержання експериментальних даних, їх аналіз, підготовка тексту тез.*
3. Al-Maali G., Volovenko O., Lesyk D., Korzh R., **Bondaruk S.**, Velbovets A., Fedyk A., Borysko P., Ryabukhin S., Volochnyuk D. 2025. Biotransformation of bicyclic amides by *Cunninghamella elegans*. *Biotrans 17th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations*. (p. 192).  
*Особистий внесок: одержання експериментальних даних, їх аналіз.*
4. **Bondaruk S.V.**, Korzh R.A., Al-Maali G.A. 2025. The biotransformation of naproxen by the mycelium of wood decay basidiomycetes. *Матеріали міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології»*. (с. 58).

*Особистий внесок: одержання експериментальних даних, їх аналіз,  
підготовка тексту тез.*

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ ЗАСАДИ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ У ГРИБІВ .....	25
1.1. Еволюція змісту та сучасна інтерпретація терміну «біотрансформація» і суміжних понять.....	25
1.2. Особливості процесів біотрансформації у різних груп організмів.....	30
1.3. Роль грибних ферментів у біотрансформації ксенобіотиків .....	33
1.4. Використання базидієвих грибів у біотрансформації різних типів ксенобіотиків .....	37
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ .....	45
2.1. Штами.....	45
2.2. Реактиви .....	45
2.3. Склад живильних середовищ.....	46
2.4. Молекулярно-генетичні дослідження .....	47
2.4.1. Виділення грибної ДНК та електрофорез в агарозному гелі .....	47
2.4.2. Ампліфікація фрагментів ДНК, очищення ПЛР-продуктів та секвенування.....	48
2.4.3. Філогенетичний аналіз .....	50
2.5. Кріозберігання міцелію базидієвих грибів.....	51
2.6. Отримання інокулюму для глибинного культивування міцелію базидієвих грибів .....	52
2.7. Оцінка динаміки накопичення біомаси .....	53
2.8. Підбір умов культивування для накопичення біомаси обраних штамів <i>Laricifomes officinalis</i> .....	53
2.8.1. Дослідження впливу лецитину у складі живильного середовища на концентрацію глюкози після глибинного культивування .....	54
2.9. Дослідження біотрансформації ксенобіотиків.....	54
2.9.1. Глибинне культивування.....	54
2.9.2. Екстрагування метаболітів.....	56

2.9.3. Аналіз отриманих метаболітів.....	56
2.10. Статистична обробка .....	61
РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	62
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ НАКОПИЧЕННЯ МІЦЕЛІАЛЬНОЇ БІОМАСИ ОБРАНИХ ШТАМІВ ВИДІВ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ.....	80
4.1. Динаміка накопичення біомаси дереворуйнівних базидієвих грибів при глибинному культивуванні .....	80
4.2. Вплив модифікації складу живильного середовища на параметри росту міцелію штамів <i>Laricifomes officinalis</i> в умовах глибинного культивування ..	87
РОЗДІЛ 5. КРІОЗБЕРІГАННЯ МІЦЕЛІЮ ДЕРЕВОРУЙНІВНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ .....	94
5.1. Оцінка обростання міцелієм різних субстратів перед кріозберіганням міцелію .....	95
5.2. Відновлення життєдіяльності міцелію після кріозберігання .....	98
РОЗДІЛ 6. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ЦИКЛІЧНИХ АМІДІВ МІЦЕЛІЄМ ДЕРЕВОРУЙНІВНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ.....	105
РОЗДІЛ 7. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ДИХЛОРАНІЛІНІВ МІЦЕЛІЄМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ ПІД ЧАС ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ .....	112
РОЗДІЛ 8. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ АКТИВНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ МІЦЕЛІЄМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ .....	121
РОЗДІЛ 9. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ АДАМАНТАНУ МІЦЕЛІЄМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ .....	128
РОЗДІЛ 10. АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	134
ВИСНОВКИ.....	143
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	146
ДОДАТОК А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ .....	199
ДОДАТОК Б. ХРОМАТОГРАМИ ДОСЛІДЖЕНИХ ЗРАЗКІВ.....	201

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Базидієві гриби є надзвичайно різноманітною групою організмів, однак найважливішими серед їх представників вважаються базидієві дереворуйнівні гриби, які не лише активно використовуються для промислового вирощування (Hyde et al., 2019), а й є популярними біологічними агентами із цінними біологічними властивостями (Vieira Gomes et al., 2019). У природних умовах однією з головних екологічних функцій дереворуйнівних базидієвих грибів є розклад лігніну і целюлози, основних компонентів деревини, на прості сполуки. Це не тільки сприяє ґрунтоутворенню, але й створює умови для росту нових рослин, що є критично важливим для відновлення і підтримки лісових екосистем. Однак зі зростанням інтересу до вивчення властивостей базидієвих грибів, що роблять їх невід’ємною частиною екосистеми, стали очевидними можливості їх іншого промислового та біотехнологічного використання. Значна увага дослідників приділяється вивченню базидієвих грибів як джерела біологічно активних речовин; так, зокрема, активно досліджуються різноманітні грибні полісахариди, терпени, фенольні сполуки та інші метаболіти (Bleha et al., 2022; Kozarski et al., 2024). Антибактеріальні та антифунгальні властивості також перебувають у центрі наукових досліджень серед широкого спектру біологічних властивостей базидієвих грибів (Ramos et al., 2025; Santos et al., 2026). Перелік можливостей використання цих грибів розширюється, зокрема, повідомляється, що екстракти плодових тіл дереворуйнівних грибів є ефективними в захисті саджанців рослин від патогенів (Waszczuk et al., 2022). Однак їх біологічна активність насамперед пов’язана з продукцією різноманітних окислювальних ферментів, що беруть участь у деградації лігніну, целюлози, геміцелюлози, широкого спектру фенольних сполук, терпеноїдів та інших біологічно активних речовин, які містяться в рослинних тканинах. Тому надзвичайно актуальними є дослідження, спрямовані на вивчення додаткових способів використання цієї здатності, зокрема біотрансформації активних фармацевтичних інгредієнтів та їх структурних одиниць.

Значний інтерес протягом останніх десятиліть було повернуто до біотрансформації так званих забруднювачів, що викликають занепокоєння (стійкі хімічні сполуки, пестициди та активні фармацевтичні інгредієнти), оскільки накопичення цих речовин у навколишньому середовищі може призводити до негативних наслідків як для природи та екосистем, головним чином через зміну вмісту хімічних речовин у ґрунті, що сприяє зміні кругообігу речовин, так і для людей, збільшуючи ризики антибіотикорезистентності, виникнення гормональних порушень та інших довготривалих наслідків (X. Li et al., 2024). Міцелій базидієвих грибів є досить ефективним у видаленні забруднюючих речовин, що характеризуються складною хімічною структурою, у тому числі поліциклічних ароматичних вуглеводнів та хлорвмісних сполук, яких стає все більше серед представлених на ринку пестицидів та лікарських засобів (Jayaraj et al., 2016; Wan Mohtar et al., 2022). Проте, незважаючи на широке різноманіття видів дереворуйнівних базидієвих грибів, лише для вузького переліку їх представників проведено дослідження із впливу грибного міцелію на ксенобіотики, однак ефективні результати біотрансформації цих сполук представниками базидієвих грибів свідчать про необхідність у розширенні переліку видів та/або штамів базидієвих грибів здатних до перетворення різноманітних забруднювачів навколишнього середовища різної хімічної будови.

З огляду на наведену вище інформацію, дослідження здатності міцелію чистих культур базидієвих дереворуйнівних грибів до біотрансформації біологічно активних речовин є актуальним.

**Мета роботи** – дослідити особливості процесу біотрансформації ксенобіотиків міцелієм представників базидієвих грибів під час їх глибинного культивування.

Для досягнення поставленої мети сформульовано такі **завдання**:

1. Верифікувати за допомогою методів молекулярної біології обрані штами видів базидієвих дереворуйнівних грибів, виділених із хвойних

порід деревини, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (ІВК).

2. Підібрати варіанти довготривалого зберігання міцелію обраних штамів видів базидієвих грибів із Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (ІВК).
3. Дослідити динаміку накопичення міцеліальної біомаси обраних штамів видів базидієвих грибів для визначення часу для внесення ксенобіотиків і провести підбір умов культивування для повільно зростаючих штамів.
4. Дослідити здатність міцелію базидієвих грибів до біотрансформації біциклічних амідів.
5. Оцінити здатність міцелію базидієвих грибів до біотрансформації 2,6- та 3,5-дихлораніліну.
6. Дослідити біотрансформацію активних фармацевтичних інгредієнтів міцелієм обраних штамів видів базидієвих грибів.
7. Здійснити дослідження біотрансформації адамантану міцелієм обраних штамів видів базидієвих грибів.

**Об'єкт** дослідження – біологічна властивість міцелію чистих культур базидієвих грибів.

**Предмет** дослідження – особливості біотрансформації біологічно активних речовин міцелієм 9 штамів 5 видів базидієвих грибів.

**Методи дослідження.** Для виконання поставлених завдань було застосовано загальноприйнятні мікологічні, мікробіологічні, молекулярно-генетичні, фізіолого-біохімічні та хіміко-аналітичні методи, у тому числі газова та високоефективна рідинна хроматографія, мас-спектрометрія та спектроскопія ядерно-магнітного резонансу, а також методи статистичної обробки результатів.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше проведено дослідження здатності міцелію дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів до біотрансформації ряду ксенобіотиків різної хімічної будови, як алифатичної, так і ароматичної природи. Це перше повідомлення про біотрансформацію

ксенобіотиків з використанням міцелію штамів таких видів базидієвих грибів: *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma sichuanense*, *Laricifomes officinalis* та *Schizophyllum commune*. Відзначено перспективність використання міцелію з метою отримання гідроксильованих метаболітів вихідних речовин, а також виявлено зменшення концентрації досліджуваних речовин у культуральній рідині за участі міцелію досліджених штамів видів базидієвих грибів.

Уперше проведено дослідження впливу зерна ячменю на довготривале зберігання міцелію дев'яти штамів п'яти видів дереворуйнівних базидієвих грибів при низькій температурі. Це перше повідомлення про криозберігання міцелію штамів двох видів базидієвих грибів: *Fomitopsis pinicola* та *Ganoderma sichuanense*. Наведено нові дані про вплив додавання соняшникового лецитину на накопичення міцеліальної біомаси трьох штамів *Laricifomes officinalis* при глибинному культивуванні на рідкому живильному середовищі.

**Практичне значення отриманих результатів.** Було встановлено здатність міцелію усіх дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів до біотрансформації досліджених ксенобіотиків. Досліджено шляхи біотрансформації досліджуваних сполук міцелієм базидієвих грибів. Одержані результати розширюють знання про властивості міцелію дереворуйнівних базидієвих грибів та можуть бути використані в біотехнології для отримання цінних метаболітів із використанням міцелію базидієвих грибів або для біоремедіації навколишнього середовища від забруднювачів.

Додатково, з метою забезпечення якості та сталості процесу біотрансформації, верифіковано методами молекулярної біології вісім штамів п'яти видів базидієвих грибів із Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (ІВК). Одержані нуклеотидні послідовності депоновано до міжнародної бази даних GenBank із присвоєнням номерів доступу. Модифіковано метод довготривалого зберігання міцелію дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів. Встановлено позитивний вплив додавання соняшникового лецитину до складу живильного середовища на збільшення концентрації біомаси трьох штамів *Laricifomes officinalis*, представлених у

Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (ІВК). Встановлено скорочення тривалості глибинного культивування досліджених штамів *L. officinalis* удвічі порівно із стандартною процедурою їх глибинного культивування. Вказані результати можуть бути використані у біотехнологічних процесах, пов'язаних як з біотрансформацією, так і з більшим переліком завдань, метою яких може бути отримання біомаси досліджених штамів або цінних біологічно активних речовин.

**Особистий внесок.** Робота є самостійним дослідженням здобувача. Дисертанткою проведено аналіз наукової літератури, виконано основну частину експериментальних досліджень, проведено обробку та аналіз отриманих результатів, сформульовано основні положення та висновки.

Планування експериментальних дослідження та обговорення одержаних даних проведено за участі наукового керівника к.б.н. Г. А. Аль-Маалі з висвітленням отриманих результатів у спільних публікаціях.

**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 № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК (№ державної реєстрації – 0120U101111)» та № 492 «Наукові засади застосування чистих культур грибів колекції ІВК для біотрансформації синтетичних хімічних сполук та лікарської сировини рослинного походження (№ державної реєстрації – 0125U001329)».

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації представлені та обговорені на засіданнях відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, IV Науково-практичній конференції «PLANTA+. Наука, практика та освіта» з міжнародною участю (Київ, 2023), Міжнародній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Івано-Франківськ, 2023; Київ, 2025) та Biotrans 17th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations (Базель, 2025).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 3 статті у періодичних фахових виданнях України, 2 з яких у журналі, що індексується наукометричною базою даних SCOPUS, а також 4 тез доповідей у наукових збірниках вищезазначених конференцій.

**Обсяг і структура роботи.** Дисертація складається зі вступу, 10 розділів, висновків, списку використаних джерел, який містить 368 посилань, та двох додатків. Загальний обсяг роботи складає 210 сторінок. Основна частина дисертації викладена на 127 сторінках, містить 32 рисунки та 15 таблиць.

*Авторка висловлює щире подяку науковому керівнику к.б.н. Аль-Маалі Г. А., всім співробітникам відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, а також співробітниці відділу фікології, ліхенології та бріології д.б.н. Михайлюк Т. І за допомогу у проведенні молекулярно-генетичних досліджень. Висловлюється подяка Лесику Д. С. та Коржу Р.А. за допомогу у проведенні вискоєфективної рідинної хроматографії, Воловенко О.Б за допомогу у проведенні хіральної хроматографії, Половинці В.В. за допомогу із проведення спектроскопії ядерно-магнітного резонансу, Давиденко К.В. та Мироничевій О.С. за допомогу у проведенні молекулярно-генетичних досліджень.*

## РОЗДІЛ 1

### ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ ЗАСАДИ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ У ГРИБІВ

#### 1.1. Еволюція змісту та сучасна інтерпретація терміну «біотрансформація» і суміжних понять

Повідомляється, що вперше дослідження біотрансформації було проведено у 1937 р. (Smitha & Singh, 2017), Однак уперше термін «біотрансформація» було використано лише у 1953 році в загальному значенні перетворення хімічних сполук у живих системах. Протягом 1950–1960 рр. термін активно використовувався для опису метаболічних змін активних фармацевтичних інгредієнтів в живих організмах. Подальший розвиток цього терміну у різних біологічних дисциплінах, зокрема мікробіології та екології, призвів до появи відмінностей у інтерпретації терміну «біотрансформація». Наразі найбільш поширеними варіантами розуміння терміну «біотрансформація» є такі:

- Біотрансформація – це хімічна реакція, що каталізується мікробними клітинами (які ростуть або знаходяться в стані спокою) або ферментами, виділеними з мікроорганізмів (Pervaiz et al., 2013).
- Біотрансформація – це структурна модифікація хімічної сполуки організмами/ферментними системами, яка призводить до утворення молекул з відносно більшою полярністю (Smitha & Singh, 2017).
- Біотрансформацією є перетворення невеликої частини хімічної молекули за допомогою біологічної системи (Dave et al., 2014).
- Біотрансформація – це специфічна модифікація певної сполуки до окремого продукту зі структурною подібністю за допомогою біологічних каталізаторів, включаючи мікроорганізми, такі як гриби (Negazy et al., 2015).

- Біотрансформація – це процес, за допомогою якого органічні сполуки перетворюються з однієї форми в іншу, щоб зменшити стійкість і токсичність хімічних сполук (El-Aasr et al., 2021).
- Біотрансформація – це перетворення токсичних ксенобіотиків на менш токсичні метаболіти з подальшим утворенням кон'югантів (Mahanayak, 2024).
- Біотрансформація – це метаболічний процес, який відбувається головним чином у печінці та допомагає полегшити виведення як екзогенних, так і ендогенних речовин (Phang-Lyn & Llerena, 2025).

Як видно з наведеного вище, розбіжності стосуються того, які живі організми здійснюють такий процес. Деякі науковці розглядають лише біотрансформацію за участі ссавців, тоді як інші зазначають, що процес біотрансформації властивий усім живим організмам. Загалом, необхідно зазначити, що всі автори погоджуються з тим, що результатом біотрансформації є перетворення вихідної сполуки на менш токсичні метаболіти. У роботі використовується, на нашу думку, найбільш точне визначення поняття біотрансформації, наведене Міжнародним союзом чистої та прикладної хімії IUPAC, згідно якого біотрансформація – це будь-яке хімічне перетворення речовин, що відбувається за допомогою живих організмів або ферментних препаратів, отримуваних з них (Duffus, 1993).

Разом із терміном «біотрансформація» важливо також розуміти визначення таких термінів, як біодеградація, біоремедіація та ксенобіотик. Поняття «ксенобіотик» походить від грецького слова *xenos*, значення якого – «чужорідний» або «дивний»; ксенобіотики – це органічні сполуки, що мають нетипові структурні характеристики та є чужорідними для клітинного метаболізму (Torres-Farrad et al., 2024). Вперше цей термін використав доктор Говард Мейсон у 1964 р. як загальне поняття, що включає будь-яку хімічну речовину, яка є зовнішньою відносно метаболізму певного живого організму. (Hodgson, 2010). Тобто, це сполуки, які природним чином не виробляються певними живими організмами, проте можуть зустрічатися в цих живих

організмах (Vorpatragohain et al., 2019). До ксенобіотиків, зокрема, відносяться агрохімікати, активні фармацевтичні інгредієнти, косметичні речовини та інші сполуки синтетичного походження. Крім того, такі синтетичні хімічні речовини мають дуже складні хімічні структури та стійкі до фотодеградації та біодеградації за участі мікроорганізмів (Amobonye et al., 2023; Khan et al., 2023; Torres-Farradá et al., 2024).

Досить часто біотрансформацію розглядають як перший етап біодеградації речовин, що забруднюють навколишнє середовище, а іноді їх навіть помилково вважають тотожними, через те, що одні й ті ж самі ферменти залучені до цих двох процесів (Galvão et al., 2005; Zhang et al., 2021). Тому важливим є правильне розуміння різниці між процесами біотрансформації та біодеградації. Визначення поняття біодеградації так само, як і поняття біотрансформації, може трактуватися по-різному. На думку одних дослідників, біодеградація – це розкладання органічних речовин на поживні речовини живими організмами, яке відбувається без шкідливого впливу на навколишнє середовище (Barh et al., 2019). Інші дослідники розуміють біодеградацію як процес перетворення шкідливих органічних забруднювачів на нетоксичні або природні неорганічні сполуки, такі як діоксид карбону та вода, що є безпечними для людей, тварин, рослин та водних організмів (Bala et al., 2022). Загалом визначення поняття біодеградації можливе як у широкому, так і у вузькому розумінні. Наприклад, широким є розуміння біодеградації біодеградабельних полімерів, що визначається як хімічне розкладання речовини, яке відбувається завдяки ферментативній роботі мікроорганізмів, що призводить до зміни у хімічному складі, механічних та структурних властивостей, а також утворення продуктів метаболізму, які є екологічно чистими, такими як метан, вода та біомаса (Samir et al., 2022). Вузьким є розуміння біодеградації як процесу розщеплення органічних хімічних речовин живими організмами на менші компоненти (Crawford, 2011). Як видно із наведених вище прикладів, розбіжності у розумінні визначення поняття «біодеградація» є меншими, порівняно із попереднім терміном. Як правило, вони стосуються того, чи призводить біодеградація до

повного розкладання вихідної речовини до простих молекул, таких як вода та вуглекислий газ, чи лише до нетоксичних для навколишнього середовища сполук. Уніфіковане визначення біодеградації наведено Міжнародним союзом чистої та прикладної хімії (IUPAC): «Біодеградація – це розкладання речовини, каталізоване ферментами *in vitro* або *in vivo*. Задля оцінки небезпеки її можна охарактеризувати як:

- первинну (зміна хімічної структури речовини, що призводить до втрати певної властивості даної речовини);
- екологічно прийнятну (біодеградація до моменту усунення шкідливої властивості сполуки);
- кінцеву (повне розкладання сполуки до повністю окислених або відновлених простих молекул)» (Duffus, 1993).

Таким чином, хоча основні характеристики цих понять схожі, проте біотрансформація є початковим етапом біодеградації, оскільки метаболіти, що утворюються у процесі біотрансформації мінімально змінюються структурно, однак при цьому стають менш стійкими і завдяки цьому можлива більш ефективна деградація вихідних сполук. Як правило, під біодеградацією розуміють повніше розкладання вихідної речовини, за якого спостерігається утворення повністю окислених або відновлених простих молекул. У природних умовах біотрансформація відбувається повільніше, порівняно із лабораторними умовами. Цей процес має значення як для зниження токсичності сполук, так і для синтезу певних сполук.

Біоремедіація – це загальний термін для біологічно опосередкованих процесів, під час яких ксенобіотик трансформується, деградує та/або повністю видаляється з екосистеми (Vaksmaa et al., 2023). Виділяють чотири етапи, завдяки яким біоремедіація докільця може відбуватися за участю грибів. Вони можуть бути незалежними або синергічними. Першим етапом є поглинання ксенобіотика із навколишнього середовища грибними гіфами та їх іммобілізація. У результаті цього етапу молекули ксенобіотиків потрапляють у грибну клітину. Подальший етап включає виробництво активних форм кисню, у вигляді

супероксиду, пероксидази та гідроксилактивних радикалів. Третій етап стосується експресії синтезу низки ферментів, зокрема пероксидази, фенолоксидази та лакази. Четвертий етап представлений внутрішньоклітинним комплексом цитохромоксидаз (Akerman-Sanchez & Rojas-Jimenez, 2021; Amobonye et al., 2023). Явище біоремедіації за участі грибів також називають мікоремедіацією (Akhtar & Mannan, 2020; Akpasi et al., 2023). Мікоремедіація є дешевим, екологічно чистим та простим рішенням для перетворення ксенобіотиків у нетоксичні форми (Barh et al., 2019).

Необхідність вивчення біоремедіації зумовлена накопиченням ксенобіотиків у навколишньому середовищі у результаті людської діяльності та низькою ефективністю видалення таких сполук наявними очисними спорудами (Sobral et al., 2025; Vergili et al., 2019). Видалення ксенобіотиків із навколишнього середовища можливе за допомогою різних фізичних та хімічних процесів, проте їх вартість є високою, а також присутня ймовірність утворення токсичних побічних продуктів. Біоремедіація не має таких недоліків, тому може стати ефективним способом боротьби із ксенобіотиками навколишнього середовища. Особлива увага до мікоремедіації зумовлена особливістю морфології грибів, яка дозволяє даним живим організмам швидко поглинати забруднюючі речовини із навколишнього середовища, а також наявністю універсальних ферментів, які можуть взаємодіяти із різними хімічними сполуками (Daâssi et al., 2025).

Слід зазначити, що поняття «біоремедіація» та «біотрансформація», хоч і є пов'язаними, проте мають різне значення. Біотрансформація – це процес зміни структури речовини під дією живих організмів, тоді як біоремедіація описує практичне використання даного процесу. Зокрема, метою біотрансформації є отримання модифікованої речовини, тоді як мета біоремедіації полягає у очищенні довкілля від ксенобіотиків шляхом використання певних груп живих організмів. Варто також додати, що біоремедіація залежить від процесу біотрансформації, проте зворотна залежність відсутня, оскільки біотрансформацію можуть використовувати лише з метою отримання певної

хімічної сполуки, що не супроводжуватиметься впливом на навколишнє середовище, тоді як для видалення ксенобіотика із навколишнього середовища живий організм повинен мати здатність до біотрансформації, тобто біотрансформація, як механізм, є основою для біоремедіації. Проте у роботах деяких авторів значення термінів «біоремедіація» та «біодеградація» частково перетинаються або навіть заміщують розуміння терміну «біотрансформація».

Таким чином, біотрансформація є перспективним напрямком для досліджень, проте для кращого розуміння сфер застосування біотрансформації хімічних сполук грибами необхідний більш детальний опис процесу біотрансформації ксенобіотиків.

## **1.2. Особливості процесів біотрансформації у різних груп організмів**

Процес біотрансформації ксенобіотиків поділяють на дві фази: фаза I, або несинтетичні реакції, та фаза II, або синтетичні реакції (Maharajak, 2024). Загалом, у результаті реакцій першої фази біотрансформації відбувається модифікація молекули ксенобіотика шляхом додавання функціональної групи (наприклад -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH) або певних перебудов, за рахунок яких ця група стає доступною для таких реакцій (наприклад O- та N-деалкілування), а під час реакцій другої по описаних новостворених позиціях відбувається утворення кон'югантів між модифікованим ксенобіотиком та великими полярними молекулами, які є більш розчинними порівняно із вихідною сполукою. Описані хімічні перебудови, здебільшого, призводять до утворення метаболітів, які, порівняно із вихідною речовиною, є більш водорозчинними.

До реакцій першої фази належать реакції окиснення та гідроксилування (під час даного процесу один атом молекулярного кисню відновлюється до води, а інший вбудовується в молекулу ксенобіотика), відновлення (у результаті реакції до молекули ксенобіотика приєднується електрон) та гідроліз (процес руйнування молекули ксенобіотика на менші молекули шляхом додавання молекули води). До реакцій першої фази процесу біотрансформації залучені такі ферменти: цитохром P450, флавінвісна монооксигеназа, оксидази, пероксидази, алкогольдегідрогеназа та інші (Testa, 2008). Основним результатом

цієї фази є введення полярних функціональних груп у неполярні молекули. Слід додати, що дослідження першої фази біотрансформації є важливим для вивчення активних фармацевтичних інгредієнтів, для яких не встановлено наявності активних метаболітів, а також проліків, які активуються різними механізмами, наприклад розщепленням, оскільки це дозволить краще зрозуміти їх метаболізм живими організмами (Testa & Pannatier, 2012).

Як зазначено вище, до реакцій другої фази належать кон'югація з глюкуроною кислотою, сульфатом, метильною групою, амінокислотами, глутатіоном, а також ацетилювання (Mahanayak, 2024; Pietrzak et al., 2025; Yashavarddhan et al., 2021). Утворені таким шляхом кон'югати, як правило, є більш гідрофільними порівняно із вихідною сполукою. Реакції другої фази біотрансформації здійснюються такими ферментами: уридин-5-дифосфатглюкуронілтрансфераза, сульфотрансфераза, N-ацетилтрансфераза, глутатіон-S-трансфераза та різні типи метилтрансфераз (Jancova et al., 2010). Проведені реакції кон'югації призводять до утворення ковалентного зв'язку або між функціональною групою вихідної сполуки (без необхідності проведення реакцій першої фази за умови наявності даних груп у сполуці) або між метаболітом першої фази та ендогенно отриманими глюкуроною кислотою, сульфатом, глутатіоном, амінокислотами або ацетатом (Iyanagi, 2007).

Процес біотрансформації є загальнобіологічним, зокрема здатність до біотрансформації описана для бактерій, одноклітинних водоростей та грибів, оскільки ці живі організми добре поширені у навколишньому середовищі, є важливими учасниками екосистем та можуть поглинати різноманітні ксенобіотики із навколишнього середовища. Біотрансформація з використанням одноклітинних водоростей є альтернативним варіантом очищення стічних вод, оскільки у природних умовах при рості у водному середовищі мікроводорості залучені до процесів знешкодження забруднювачів. Проте використання мікроводоростей має суттєвий недолік, пов'язаний із необхідністю складного режиму освітлення для росту водоростей. Хоча повідомляється про здатність одноклітинних водоростей до біотрансформації антибіотиків, механізми цих

процесів та роль ферментів все ще досліджуються (Cao et al., 2025; Chu et al., 2022; Frascaroli et al., 2024; Lage et al., 2019).

На відміну від біотрансформації ксенобіотиків одноклітинними водоростями, бактеріальна біотрансформація є більш дослідженою, оскільки ці мікроорганізми заселяють різні екологічні ніші, де вони можуть виконувати роль редуцентів. Зокрема, повідомляється, що бактерії, які живуть у кишечнику людини, здатні до біотрансформації природних сполук (Zhao et al., 2022). Однак гриби є більш ефективними у біотрансформації ксенобіотиків, особливо стійких до деградації, у порівнянні із бактеріальною біотрансформацією (Domaradzka et al., 2015). Це пов'язано із наявністю різних ферментів у згаданих живих організмах, які перетворюють ксенобіотики різними метаболічними шляхами, що відомо, наприклад, у випадку біотрансформації фенольних кислот (Lu et al., 2025). Крім того, на прикладі інсектициду хлорпірифосу продемонстровано, що у результаті біотрансформації за участі бактерій частіше утворюються більш токсичні метаболіти, ніж при грибній біотрансформації (Supreeth & Raju, 2017). Крім того, біотрансформація за участю грибів може стати одним із етапів синтезу певних активних фармацевтичних інгредієнтів. Зокрема, повідомляється, що іммобілізована міцеліальна маса *Fomes fomentarius* (L.) Fr. трансформує у три етапи ортоамінофенол у речовину, подібну до феноксазину, яка може мати ряд цінних біологічних властивостей (Polak & Jarosz-Wilkolazka, 2010). Інший базидіоміцет *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. біотрансформує гінзенозид Rb1 до семи рідкісних гінзенозидів з новими структурами (Gao et al., 2024). Усе це демонструє цінність вивчення біотрансформації ксенобіотиків грибами завдяки перспективам отримання біотехнологічно цінних речовин.

Гриби, як редуценти, виконують важливу роль у деструкції різноманітних сполук у навколишньому середовищі, тому завдяки їх морфологічній структурі та біохімічним особливостям стає можливим використання цих організмів у біотрансформації. Катіраван А. та Дж. Гнанадосс висловили думку, що здатність базидієвих грибів до біотрансформації ксенобіотиків залежить від їх здатності до розкладання лігніну, оскільки структура лігніну схожа на структуру різних

ксенобіотиків (Kathiravan & Joel Gnanadoss, 2021). Наприклад, для базидієвого гриба *Emmia lacerata* (N. Maek., Suhara & R. Kondo) F. Wu, Jia J. Chen & Y.C. Dai (= *Irpex laceratus* (N. Maek., Suhara & R. Kondo) C. Chih Chen & Sheng H. Wu) описано здатність до розкладу фенантрени та бензантрацену навіть за присутності важких металів. Авторами також зазначено роботу лігнінолітичних ферментів у процесі деградації вказаних токсичних сполук (Hkiri et al., 2023). Біотрансформація мономерів, схожих за будовою на лігніноцелюлозу, також описана для *Dichomitus squalens* (P. Karst.) D.A. Reid. Для цього базидієвого гриба встановлено індукування синтезу певних лігнінолітичних ферментів протягом процесу біотрансформації ароматичних сполук (Kowalczyk et al., 2019). Повідомляється, що схожі механізми, які гриби використовують для розкладання лігніну, також можуть відбуватися в процесі їх росту на текстильних виробках. Встановлено, що дереворуйнівний гриб *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm. здатний ефективно розкладати барвники у складі текстильних виробів (Harper & Moody, 2023).

Таким чином, завдяки наявності лігнінолітичних ферментів гриби можуть бути залучені до процесів біотрансформації та біоремедіації різноманітних сполук.

### **1.3. Роль грибних ферментів у біотрансформації ксенобіотиків**

У зв'язку з тим, що гриби виконують ключову роль у розкладанні органічної речовини, їх потенціал у біотрансформації широко досліджується, оскільки вони мають набір ферментів, який дозволяє біотрансформувати широкий спектр ксенобіотиків (Chen et al., 2023; Ningombam et al., 2025; Zhuo & Fan, 2021). Грибна біотрансформація є ефективним біотехнологічним інструментом для видалення ксенобіотиків із навколишнього середовища за допомогою роботи таких ферментів, як лакази, лігнін та манган пероксидази, цитохромоксидази P450 та інші. Ці ферменти виконують відновлення, окислення, гідроксилування, дегалогенування, дегідрування, дезамінування ксенобіотиків тощо (Narayanan et al., 2022; Santos et al., 2012; Silva et al., 2019). Особливостями біотрансформації за участі грибів, що свідчать про ефективність

даного методу, особливо у природних умовах, є: менша чутливість до токсичної дії ксенобіотиків порівняно із іншими організмами, здатність грибних клітин виживати в умовах дефіциту поживних речовин та низька чутливість до факторів навколишнього середовища (температури, рН, вологості) (Dinakarkumar et al., 2024; Komorowicz et al., 2023). Проте більш ефективного процесу біотрансформації можна досягти у лабораторних умовах за підтримки контрольованих умов, зокрема рН живильного середовища та наявності або відсутності перемішування (Silva et al., 2019). Наприклад, встановлено, що максимальна активність манганпероксидази, синтезованої *Phanerochaete chrysosporium* Burds., характерна на 5–6-ту добу, а на її ефективність у біодеградації карбамазепіну та диклофенаку впливають рівень рН та концентрація пероксиду водню (Zhang & Geissen, 2010). Міцелій *Irpex consors* Berk.(=*Cerrena zonata* (Berk.) H.S. Yuan) у процесі росту на живильному середовищі, що містить лігносульфонати кальцію, характеризується високою пероксидазною активністю (Imami et al., 2015). Це свідчить, що біотрансформація за участі грибів є високоефективною при забрудненнях особливо стійкими, токсичними та складнодеградуючими речовинами.

Таким чином, використання дереворуйнівних грибів у біотрансформації ксенобіотиків зумовлене наявністю у них ферментних систем, які здатні метаболізувати органічні ксенобіотики до нешкідливих метаболітів або навіть до повного розкладання вихідної речовини. Найбільш вивченими ферментами грибів, які залучені до процесів біотрансформації, є:

1. Лаказа (EC 1.10.3.2) – це фермент, що відноситься до класу оксидаз, містить мідь у ролі кофактора та каталізує окиснення широкого спектру органічних ароматичних речовин, зокрема фенольних сполук, що включають полімерний лігнін та гумінові речовини (Rivera-Hoyos et al., 2013; Viswanath et al., 2014). Для синтезу цих ферментів важлива наявність перемішування при глибинному культивуванні (Viswanath et al., 2014). Механізм дії ферменту полягає в окисненні хімічного субстрату при одночасному відновленні молекулярного кисню до води.

Участь лаказ у біотрансформації встановлено для таких базидієвих грибів: *Coriolopsis gallica* (Fr.) Ryvarden (Ben Ayed et al., 2022), *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Deng et al., 2022), *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. (Sá et al., 2024), *Marasmius cladophyllus* Berk. (Sing et al., 2017), *Myceliophthora thermophila* (Apinis) Oorschot (= *Thermothelomyces thermophilus* (Apinis) Y. Marín) (Vera et al., 2019), *Phlebia floridensis* Nakasone & Burds. (Hoyos et al., 2023), *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill (Rodríguez-Delgado et al., 2016), *Trametes hirsuta* (Fr.) Pilát (Pattu et al., 2024), *T. versicolor* (L.) Lloyd (Casas et al., 2009; Lzaod & Dutta, 2022; Nowak et al., 2021) та для інших видів. Усе більшого поширення набуває процес біодеградації за участі ізольованих та очищених лаказ грибного походження, продуцентом яких найчастіше є чисті культури *T. versicolor* (Chenthamara et al., 2022; Lzaod & Dutta, 2022). Зокрема, для таких лаказ уже встановлено здатність розкладати індометацин, напроксен (Tran et al., 2010), диклофенак, триметроприн, карбамазепін (Alharbi et al., 2019), гормони, наприклад, естрогени та андрогени (Becker et al., 2017), ацетамінофен (Flórez-Restrepo et al., 2025) та бісфенол А (Uber et al., 2025).

2. Пероксидази – це ферменти, які використовують перекис водню для каталізу окислення різних органічних сполук. У грибів є як внутрішньоклітинні так і позаклітинні (секреторні) пероксидази. Найбільш відомими грибними пероксидазами є лігнін пероксидаза та манган пероксидаза, що належать до позаклітинних пероксидаз (Conesa et al., 2002). Манган пероксидаза (EC 1.11.1.13) є глікопротеїном, який має 350 амінокислотних залишків та одну молекулу гему, як простетичну групу, та каталізує окислення марганцю (II)  $Mn^{2+}$  до марганцю (III)  $Mn^{3+}$  з використання пероксиду водню як акцептора електронів (Saikia et al., 2023). Лігнін пероксидаза (EC 1.11.1.14) – це позаклітинний гемвмісний фермент, що здатний розщеплювати ефірні

(C–O–C) та вуглецеві зв'язки (C–C) (Singh et al., 2024). Роботу пероксидаз під час біотрансформації описано для таких базидієвих грибів: *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (Rybczyńska-Tkaczyk, 2022), *Cerrena unicolor* (Bull.) Murrill (Zhang et al., 2020), *Ganoderma lucidum* (Agrawal et al., 2018), *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (Tsujiyama et al., 2013), *Phlebia acanthocystis* Gilb. & Nakasone (= *Hydnophlebia acanthocystis* (Gilb. & Nakasone) C.L. Zhao) (Xiao & Kondo, 2020a), *Peniophora incarnata* (Pers.) P. Karst. (Lee et al., 2015), *Phanerochaete chrysosporium* (Manimekalai & Swaminathan, 2000), *Pleurotus ostreatus* (Maadani Mallak et al., 2020), *P. pulmonarius* (Fr.) Quél. (Chelaliche et al., 2021) та для інших видів базидієвих грибів.

3. Цитохроми P450 – це внутрішньоклітинні гемвімісні ферменти, що належать до класу оксигеназ, які здатні каталізувати окиснення різних сполук органічного та синтетичного походження (Chen et al., 2014). Для представників базидієвих грибів встановлено наявність значної кількості цитохромоксидаз (Chen et al., 2014; Syed et al., 2014). Грибні цитохромоксидази беруть участь у біосинтезі різних вторинних метаболітів, відграють певну роль у адаптації, патогенності, розкладанні та біотрансформації хімічних речовин природного та синтетичного походження. Ці ферменти каталізують реакції гідроксилювання, епоксидування, дегалогенування, декарбоксілювання, деметилювання, денітрифікації та інші (Wang et al., 2024). Участь цитохромоксидаз P450 під час біотрансформації ксенобіотиків описано для таких представників базидієвих грибів: *Lenzites gibbosa* (Pers.) Hemmi (= *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr.) (Zhang et al., 2022), *Phanerochaete chrysosporium* (Coelho-Moreira et al., 2013; Mori et al., 2021), *P. sordida* (P. Karst.) J. Erikss. & Ryvarden (Wang et al., 2012), *Phlebia brevispora* Nakasone (= *Phlebicolorata brevispora* (Nakasone) C.L. Zhao), *P. lindtneri* (Pilát) Parmasto (= *Meruliella lindtneri* (Pilát) S.H. He, Yue Li & Nakasone) (Xiao & Kondo, 2020b), *Postia placenta* (Fr.) M.J.

Larsen & Lombard (= *Rhodonia placenta* (Fr.) Niemelä, K.H. Larss. & Schigel) (Ichinose, 2013; Ide et al., 2012), *Pycnoporus sanguineus* (Feng et al., 2021) та для інших видів базидієвих грибів.

Грибні ферменти виконують різні функції та мають різноманітне практичне застосування. Оскільки у природних умовах дані ферменти залучені до розкладання складних органічних сполук, вони є перспективними об'єктами для деградації синтетичних сполук. У більшості базидієвих грибів наявні різні групи ферментів, які залучені до процесів деградації ксенобіотиків, зокрема таких, які вважаються стійкими до біодеградації. Хоча у біотрансформації можливе використання окремих ферментів, наприклад, лаказ, проте значно ефективнішим є використання грибних клітин, оскільки вони містять цілий комплекс ферментів, які можуть спільно розкладати хімічні сполуки і при цьому буде спостерігатись висока активність декількох груп ферментів (Thulasinathan et al., 2021). Найбільш важливим даний фактор є при дослідженні біотрансформації раніше не досліджуваних сполук.

#### **1.4. Використання базидієвих грибів у біотрансформації різних типів ксенобіотиків**

Дереворуйнівні базидієві гриби здатні досить ефективно як біотрансформувати, так і біодеградувати різні забруднювачі навколишнього середовища. Це пояснюється декількома причинами. По-перше, дані гриби експресують лігнінолітичні ферменти, які є неспецифічними, тому здатні окислювати не тільки лігнін, а й ряд інших органічних сполук, зокрема фенольні сполуки (Gałazka et al., 2025). По-друге, грибні ферменти не зазнають сильної шкоди від наявності високих концентрацій активних форм кисню, а навіть навпаки, є стійкими до таких умов. По-третє, дереворуйнівні базидієві гриби володіють специфічними механізмами детоксифікації від надлишку активних форм кисню, як-от наявність ферментів супероксиддисмутази та каталази. По-четверте, наявність, крім лігнінолітичних ферментів, системи цитохромів P450 монооксигенази (Cheute et al., 2024). Усі ці фактори впливають на їх активне та

різностороннє використання для біотрансформації різних типів ксенобіотиків, зокрема перспективним є використання грибів для очищення стічних вод від різних типів забруднювачів (Beltrán-Flores et al., 2020; del Álamo et al., 2022; Jureczko & Przysłaś, 2021; Mir-Tutusaus et al., 2017; Tormo-Budowski et al., 2021).

Як зазначалося вище, до ксенобіотиків належать агрохімікати, зокрема пестициди, які є одними із найпоширеніших видів забруднювачів навколишнього середовища. Пестициди – це природні або хімічно синтезовані сполуки, що використовуються для боротьби із різними шкідниками рослин. Це різноманітна група сполук, до якої належать інсектециди, гербіциди, нематоциди, фунгіциди, регулятори росту рослин та інші сполуки (Pathak et al., 2022). Загальновідомо, що використання пестицидів стало невід’ємним етапом у отриманні продуктів харчування, оскільки їх використання захищає рослини від шкідників та патогенів та призводить до підвищення врожайності сільськогосподарських культур. Незважаючи на великі переваги використання таких речовин, надмірне використання сполук даного типу призводить до їх накопичення у навколишньому середовищі та спостерігається вплив на нецільові організми (Pathak et al., 2022; Schleiffer & Speiser, 2022). Завдяки здатності пестицидів накопичуватись у навколишньому середовищі 64% світових сільськогосподарських угідь перебувають під загрозою забруднення більше ніж однією активною речовиною, яка входить до складу пестицидів, тоді як 31% – перебуває у зоні високого ризику, оскільки перебувають під загрозою забруднення більше як трьома активними речовинами (Tang et al., 2021). Рішенням для очищення таких територій є біотрансформація, оскільки даний процес призводить до перетворення гідрофобних та хімічно стійких сполук пестицидів на більш гідрофільні та здебільшого менш токсичні метаболіти, що в подальшому призводить до їх повного виведення із навколишнього середовища. Повідомляється, що міцелій представників роду *Phlebia*, у тому числі *P. aurea* (Fr.) Nakasone (= *Mycoacia aurea* (Fr.) J. Erikss. & Ryvardeen), здатні перетворювати такі стійкі пестициди, як альдрин та дільдрин, з періодом напіврозпаду понад 1 рік на гідроксильовані метаболіти, що дозволить зменшити тривалість їх

розкладання (Xiao et al., 2011a). Проте варто детально досліджувати продукти біотрансформації, оскільки іноді можливе утворення продуктів із більшою токсичністю порівняно із вихідною сполукою. Прикладом є утворення більш токсичних оксонових похідних при біотрансформації хлорпірифозу за допомогою цитохромоксидази P450 (Choi et al., 2006; Wang et al., 2010). Однак при проведенні біотрансформації даного гербіциду за участі грибів утворення токсичних метаболітів практично не повідомляється, що свідчить про перспективність даного напрямку досліджень (Liu et al., 2018; Supreeth & Raju, 2017). Дослідження біотрансформації таких сполук, яке призводить до ідентифікації метаболітів, може дозволити зменшити використання потенційно небезпечних пестицидів. У табл. 1.1 наведено приклади біотрансформації різних пестицидів міцелієм різних видів дереворуйнівних базидієвих грибів, що знову підтверджує перспективу їх використання у таких дослідженнях.

Таблиця 1.1.

Огляд здатності міцелію базидієвих грибів до біотрансформації пестицидів

№, п/п	Вид	Ксенобіотик	Література
1	<i>Ganoderma lucidum</i>	Діурон	Coelho-Moreira et al., 2018
2	<i>Irpex consors</i> (= <i>Cerrena zonata</i> )	Диметенамід-П	Imami et al., 2016
3	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Атразин	Mougin et al., 1997
		Імідаклоприд	Zhu et al., 2023
		Тіаметоксам	Chen et al., 2021; Zhu et al., 2024
4	<i>Phanerochaete sordida</i>	Динотефуран	Wang et al., 2019
		Нітенпірам	Wang et al., 2019
		Ацетаміприд	Wang et al., 2012
5	<i>Phlebia aurea</i> (= <i>Mycoacia aurea</i> )	Хлордан	Xiao et al., 2011b
6	<i>Phlebia brevispora</i>	Хлордан	Xiao et al., 2011b
7	<i>Phlebia lindtneri</i>	Хлордан	Xiao et al., 2011b
8	<i>Trametes versicolor</i>	Ацетаміприд	Hu et al., 2022
		Імідаклоприд	Hu et al., 2022
		Малатіон	Hu et al., 2022

Як показано у табл. 1.1, базидієві гриби здатні біотрансформувати широкий перелік пестицидів, що активно застосовуються на світовому сільськогосподарському ринку. Завдяки широкому переліку ферментних систем

ці організми ефективно біотрансформують пестициди різної хімічної будови, у тому числі галогенвмісні. Це досить важливо, оскільки світовий ринок галогенвмісних пестицидів зростає, тому важливо розуміти механізми боротьби із накопиченням даних сполук у довкіллі та механізми їх метаболізації нецільовими організмами (Jeschke, 2022). Слід зазначити, що результати таких досліджень також відкривають можливості для використання грибних культур для біоремедіації ґрунтів та води.

Хоча дослідження біотрансформації пестицидів має важливе значення, не менш важливим є і дослідження біотрансформації інших активних фармацевтичних інгредієнтів, оскільки вони теж активно накопичуються у навколишньому середовищі (Mastrángelo et al., 2022; Zampelli & Verna, 2025). Добре відомо, що активні фармацевтичні інгредієнти можуть потрапляти у навколишнє середовище протягом усього життєвого циклу засобу, починаючи від виробництва та закінчуючи використанням людиною. Найлегше у навколишнє середовище потрапляють лікарські засоби місцевого використання, хоча і при пероральному використанні лікарський засіб не завжди метаболізується повністю в організмі людини, а частково виводиться із організму разом із виділеннями. Це спричинило активний пошук ефективних засобів для очищення стічних вод лікарень, що є надзвичайно важливим, оскільки наявні зараз очисні споруди не були розроблені для видалення, зокрема, антибіотиків, тому такі сполуки можуть потрапляти у водні екосистеми після проходження через такі споруди (Moreno-Barragán et al., 2023). Прикладом пошуку механізму для очищення забруднених вод є дослідження із використанням біомаси *Ganoderma resinaceum* Boud. та *Perenniporia fraxinea* (Bull.) Ryvarden. Повідомляється, що грибний міцелій вказаних видів базидієвих грибів ефективно розкладає кетопрофен та парацетамол уже через 24 години, а також азитроміцин, сульфаметоксазол та кларитроміцин у стічних водах з ефективністю від 70 до 100% (Buratti et al., 2023). Також повідомляється про практично повне розкладання протипухлинних препаратів за очищення стічних

вод, отриманих у лікарні, за участі міцелію *T. versicolor* (Ferrando-Climent et al., 2015).

Активні фармацевтичні інгредієнти є стабільними та стійкими при тривалому зберіганні, оскільки це важлива характеристика для їх використання. Проте це має негативний наслідок при потраплянні таких речовин у навколишнє середовище. Відомо про 631 активний фармацевтичний інгредієнт, який є забруднювачем навколишнього середовища. Найчастіше такими речовинами є антибіотики, протизапальні речовини, антидепресанти та речовини для лікування діабету (Ashfield et al., 2025). Як правило, такі сполуки використовуються практично кожного дня, а єдиним варіантом їх знешкодження є очисні споруди для стічних вод (Aladekoyi et al., 2024). Це також сприяє розвитку антибіотикорезистентності, тому наявність таких сполук у навколишньому середовищі потрібно зменшувати. Використання антибіотиків у тваринництві також сприяє поширенню антибіотикорезистентності (Caneschi et al., 2023).

Гриби, на відміну від бактерій, здатні біотрансформувати та навіть розкладати антибіотики, що особливо корисно у зв'язку із накопичення антибіотиків у навколишньому середовищі, що впливає на поширення антибіотикорезистентності (Akrouf et al., 2024; Ghariani et al., 2025; Mir-Tutusaus et al., 2017; Pattu et al., 2024). У процесі біотрансформації активних фармацевтичних інгредієнтів грибним міцелієм повідомляється про підвищення активності лакази, що свідчить про її залученість до біотрансформації ципрофлоксацину, тамоксифену, азатіоприну та етопозиду міцелієм *Trametes versicolor*. Крім того, після проходження процесу біотрансформації встановлено присутність двох гідроксильованих метаболітів тамоксифену (Ferrando-Climent et al., 2015). Повідомляється навіть про модифікацію антибіотиків у результаті роботи грибної лакази, що супроводжувалось підвищенням активності сульфаніламідних антибіотиків (Mikolasch & Hahn, 2021). У табл. 1.2 узагальнено інформацію про біотрансформацію лікарських речовин міцелієм базидієвих грибів.

Огляд здатності міцелію базидієвих грибів до біотрансформації активних фармацевтичних інгредієнтів.

№, п/п	Вид	Активний фармацевтичний інгредієнт	Література
1	<i>Coriolopsis gallica</i>	Левофлоксацин	Ben Ayed et al., 2022
		Тетрациклін	Ghariani et al., 2025
2	<i>Dichomitus squalens</i>	Флуміхін	Čvančarová et al., 2013
3	<i>Fomes fomentarius</i>	Блеоміцин	Jureczko et al., 2024
		Вінкристин	Jureczko et al., 2024
4	<i>Hypholoma fasciculare</i>	Блеоміцин	Jureczko et al., 2024
		Вінкристин	Jureczko et al., 2024
5	<i>Irpex lacteus</i>	Флуміхін	Čvančarová et al., 2013
6	<i>Lentinus sajor-caju</i>	Сульфаметоксазол	Sá et al., 2024
7	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Ібупрофен	Rodarte-Morales et al., 2012
8	<i>Phanerochaete sordida</i>	Локсопрофен	Yin et al., 2024
		Мефенамінова кислота	Hata et al., 2010
9	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Блеоміцин	Jureczko et al., 2024
		Вінкристин	Jureczko et al., 2024
		Карбамазепін	Buchicchio et al., 2016; Golan-Rozen et al., 2015
		Кларитроміцин	Buchicchio et al., 2016
		Кломіпрамін	Kózka et al., 2020
		Ламотриджин	Chefetz et al., 2019
		Сульфаметоксазол	Sá et al., 2024
		Цефтріаксон	Matinde et al., 2022
Ципрофлоксацин	Matinde et al., 2022		
10	<i>Postia placenta</i> (= <i>Rhodonía placenta</i> )	Триметоксистильбен	Ichinose, 2013
11	<i>Trametes versicolor</i>	Блеоміцин	Jureczko & Przystaś, 2021
		Вінкристин	Jureczko & Przystaś, 2021
		Флумехін	Čvančarová et al., 2013
		Ібупрофен	Marco-Urrea et al., 2009
		Карбамазепін	Marco-Urrea et al., 2009; Mir-Tutusaus et al., 2017
		Клофібринова кислота	Cruz-Morató et al., 2013
		Хлорамфенікол	Tan et al., 2023

Таким чином, дослідження біотрансформації активних фармацевтичних інгредієнтів інтенсивно досліджується. Як правило, більша частина досліджень спрямована на біотрансформацію антибіотиків, оскільки розвиток даного напрямку є надзвичайно важливим у боротьбі проти антибіотикорезистентності, а також це може стати ще одним способом синтезу антибіотиків, оскільки

повідомляється, що у окремих випадках отримані метаболіти теж проявляють антибактеріальні властивості. Загалом, біотрансформація різних типів лікарських речовин за участі міцелію базидієвих грибів відіграє важливу роль у розумінні їх метаболізму та деградації в навколишньому середовищі.

Слід зазначити, що хоча основними сполуками при дослідженні біотрансформації за участі грибів є пестициди та активні фармацевтичні інгредієнти, однак об'єктами деяких досліджень є речовини, які не відносяться до жодного із цих типів ксенобіотиків. Проте дослідження біотрансформації таких сполук має глибоке теоретичне значення для розуміння метаболізму описаних вище типів ксенобіотиків. Проте не менш важливим є дослідження біотрансформації сполук природного походження з певними біологічними властивостями, оскільки це може сприяти виявленню потенційних метаболітів із важливими характеристиками. Так, встановлено, що міцелій *Pleurotus ostreatus* здатний біотрансформувати широкопоширені у природі лактони швидше, ніж такі види грибів, як *Absidia cylindrospora* Hagem, *Penicillium vermiculatum* P.A. Dang. (= *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk & Samson) та *Syncephalastrum racemosum* Cohn. Крім того, даний базидієвий гриб здійснив перетворення двох лактонів на два гідроксилактони із додаванням гідроксигрупи у різні позиції, два епоксилактони та два епоксигідроксилактони. Утворення останніх сполук свідчить про особливості перебігу біотрансформації досліджуваних сполук за участі міцелію згаданого базидіоміцету, оскільки при дослідженні біотрансформації таких лактонів іншими нитчастими грибами утворення даних метаболітів не було виявлено. Перевагою біотрансформації обраних лактонів за участі *P. ostreatus* також стало підвищення антимікробної активності отриманих метаболітів (Grabarczyk et al., 2019; Wińska et al., 2017). Досліджують також біотрансформацію ароматичних вуглеводнів, наприклад, антрацену та фенантрону, алкалоїдів та терпеноїдів (Hadibarata et al., 2014; Khajehzadeh et al., 2024; Lee et al., 2015; Ying et al., 2019).

Втім, варто зазначити, що, хоча процес біотрансформації ксенобіотиків базидієвими грибами активно вивчається, проте перелік видів, досліджених у

межах висвітленого питання базидієвих грибів, є незначним порівняно із загальною кількістю видів дереворуйнівних базидієвих грибів. Тому вивчення біотрансформації ксенобіотиків міцелієм різних видів базидієвих грибів є актуальним, оскільки це сприятиме розширенню знань не лише про можливі шляхи деградації забруднювачів навколишнього середовища, а й про можливі нові галузі для застосування найбільш перспективних видів. Для виконання експериментальної роботи було використано міцелій штамів базидієвих грибів, виділених з плодових тіл, що росли на хвойних породах дерев, оскільки для хвойних дерев характерний високий вміст терпенів та фенольних сполук (Koraczyk et al., 2020; Szwajkowska-Michałek et al., 2020). Ці сполуки накопичуються в рослинах, зокрема, у вигляді смоли хвойних порід дерев. Тому дереворуйнівні гриби, що формують плодові тіла на цих деревах, потенційно володіють більш активними ферментними системами, які прийматимуть участь у деградації не лише лігніну та целюлози, а й різних вторинних метаболітів, що робить їх перспективними біологічними агентами для вивчення біотрансформації хімічних сполук синтетичного походження. Дослідження біотрансформації ксенобіотиків має не лише практичне значення, а й сприяє розширенню теоретичних знань, зокрема про роль замісників у молекулі ксенобіотику у метаболізмі сполуки. Вивчення біотрансформації модельних сполук різної хімічної будови сприяє виявленню певних закономірностей під час процесу біотрансформації, що матиме значення при розробці нових лікарських засобів, оскільки це дозволить спрогнозувати, у тому числі, яким чином буде відбуватись їх деградація у навколишньому середовищі.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

#### 2.1. Штами

Для проведення експериментальної частини роботи було використано 9 штамів 5 видів дереворуйнівних базидієвих грибів, виділених з плодових тіл, що росли на хвойних породах дерев, представлених у Колекції культур шапинкових грибів (IBK) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2024):

- *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst. штам 361;
- *Ganoderma sichuanense* J.D. Zhao & X.Q. Zhang штам 1848;
- *G. sichuanense* штам 2566;
- *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. & Pouzar штам 2497;
- *L. officinalis* штам 2498;
- *L. officinalis* штам 5004;
- *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. штам 297;
- *Schizophyllum commune* Fr. штам 1768;
- *S. commune* штам 1769.

#### 2.2. Реактиви

Агар мікробіологічний (Condalab, Іспанія); агароза (для електрофорезу, Cleaver Scientific, Велика Британія); адамантан (Enamine, Україна); адамантанол (Enamine, Україна); ацетонітрил HPLC (Chemsolute, Німеччина); гідроортофосфат калію ( $K_2HPO_4$ ) (Bio Basic Inc., Канада); гліцерол (Enamine, Україна); глюкоза (Enamine, Україна); диметилсульфоксид (ДМСО) (Sigma-Aldrich, США); дейтерований диметилсульфоксид (Sigma-Aldrich, США); диклофенак (Enamine, Україна); дріжджовий екстракт (Condalab, Іспанія); екстракт ячмінно-солодовий ЯСЕ-3 (Крохмалепродукти України, Україна); етилацетат (Enamine, Україна); калій фосфорнокислий однозаміщений ( $KH_2PO_4$ ) (Bio Basic Inc., Канада); калій фосфорнокислий двозаміщений ( $K_2HPO_4$ ) (Bio Basic Inc., Канада); колориметричні тест-смужки для визначення рівня глюкози

(Merck, Німеччина); магнію сульфат гептагідрат ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) (Bio Basic Inc., Канада); метанол (Sigma-Aldrich, Франція); мурашина кислота (Enamine, Україна); напроксен (Enamine, Україна); н-гексан (Sigma-Aldrich, Франція); пептон (Condalab, Іспанія); пропан-2-ол (Sigma-Aldrich, Франція); соняшниковий лецитин (Now Foods, США); сульфат натрію безводний (Enamine, Україна); трис-боратний буфер (Cleaver Scientific, Велика Британія); хлоридна кислота (Enamine, Україна); N-циклогексилбензамід (Enamine, Україна); N-фенілциклогексанкарбоксамід (Enamine, Україна); 2,6-дихлороанілін (Enamine, Україна); 3,5-дихлороанілін (Enamine, Україна); 2-аміно-4,6-дихлорофенол (Enamine, Україна); 4-аміно-2,6-дихлорофенол (Enamine, Україна); 4-аміно-3,5-дихлорофенол (Enamine, Україна); GSF (Biolegio, Нідерланди); CSL-Runsafe (Cleaver Scientific, Велика Британія); CSL-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU (Cleaver Scientific, Велика Британія); GSR (Biolegio, Нідерланди); DNA Clean & Concentrator™-25 (Zymo Research, США); DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, США); ITS1 (Metabion, Німеччина); ITS4 (Metabion, Німеччина); 7cR (Metabion, Німеччина); 5F2 (Metabion, Німеччина); Quick-DNA Fungal/Bacterial Kit™ (Zymo Research, США).

### 2.3. Склад живильних середовищ

Для виконання дисертаційної роботи використано такі живильні середовища:

- глюкозо-пептон-дріжджове рідке середовище (ГПД) такого складу, г/л: глюкоза – 25,0; дріжджовий екстракт – 3,0; пептон – 3,0;  $KH_2PO_4$  – 1,0;  $K_2HPO_4$  – 1,0;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,25; дистильована вода – до 1 л; рН 6,0;
- глюкозо-пептон-дріжджове агаризоване середовище (ГПДА) такого складу, г/л: глюкоза – 25,0; дріжджовий екстракт – 3,0; пептон – 3,0;  $KH_2PO_4$  – 1,0;  $K_2HPO_4$  – 1,0;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,25, агар – 20,0; дистильована вода – до 1 л;

- агаризоване пивне сусло (СА), такого складу: екстракт ячмінно-солодовий ЯСЕ-3, сахаристість 8° за Балінгом – 1л., агар – 20,0 г/л;
- модифіковане глюкозо-пептон-дріжджове рідке середовище було приготовано на основі ГПД з додаванням лецитину в різних концентраціях: 10, 15, 20 та 25 мл/л.

## 2.4. Молекулярно-генетичні дослідження

### 2.4.1. Виділення грибної ДНК та електрофорез в агарозному гелі

Для виділення загальної ДНК із міцелію обраних штамів видів базидієвих грибів було використано набір Quick-DNA Fungal/Bacterial Kit™ (Zymo Research, США). Методика виділення ДНК включала такі етапи:

1. Культивували грибний міцелій на чашках Петрі з середовищем ГПДА при  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 7 діб, крім штамів *L. officinalis*, для яких тривалість вирощування становила 28 діб.
2. Від 50 до 100 мкг вологої грибної біомаси, ресуспендованої у 200 мкл води, вносили у ZR BashingBead™ Lysis Tube .
3. До вмісту пробірок додавали 750 мкл BashingBead™ Buffer та інтенсивно перемішували вміст протягом 20 хв.
4. ZR BashingBead™ Lysis Tube центрифугували на мікроцентрифузі при  $10000 \times g$  протягом 1 хв.
5. 400 мкл отриманого супернатанту переносили на Zymo-Spin™ III-F Filter, встановлений у Collection Tube та центрифугували при  $8000 \times g$  протягом 1 хв.
6. Додавали 1200 мкл Genomic Lysis Buffer до фільтрату, який залишився у Collection Tube.
7. Переносили 800 мкл суміші на Zymo-Spin™ PCR Column, встановлений у Collection Tube, та центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 1 хв.
8. Виливали отриманий фільтрат та повторювали п. 7.

9. Переносили Zymo-Spin™ PCR Column у нову Collection Tube, додавали 200 мкл DNA Pre-Wash Buffer та центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 1 хв.
10. Додавали 500 мкл g-DNA Wash Buffer до Zymo-Spin™ PCR Column та центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 1 хв.
11. Переносили Zymo-Spin™ PCR Column до чистих мікроцентрифужних пробірок об'ємом 1,5 мл, на поверхню фільтра додавали 50 мкл DNA Elution Buffer. Центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 30 с.
12. Отриманий фільтрат зберігали при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Якість виділеної у п. 2.4.1. ДНК оцінювали проведенням горизонтального електрофорезу в 2% агарозному гелі, який був приготований з використанням трис-боратного буферу. У лунки на агарозному гелі, зануреному у трис-боратний буфер, вносилися однорідна суміш, яка містила 1 мкл реагенту CSL-Runsafe та 5 мкл виділеної ДНК. Електрофорез проводили у камері MultiSUB mini (Clever Scientific, Велика Британія) протягом 30 хвилин під напругою 120 В. CSL-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU було використано задля визначення розмірів виділених фрагментів грибної ДНК. Оцінювання результатів електрофорезу проводили із використанням транслюмінатора (Clever Scientific, Велика Британія) при довжині хвилі 254 нм.

#### **2.4.2. Ампліфікація фрагментів ДНК, очищення ПЛР-продуктів та секвенування**

Полімеразну ланцюгову реакцію для усіх досліджуваних штамів, крім штаму *L. officinalis* 5004, було проведено із використанням праймерів внутрішньо транскрибованого спейсеру ядерної рДНК (ITS region): ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') та ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'). Додатково було проведено ампліфікацію генів другої субдиниці ДНК залежної РНК-полімерази II (RPB2) з використанням таких праймерів: 5F2 (5'-GGG GWG AYC AGA AGA AGG C-3') та 7cR (5'-CCC ATR GCT TGY TTR CCC

AT-3`)). Крім того, для двох штамів *G. sichuanense* було використано два специфічних для цього роду праймери: GSF (5`-CCCTAAACCTCTCAAAGTCA-3`) та GSR (5`-TATCGTACAGGTTCTCGTG-3`) (Park, et al., 2012b).

Реакція ампліфікації відбувалась у реакційній суміші, що містила 12,5 мкл DreamTaq Green PCR Master Mix, 1 мкл ДНК, по 0,5 мкл кожного праймера та 10,5 мкл дистильованої води. Центрифужні пробірки з підготовленою реакційною сумішшю розміщували у термоциклері (Techne Prime, Велика Британія). Реакцію проводили за попередньо підібраними умовами, залежно від праймерів. При роботі із праймерів внутрішнього транскрибованого спейсеру ядерної рДНК, було використано такий порядок: первинна денатурація при 95,0°C протягом 2 хв, 40 циклів ампліфікації, до яких входить денатурація при 95,0°C тривалістю 45 с, відпал праймерів при 52,0°C тривалістю 45 с та елонгація при 72,0°C тривалістю 45 с, та кінцева елонгація при 72,0°C протягом 8 хв. При ампліфікацію генів RPB2, було використано такий порядок: первинна денатурація при 95,0°C протягом 5 хв, 35 циклів ампліфікації, до яких входить денатурація при 95,0°C тривалістю 45 с, відпал праймерів при 55,0°C тривалістю 90 с та елонгація при 72,0°C тривалістю 1 хв, та кінцева елонгація при 72,0°C протягом 8 хв. При ампліфікацію специфічних для роду *Ganoderma* праймерів було використано такий порядок: первинна денатурація при 95,0°C протягом 2 хв, 35 циклів ампліфікації, до яких входить денатурація при 95,0°C тривалістю 30 с, відпал праймерів при 55,0°C тривалістю 30 с та елонгація при 72,0°C тривалістю 30 с, та кінцева елонгація при 72,0°C протягом 7 хв.

Якісне та кількісне визначення продуктів реакції проводили за допомогою гель-електрофорезу, як описано у п. 2.4.1.

Очищення ПЛР-продуктів проводили із використання набору реагентів DNA Clean & Concentrator™-25 за таким методом:

1. У 1,5 мл центрифужні пробірки додавали одержані ПЛР-продукти та DNA Binding Buffer у співвідношенні 1:5. Обережно перемішували вміст.

2. Отриману суміш переносили у Zymo-Spin™ Column<sup>2</sup>, встановлений у Collection Tube, та центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 30 с.
3. Додавали 200 мкл DNA Wash Buffer, центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 30 с. Повторювали двічі.
4. Додавали  $\geq 25$  мкл DNA Elution Buffer на поверхню фільтра та інкубували за кімнатної температури протягом 1 хв. Переносили колонки із Collection Tube до центрифужних пробірок об'ємом 1.5 мл, центрифугували при  $10000 \times g$  протягом 30 с.

Отримані високоочищені зразки ПЛР-продуктів секвенували методом Сенгера з використанням у якості праймерів ITS1, 5F2 та GSF відповідно до дослідженої ділянки ДНК. Процедура секвенування проведена на комерційній основі з використанням сервісу GATC Sequencing Services (Eurofins Genomics Germany, Німеччина).

### 2.4.3. Філогенетичний аналіз

Використовуючи алгоритм BLASTn, отримані консенсусні послідовності було проаналізовано задля встановлення таксономічного положення секвенованих штамів базидієвих грибів. Для проведення філогенетичного аналізу було використано найближчі послідовності нуклеотидів, завантажені з бази даних NCBI відповідно до номерів доступу у GenBank, з покриттям та максимальною ідентичністю  $\geq 97\%$ . Для кожної групи даних, ITS та RPB2, для отриманих послідовностей проведено парне та множинне вирівнювання послідовностей у програмі ClustalW стандартного пакета програмного забезпечення MEGA v. 12 (Kumar et al., 2024).

Програмне забезпечення MEGA v. 12 було використано для побудови філогенетичних дерев для родів *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Laricifomes*, *Pleurotus* та *Schizophyllum* з використанням методів приєднання сусідів (Neighbour-Joining) (Aref Hasan et al., 2018; Kaur et al., 2018; Sun et al., 2024) та максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood) (Dresch et al., 2015; Sevindik et al., 2022) з бутстреп аналізом при 1000 репліках.

## 2.5. Кріозберігання міцелію базидієвих грибів

Міцелій 9 штамів 5 видів базидієвих грибів було вирощено на чашках Петрі з середовищем ГПДА при температурі  $26\pm 1^\circ\text{C}$ . Зерно пшениці, шліфованого та нешліфованого ячменю попередньо проварювали протягом 20 хв та стерилізували за допомогою автоклаву при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 20 хв. Як дерев'яні палички, було використано березові зубочитки (ТМ «Фрекен Бок»), довжиною 3 см та діаметром 1,7 мм. Їх попередньо обробляли за такими схемами:

- №1 – дерев'яні палички автоклавували при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 20 хв. Перед використанням стерильні дерев'яні палички занурювали у стерильний 2,5% розчин глюкози на 24 години.
- №2 – дерев'яні палички було попередньо проварено у 2,5 % розчині глюкози протягом 20 хв та проавтоклавовано у даному розчині при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 20 хв.
- №3 – дерев'яні палички було проавтоклавовано у 2,5% розчині глюкози при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 20 хв.
- №4 – дерев'яні палички проавтоклавовано у 5% розчині пивного суслу при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 20 хв.

Підготовлений субстрат розміщували на поверхню попередньо вирощеного міцелію на середовищі ГПДА у чашках Петрі та інкубували до обростання субстрату грибним міцелієм при температурі  $26\pm 1^\circ\text{C}$ . Вкритий міцелієм досліджених штамів субстрат переносили у стерильні кріовіали Nalgene® (Thermo Fisher Scientific Inc., США) зі стерильним 10% розчином гліцеролу та залишали при кімнатній температурі протягом 24 год з подальшим перенесенням кріовіал у контейнер для рівномірного заморожування Mr. Frosty™ (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Кріовіали зберігали у морозильній камері Thermo Scientific ULT1786-6-A43 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) при температурі  $-80^\circ\text{C}$ .

Відновлення росту та життєздатність грибного міцелію обраних штамів перевіряли через 6 та 12 місяців після заморожування. Субстрат із міцелієм було

перенесено із кріовіали на чашки Петрі з середовищем ГПДА у трьох повторях. Для порівняння швидкості росту та життєздатності на чашки Петрі з середовищем ГПДА було використано міцелій відповідних штамів, які зберігалися протягом 12 місяців при температурі 4°C на СА. Міцелій штамів для усіх варіантів культивували у чашках Петрі при температурі 26±1°C до повного обростання поверхні агаризованого середовища. Дослідження збереження життєздатності для всіх варіантів визначали вимірюванням діаметра колонії міцелію протягом усього періоду культивування.

Для дослідження швидкості росту міцелію вимірювали радіуси колоній у чотирьох перпендикулярних напрямках кожену другу добу культивування до повного обростання поверхні агаризованого середовища. Обчислення показника середньої швидкості радіального росту ( $V_R$ , мм/доба) проводили за допомогою кривої залежності радіуса колонії від часу культивування.  $V_R$  розраховували за формулою для фази лінійної залежності приросту радіуса колонії від часу росту:

$$V_R = (R_1 - R_0) / (t_1 - t_0) \quad (2.5.1.1)$$

де  $R_1$  – радіус колонії в кінці фази лінійного росту,  $R_0$  – радіус колонії на початку фази лінійного росту (мм),  $t_1 - t_0$  – тривалість лінійної фази росту (доба) (Соломко et al., 2000).

## **2.6. Отримання інокулюму для глибинного культивування міцелію базидієвих грибів**

Для отримання інокулюму досліджені штами культивували на чашках Петрі з середовищем ГПДА при температурі 26±1°C до повного заростання поверхні грибним міцелієм. У стерильних умовах було проведено гомогенізацію отриманого інокулюму зі стерильною дистильованою водою. Отриманий інокулюм використовували для посіву на колби Ерленмеєра об'ємом 250 мл із стерильним середовищем ГПД у кількості 10% від об'єму живильного середовища. Глибинне культивування міцелію досліджених штамів проводили на качалці при температурі 26±1°C та швидкості обертів 150 об/хв.

## 2.7. Оцінка динаміки накопичення біомаси

Для міцелію штамів *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Schizophyllum commune* 1768, 1769 та *Pleurotus ostreatus* 297, вимірювання концентрації біомаси та зміни рН культуральної рідини проводили кожну 2-у добу, починаючи із 3-ї доби культивування. Оскільки швидкість росту штамів *Laricifomes officinalis* була низькою (Flores, Cusumano, et al., 2023), порівняно із попередніми штамми, для обраних штамів визначення концентрації біомаси та зміни рН культуральної рідини проводили кожну 5-ту добу культивування .

Отриману міцеліальну масу відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрації через нейлоновий фільтр. Відділений міцелій висушували до постійної маси за температури  $105\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  (Al-Maali, 2015). Перерахунок отриманої біомаси в г/л робили з урахуванням маси інокулюму.

## 2.8. Підбір умов культивування для накопичення біомаси обраних штамів *Laricifomes officinalis*

Для підвищення концентрації біомаси при глибинному культивуванні штаму *L. officinalis* 2498 було здійснено такі дії:

1. Зниження рівня рН живильного середовища ГПД до 2,0 додаванням 1 М НСІ до стерильного середовища ГПД перед внесенням інокулюму.
2. Додавання до складу живильного середовища ГПД лецитину у концентрації 20 мл/л з подальшим автоклавуванням.
3. Додавання до складу живильного середовища ГПД лецитину у концентрації 20 мл/л з подальшим автоклавуванням та підкисленням рівня рН живильного середовища до 2,0 додаванням 1 М НСІ до стерильного живильного середовища.

У якості контролю виступало стандартне живильне середовище ГПД з рН 6,0. У колби з відповідним варіантом живильного середовища було внесено інокулюм, приготовлений відповідно до п. 2.6. Культивування проводили на качалці протягом 12 діб за температури  $26,0^{\circ}\text{C}$  при 150 об/хв. Для кожного

варіанту було проведено дослідження у трьох повторностях. Кількість утвореної біомаси визначали за методом, описаним у п. 2.7.

Для визначення оптимальної концентрації лецитину в колби Ерленмейєра, які містили 45 мл одного із варіантів стерильного модифікованого живильного середовища (п. 2.3), вносили інокулом, приготовлений відповідно до п. 2.6. Загальна тривалість культивування обраних штамів на качалці становила 15 діб при температурі  $26\pm 1^\circ\text{C}$  та швидкості обертів 150 об/хв. Після 9, 12 та 15 діб глибинного культивування було проведено визначення рівня накопиченої біомаси, як описано у п. 2.7. Усі досліди проводили в трьох повторах.

До проведення порівняння накопичення біомаси штамми виду *L. officinalis* використано стандартне живильне середовище ГПД та модифіковане живильне середовище ГПД, що містило соняшниковий лецитин у концентрації 20 мл/л. У колби Ерленмейєра, які містили 45 мл стерильних живильних середовищ, було внесено інокулом, приготовлений відповідно до п. 2.6. Загальна тривалість культивування обраних штамів на качалці становила 15 діб при температурі  $26\pm 1^\circ\text{C}$  та швидкості обертів 150 об/хв. Кожні 3 доби визначали кількість накопиченої біомаси методом, описаним у п. 2.7.

### **2.8.1. Дослідження впливу лецитину у складі живильного середовища на концентрацію глюкози після глибинного культивування**

Після 15 діб глибинного культивування обраних штамів *L. officinalis* на стандартному живильному середовищі ГПД та на модифікованому середовищі ГПД із 20 мл/л лецитину, у профільтрованій культуральній рідині проведено визначення рівня концентрації глюкози за допомогою колориметричних тест-смужок для визначення рівня глюкози для використання з рефлектометром RQflex® 20 (Merck, Німеччина).

## **2.9. Дослідження біотрансформації ксенобіотиків**

### **2.9.1. Глибинне культивування**

Мицелій штамів у фазі завершення експоненційного росту в умовах глибинного культивування використовували для дослідження біотрансформації

ксенобіотиків. До колб з міцеліальною біомасою у цій фазі додавали адамантан-1-ол (**1**, рис. 2.9.1.1), адамантан-2-ол (**2**, рис. 2.9.1.1), диклофенак (**4**, рис. 2.9.1.1), напроксен (**5**, рис. 2.9.1.1), N-фенілциклогексанкарбоксамід (**7**, рис. 2.9.1.1), N-циклогексилбензамід (**6**, рис. 2.9.1.1), N-циклопентилбензаміду (**8**, рис. 2.9.1.1), 2,6-дихлоранілін (**9**, рис. 2.9.1.1) або 3,5-дихлоранілін (**10**, рис. 2.9.1.1) розчинені в диметилсульфоксиді та адамантан (**3**, рис. 2.9.1.1) розчинений у суміші циклогексану та лецитину (1:1).

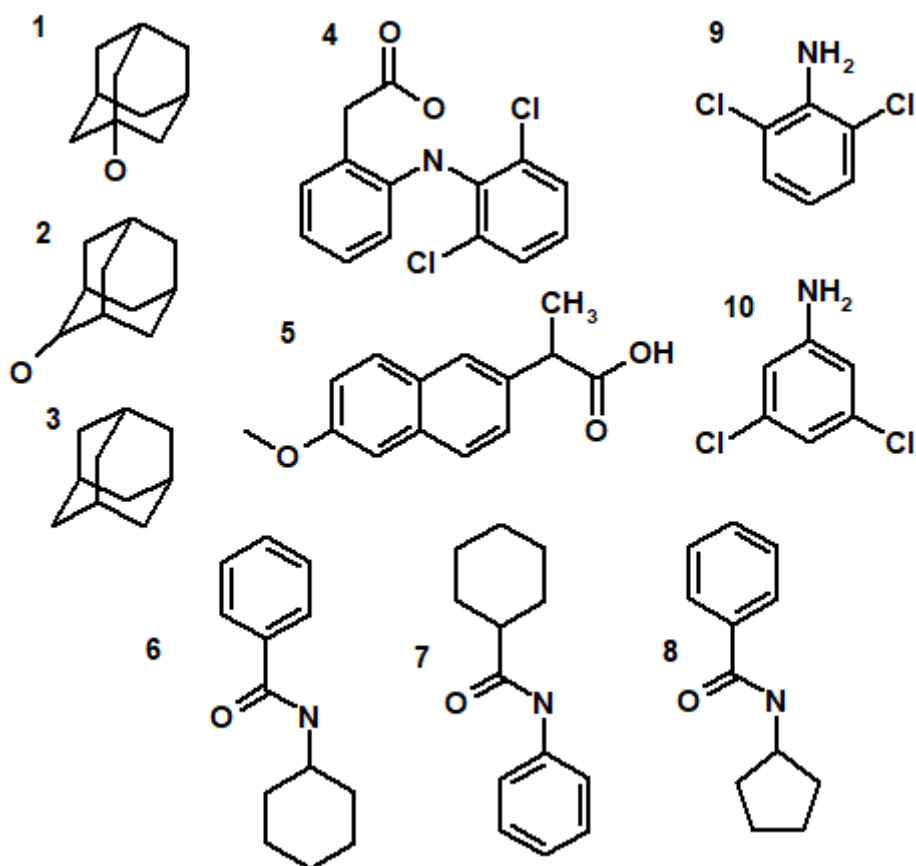


Рис. 2.9.1.1. Структурні формули досліджуваних сполук

Адамантан, адамантаноли, аміди та дихлораніліни вносили у концентрації 0,2 мг/мл культуральної рідини (Hernik et al., 2023), диклофенак – у концентрації 0,1 мг/мл (Quinn et al., 2015) та напроксен – у концентрації 0,25 мг/мл (Zhong et al., 2003). Диметилсульфоксид використовували як негативний контроль для біотрансформації.

## 2.9.2. Екстрагування метаболітів

Екстракцію метаболітів проводили на 3-ю (для N-циклогексилбензаміду, N-фенілциклогексанкарбоксаміду, 2,6- та 3,5-дихлоранілінів, адамантан-1-олу, адамантан-2-олу) або 7-му (для адамантану, диклофенаку та напроксену) добу після додавання досліджуваних сполук. Отриману міцеліальну масу та культуральну рідину розділяли фільтруванням. Кожен зразок, крім отриманих після внесення адамантану, тричі екстрагували етилацетатом (1:1). Зразки, отримані після внесення адамантану, спершу було екстраговано циклогексаном (1:1) та двічі етилацетатом (1:1). Отримані екстракти сушили від надлишкової води за допомогою безводного сульфату натрію, концентрували використовуючи роторний випарювач та аналізували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії.

## 2.9.3. Аналіз отриманих метаболітів

*Аналітична високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).* ВЕРХ проведено на приладі Agilent Technologies серії 1200 (Agilent, США). Як стаціонарну фазу використовували хроматографічну колонку з нержавіючої сталі діаметром 4,6 мм, довжиною 100 мм та розміром зерен 2,7 мкм. Колонка заповнена силікагелем, модифікованим гідрофобними групами C18. Об'єм введення становив 5–20 мкл. Швидкість потоку становила 1 мл/хв. Загальний час проходження становив 10 хв. Градієнти розчинника А (0,1% мурашиної кислоти в воді) та розчинника В (0,1% мурашиної кислоти в ацетонітрилі) для дослідження біотрансформації диклофенаку змінювали таким чином (%): (I) 0–1 хв (А:В, 60/40), (II) 1–5 хв (А:В, від 60/40 до 0/100), (III) 5–6 хв (В, 100), 6–6,5 хв (А:В, від 0/100 до 60/40), (IV) 6,5–10 хв (А:В, 60/40). При дослідженні біотрансформації дихлоранілінів градієнти розчинників були такими (%): (I) 0–1 хв (А:В, 60/40), (II) 1–5 хв (А:В, від 60/40 до 0/100), (III) 5–6 хв (В, 100), 6–6,5 хв (А:В, від 0/100 до 60/40), (IV) 6,5–9 хв (А:В, 60/40). Для дослідження біотрансформації напроксену та амідів градієнти розчинника були такими (%): (I) 0–2 хв (А:В, 95/5), (II) 2–6 хв (А:В, від 95/5 до 0/100), (III) 6–8 хв (В, 100), 8–

8,5 хв (А:В, від 0/100 до 95/5), (IV) 8,5–10 хв (А:В, 95/5). Для ідентифікації отриманих сполук використовували УФ-детектор та мас-аналізатор Quadrupole LC/MS 6120 (Agilent, США). УФ-детектування проводили при 215, 254 та 280 нм. Результати отримували та аналізували за допомогою програмного забезпечення Open Lab CDS (версія С.01.10). Аналіз проводили з використанням 2,6-дихлораніліну, 3,5-дихлораніліну, 2-аміно-4,6-дихлорфенолу, 4-аміно-2,6-дихлорфенолу, 4-аміно-3,5-дихлорфенолу, адамантан-1-олу, адамантан-2-олу, диклофенаку, напроксену, N-циклогексилбензаміду та N-фенілциклогексанкарбоксаміду як стандартів.

Ступінь біодеградації досліджуваних сполук оцінювали таким чином. Концентрацію досліджуваних речовин встановлювали за калібрувальною кривою стандартної речовини. Ступінь біодеградації обчислювали за такою формулою:

$$\% \text{ біодеградації} = m_0 - m_1/m_0 \cdot 100\%,$$

де  $m_0$  – початкова концентрація досліджуваної речовини, мг;  $m_1$  – кінцева концентрація досліджуваної речовини, розрахована за площею піку відповідно до калібрувальної кривої, мг.

*Препаративна високоефективна рідинна хроматографія* . Для отримання окремих виділених метаболітів із ступенем чистоти 95% і більше використано препаративну ВЕРХ. Метаболіти виділяли та очищували на приладі Agilent Technologies серії 1290 Infinity II (Agilent, США). Як стаціонарну фазу використовували хроматографічну колонку з нержавіючої сталі діаметром 19,5 мм, довжиною 100 мм та розміром зерен 5 мкм. Колонку заповнювали силікагелем, модифікованим гідрофобними групами С18. Об'єм ін'єкції становив 300 мкл. Швидкість потоку становила 25 мл/хв. Загальний час прогону становив 7 хв. Градієнти розчинника А (0,1% мурашиної кислоти у воді) та розчинника В (0,1% мурашиної кислоти в ацетонітрилі) готували таким чином (%): (I) 0–1 хв (А:В, 60/40), (II) 1–3 хв (А:В, від 60/40 до 30/70), (III) 3–3,5 хв (А:В, від 30/70 до 0/100), 3,5–4,5 хв (А:В, 0/100), (IV) 4,5–5 хв (А:В, 60/40). Для ідентифікації

отриманих сполук використовували УФ-детектор. УФ-детектування проводили при 215 та 254 нм. Результати отримували та аналізували за допомогою програмного забезпечення Open Lab CDS (версія 3.3.65).

**Газова хроматографія.** Для аналізу отриманих екстрактів після біотрансформації адамантану та адамантанолів проведено газову хроматографію на приладі Agilent 7890A з одноквадрупольним мас-спектрометром Agilent 5975C з іонізацією електричним ударом. Використовували капілярну колонку з плавленого кварцу HP-5 MS (25 м, внутрішній діаметр 0,2 мм, товщина плівки 0,33 мкм). Гелій використовували як газ-носій з швидкістю потоку 1 мл/хв з розділенням потоку. Початкову температуру печі газового хроматографа встановлювали на рівні 90 °C, а потім збільшували до 280 °C з остаточною витримкою 16,5 хвилин. Результати отримували та аналізували за допомогою програмного забезпечення Open Lab CDS.

**Хірально хроматографія.** Для аналітичного розділення 4 мг зразка розчиняли в 1 мл пропан-2-олу. Розчин завжди дегазували за допомогою ультразвукової ванни перед використанням. Аналітичне розділення проводили за допомогою приладу Agilent 1200 ВЕРХ (Agilent Technologies, Німеччина), оснащеного дегазатором G1379B, бінарним насосом G1312A, автосамплером ALS G1329A та діодно-матричним детектором G1315A. Для керування приладом, збору та обробки даних використовувалося програмне забезпечення Open Lab CDS (версія C.01.10). Аналітичну хіральну хроматографію проводили на колонці Chiralcel OD-H з трис(3,5-диметилфенілкарбаматом) целюлози (250 × 4,6 мм внутрішній діаметр; 5 мкм). Вона була придбана у Chiral Technologies Europe (Франція). Довжини хвиль детектування були встановлені на рівні 215 нм для аналітичного розділення. Рухома фаза – н-гексан:MeOH:IPA: 90:5:5. Елюювання проводилося в ізократичному режимі. Швидкість потоку становила 0,6 мл/хв для аналітичного аналізу.

## Ядерна магнітно-резонансна спектроскопія (ЯМР-спектроскопія).

Структуру деяких метаболітів було підтверджено за допомогою  $^1\text{H}$  ЯМР та ЯМР  $\text{C}^{13}$ . Відповідні описи спектрів наведено далі:

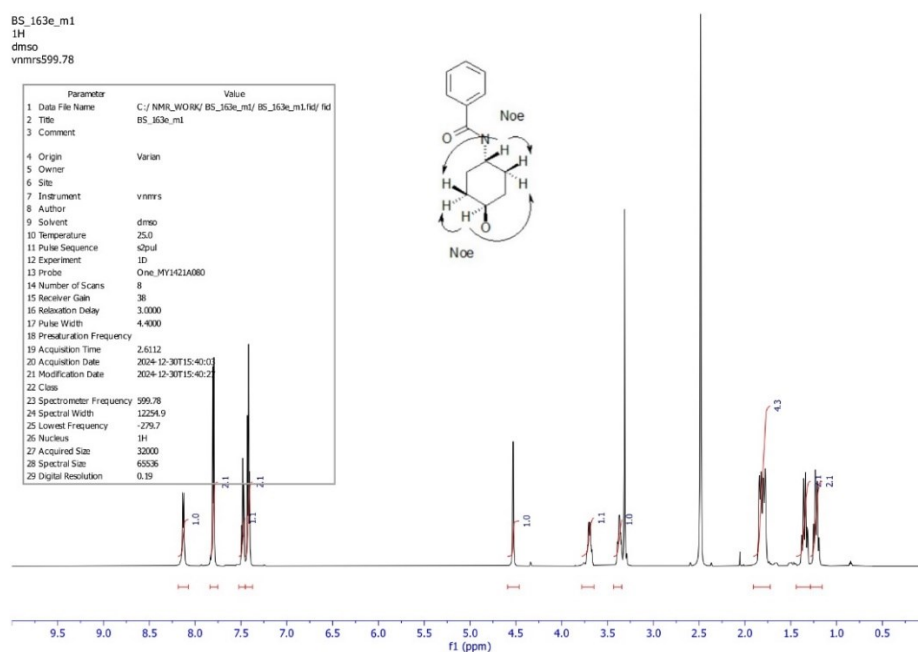


Рис. 2.9.3.1. ЯМР спектр N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензаміду

**N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензамід.**  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 8.13 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.80 (dd,  $J = 7.1, 1.7$  Hz, 2H), 7.48 (tt,  $J = 7.3, 1.3$  Hz, 1H), 7.42 (dd,  $J = 8.2, 6.8$  Hz, 2H), 4.53 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 3.69 (dtt,  $J = 11.6, 8.0, 4.0$  Hz, 1H), 3.37 (td,  $J = 10.7, 4.5$  Hz, 1H), 1.81 (dd,  $J = 27.6, 12.2$  Hz, 4H), 1.35 (dtd,  $J = 24.4, 13.0, 11.5, 4.9$  Hz, 2H), 1.22 (qd,  $J = 13.0, 3.1$  Hz, 2H). ЯМР  $\text{C}^{13}$  (150 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 165.98 (C=O), 135.27 (Ar-Cq), 131.38, 128.57, 127.68 (Ar-CH), 68.80 (CH-X), 48.35 (CH<sub>2</sub>-X), 34.70, 30.75 (CH<sub>2</sub>).

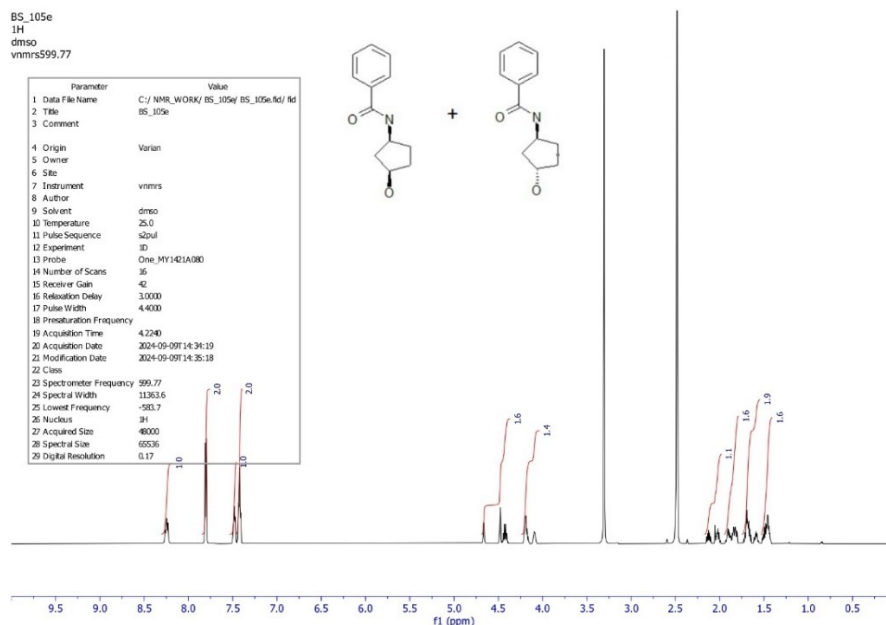


Рис. 2.9.3.2. ЯМР спектр 4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксаміду

**4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксамід.**  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 7.88–7.47 (m, 4H), 4.42 (m, 1H), 2.14–1.52 (m, 2H), 2.02–1.41 (m, 2H), 1.90–1.60 (m, 4H), 1.60–1.41 (m, 2H). ЯМР  $\text{C}^{13}$  (150 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 166.26, 166.07 (C=O), 135.26, 135.15 (Ar-Cq), 131.41, 131.35, 128.62, 128.56, 127.68, 127.62 (Ar-CH), 49.72, 49.48, 42.26, 41.97, 34.12, 30.73, 30.61 ( $\text{CH}_2$ ).

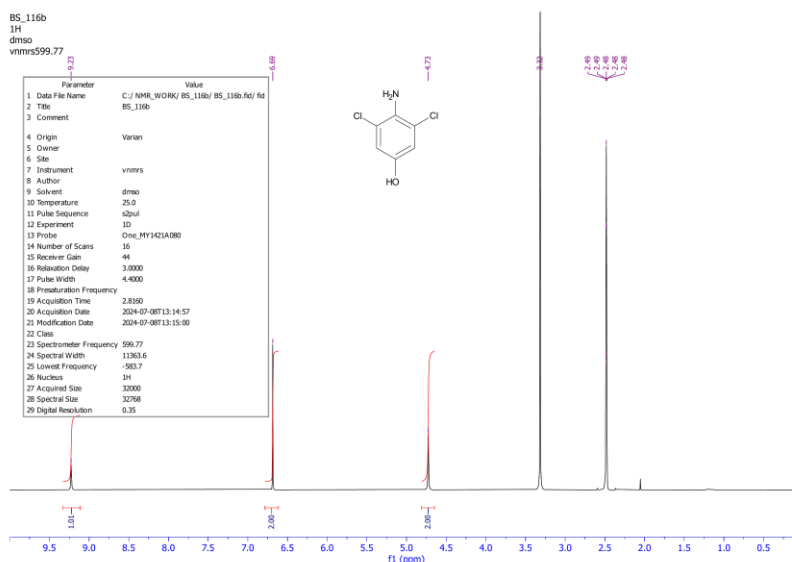


Рис. 2.9.3.3. ЯМР спектр 4-аміно-3,5-дихлорфенолу

**4-аміно-3,5-дихлорфенол.**  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 9.23 (s, 1H, OH), 6.69 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.73 (s, 2H, Ar-H); ЯМР  $\text{C}^{13}$  (150 МГц, ДМСО):  $\delta$  (ppm) 115.7 (CH), 119.3 (C-Cl), 134.2 (C- $\text{NH}_2$ ), 148.6 (C-OH).

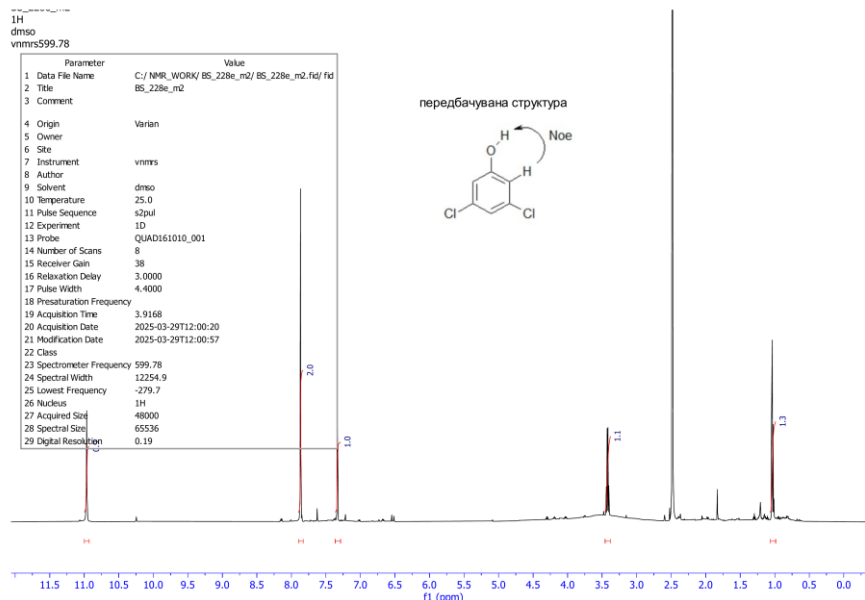


Рис. 2.9.3.4. ЯМР спектр 3,5-дихлорфенолу

**3,5-дихлорфенол.**  $^1\text{H}$  ЯМР (600 MHz, DMSO):  $\delta$  (ppm) 10.96 (s, 1H, OH), 7.87 (d, 2H, Ar-H), 7.33 (t, 1H, Ar-H); ЯМР  $\text{C}^{13}$  (150 MHz, DMSO):  $\delta$  (ppm) 118.9 (CH), 124.1 (CH), 134.5 (C-Cl), 140.7 (C-Cl), 158.2 (C-OH).

## 2.10. Статистична обробка

Отримані результати було опрацьовано за допомогою програми Excel з використанням програмного забезпечення Microsoft Office XP. Досліди було проведено у 2-3 повторах. Дані були представлені у вигляді середнього значення  $\pm$  SD (стандартне відхилення).

## РОЗДІЛ 3.

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Колекція культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України (ІВК), яка є Національним надбанням України, заснована 1966 року до початку широкого поширення молекулярно-генетичних методів верифікації чистих культур (Lomberg et al., 2015). Наразі у Колекції культур шапинкових грибів зберігається понад 1500 штамів, і, зважаючи на сучасні правила роботи із колекціями культур, необхідно провести молекулярно-генетичні дослідження для цих штамів (Bisko et al., 2024). У рамках широкої роботи з ідентифікації культур, які зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів (Lomberg et al., 2023; Lomberg et al., 2003; Мукчайлова et al., 2017a) при виконанні дисертаційної роботи було проведено молекулярно-генетичні дослідження 9 штамів 5 видів дереворуйнівних базидієвих грибів, які зберігаються у згаданій колекції та були використані у нашому дослідженні. Проведення таких досліджень є важливим, зважаючи на тривале існування колекції, протягом якого вона постійно поповнювалася новими штамми. Головним чином такі дослідження дозволять провести більш точну верифікацію культур, оскільки добре відомо, що протягом тривалого зберігання живих культур можлива зміна морфологічних та культуральних ознак, що може ускладнювати правильне визначення таких культур (Castro-Rios & Vermeo-Escobar, 2021). Це також дозволить відстежувати генетичні зміни, які трапляються при багаторазових пересівах чистих культур базидієвих грибів (Feng et al., 2025).

Найбільш універсальним маркером для ідентифікації різних представників базидієвих грибів прийнято вважати ділянку внутрішнього транскрибованого спейсера (ITS) ядерної ДНК, яка підходить для найширшого переліку грибів та міжвидової та внутрішньовидової ідентифікації (Badotti et al., 2017; Schoch et al., 2012). Значною перевагою праймерів цієї ділянки є тривала історія їх використання, яка розпочалась у 1990-х роках. Це дозволило отримати велику кількість інформації у міжнародних базах даних, таких як NCBI та UNITE, про

генетичні послідовності для різноманітних грибів (Kauserud, 2023). Тому для усіх досліджених штамів було використано праймери ITS1 та ITS4 цього ядерного локусу для проведення полімеразної ланцюгової реакції та подальшого секвенування отриманих зразків.

Слід зазначити, що для певних видів для правильної ідентифікації достатньо лише отримання послідовності для локусу ITS-регіону, так повідомляється, що для виду *S. commune* послідовності цього ядерного локусу є висококонсервативними, незалежно від місця, де було виявлено гриб (Buzina et al., 2001). Тому для даного виду нами було проведено полімеразну ланцюгову реакцію лише з використанням праймерів ITS1 та ITS4. Секвенування отриманих послідовностей дозволило провести філогенетичний аналіз для підтвердження видової приналежності досліджуваних штамів, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів ІВК. У таблиці 3.1 наведено використані послідовності для побудови філогенетичного дерева. У аналізі було використано такі види: *Auriculariopsis ampla* (Lév.) Maire (= *Schizophyllum amplum* (Lév.) Nakasone), *S. fasciatum* Pat., *S. leprieurii* Linder, *S. commune* та *S. umbrinum* Berk. Як аутгрупу використано вид *Fistulina antarctica* Speg.

Таблиця 3.1

Характеристика ізолятів, використаних для проведення молекулярно-генетичних досліджень роду *Schizophyllum*

Вид*	Штам	Код доступу в базі даних NCBI (ITS-регіон)	Країна походження	Література
<i>Auriculariopsis ampla</i>	NH-1803	AY293169.1	Іспанія	(Binder et al., 2005)
<i>Auriculariopsis ampla</i>	NH_1478	AY570991.1	Румунія	(Bodensteiner et al., 2004)
<i>Auriculariopsis ampla</i>	CBS 228.97	AY570992.1	Нідерланди	(Bodensteiner et al., 2004)
<i>Fistulina antarctica</i>	CBS 701.85	AY293181.1	Нідерланди	(Binder et al., 2005)
<i>Schizophyllum amplum</i>	RGT97061 8/01	AF261591.1	США	(Moncalvo et al., 2002)
<i>Schizophyllum amplum</i>	-	AF141873.1	Швеція	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>

<i>Schizophyllum fasciatum</i>	CBS267.60	AF261589.1	Нідерланди	(Moncalvo et al., 2002)
<i>Schizophyllum leprieurii</i>	ROBLEDO 1313	KM098066.1	Аргентина	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Schizophyllum commune</i>	HNO62	AF280750.1	Австрія	(Buzina et al., 2001)
<i>Schizophyllum commune</i>	MEL:2382 608	KP012945.1	Австралія	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Schizophyllum commune</i>	VPCI279/P /11	KC414834.1	Індія	(Chowdhary et al., 2013)
<i>Schizophyllum commune</i>	WB033_12	JX848644.1	Австрія	(Hoenigl et al., 2013)
<i>Schizophyllum commune</i>	IBK 1769	PQ482382.1	Україна	Наші дослідження
<i>Schizophyllum commune</i>	IBK 1768	PQ482381.1	Україна	Наші дослідження
<i>Schizophyllum commune</i>	DP61	AM269871.1	Італія	(Guglielmo et al., 2007)
<i>Schizophyllum commune</i>	MEL:2382 699	JQ520167.1	Австралія	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Schizophyllum cf. umbrinum</i>	ROBLEDO 2478	KM098068.1	Аргентина	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Schizophyllum umbrinum</i>	FL02.1	AF261590.1	США	(Moncalvo et al., 2002)

Примітка. \* назви видів вказано відповідно до їх реєстрації у базі даних GenBank

Отримане філогенетичне дерево рис. 3.1, побудоване із вказаних послідовностей за допомогою методу приєднання сусідів (Neighbour-Joining) добре узгоджується з філогенетичними деревами даного роду наведеними у сучасній літературі (Choi et al., 2020; Marian et al., 2024; Sammut et al., 2019). Слід зазначити, що зараз є дискусійним стосовно правильної видової назви *A. ampla* або *S. amplum*. Раніше ці назви вважалися синонімами, а деякі наявні дослідження свідчать про належність даного виду до роду *Auriculariopsis*, який є близькоспорідним з родом *Schizophyllum* (Almásí et al., 2019a, 2019b). Однак деякі дослідники все ще відносять цей вид до роду *Schizophyllum* та все ще використовують його при побудові філогенетичного дерева представників цього роду (Carreño-Ruiz et al., 2019; Choi et al., 2020; Liang et al., 2024; Mišković et al., 2023; Sammut et al., 2019). Клади, сформовані при аналізі, характеризувалися помірною бутстреп-підтримкою, а проаналізовані послідовності розміщені у сформованій кладі *S. commune*, для побудови якої було використано достовірну

інформацію. Також про приналежність проаналізованих штамів до виду *S. commune* свідчить високий рівень подібності (100%) аналізованих послідовностей із послідовностями, зареєстрованими у базі даних GenBank, який було встановлено під час пошуку із використанням функції BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

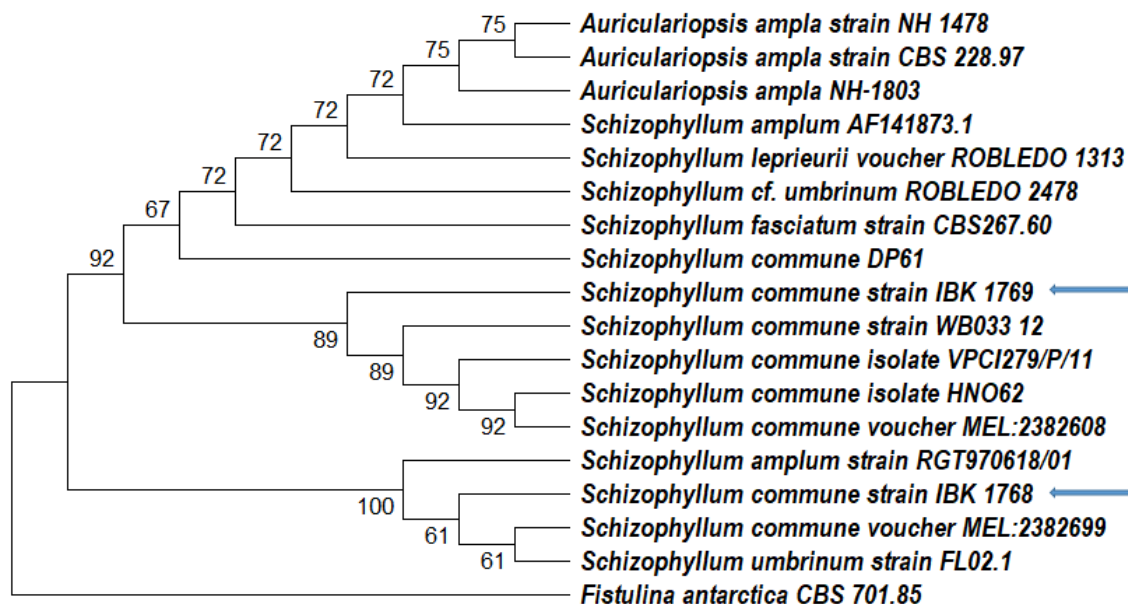


Рис. 3.1. Філогенетичне дерево роду *Schizophyllum*, побудоване з використанням методу приєднання сусідів (Neighbour-Joining).

Комбінація двох методик дозволяє підтвердити видову приналежність досліджених видів, що сприяє розширенню кількості секвенованих штамів *S. commune* та кращому розумінню філогенії цього виду. Нуклеотидні послідовності двох штамів *S. commune* із Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), отримані із використанням молекулярно-генетичних досліджень, були внесені у міжнародну базу даних GenBank.

Видова ідентифікація решти представників базидієвих дереворуйнівних грибів, які належать до інших родин, є складнішою, тому для решти досліджуваних штамів було проведено філогенетичний аналіз за двома ділянками: ITS-регіону та другої субодиниці ДНК-залежної РНК-полімерази (RPB2). Це особливо важливо при видовій ідентифікації обраного штаму *P. ostreatus*, оскільки повідомляється, що ділянка RPB2 дозволяє розрізнити

штами цього виду, хоча і нечасто використовується для ідентифікації представників цього виду (Liu et al., 2013; Li et al., 2020; Phonemany et al., 2025). Для побудови філогенетичного дерева було використано наведені в таблиці 3.2 нуклеотидні послідовності, депоновані у міжнародну базу даних GenBank.

Таблиця 3.2

Характеристика ізолятів, використаних для проведення молекулярно-генетичних досліджень роду *Pleurotus*

Вид	Штам	Код доступу в базі даних NCBI (RPB2 ділянка)	Країна походження	Література
<i>Hohenbuehelia petaloides</i>	AMB 18088	KU355430.1	Італія	(Thorn et al., 2025)
<i>Pleurotus abalonus</i>	HKAS:81197	MT138447.1	Китай	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus abieticola</i>	HKAS:91342	KX870442.1	Китай	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus abieticola</i>	HKAS:45507	KX885220.1	Китай	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus albidus</i>	CBS:119924	MT138443.1	Аргентина	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus djamor</i>	HKAS:90179	KX870451.1	Китай	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus eryngii</i>	CCMSSC00692	KX870362.1	Китай	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus eryngii</i>	CCMSSC00646	KX870371.1	Китай	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>elaeoselini</i>	PN13	MT138430.1	Італія	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>eryngii</i>	CCMSSC00467	MT138431.1	Італія	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	CCMSSC04223	MN374115.1	Італія	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus opuntiae</i>	CBS:102543	MT138450.1	Мексика	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus opuntiae</i>	SAF250	MK189435.1	Італія	(Zervakis et al., 2019)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	HKAS84903	KP867874.1	Німеччина	(Li et al., 2017)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	CCMSSC00338	KX870204.1	Китай	(Li et al., 2017)

<i>Pleurotus ostreatus</i>	HKAS:93337	MT138429.1	Франція	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ITEM 14233	HG964269.1	Італія	(Villani et al., 2015)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	PeruMyc 2417	OQ077238.1	Італія	(Flores, Girometta, et al., 2023)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	IBK 297	PQ373812.1	Росія*	Наші дослідження
<i>Pleurotus ostreatus</i>	KACC:51366	PQ793434.1	Корея	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Pleurotus ostreatus</i>	P027	KY865579.1	Китай	(He et al., 2017)
<i>Pleurotus placentodes</i>	HKAS57781	KR827698.1	Китай	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus populinus</i>	CBS:666.85	MT138441.1	Канада	(Li et al., 2020)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	CCMSSC00500	MT138435.1	Греція	(Li et al., 2020)

**Примітка.** \* штам *Pleurotus ostreatus* 297 було виділено у 1991 р.

Загалом для побудови філогенетичного дерева роду *Pleurotus* використано такі види представників цього роду: *P. abalonus* Y.H. Han, K.M. Chen & S. Cheng, *P. abieticola* R.H. Petersen & K.W. Hughes, *P. albidus* (Berk.) Pegler, *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, *P. eryngii* (DC.) Quél., *P. eryngii* var. *elaeoselini* Venturella, Zervakis & La Rocca, *P. eryngii* var. *ferulae* (Lanzi) Sacc., *P. opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc., *P. ostreatus*, *P. placentodes* (Berk.) Sacc. (= *P. djamor*), *P. populinus* O. Hilber & O.K. Mill. та *P. pulmonarius*. Як аутгрупу використано вид *Hohenbuehelia petaloides* (Bull.) Schulzer. Побудоване із використанням наведених вище видів філогенетичне дерево роду *Pleurotus* наведено на рис. 3.2. Необхідно зазначити, що за використання методу максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood) було отримано кращі показники бутстреп-підтримки порівняно із використанням методу приєднання сусідів. Філогенетичне дерево узгоджується із філогенетичними деревами даного роду, які наведені у сучасній літературі (Li et al., 2017; Hera et al., 2025; Zeng et al., 2025).

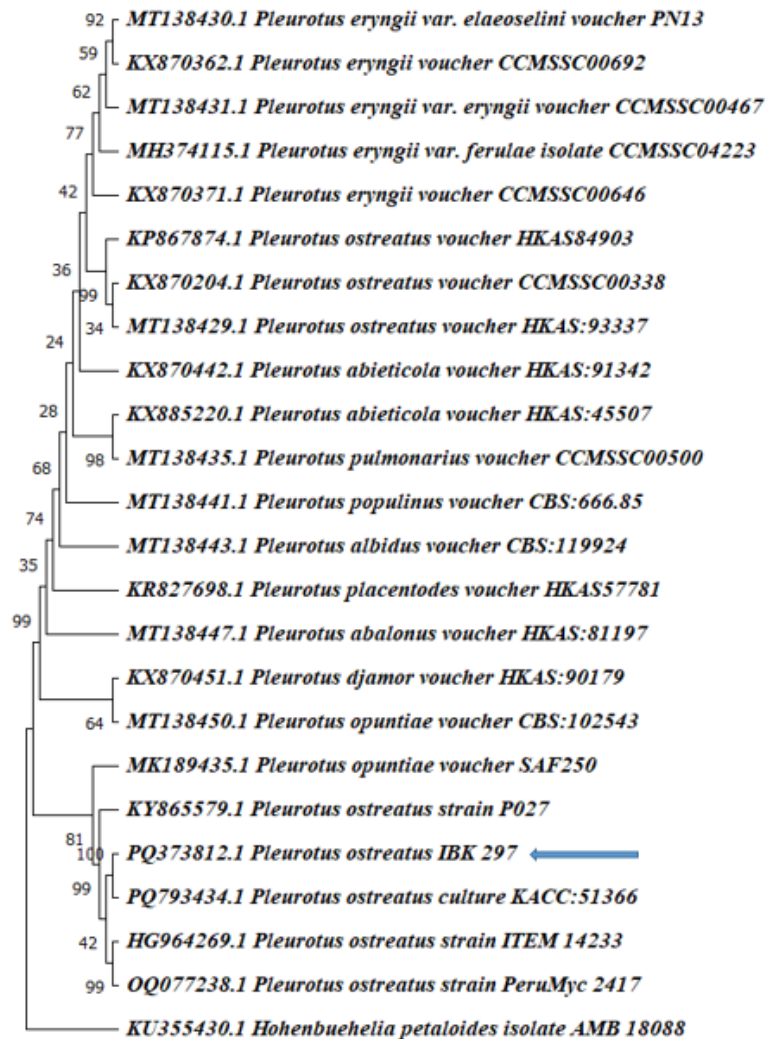


Рис. 3.2. Філогенетичне дерево роду *Pleurotus*, побудоване з використанням методу максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood) за аналізом нуклеотидних послідовностей генів другої субодиниці РНК-полімерази.

Клади, сформовані у результаті філогенетичного аналізу, характеризувалися високою та помірною бутстреп-підтримкою та чітко відокремлювали види у межах цього роду. Зокрема проаналізована у роботі нуклеотидна послідовність штаму *P. ostreatus* 297 чітко розміщена у сформованій кладі *P. ostreatus*, побудованої із використанням референтних нуклеотидних послідовностей генів, що кодують другу субодиницю ДНК-залежної-РНК-полімерази та була депонована у базу даних GenBank, з високою бутстреп-підтримкою, що є достатнім для підтвердження видової ідентифікації цього штаму та свідчить про відсутність міжвидової мінливості.

Роди *Fomitopsis* та *Laricifomes*, що належать до порядку Polyporales, також потребують додаткових праймерів для підтвердження видової ідентифікації, оскільки іноді деякі представники цих родів були помилково віднесені до інших родів згаданого порядку (Han et al., 2016). Тому для представників даних видів, як і для штаму *P. ostreatus* 297, було проведено молекулярно-генетичні дослідження із використанням двох згаданих вище ядерних локусів. Видову ідентифікацію двох штамів *Laricifomes officinalis* підтверджено через пошук гомологічних нуклеотидних послідовностей за допомогою алгоритму BLAST у базі даних GenBank (рис. 3.3). Необхідно зазначити, що цей вид також відомий як *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bondartsev and Singer. Проте *L. officinalis* є актуальною назвою цього виду згідно з Mycobank ([www.mycobank.org](http://www.mycobank.org)). Отримані для двох штамів нуклеотидні послідовності для штамів *L. officinalis* 2497 та 2497 було депоновано у міжнародну базу даних GenBank. У результаті було встановлено ступінь подібності та таксономічну позицію досліджуваних ізолятів. Таким чином, вдалося підтвердити раніше запропоновану видову назву досліджених штамів дереворуйнівних базидієвих грибів.

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis strain IBK 2498 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Laricifomes offici...	1131	1131	100%	0.0	100.00%	612	PQ363511.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis strain IBK 2497 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Laricifomes offici...	1122	1122	100%	0.0	99.84%	610	PQ368547.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis isolate K12 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and i...	Laricifomes offici...	1122	1122	100%	0.0	99.84%	662	MK864269.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis isolate K23 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and i...	Laricifomes offici...	1122	1122	100%	0.0	99.84%	660	MK867348.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis strain Stamets F06 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Laricifomes offici...	1122	1122	100%	0.0	99.84%	647	EU854439.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis strain Stamets F04 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Laricifomes offici...	1116	1116	100%	0.0	99.67%	672	EU854437.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis strain Stamets F01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Laricifomes offici...	1116	1116	100%	0.0	99.67%	704	EU854436.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis voucher FDS-CA-03229 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans...	Laricifomes offici...	1109	1109	99%	0.0	99.83%	662	PQ140075.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis strain Stamets F11 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Laricifomes offici...	1101	1101	98%	0.0	99.67%	602	EU854443.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Laricifomes officinalis isolate MicUNIPV F.o.9 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans...	Laricifomes offici...	1098	1098	100%	0.0	99.18%	654	OL672133.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis culture CBS 245.28 strain CBS 245.28 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S...	Laricifomes offici...	1094	1094	100%	0.0	98.85%	642	MH855000.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fomitopsis officinalis voucher OKM-8050 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Laricifomes offici...	1090	1090	100%	0.0	98.86%	685	KC585355.1

Рис. 3.3. Результати пошуку гомологічних нуклеотидних послідовностей досліджуваного штаму за допомогою алгоритму BLAST у базі даних NCBI. Показано послідовності, що формують статистично значущі вирівнювання для ITS-регіону, з максимальними значеннями відсотка ідентичності (до 100 %), повним покриттям запиту та нульовими значеннями E-value, що підтверджує належність штаму до виду *Laricifomes officinalis*.

Для підтвердження видової ідентифікації штаму *Fomitopsis pinicola* 361 проведено більш повний аналіз, оскільки розуміння даного виду можливе як *sensu lato*, так і *sensu stricto*. Використані нуклеотидні послідовності з бази даних GenBank для двох ядерних локусів, наведених у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Характеристика ізолятів представників роду *Fomitopsis*

Вид*	Штам	Код доступу в базі даних NCBI		Країна походження	Література
		ITS	RPB2		
<i>Daedalea quercina</i>	Dai 12152	KP171207.1	KR610809.1	Чехія	(Han et al., 2015)
<i>Fomitopsis betulina</i>	Cui 10756	KR605797.1	KR610815.1	Китай	(Han et al., 2016)
<i>Fomitopsis betulina</i>	Dai 11449	KR605798.1	KR610816.1	Китай	(Han et al., 2016)
<i>Fomitopsis cana</i>	Cui 6239	JX435777.1	KR610761.1	Китай	(Li et al., 2013)
<i>Fomitopsis cana</i>	Dai 9611	JX435776.1	KR610762.1	Китай	(Li et al., 2013)
<i>Fomitopsis durescens</i>	L.O.Overholts 4215	KF937293.1	KR610766.1	США	(Han et al., 2014)
<i>Fomitopsis durescens</i>	Leif Ryvar den 41410	KF937292.1	KR610775.1	Венесуела	(Han et al., 2014)
<i>Fomitopsis meliae</i>	Ryvar den 16893	KR605776.1	KR610775.1	Невідомо	(Han et al., 2016)
<i>Fomitopsis meliae</i>	Roberts GA863	KR605775.1	-	Велика Британія	(Han et al., 2016)
<i>Fomitopsis mounceae</i>	CFMR:D R-366	KF169624.1	KF169693.1	США	(Liu et al., 2021)
<i>Fomitopsis mounceae</i>	CFMR:JA G-08-19	KF169626.1	KF169695.1	США	(Liu et al., 2021)
<i>Fomitopsis mounceae</i>	CFMR:JE H-78	KF169629.1	KF169698.1	Канада	(Liu et al., 2021)
<i>Fomitopsis mounceae</i>	CFMR:32 TT	KF169621.1	-	США	(Haight et al., 2019)
<i>Fomitopsis ochracea</i>	CFMR:H HB-19692	KF169594.1	KF169663.1	США	(Liu et al., 2021)
<i>Fomitopsis ochracea</i>	CFMR:H HB-19670	KF169593.1	KF169662.1	США	(Liu et al., 2021)
<i>Fomitopsis pinicola</i>	GB:FCUG 2056	KF169654.1	KF169723.1	Швеція	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>

<i>Fomitopsis pinicola</i>	CFMR:LT-323	KF169651.1	KF169720.1	Естонія	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	CFMR:LT-319	KF169652.1	KF169721.1	Естонія	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	Cui 10532	KP171214.1	KR610782.1	Китай	(Han et al., 2015)
<i>Fomitopsis pinicola</i>	HK_15815	-	MK236364.1	невідомо	(Haight et al., 2019)
<i>Fomitopsis pinicola</i>	AT_Fp_1	MK208852.1	MK236362.1	Швеція	(Haight et al., 2019)
<i>Fomitopsis pinicola</i>	IBK 361	PQ460591.1	-	Білорусь**	Наші дослідження
<i>Fomitopsis pinicola</i>	8-4_H08	KX524503.1		Сербія	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Fomitopsis schrenkii</i>	CFMR:FP-105881-R	KF169641.1	KF169710.1	США	(Haight et al., 2019)
<i>Fomitopsis schrenkii</i>	JEN_144		MK208857.1	США	(Haight et al., 2019)

Примітка. \* назви видів вказано відповідно до їх реєстрації у базі даних GenBank

\*\* штамп *F. pinicola* 361 було передано до Колекції культур шапинкових грибів у 1987 р.

Було обрано ізоляти, що характеризуються різноманітним географічним поширенням, таких видів представників роду *Fomitopsis*: *F. betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, *F. cana* B.K. Cui, Hai J. Li & M.L. Han (= *F. ostreiformis* (Berk.) T. Hatt.), *F. durescens* (Overh. ex J. Lowe) Gilb. & Ryvarden (= *F. nivosella* (Murrill) Spirin & Vlasák), *F. meliae* (Underw.) Gilb., *F. mounceae* Haight & Nakasone, *F. ochracea* Ryvarden & Stokland, *F. pinicola*, *F. schrenkii* Haight & Nakasone. Вид *Daedalea quercina* (L.) Pers. (= *F. quercina* (L.) Spirin & Miettinen) використано як аутгрупу за двома ділянками: ITS та RPB2 (Liu et al., 2021). Для побудови філогенетичних дерев за обома ядерними локусами з наведених вище даних використано методи приєднання сусідів та максимальної правдоподібності. Сформовані дерева добре узгоджувалися за типологією із наведеними для цього роду філогенетичними деревами (Haight et al., 2019; Zhou et al., 2021; Spirin et al., 2024). Побудовані філогенетичні дерева (рис. 3.4) за різними локусами відображають зв'язки між представниками роду *Fomitopsis* із помірними та високими значеннями бутстреп-підтримки. Усі види чітко розмежовані та формують відповідні клади.

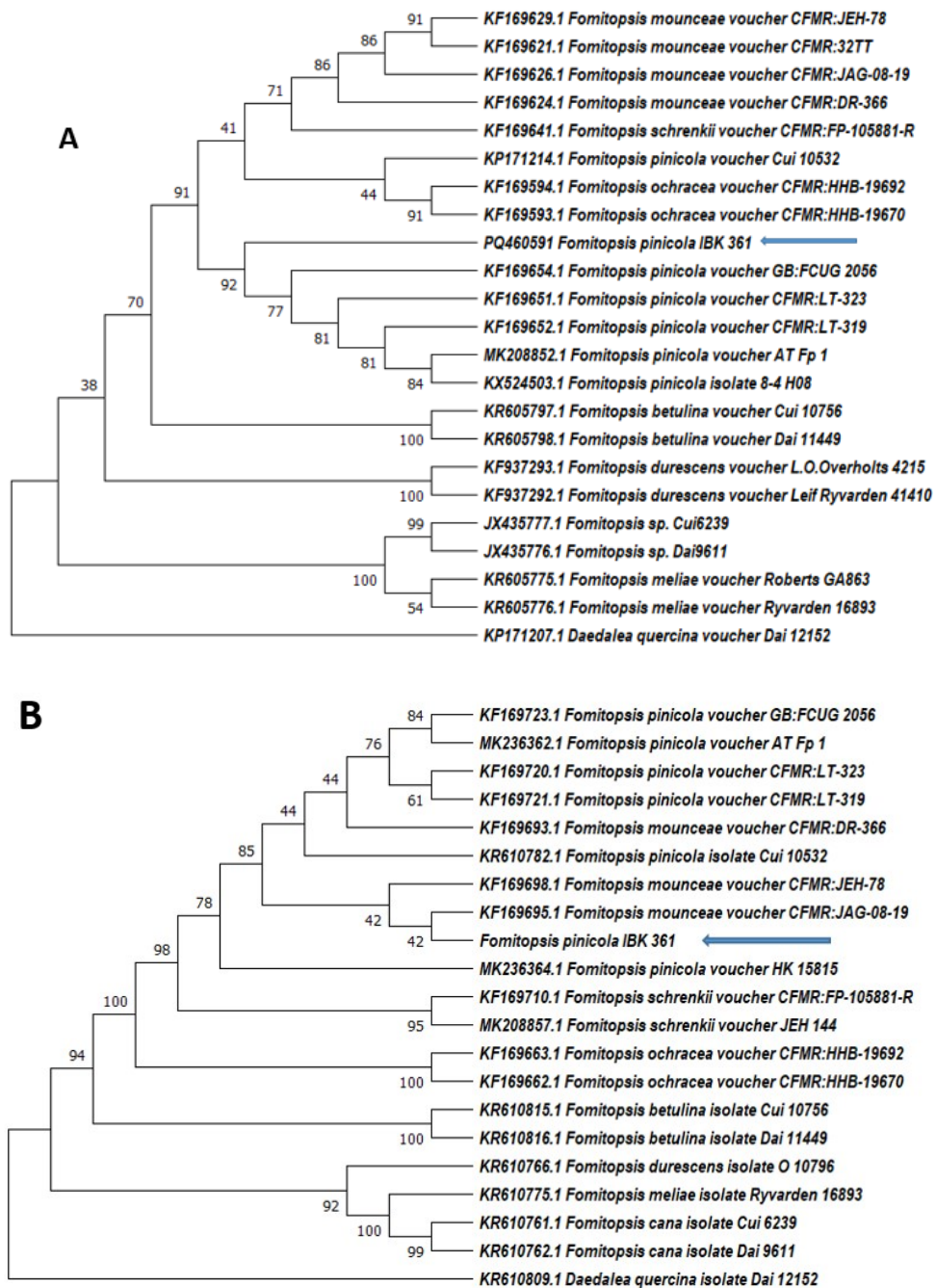


Рис. 3.4. Філогенетичні дерева роду *Fomitopsis*, побудовані з використанням нуклеотидних послідовностей генів ITS (A) та нуклеотидних послідовностей генів другої субодиниці РНК-полімерази (B) із застосуванням методу приєднання сусідів

Зокрема, досліджений штам *F. pinicola* 361 кластеризується з використаними референтними послідовностями *F. pinicola*, що депоновані у відповідну базу даних. Слід зазначити, що є певні типологічні відмінності між результатами аналізу для двох різних локусів. Так, при використанні

нуклеотидних послідовностей генів, які кодують ITS, ізолят *F. pinicola* 361 чітко відокремлений від таких споріднених видів, як *F. mounceae*, *F. schrenkii* та *F. ochracea*. Проте при аналізуванні нуклеотидних послідовностей генів, що кодують другу субодиницю ДНК-залежної-РНК-полімерази, досліджений ізолят не є чітко відокремленим від *F. mounceae*, хоча показники бутстреп-підтримки є нижчими, порівняно із філогенетичним деревом, побудованим за нуклеотидними послідовностями, що кодують гени ITS. Призвести до таких результатів може близька спорідненість даних видів, оскільки у деяких роботах зазначено, що *F. mounceae* належить до комплексу видів *F. pinicola sensu lato* (Haight et al., 2019). Однак відповідно до літературних даних (Liu et al., 2021) видова приналежність ізолятів чітко пов'язана з їх географічною локалізацією. Виділення цього ізоляту на території європейського континенту є доказом на користь його ідентифікації як *F. pinicola*. Таким чином, філогенетичний аналіз підтверджує видову ідентифікацію штаму *F. pinicola* 361 на основі порівняльного аналізу нуклеотидних послідовностей із депонованими в міжнародну базу даних нуклеотидними послідовностями.

Ідентифікація представників іншого роду порядку Polyporales, а саме роду *Ganoderma*, є досить складною, оскільки деякі види досить важко відрізнити один від одного, що призвело до накопичення значної кількості недостовірної інформації. Нещодавно було встановлено, що використання лише ядерного локусу ITS є неефективним для ідентифікації представників цього роду та може не відокремлювати представників згаданого роду від близькоспоріднених родів (Sun et al., 2022). Повідомляється, що мінливість макроскопічних ознак представників роду призвела до того, що багато описаних видових назв представників роду *Ganoderma* є синонімами (He et al., 2022). Тому під час виконання молекулярно-генетичних досліджень для двох штамів *Ganoderma tsugae*, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів було використано три види праймерів. Використані нуклеотидні послідовності з бази даних GenBank для двох ядерних локусів, наведених у таблиці 3.4.

Характеристика ізолятів, використаних для проведення молекулярно-генетичних досліджень роду *Ganoderma*

Вид*	Штам	Код доступу в базі даних NCBI		Країна походження	Література
		ITS	RPB2		
<i>Amauroderma rugosum</i>	Cui 9011	-	MG367506.1	Китай	(Zhou et al., 2025)
<i>Ganoderma boninense</i>	WD 2028	KJ143905.1	KJ143964.1	Японія	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma boninense</i>	WD 2085	KJ143906.1	KJ143965.1	Японія	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma curtisii</i>	CBS 100131	JQ781848.1	KJ143966.1	США	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma curtisii</i>	223FL	MG654167.1	MG754854.1	США	(Loyd et al., 2018)
<i>Ganoderma curtisii</i>	UMNFL28	MG654097.1	MG754856.1	США	(Loyd et al., 2018)
<i>Ganoderma flexipes</i>	Dai 20461	MZ354925.1	MZ245403.1	Китай	(Sun et al., 2022)
<i>Ganoderma flexipes</i>	Cui 13863	MZ354924.1	MZ245402.1	Китай	(Sun et al., 2022)
<i>Ganoderma leucocontextum</i>	Dai 15601	KU572485.1	MG367516.1	Китай	(Xing et al., 2018)
<i>Ganoderma lingzhi</i>	Wu1006-38	JQ781858.1	JX029980.1	Китай	(Cao et al., 2012)
<i>Ganoderma lingzhi</i>	SFC201506 24-06	KY364245.1	KY393267.1	Корея	(Jargalmaa et al., 2017)
<i>Ganoderma lingzhi</i>	Dai12479	JQ781864.1	-	Китай	(Cao et al., 2012)
<i>Ganoderma lucidum</i>	Yeongji-1	JQ520167.1	-	Корея	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma lucidum</i>	MUCL:315 49	MK554777.1	MK554765.1	Франція	(Cabarro-Hernández et al., 2019)
<i>Ganoderma lucidum</i>	K 175217	KJ143911.1	KJ143971.1	Велика Британія	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma lucidum</i>	MT 2610	KJ143912.1	-	Чехія	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma lucidum</i>	IUM 0047	JQ520174.1	-	Корея	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma lucidum</i>	FCL194	JN008870.1	-	Польща	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Ganoderma lucidum</i>	ATCC 46755	JQ520185.1	-	Канада	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma lucidum</i>	ATCC 64251	JQ520187.1	-	Тайвань	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma lucidum</i>	HGASMF0 1-4994	MZ057681.1	-	Китай	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>

<i>Ganoderma lucidum</i>	KCTC 16802	JQ520188.1	-	Тайланд	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma lucidum</i>	GLVN02	MN636776.1	-	В'єтнам	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<i>Ganoderma multipileum</i>	CWN 04670	KJ143913.1	KJ143972.1	Китай	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma multipileum</i>	Cui 14373	MG279184.1	MG367521.1	Китай	(Xing et al., 2018)
<i>Ganoderma multipileum</i>	MFLU 19-2216	MN401406.1	MN423142.1	Тайланд	(Luangharn et al., 2021)
<i>Ganoderma oregonense</i>	CBS 265.88	JQ781875.1	KJ143974.1	США	(Cao et al., 2012)
<i>Ganoderma oregonense</i>	UMNAK1	MG654190.1	-	США	(Loyd et al., 2018)
<i>Ganoderma resinaceum</i>	BCRC 36147	KJ143916.1	-	Нідерланди	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma resinaceum</i>	LGAM 448	MG706249.1	MG837820.1	Греція	(Sun et al., 2022)
<i>Ganoderma resinaceum</i>	MUCL:52253	MK554786.1	MK554764.1	Франція	(Cabarro-Hernández et al., 2019)
<i>Ganoderma sessile</i>	111TX	MG654306.1	MG754866.1	США	(Loyd et al., 2018)
<i>Ganoderma sessile</i>	228DC	MG654319.1	MG754869.1	США	(Loyd et al., 2018)
<i>Ganoderma tropicum</i>	Dai 16434	MG279194.1	MG367532.1	Китай	(Xing et al., 2018)
<i>Ganoderma tropicum</i>	He 1232	KF495000.1	MG367531.1	Китай	(Xing et al., 2018)
<i>Ganoderma tsugae</i>	IBK 1848	-	-	Ізраїль	Наші дослідження
<i>Ganoderma tsugae</i>	IBK 2566	-	-	Словаччина	Наші дослідження
<i>Ganoderma tsugae</i>	Dai 12751b	KJ143919.1	KJ143977.1	США	(Zhou et al., 2015)
<i>Ganoderma tsugae</i>	AFTOL-ID 771	DQ206985.1	DQ408116.1	США	(Matheny et al., 2007)
<i>Ganoderma tsugae</i>	ASI 7064	JQ520216.1	-	США	(Park et al., 2012a)
<i>Ganoderma tsugae</i>	ATCC 64795	JQ520215.1	-	Канада	(Park et al., 2012a)
<i>Tomophagus colossus</i>	TC-02	KJ143923.1	-	В'єтнам	(Zhou et al., 2015)

Примітка. \* назви видів вказано відповідно до їх реєстрації у базі даних GenBank

Для проведення аналізу нуклеотидних послідовностей було використано таких представників роду *Ganoderma*: *G. boninense* Pat. (= *Ganoderma orbiforme* (Fr.) Ryvarden), *G. curtisii* (Berk.) Murrill, *G. flexipes* Pat., *G. leucocontextum* T.H. Li, W.Q. Deng, Sheng H. Wu, D.M. Wang & H.P. Hu, *G. lingzhi* S.H. Wu, Y. Cao &

Y.C. Dai (= *G. sichuanense*), *G. lucidum*, *G. multipileum* Ding Hou, *G. oregonense* Murrill, *G. resinaceum*, *G. sessile* Murrill, *G. sichuanense*, *G. tropicum* (Jungh.) Bres., *G. tsugae* Murrill. Види *Amauroderma rugosum* (Blume & T. Nees) Torrend (= *Sanguinoderma rugosum* (Blume & T. Nees) Y.F. Sun, D.H. Costa & B.K. Cui) та *Tomophagus colossus* (Fr.) Murrill використано як аутгрупу за ділянками ITS та RPB2 відповідно.

Наведені у таблиці 3.4 ізоляти було використано для побудови філогенетичних дерев (рис. 3.5) окремих за обома ядерними локусами з застосуванням методів приєднання сусідів та максимальної правдоподібності.

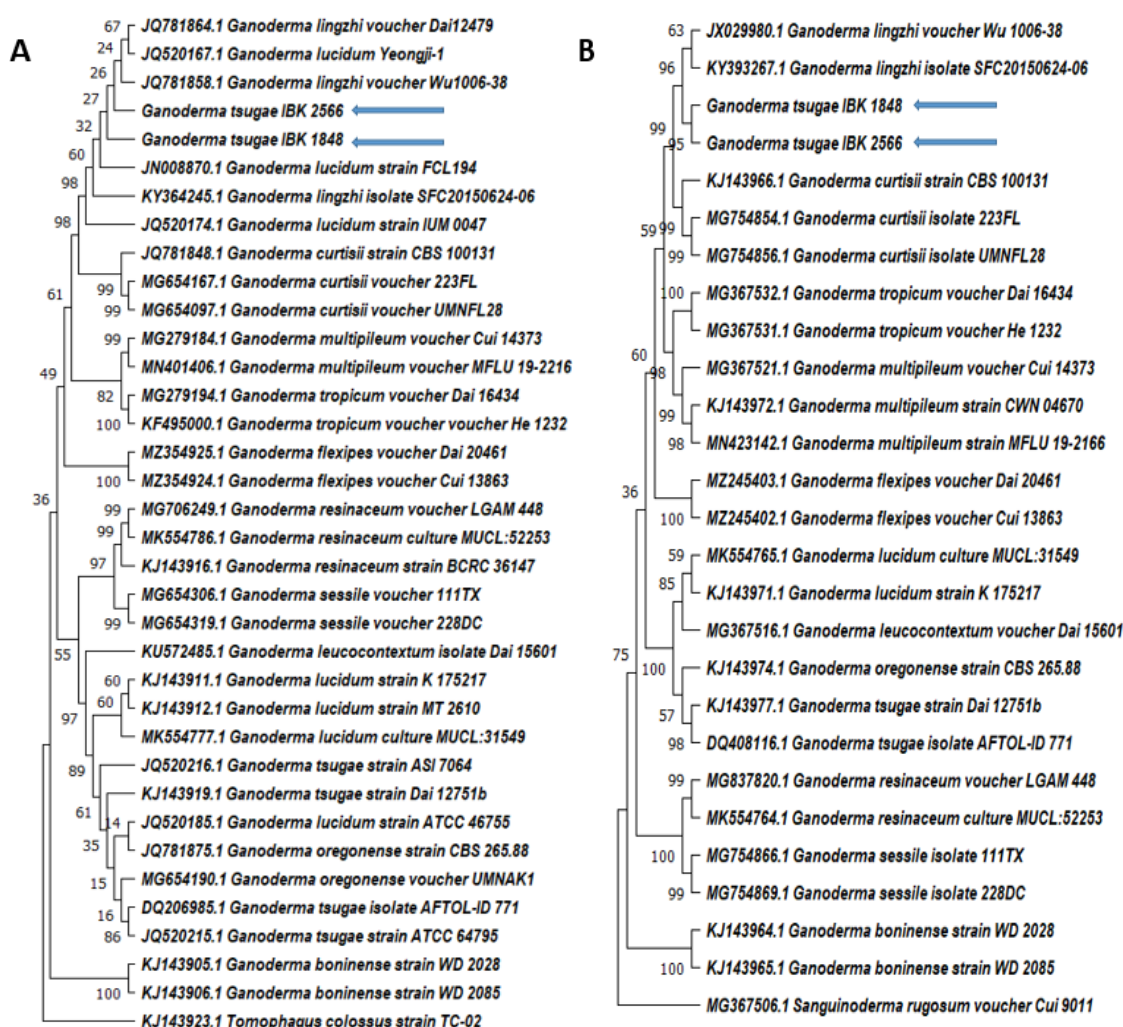


Рис. 3.5. Філогенетичні дерева роду *Ganoderma*, побудовані з використанням нуклеотидних послідовностей генів ITS (А) та нуклеотидних послідовностей генів другої субодиниці РНК-полімерази (В) із застосуванням методу приєднання сусідів.

Філогенетичні дерева добре узгоджуються за типологією із літературними даними (Jargalmaa et al., 2017; Xing et al., 2018; Sun et al., 2022). Загалом, для філогенетичних дерев, побудованих за обома ядерними локусами, спостерігається чітка кластеризація представників роду *Ganoderma* із вищими показниками бутстреп-підтримки при застосуванні методу приєднання сусідів. Досліджувані ізоляти виду *G. tsugae* 1848 та 2566 для обох випадків утворюють окрему кладу, проте залежно від виду ядерного локусу, вони є філогенетично близькими до *G. lucidum* (ITS регіон) та *G. lingzhi* (RPB2 регіон). Однак, у другому випадку спостерігається максимальна бутстреп-підтримка, що свідчить про більшу спорідненість із видом *G. lingzhi*. Однак слід зазначити, що на даний момент існують певні розбіжності у визначенні виду *G. lingzhi*. Ця видова назва використовувалась у широкому («lingzhi» перекладається як «поліпоровий рід *Ganoderma* P. Karst.») та вузькому значенні (високоцінний лікарський вид *Ganoderma*) (Cao et al., 2012). Таке розмите розуміння призвело до розуміння «lingzhi» як синоніму *Ganoderma lucidum*, хоча у 2012 році *Ganoderma lingzhi* було визнано окремим видом, однак залишалися труднощі із визначенням правильної видової назви ізолятів (Papp, 2024). Також певні складності із таксономією *G. lucidum* пов'язані з тим, що даний вид є широкопоширеним та добревідомим, що призвело до накопичення значної морфологічної варіабельності, що значно ускладнює правильну ідентифікацію цього виду (Nguyen et al., 2023). Крім того, повідомляється про розбіжності у нуклеотидних послідовностях ізолятів цього виду залежно від їх географічного поширення (Richter et al., 2015). Для подальшого уникнення таких ситуацій актуальна назва *G. lingzhi* – *G. sichuanense*, однак для зразків, зареєстрованих у міжнародній базі даних, на філогенетичному дереві наведено стару назву виду, оскільки під цією назвою зареєстровано використані у аналізі нуклеотидні послідовності. З урахуванням описаних проблем у розмежуванні двох видів роду *Ganoderma*, для більш точної ідентифікації двох штамів із Колекції культур шапинкових грибів ІВК використано метод випадково ампліфікованої поліморфної ДНК (Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)), який використовує короткі

випадкові ПЛР-праймери (8–15 нуклеотидів), комплементарні кільком геномним областям, генеруючи складні ПЛР-профілі, характерні для кожного виду. Для цього методу використовуються високополімерні молекулярні маркери, а кількість ДНК, необхідна для дослідження, є невеликою (Oliveira & Azevedo, 2022). Використання GSF та GSR як специфічних праймерів, які підтверджують видову приналежність до *G. lucidum*, демонструє подібність досліджуваних ізолятів до виду *G. lucidum* (рис. 3.6), однак для методу властива недостатня точність визначення. Тому для більш достовірної філогенетичної диференціації досліджуваних штамів IBK 1848 та 2566 рекомендується провести молекулярно-генетичні дослідження за іншими широко використовуваними для роду *Ganoderma* ядерними локусами. Проведені молекулярно-генетичні дослідження свідчать на користь переідентифікації штамів IBK 1848 та 2566 як *G. sichuanense*, тому далі у дисертаційній роботі використано саме цю видову назву.

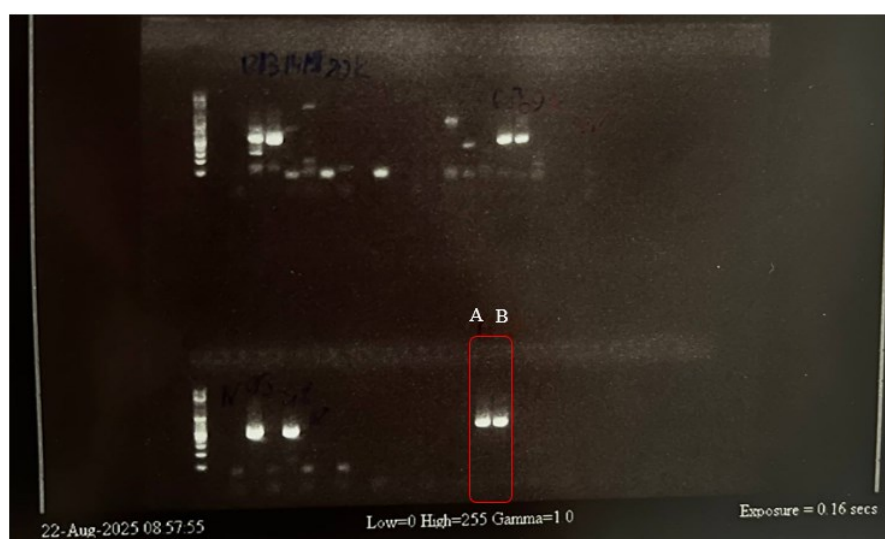


Рис. 3.6. Електрофореграма продуктів ПЛР з використанням специфічних праймерів GSF та GSR: А – штам *Ganoderma tsugae* 1848; В – штам *Ganoderma tsugae* 2566.

Примітка: решта зразків, зображена на електрофореграмі у дисертації не обговорюється

Загалом, результати проведених молекулярно-генетичних досліджень на основі згаданих вище ядерних локусів дозволили підтвердити видову ідентифікацію семи досліджуваних штамів із Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), за винятком двох штамів ІВК 1848 та 2566, які було ідентифіковано як *G. sichuanense*. Нуклеотидні послідовності, отримані для штамів з успішно

підтвердженою видовою назвою, були внесені у базу даних GenBank, що сприятиме розширеному розумінню внутрішньовидової мінливості, оскільки біологічні властивості описаних штамів активно вивчалися в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного протягом тривалого часу.

## РОЗДІЛ 4.

### ДОСЛІДЖЕННЯ НАКОПИЧЕННЯ МІЦЕЛІАЛЬНОЇ БІОМАСИ ОБРАНИХ ШТАМІВ ВИДІВ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ

#### 4.1. Динаміка накопичення біомаси дереворуйнівних базидієвих грибів при глибинному культивуванні

Культивування міцеліальної грибною біомаси є ключовим у процесі біотрансформації, оскільки це відіграє важливу роль у активності внутрішньоклітинних ферментів, що беруть участь у цьому процесі. Накопичення достатньої кількості грибною біомаси для процесу біотрансформації ксенобіотиків є першим етапом у роботі, оскільки досить важливим є співвідношення між кількістю грибних клітин та внесеною речовиною. За умов, коли кількість продукованої грибом біомаси є незначною, що, зокрема, характерне під час лаг-фази росту грибних культур, кількість внесеного ксенобіотика може бути токсичною для культури через малу кількість біомаси. Найоптимальнішим варіантом для процесу біотрансформації є внесення ксенобіотика наприкінці експоненційної фази росту, оскільки у цей час спостерігається висока ферментативна активність чистих культур у поєднанні із високими концентраціями біомаси, оскільки за таких умов процес біотрансформації відбувається найефективніше (Arya et al., 2011; Jakovljević & Vrvic, 2017). Тому рекомендується проводити дослідження динаміки накопичення грибною біомаси перед початком дослідження біотрансформації ксенобіотиків (Ali, 2018).

Враховуючи вищенаведені рекомендації, було проведено експериментальну оцінку параметрів росту міцелію 9 штамів 5 видів базидієвих грибів на середовищі ГПД. Вказане живильне середовище було обрано, спираючись на попередні дослідження, проведені для широкого переліку базидієвих грибів (Boromenskyi & Bisko, 2020).

Динаміка накопичення біомаси штаму *Pleurotus ostreatus* 297 та зміни рівня рН протягом 9 діб глибинного культивування на рідкому живильному

середовищі ГПД у колбах Ерленмейєра наведені на рис. 4.1. демонструє, що максимальний рівень біомаси (10,32 г/л) спостерігається на 7-му добу культивування, тоді як різниця у кількості біомаси між 5-ю та 7-ю добами глибинного культивування становить всього 17 %, тому 5-та доба глибинного культивування даного штаму можна вважати закінченням експоненційної фази росту обраного штаму. Варто відзначити, що рівень рН культуральної рідини не змінювався протягом усього періоду глибинного культивування.

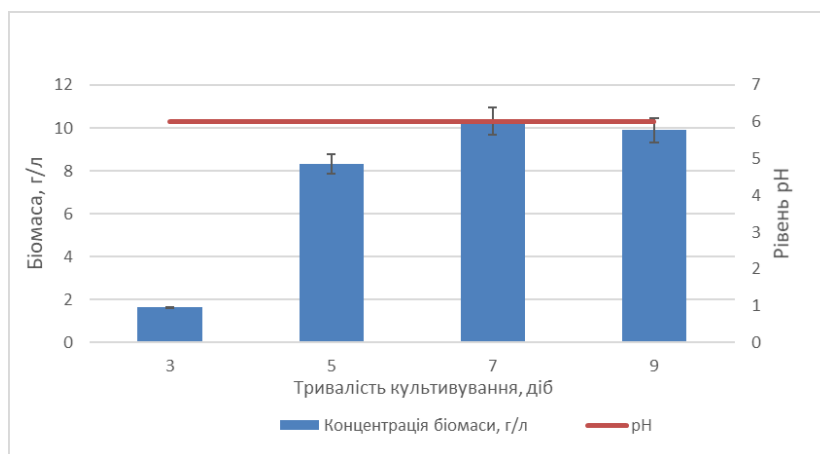


Рис. 4.1. Динаміка накопичення біомаси *Pleurotus ostreatus* 297 та зміни рівня рН культуральної рідини при глибинному культивуванні на середовищі ГПД протягом 9 діб

Відомо, що концентрація глюкози 20 г/л, використання дріжджового екстракту як джерела Нітрогену, показник рН 6,0 та глибинне культивування у темряві сприяють накопиченню максимального рівня біомаси штамів *P. ostreatus* (Guillén-Navarro et al., 1998; Horincar et al., 2015; Bakratsas, Antoniadis, et al., 2024; Bakratsas, Tsoumanis, et al., 2024; Hamza et al., 2024). Отримані нами результати динаміки синтезу біомаси штаму *P. ostreatus* 297 є подібними до результатів, описаних для інших штамів цього виду при вирощуванні на живильному середовищі ГПД (Krupodorova, Barshteyn, Tsygankova, et al., 2024). Порівняно з наведеними у сучасній літературі даними синтезу біомаси штамми цього виду, можна зробити висновок, що досліджений нами штам *P. ostreatus* 297 характеризується високими показниками росту при глибинному культивуванні на рідкому живильному середовищі ГПД.

Дослідження динаміки накопичення біомаси двох штамів *Schizophyllum commune*, дозволило встановити штамоспецифічність у швидкості накопичення біомаси та часу переходу культури із експоненційної фази росту до стаціонарної, тому для штаму *S. commune* 1769 визначення концентрації біомаси проводили до 9-ї доби культивування, тоді як для більш повільно зростаючого штаму *S. commune* 1768 – до 11-ї доби (рис. 4.2). При цьому для штаму, який характеризувався довшою тривалістю росту, встановлено вищі значення утвореної біомаси, однак рівень рН для обох штамів був незмінним протягом усього глибинного культивування та становив 6,0 одиниць, що є характерним для штамів цього виду (Alam et al., 2010; Joshi et al., 2013).

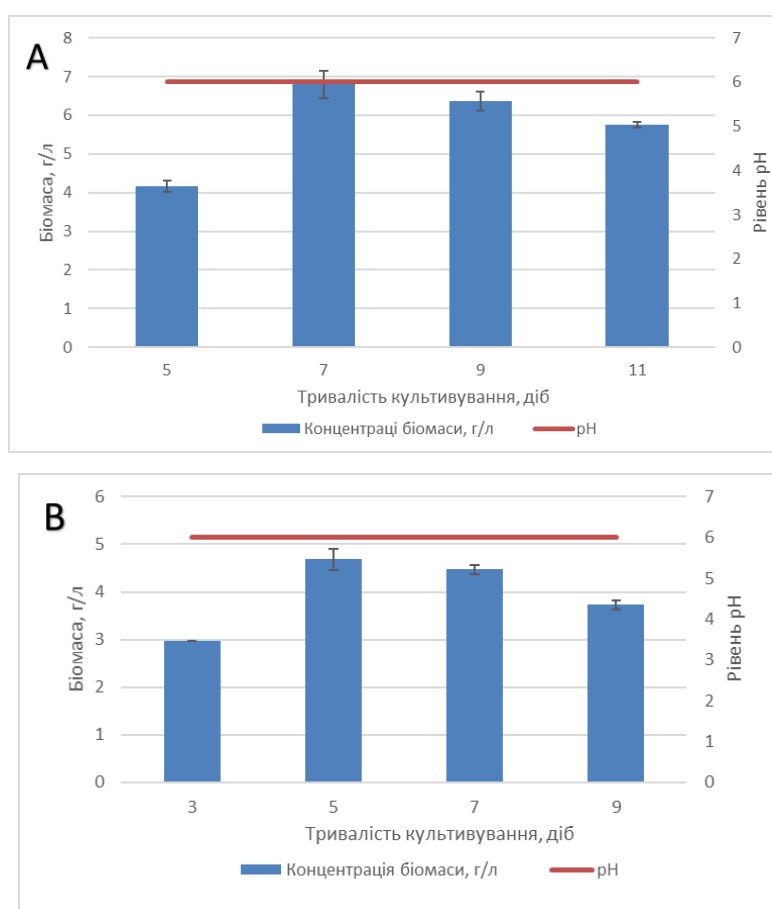


Рис. 4.2. Динаміка накопичення біомаси штамів *Schizophyllum commune* 1768 (А) та *Schizophyllum commune* 1769 (В), а також зміни рівня рН культуральної рідини при глибинному культивуванні на середовищі ГПД протягом 9 (В) та 11 (А) діб

Добре відомо, що використання глюкози та дріжджового екстракту у складі живильного середовища сприяє накопиченню біомаси штамів *S. commune* (Joshi et al., 2013; Debnath et al., 2022; Liang et al., 2024). Таким чином, оптимальним часом для внесення ксенобіотиків є 4 доба для міцелію штаму *S. commune* 1769 та 5 – для *S. commune* 1768.

Різниця у накопиченні біомаси під час глибинного культивування на середовищі ГПД спостерігалася для двох досліджених штамів *Ganoderma sichuanense* 1848 та 2566 була не така істотна (рис. 4.3).

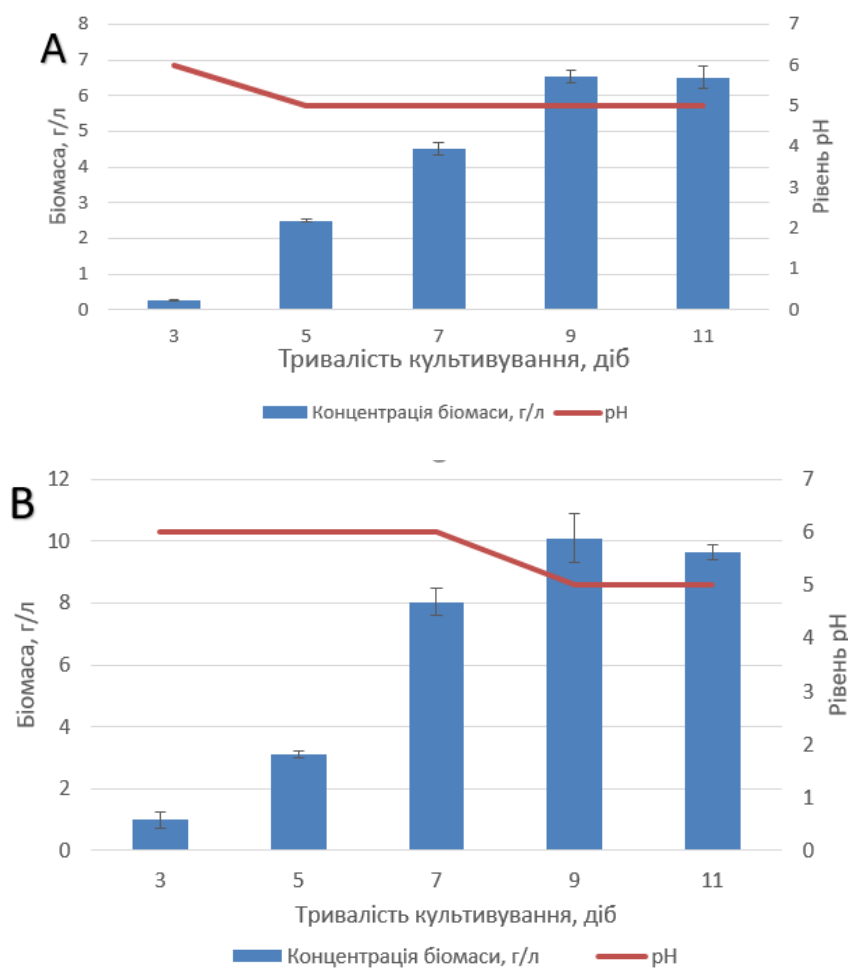


Рис. 4.3. Динаміка накопичення біомаси штамів *Ganoderma sichuanense* 1848 (А) та *Ganoderma sichuanense* 2566 (В), а також зміни рівня рН при глибинному культивуванні на середовищі ГПД протягом 11 днів

Для обох штамів спостерігалася зміна показника рН культуральної рідини від 6,0 до 5,0 одиниць. Ці значення є оптимальними для росту міцелію представників роду *Ganoderma* (Subedi et al., 2021; Serody et al., 2024; Nguyen et

al., 2023). Слід зазначити, що при глибинному культивуванні важливим параметром є кількість інокуляту, тому нами було використано 10 % об./об. посівного матеріалу для підвищення концентрації грибно́ї біомаси (Nasreen et al., 2005). Отримані нами результати із накопичення біомаси близькі до літературних даних про синтез біомаси представниками роду *Ganoderma* (Liu & Zhang, 2018), однак є відмінності між даними, отриманими для цих же штамів у іншій роботі (Voromenskyi & Bisko, 2020). Ця різниця може бути зумовлена тривалим зберіганням культури на живильному агаризованому середовищі при температурі +4°C, що може призводити до морфологічних та фізіологічних змін грибних культур, проте це питання потребує більш детальних досліджень (Castro-Rios & Vermeo-Escobar, 2021).

Динаміка накопичення біомаси штаму *Fomitopsis pinicola* 361 (рис. 4.4) мала відмінності від попередніх штамів. По-перше, рівень накопиченої біомаси був меншим, порівняно із наведеними вище результатами; по-друге, протягом глибинного культивування відбувалась зміна рН культуральної рідини з нейтрального (6,0) до кислого (2,0) значення. Така зміна рН культуральної рідини характерна і для інших штамів цього виду (Krupodorova, Barshteyn, Dzhagan, et al., 2024), що робить даний штам перспективним у дослідженні біотрансформації, оскільки кислі значення рН є оптимальними для роботи лаказ (Park & Park, 2014). Раніше повідомлялося, що живильні середовища, що містять глюкозу, пептон та дріжджовий екстракт, сприяють підвищенню швидкості міцеліального росту штамів цього виду порівняно з іншими синтетичними живильними середовищами (Stefanova et al., 2025). Відповідно до отриманих результатів із накопичення міцеліальної маси штаму *F. pinicola* 361, внесення ксенобіотиків у культуральну рідину найкраще проводити на 7-му добу глибинного культивування.

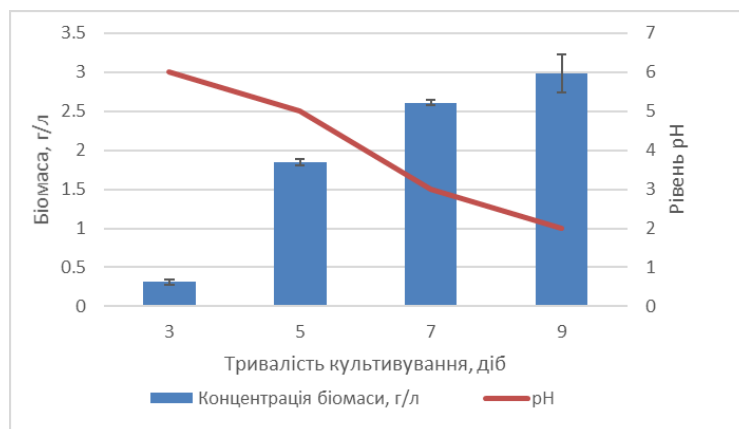


Рис. 4.4. Динаміка накопичення біомаси *Fomitopsis pinicola* 361 та зміни рівня рН культуральної рідини при глибинному культивуванні на середовищі ГПД протягом 11 днів

Зміну рН культуральної рідини до більш кислого протягом глибинного культивування також встановлено для міцелію трьох штамів *Laricifomes officinalis* (рис. 4.5).

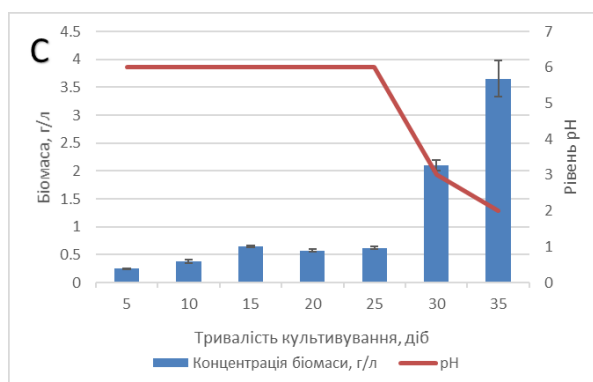
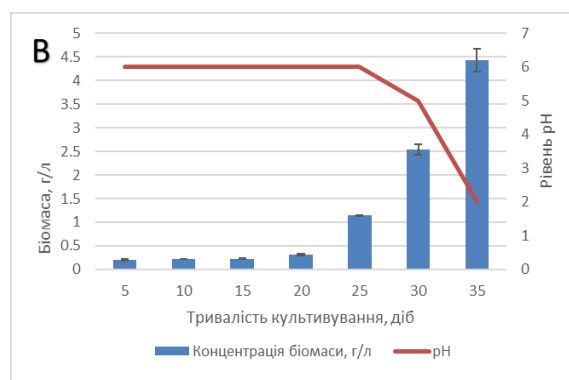
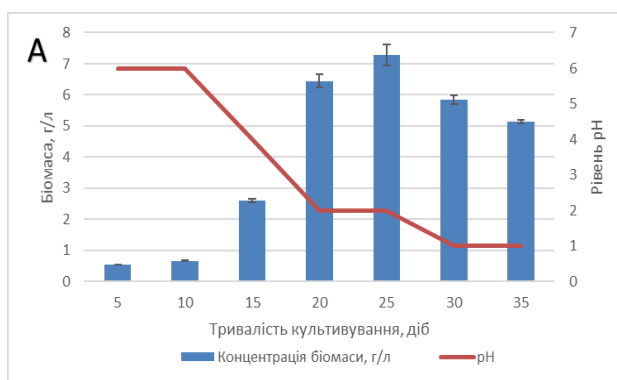


Рис. 4.5. Динаміка накопичення біомаси *Laricifomes officinalis* 2497 (А), *Laricifomes officinalis* 2498 (В), *Laricifomes officinalis* 5004 (С) та зміни рівня рН культуральної рідини при глибинному культивуванні на середовищі ГПД протягом 35 днів

Тривалість глибинного культивування для цих штамів є більшою, порівняно із штамми інших видів, описаних вище. Для всіх досліджених штамів *L. officinalis* встановлено залежність між зниженням рН культуральної рідини та

збільшенням синтезу біомаси – найбільший зсув у значеннях рН культуральної рідини відбувався синхронно з фазою експоненційного росту. Міцелій штаму *L. officinalis* 2497 є найбільш продуктивним поміж трьох досліджених штамів цього виду, тому внесення ксенобіотиків для даного штаму необхідно робити на 20-ту добу глибинного культивування, тоді як для двох інших штамів – *L. officinalis* 2498 та *L. officinalis* 5004 – на 30-ту добу глибинного культивування.

Отримані результати свідчать про штамову специфічність показників накопичення біомаси та часу внесення ксенобіотика для досліджених штамів базидієвих грибів при глибинному культивуванні на рідкому живильному середовищі ГПД (таб. 4.1.1).

Таблиця 4.1.1

Характеристика показників росту міцелію досліджених штамів при глибинному культивуванні на середовищі ГПД

<b>Вид, штам</b>	<b>S, доба</b>	<b>V<sub>max</sub>, г/л</b>	<b>t<sub>хен</sub>, доба</b>
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	9	2.98±0.13	8
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	9	10.09±0.25	7
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	9	6.55±0.31	7
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	25	7.28±0.15	20
<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	35	4.42±0.21	30
<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	35	3.65±0.21	30
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	6	10.32±0.56	4
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	7	6.80±0.24	5
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	5	4.68±0.10	4

S – початок стаціонарної фази росту, V<sub>max</sub> – максимальна концентрація біомаси, t<sub>хен</sub> – оптимальний час для внесення ксенобіотика у колби з міцелієм обраних штамів.

Наведені графіки (рис. 4.1–4.5) накопичення міцеліальної маси дозволяють визначити оптимальний час для внесення у культуральну рідину ксенобіотиків задля оцінки їх подальшої біотрансформації. Встановлено, що міцелій штаму *P. ostreatus* 297 характеризується найкращою швидкістю росту серед проаналізованих штамів, тоді як штами *L. officinalis* – найменшою. Найбільша концентрація біомаси була встановлена для штамів *P. ostreatus* 297 ( $10,32 \pm 0,56$  г/л) та *G. sichuanense* 2566 ( $10,08 \pm 0,25$  г/л). Крім того, у ході роботи відмічено зниження рівня рН культуральної рідини для *F. pinicola* 361 та трьох штамів *L. officinalis* 2497, 2498, 5004, що може мати позитивний вплив на процес біотрансформації, оскільки оптимальний діапазон для роботи деяких ферментів, що приймають участь у процесі біотрансформації, знаходиться у діапазоні кислих значень рН.

#### **4.2. Вплив модифікації складу живильного середовища на параметри росту міцелію штамів *Laricifomes officinalis* в умовах глибинного культивування**

Одним з основних параметрів, що впливає на процес біотрансформації, є кількість грибної біомаси. Це пов'язано з тим, що саме живі клітини та їхні ферментні системи є біологічними каталізаторами метаболічних реакцій перетворень ксенобіотиків на метаболіти. Модифікація параметрів культивування задля збільшення біомаси та прискорення росту міцелію є важливою передумовою для вирішення задач, пов'язаних з біотрансформацією ксенобіотиків, особливо для повільнозростаючих штамів з низькою продукцією біомаси.

Оскільки усі три досліджені штами *L. officinalis* мали унікальну для базидієвих грибів здатність знижувати рН культуральної рідини до 2,0 одиниць, проте характеризуються повільною швидкістю росту, низьким значенням накопиченої біомаси, та, як наслідок, тривалим терміном культивування. Тому, нами було вирішено поставити серію дослідів, метою яких було внести зміни в склад живильного середовища з метою покращення параметрів росту міцелію та

підвищення концентрації синтезованої біомаси під час глибинного культивування.

На першому етапі було досліджено вплив трьох різних варіантів модифікації стандартного живильного середовища ГПД з метою оцінити вплив запропонованих змін на накопичення біомаси штаму *Laricifomes officinalis* 2498. Дослід тривав 15 діб, тому що в певних варіантах досліду концентрація біомаси досягала пікових значень. Отримані результати показали, що зміна рН живильного середовища з 6,0 до 2,0 одиниць збільшувала концентрацію біомаси більше як у 3 рази. Однак додавання лецитину разом з підкисленням рН живильного середовища перед інокуляцією підвищило концентрацію біомаси більше ніж у 9 разів, тоді як додавання лецитину до складу живильного середовища без додаткового підкислення підвищило концентрацію біомаси у 13 разів. Отримані результати свідчать, що модифікація складу живильного середовища призводить до підвищення концентрації біомаси штаму *L. officinalis* 2498 за менший період часу у порівнянні зі стандартним живильним середовищем ГПД (табл. 4.2.1).

Таблиця 4.2.1

Вплив модифікованого живильного середовища на концентрацію біомаси штаму *Laricifomes officinalis* 2498 після 15 діб глибинного культивування, г/л

Живильне середовище	Початковий рівень кислотності живильного середовища	
	рН 6,0	рН 2,0
Стандартне ГПД	1,2±0,20*	3,3±0,67 <sup>1</sup>
Модифіковане ГПД з 20 мл/л лецитину	13,9±1,5 <sup>2</sup>	10,86±2,64 <sup>3</sup>

Примітка: \*контроль без змін у складі живильного середовища ГПД

Універсальний поріг статистичної значущості у порівнянні з контролем:

<sup>1</sup> p<0,05;

<sup>2</sup> p<0,005;

<sup>3</sup> p<0,001.

Враховуючи позитивний ефект, до якого призводить додавання лецитину у середовище для культивування, було проведено більш широке дослідження із

визначення оптимальної концентрації соняшникового лецитину у складі живильного середовища та динаміки накопичення біомаси трьох штамів *L. officinalis* на модифікованому живильному середовищі із лецитином. Таким чином, була проведена оцінка впливу чотирьох різних концентрацій лецитину в діапазоні від 10 мл/л до 25 мл/л. Для штаму *L. officinalis* 2498 найкращі результати були отримані при використанні середовища з концентрацією лецитину 20 мл/л, біомаса при цьому на 12-у добу культивування становила  $15,4 \pm 0,9$ , а на 15 –  $16,55 \pm 0,05$  (рис. 4.2.1, В), різниця між 12-ю та 15-ю добою є незначною і свідчить про те, що на середовищі з вказаним складом зазначений штам досягає стаціонарної фази росту на 12-у добу. Приріст біомаси цього штаму на середовищах з меншою та більшою концентрацією лецитину був значно меншим у порівнянні з середовищем з 20 мл/л лецитину.

Для штаму *L. officinalis* 2497 найкращі результати були отримані також при культивуванні на живильному середовищі з лецитином у концентрації 20 мл/л; водночас біомаса становила  $10,9 \pm 1,2$  та  $10,9 \pm 0,7$  г/л на 12-ту та 15-ту добу відповідно (рис. 4.2.1, А). Оскільки різниця між 12-ю та 15-ю добою культивування у кількості біомаси знаходилася в межах похибки, це свідчить про те, що за цих умов культивування культура штаму *L. officinalis* 2497 досягає стаціонарної фази росту вже на 12-ту добу культивування, як і попередній штам.

Штам *L. officinalis* 5004 демонстрував високі показники росту на живильному середовищі як з 20, так і з 25 мл/л лецитину. Кількість синтезованої біомаси була  $13,63 \pm 0,07$  та  $13,9 \pm 0,1$  відповідно для обох концентрацій (рис. 4.2.1, С), а оптимальний час культивування був 15 діб. Таким чином, враховуючи кількість біомаси, час культивування та витрати лецитину як доданого до живильного середовища компоненту, можна рекомендувати концентрацію 20 мл/л як оптимальну для напрацювання біомаси досліджених штамів *L. officinalis*, оптимальний час для культивування штамів *L. officinalis* 2497 та 2498 становить 12 діб, а для штаму *L. officinalis* 5004 – 15 діб.

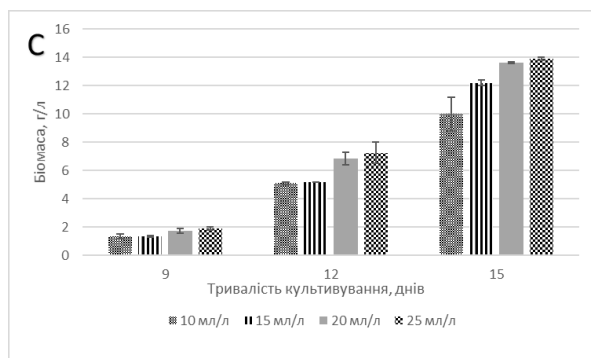
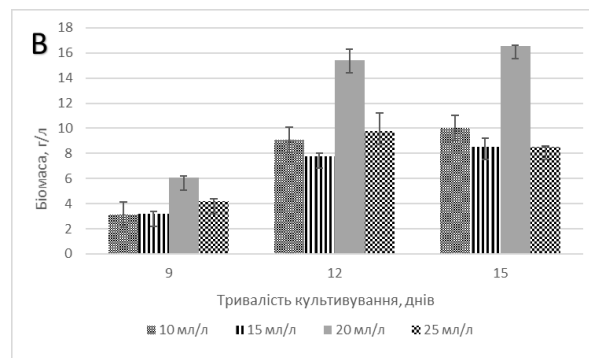
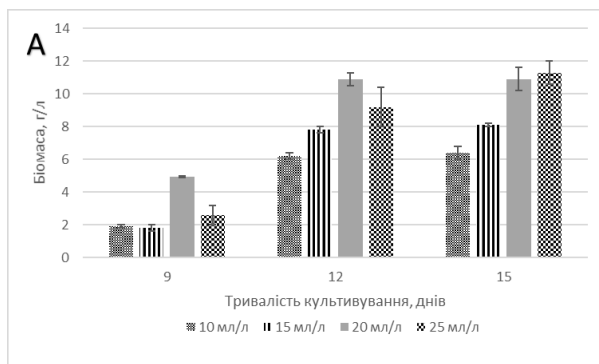


Рис. 4.2.1. Вплив концентрації лецитину у складі живильного середовища ГПД на накопичення біомаси *Laricifomes officinalis* 2497 (A), *Laricifomes officinalis* 2498 (B), *Laricifomes officinalis* 5004 (C) при глибинному культивуванні протягом 15 діб

Для додаткового оцінювання параметрів росту та експериментального підтвердження відтворення результатів було проведене розширене порівняльне дослідження із динаміки накопичення біомаси для трьох штамів *L. officinalis* з використанням стандартного живильного середовища ГПД та модифікованого живильного середовища ГПД із додаванням 20 мл/л соняшникового лецитину (рис. 4.2.2). Результати цього дослідження продемонстрували, що додаткове внесення лецитину у концентрації 20 мл/л пришвидшує синтез біомаси уже на 6 добу культивування, що призводить до зменшення тривалості лаг-фази для усіх досліджених штамів. Найбільша кількість біомаси спостерігалася у штаму *L. officinalis* 2498 –  $17,8 \pm 1,11$  г/л на 12-ту добу глибинного культивування. Найнижча – у штаму *L. officinalis* 2497 –  $11,4 \pm 0,08$  г/л на 12-ту добу глибинного культивування.

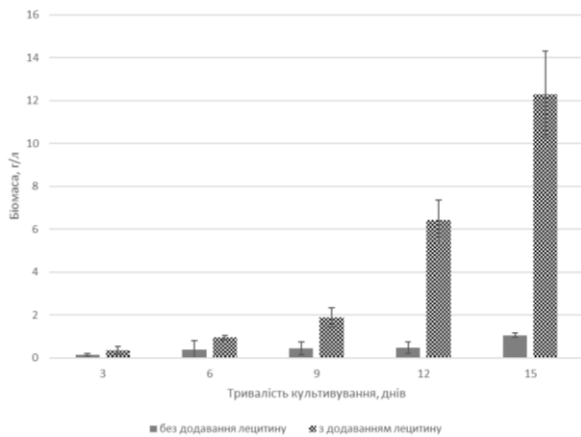
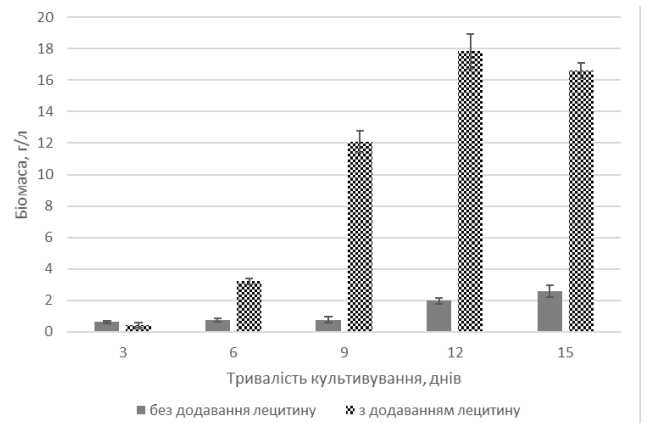
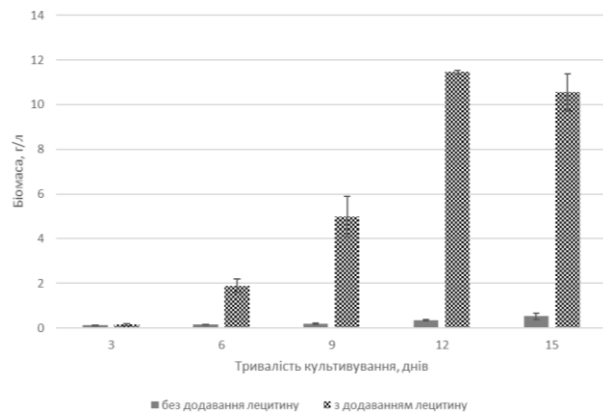


Рис. 4.2.2. Вплив модифікованого живильного середовища з 20 мл/л лецитину на накопичення біомаси. А – *Laricifomes officinalis* 2497, В – *Laricifomes officinalis* 2498, С – *Laricifomes officinalis* 5004.

Збільшення концентрації біомаси може бути пов'язане з підвищенням вмісту джерела Карбону в живильному середовищі. Після вимірювання залишкової кількості глюкози в стандартному живильному середовищі ГПД та модифікованому живильному середовищі з лецитином, кращий рівень споживання глюкози був отриманий для модифікованого живильного середовища (рис. 4.2.3). Проведене колориметричне вимірювання рівня глюкози після 15 діб культивування демонструє, що з додаванням лецитину до складу живильного середовища ГПД збільшується споживання глюкози із культуральної рідини. При використанні стандартного живильного середовища ГПД на 1 г біомаси штаму *L. officinalis* 2498 витрачається 4,3 г глюкози, на 1 г біомаси штаму *L. officinalis* 5004 – 7,8 г глюкози, тоді як для 1 г біомаси найменш продуктивного штаму *L. officinalis* 2497 – 16,7 г. Водночас при використанні модифікованого живильного середовища з 20 мл/л лецитину для продукції 1 г біомаси штаму *L. officinalis* 2497 споживається 1,3 г глюкози; для одержання 1 г біомаси штамів *L. officinalis* 2498 та 5004 цей показник становить 1,2 та 1,4 г спожитої глюкози відповідно.

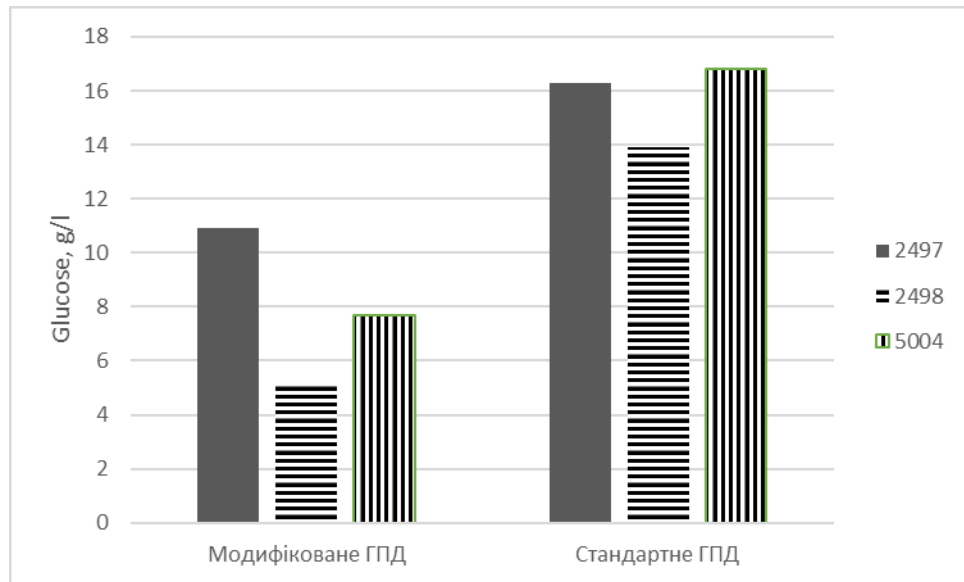


Рисунок 4.2.3 Залишкова концентрація глюкози (г/л) у стандартному та модифікованому живильних середовищах ГПД після 15 діб культивування штамів *Laricifomes officinalis* 2497, 22498 та 5004

Через зростаюче вивчення біологічних властивостей *L. officinalis* виникає потреба збільшити кількість його біомаси (Wu et al., 2014; Fijałkowska et al., 2021; Flores, Cusumano, et al., 2023; Areesanan et al., 2025). Оскільки цей вид є рідкісним і володіє унікальними властивостями, що потенційно робить його цікавим для досліджень в галузі біотрансформації, необхідно покращити накопичення міцеліальної біомаси, але добре відомо, що цей вид дуже повільно росте в лабораторних умовах. Групою італійських дослідників встановлено високе продукування біомаси після 12 діб інкубації та тривалу лаг-фазу, яка може тривати від 4 до 6 діб залежно від штаму (Girometta et al., 2021).

У науковій літературі описано декілька різних методів підвищення рівня біомаси *L. officinalis*. Зокрема, повідомляється, що оптимізація складу живильного середовища шляхом додавання солей сприяє збільшенню біомаси *L. officinalis* майже вдвічі (з 2,8 до 5,631 г/л) (Fijałkowska et al., 2021). Водночас використання колоїдних розчинів наночастинок підвищує продукування біомаси на 31–54% (Mukchaylova et al., 2024b), однак опромінення посівного матеріалу синім світлом було більш ефективним, оскільки збільшує виробництво біомаси до 14,7 г/л (Mukchaylova et al., 2024a). Серед трьох досліджених нами штамів, штам *L. officinalis* 5004 раніше був описаний як найпродуктивніший

(Mukchaylova et al., 2022), однак при використанні живильного середовища з лецитином у концентрації 20 мл/л найбільшу кількість біомаси продукує міцелій штаму *L. officinalis* 2498, що становила 17,84 г/л.

Підсумовуючі результати цього дослідження, можна констатувати, що підкислення живильного середовища підвищує концентрацію біомаси більше ніж у три рази, однак цей метод є не таким ефективним, як додавання у склад живильного середовища лецитину у концентрації 20 мл/л, що сприяє збільшенню концентрації утвореної біомаси більше як у десять разів. Крім того, додавання лецитину до живильних середовищ для глибинного культивування *L. officinalis* сприяє збільшенню швидкості росту та більш ефективному використанню субстрату. Таким чином, завдяки вказаним модифікаціям живильного середовища вдалося збільшити продуктивність біомаси зазначених штамів *L. officinalis* до рівня інших штамів, які були використані у нашій експериментальній роботі (табл. 4.1.1). Враховуючи отримані результати, що свідчать про позитивний та значний вплив описаних модифікацій живильного середовища на синтез біомаси на прикладі штамів виду *L. officinalis*, є актуальним проведення подібних досліджень і для інших штамів дереворуйнівних базидієвих грибів. Проте, враховуючи основну мету нашого дослідження, а саме вивчення потенціалу базидієвих грибів до біотрансформації ксенобіотиків, в межах нашої роботи доцільним і першочерговим є проведення оцінки впливу лецитину на процес біотрансформації. Результати цього дослідження викладені далі у розділі 6.

Отримані результати з оптимізації глибинного культивування штамів цього виду мають важливе практичне значення, не тільки для досліджень пов'язаних з біотрансформацією, а також можуть бути використані й в інших напрямках експериментальної мікології та біотехнології, оскільки *L. officinalis* традиційно розглядається як гриб із лікарськими властивостями, завдяки широкому спектру біологічних властивостей, та є багатим на різні біологічно активні речовини.

## РОЗДІЛ 5.

### КРІОЗБЕРІГАННЯ МЦЕЛЮ ДЕРЕВОРУЙНІВНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ

Одним із найважливіших факторів для відтворюваності результатів в галузі експериментальної мікології та біотехнологічних процесів є умови довгострокового зберігання культур, що забезпечують безперервність використання однієї культури гриба впродовж великого проміжку часу. Особливо це актуально для рідкісних і зникаючих видів, для штамів з унікальними властивостями, заміна яких при втраті буде складним і тривалим завданням. Основою таких досліджень є чисті культури грибів, у тому числі представники відділу Basidiomycota, які мають широкий спектр ферментів для біотрансформації та інших біотехнологічних процесів, та характеризуються високим вмістом біологічно активних речовин різноманітного фармакологічного застосування (Mukchaylova et al., 2017b; Pasailiuk, 2020; Sułkowska-Ziaja et al., 2025).

Наразі існують декілька методик зберігання грибних культур. Стандартна методика підтримки чистих культур грибів полягає у збереженні міцелю штамів при температурі 4°C (для деяких видів при 15–20°C) протягом 3–12 місяців у пробірках на скошеному агаризованому живильному середовищі. Для більшості базидієвих грибів для довготривалого зберігання при 4°C рекомендується використовувати середовище з пивним суслем, або його модифікації (Бухало та ін., 2013). В цілому ця методика є класичним перевіреним часом методом, що широко використовується для різних колекцій грибних культур, проте цей метод є трудомістким та має певні недоліки, а саме потребує регулярного пересіву культури на нове живильне середовище для запобігання пересихання та вичерпування поживних речовин, постійного контролю контамінацій та великого простору для зберігання культур. Ряд авторів припускає, що під час тривалого зберігання культури на одному живильному середовищі можливе виникнення певних генетичних змін (Sakurai et al., 2019; Silar, 2019).

Кріозберігання культур грибів є більш сучасним методом, перевагами якого є довготривалість, економія часу та ресурсів й можливість зберігання великої кількості штамів у невеликому просторі, але цей метод потребує більш дороговартісного обладнання, а саме морозильних камер, які підтримують сталу температуру у  $-80^{\circ}\text{C}$ . Ця методика спрямована на мінімізацію ймовірності виникнення генетичних та фенотипових змін через усунення частих пересівів міцелію завдяки збільшенню періодів часу між пересівами або призупиненню клітинної активності, у тому числі завдяки впливу температур (Jong & Birmingham, 2001). Для кріозберігання можливе використання різних видів субстратів, проте не знайдено універсального субстрату для підтримки життєдіяльності різноманітних представників базидієвих грибів. Найбільш відомими субстратами для кріозберігання грибного міцелію є: дерев'яні палички, зерно, перліт, агарові блоки з живильного середовища, фільтрувальний папір, а також пропонують збереження в ґрунті, стерильній дистильованій воді або мінеральній олії (Singh et al., 2018). Для базидіоміцетів збереження міцелію на дерев'яному або зерновому субстраті є найефективнішим, хоч і потребує додаткових досліджень.

Одним із завдань дисертаційної роботи було підібрати оптимальний метод довготривалого зберігання чистих культур штамів видів базидієвих грибів, які використовуються у представленому дослідженні. Для цього для дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів було проведено дослідження, що складалося з трьох окремих етапів. На першому етапі оцінювали якість обростання міцелієм субстрату, на другому – відновлення життєздатності міцелію через 6 місяців, на третьому – через 12 місяців.

### **5.1. Оцінка обростання міцелієм різних субстратів перед кріозберіганням міцелію**

Метою першого етапу досліджень було оцінити тривалість обростання різних субстратів міцелієм, а також щільність та якість міцелію на субстраті. У досліді було використано чотири способи підготовки дерев'яних паличок та три різні види зерна для порівняння росту міцелію різних видів базидіоміцетів

на різних субстратах. Це є важливим етапом, оскільки задля більшої ефективності процесу кріозберігання міцелій повинен щільно обростати субстрат. Вибір дерев'яних паличок як субстрату зумовлений тим, що досліджувані штами належать до видів грибів, що розкладають деревину. Спершу, для всіх штамів використовували дерев'яна паличка №1 (підготовка паличок описана в п. 2.5). Міцелій трьох штамів *Ganoderma sichuanense* 1848 (рис. 5.1.1, А-В), *G sichuanense* 2566 та *Pleurotus ostreatus* 297 обростав цей тип субстрату за 3 доби, тоді як міцелій трьох штамів *Laricifomes officinalis* (ІВК 2497, 2498 та 5004) – за 12 діб, що є прийнятним для штамів цього виду. Водночас на дерев'яних паличках №1 ріст міцелію *Schizophyllum commune* (ІВК 1768 (рис. 5.1.1, С-Д) та 1769), а також міцелію штаму *Fomitopsis pinicola* 361, протягом 6 діб не спостерігалось. Тому для міцелію цих трьох штамів були використані інші типи підготовки дерев'яних паличок, а саме дерев'яні палички №2, 3 та 4 (підготовка паличок описана в п. 2.5).

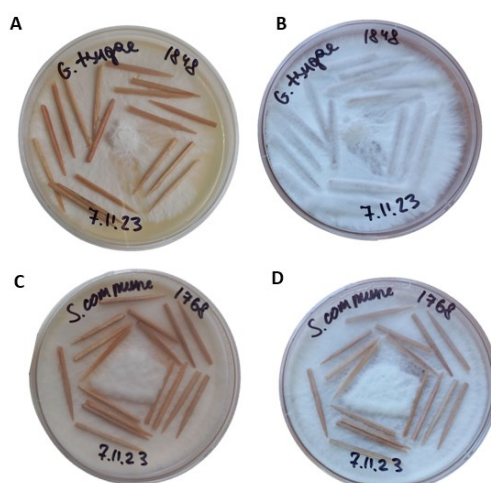


Рис. 5.1.1. Обростання дерев'яних паличок №1 міцелієм штамів *Ganoderma sichuanense* 1848 (А – перша доба, В – третя доба) та *Schizophyllum commune* 1768 (С – перша доба, D – шоста доба).

Краще обростання міцелієм двох штамів *S. commune* та одного штаму *F. pinicola* 361 встановлено для дерев'яних паличок №2, при цьому процес обростання субстрату міцелієм цих штамів тривав щонайменше 6 діб. Покращення результатів із обростання міцелієм вищезазначених штамів інших видів паличок, на нашу думку, можуть бути пов'язані з впливом температури, за

якої відбувається стерилізація субстрату, на структуру деревини, що призвело до кращого насичення розчинами глюкози та суслу дерев'яних паличок, оскільки вони перебували у відповідних розчинах під час автоклавування, на відміну від дерев'яних паличок №1. Однак це вимагає додаткових детальніших досліджень для кращого розуміння цього процесу.

Для міцелію усіх дев'яти досліджених штамів було встановлено швидше обростання зернового субстрату порівняно із дерев'яним. Міцелій штаму *P. ostreatus* 297 щільно обростав пшеницю, шліфований та нешлифований ячмінь протягом 2 діб. Варто відзначити, що міцелій штаму *G. sichuanense* 2566 обростав пшеницю протягом 2 діб, а шліфований та нешлифований ячмінь протягом 4 діб, тоді як інший штам цього ж виду *G. sichuanense* 1848 обростав нешлифований ячмінь протягом 2 доби, тоді як решту видів зернового субстрату він обростав за 3 доби. Загалом, для цих трьох штамів не було відзначено суттєвої різниці між обростанням дерев'яного та зернового субстратів. Однак для утворення щільного міцелію штаму *F. pinicola* 361 на зерновому субстраті було необхідно лише 5 діб, тоді як для дерев'яних паличок №3 та №4 подібну щільність міцелію цього штаму відмічено лише через 8 діб. Міцелій штаму *S. commune* 1768 утворював щільний міцелій на зерновому субстраті через 2 доби, що втричі швидше тривалості обростання дерев'яного субстрату міцелієм цього штаму. Водночас міцелій іншого штаму цього ж виду *S. commune* 1769 характеризувався щільною структурою на зерновому субстраті через 6 діб, що спостерігалось і у випадку із обростанням дерев'яного субстрату для підготовки грибного міцелію до кріозберігання. Штамова специфічність цього процесу також спостерігалася під час обростання зерна міцелієм трьох штамів *L. officinalis*, оскільки міцелій штаму *L. officinalis* 5004 обростав зерновий субстрат протягом 3 діб, тоді як міцелій двох інших штамів, *L. officinalis* 2497 та 2498, за 10 діб.

Ряд авторів рекомендує використовувати зерно як субстрат для підготовки грибного міцелію до кріозберігання, навіть для дереворуйнівних грибів, оскільки вони мають ферментні системи для розщеплення складних запасних полімерів,

що містяться у зерні. Згідно з отриманими результатами, використання зернового субстрату для кріозберігання є ефективнішим, оскільки для більшості штамів тривалість обростання цього субстрату міцелієм була меншою. Зерно є чудовим субстратом для росту міцелію видів їстівних та лікарських грибів, що призвело до його активного використання для підготовки грибного міцелію до кріозберігання (Zaghi et al., 2020; Bertéli et al., 2022). Використання зерна забезпечує також додатковий фізичний захист під час кріозберігання завдяки росту міцелію всередині капілярів зерна (Mantovani et al., 2012). Тривалість обростання субстрату грибним міцелієм для тривалого зберігання залежить від швидкості росту міцелію дослідженого штаму (Zalesky et al., 2024), тому необхідно вивчати різні субстрати, щоб вибрати ті, що характеризуються вищою швидкістю росту міцелію, особливо при роботі із такими видами, як *L. officinalis*, який є надзвичайно цінним і належить до грибів з повільною швидкістю росту (Flores, Cusumano, et al., 2023).

Одержані результати свідчать, що для досліджених штамів швидкість обростання різних видів субстрату залежить від типу використаного субстрату та характеризується певною штамоспецифічністю. Зокрема, виявлені для пшениці, шліфованого та нешліфованого ячменю дані демонструють те, що зерновий тип субстрату є кращим варіантом для підготовки міцелію до кріозберігання, порівняно із дерев'яними субстратами, для досліджуваних штамів, оскільки на його обростання міцелієм базидієвих грибів необхідно менше часу. Проте для остаточного вибору оптимального субстрату для кріозберігання були проведені дослідження щодо відновлення росту на всіх типах вказаних субстратів через 6 і 12 місяців після кріозаморожування.

## **5.2. Відновлення життєдіяльності міцелію після кріозберігання**

Загальновідомо, що зберігання при температурі  $-80^{\circ}\text{C}$  має деякі переваги порівняно зі зберіганням при  $-20^{\circ}\text{C}$  та є найбільш життєздатним методом збереження міцелію базидіоміцетів (Linde et al., 2018). При такій температурі міцелій базидієвих грибів можна зберігати навіть у вигляді агарового блоку з міцелієм у розчинах гліцерину 10% (об./об.) та трегалози 5% (об./об.) (Ilyas &

Soeka, 2019). Однак у цього методу існує проблема, пов'язана з пошкодженням клітин під час зберігання. Водночас зберігання міцелію на зерновому або дерев'яному субстраті не має такого недоліку, а зберігання міцелію на зерні навіть має перевагу. Це пов'язано з вуглеводами та білками зерна, які здатні зв'язувати воду із зерном, що призводить до зменшення кількості вільної води та неможливості утворення кристалів льоду під час тривалого зберігання грибного міцелію (Linde et al., 2018).

Вимірювання росту міцелію для оцінки його життєздатності проводилося у два етапи: перше вимірювання проводили після 6 місяців зберігання при температурі  $-80^{\circ}\text{C}$ , а друге вимірювання – після 12 місяців зберігання. Отримані результати для зазначених періодів були подібними, тому результати тривалішого зберігання наведено в табл. 5.2.1 та 5.2.2. У вказаних таблицях подані дані, що взаємодоповнюються, але відображають різні показники росту. У табл. 5.2.1 вказано діаметр колоній на певну добу вирощування, а у табл. 5.2.2 радіальну швидкість росту міцелію в експоненційній фазі росту.

Таблиця 5.2.1

Відновлення росту грибного міцелію після зберігання протягом 12 місяців при температурі  $-80^{\circ}\text{C}$  на різних субстратах (дані відображають діаметр колонії, см)

№	Вид, штам	К	П	НЯ	ШЯ	ДП №1	ДП №2	ДП №3	ДП №4
7 доба									
1	<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	5.8±0.4	3.5±0.1	3.8±0.2	4.5±0.2	x	5.2±0.2	4.3±0.3	4.6±0.3
2	<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	6.0±0.3	8.4±0.5	7.5±0.3	6.7±0.4	5.7±0.5	–	–	–
3	<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	5.4±0.3	7.2±0.2	5.0±0.2	5.0±0.3	6.0±0.3	–	–	–
4	<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	8.8±0.3	8.4±0.5	7.5±0.5	9.0±0.0	9.0±0.0	–	–	–
5	<i>Schizophyllum commune</i> 1768	8.3±0.2	9.0±0.0	9.0±0.0	9.0±0.0	x	8.0±0.3	7.3±0.2	9.0±0.0
6	<i>Schizophyllum commune</i> 1769	8.0±0.5	7.5±0.2	7.3±0.3	7.5±0.5	x	8.7±0.2	8.5±0.1	7.8±0.3

28 доба*									
7	<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	9.0±0.0	9.0±0.0	7.9±0.3	8.1±0.4	7.0±0.5	–	–	–
8	<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	5.3±0.2	–	6.7±0.1	6.0±0.4	5.2±0.4	–	–	–
9	<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	5.8±.2	6.5±0.3	6.6±0.3	5.7±0.2	5.1±0.3	–	–	–

Позначення: К – контроль; П – пшениця; НЯ – нешліфований ячмінь; ШЯ – шліфований ячмінь; ДП – дерев’яні палички; 1-4 – різні схеми обробки.

Примітки: х – Міцелій цих видів грибів не ріс на такому субстраті протягом шести діб.

“–” – Дослідження цього типу субстрату для криозберігання не проводилися для цього штаму базидіоміцету.

\* – Вимірювання росту міцелію штамів *L. officinalis* проводили на 28-му добу через особливості виду та повільний ріст.

Така подача даних пов’язана з тим, що в деяких випадках спостерігалася затримка відновлення життєдіяльності з подальшим прискоренням росту міцелію після декількох діб інкубації. Міцелій штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566 та 1848, *S. commune* 1768 та 1769 відновлювали ріст після 3 діб інкубації, *P. ostreatus* 297 – після 2 діб, а трьох штамів *L. officinalis* – після 6 діб. Після криозберігання для міцелію цих штамів потрібен певний додатковий час для відновлення повноцінної життєдіяльності міцелію за нової температури навколишнього середовища, тому в деяких випадках тривалість лаг фази для міцелію, збереженому при низькій температурі, була довшою, однак експоненційна фаза росту при цьому могла бути коротшою, порівняно з контролем. Таке стимулювання росту може бути спричинене наявністю додаткових поживних речовин у субстраті, використаному для підготовки грибного міцелію до криозберігання, проте це потребує подальших досліджень. Було встановлено, що всі апробовані субстрати можуть бути використані для криозберігання міцелію досліджених культур. Про це свідчить відновлення росту міцелію після 6 та 12 місяців зберігання при -80 °С. Різниця між субстратами

полягала лише у тривалості лаг-фази та швидкості росту міцелію для окремих штамів.

Таблиця 5.2.2

Швидкість радіального росту міцелію штамів видів базидієвих грибів на середовищі ГПДА після криозберігання протягом 12 місяців, см/добу

Вид, штам	К*	П	НЯ	ШЯ	ДП №1	ДП №2	ДП №3	ДП №4
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	0.63± 0.03	0.53± 0.03	0.53± 0.03	0.59± 0.05	–	0.46± 0.02	0.48± 0.01	0.46± 0.02
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	0.51± 0.01	0.66± 0.01	0.54± 0.02	0.42± 0.01	0.45± 0.01	–	–	–
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	0.49± 0.06	0.54± 0.09	0.59± 0.03	0.33±0. 09	0.54±0. 03	–	–	–
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	0.11± 0.08	–	0.13± 0.01	0.14± 0.01	0.12± 0.15	–	–	–
<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	0.12± 0.01	0.12± 0.01	0.12± 0.04	0.13± 0.01	0.15± 0.25	–	–	–
<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	0.14± 0.01	0.15± 0.03	0.16± 0.05	0.17± 0.07	0.11± 0.15	–	–	–
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	0.74± 0.06	0.75± 0.05	0.76± 0.04	0.95± 0.03	0.68± 0.03	–	–	–
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	0.89± 0.02	0.86± 0.11	0.8± 0.03	0.84± 0.04	–	0.74± 0.09	0.91± 0.04	0.8± 0.16
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	0.73± 0.06	0.76± 0.11	0.6± 0.06	0.71± 0.09	–	0.75± 0.08	0.94± 0.16	0.76± 0.09

Позначення: К – контроль; П – пшениця; НЯ – нешліфований ячмінь; ШЯ – шліфований ячмінь; ДП – дерев'яні палички.

Примітки: \* – як контроль використовувався міцелій, що зберігався при +4 °С на СА.

“–” – Дослідження цього типу субстрату для криозберігання не проводилися для цього штаму базидіоміцету.

Отримані дані свідчать про те, що для всіх досліджуваних штамів спостерігалось успішне криозберігання протягом одного року зі збереженням високої життєздатності міцелію. Результати дослідів доводять ефективність методу криозбереження для довготривалого зберігання міцелію досліджених культур, але вказують на певну варіабельність штамів відносно реакції на криозберігання та сприятливості субстратів для зберігання грибного міцелію. Для

міцелію більшості штамів не спостерігалось суттєвої затримки швидкості росту після криозберігання. Лише для міцелію штаму *F. pinicola* 361 відмічено менші швидкість росту та діаметр колонії на 7-му добу культивування, порівняно з контролем. Для штамів *G. sichuanense* 1848, *L. officinalis* 2497, 5004 та *P. ostreatus* 297 міцелій, збережений з використанням зернового субстрату, демонстрував краще відновлення росту, ніж міцелій того ж штаму, збережений з використанням дерев'яного субстрату. Водночас для міцелію штамів *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2498, *S. commune* 1768 та 1769 більша швидкість росту встановлена для міцелію, що зберігався на дерев'яному субстраті.

Згідно з одержаними результатами по розміру колонії та радіальній швидкості росту міцелію пшениця була визнана найкращим субстратом для криозберігання міцелію двох штамів *G. sichuanense* та одного штаму *L. officinalis* 5004 (Рис. 5.2.1), а нешлифований ячмінь був визнаний найкращим субстратом для двох штамів *L. officinalis* 2497 та 2498. Такі розбіжності у впливі різних субстратів на життєздатність міцелію різних штамів свідчать про штамоспецифічність.

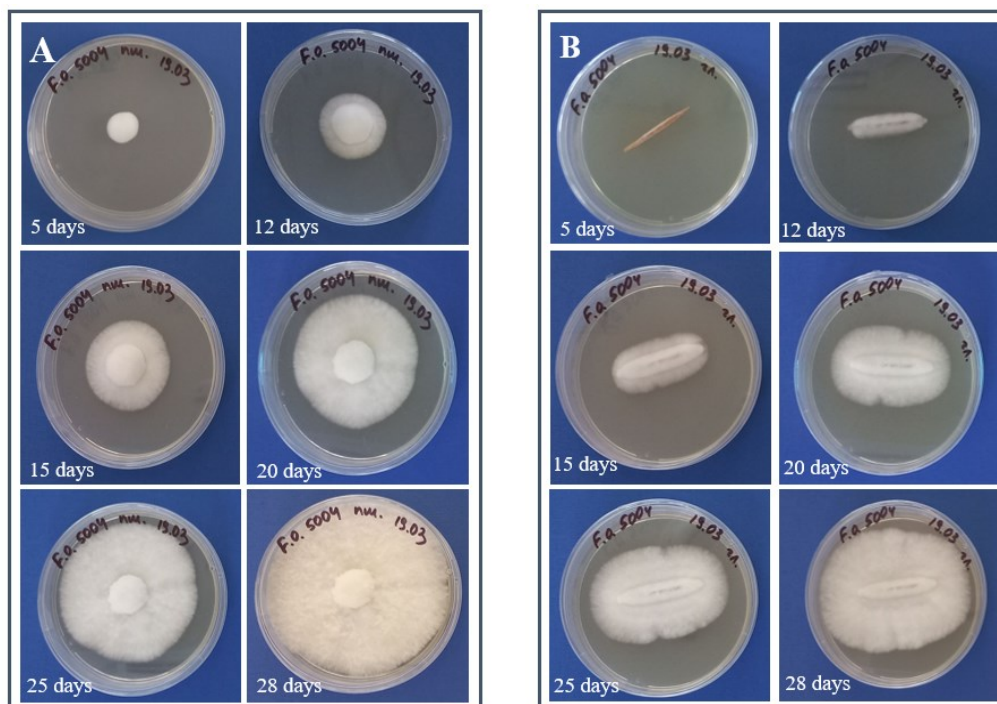


Рис. 5.2.1. Результати росту міцелію штаму *Laricifomes officinalis* 5004, що зберігався на зерні пшениці (А) та дерев'яних паличках №1 (В) під час інкубації на середовищі ГПДА при температурі 26°C протягом 5 – 28 днів інкубації.

Інший зерновий субстрат – шліфований ячмінь – характеризувався найбільшим діаметром колонії та радіальною швидкістю росту міцелію штаму *P. ostreatus* 297. Хоча колонії міцелію штаму *S. commune* 1768 збережені на пшениці, нешліфованому, шліфованому ячмені та дерев'яних паличках №4 повністю покривали поверхню чашки Петрі за 7 діб культивування, при цьому найбільша швидкість радіального росту спостерігалася для міцелію, збереженому на дерев'яних паличках №3. Така різниця пов'язана із довшою лаг-фазою росту міцелію після кріозберігання з використанням шліфованого ячменю як субстрату. Водночас для іншого штаму *S. commune* 1769 встановлено краще відновлення міцеліального росту після зберігання на дерев'яних паличках, ніж на зерновому субстраті, про що свідчить як діаметр колоній, утворених міцелієм, що зберігався на дерев'яних паличках, так і найвища радіальна швидкість росту характерна для міцелію, що зберігався на дерев'яних паличках №3, що також спостерігалася для іншого штаму цього виду. Такий тип попередньої обробки дерев'яних паличок був найкращим також для кріозберігання міцелію штаму *F. pinicola* 361.

Іншими авторами було проведено аналогічні дослідження зі зберігання міцелію штамів виду *P. ostreatus* на пластикових трубочках при температурі – 70°C (Eichlerová et al., 2015). Відновлення росту міцелію штамів цього виду було виявлено через 2 дні, що також спостерігалася у нашій роботі. Слід зазначити, що пшениця вже досліджувалася як субстрат для підготовки міцелію для кріозберігання штамів цього виду (Mantovani et al., 2012), проте нешліфований та шліфований ячмінь не досліджувалися як субстрат для підготовки міцелію базидієвих грибів до кріозберігання до нашої роботи. Кріозберігання міцелію на пшениці також було описано для міцелію штамів виду *S. commune* (Zaghi et al., 2020), але в нашій роботі як кріопротектор використовувався 10 % гліцерин порівняно з 4 % розчином глюкози, як було описано раніше. Крім того, для міцелію двох штамів *S. commune* спостерігалася інтенсивніша швидкість міцеліального росту після зберігання на дерев'яних паличках, порівняно із зерновим субстратом. Для штамів виду *L. officinalis* було проведено зберігання

міцелію у вигляді суспензії з 15% розчином гліцерину (Cartabia et al., 2022). Хоча цей метод є ефективним, він також є більш травматичним порівняно зі зберіганням міцелію на зерновому субстраті (Mantovani et al., 2012). Водночас дослідження тривалого зберігання міцелію штамів видів *F. pinicola* та *G. sichuanense* було проведено нами вперше.

Отримані результати свідчать, що зерновий субстрат виявився більш ефективним, порівняно з дерев'яним субстратом, у зберіганні життєздатності міцелію шести з дев'яти штамів дереворуйнівних базидієвих грибів. Оскільки усі три протестовані види зерна характеризувалися успішними результатами, тоді як при роботі із дерев'яними паличками досить важливим є етап їх підготовки, оскільки це безпосередньо впливає на якість обростання підготовленого субстрату грибним міцелієм. Різниці в рості міцелію після зберігання протягом 6 чи 12 місяців не відмічено, однак для штаму *F. pinicola* 361 відмічено повільніший ріст після кріозберігання порівняно із контролем, на відміну від міцелію інших штамів, для яких ці показники не відрізнялися. Продемонстровано, що для деяких штамів властива певна специфічність у відношенні до субстрату, зокрема, міцелій штамів *F. pinicola* 361, *S. commune* 1768 та 1769 швидше відновлювали ріст міцелію, збереженого на дерев'яному субстраті, тоді як для інших штамів відмічено зворотний ефект. Це свідчить про необхідність подальших досліджень впливу субстрату на зберігання міцелію для різних видів та штамів грибів. Отримані результати розширили дані про методи кріозберігання міцелію таких цінних видів, як *F. pinicola*, *G. sichuanense*, *L. officinalis*, *P. ostreatus* та *S. commune*.

Результати розділу висвітлені у науковій публікації (Bondaruk & Al-Maali, 2025).

## РОЗДІЛ 6.

### БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ЦИКЛІЧНИХ АМІДІВ МІЦЕЛІЄМ ДЕРЕВОРУЙНІВНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ

Дереворуйнівні базидієві гриби є перспективними об'єктами для дослідження біотрансформації ксенобіотиків, оскільки мають розвинені ферментні системи та є більш толерантними до високих концентрацій забруднювачів навколишнього середовища, порівняно із іншими живими організмами (Tišma et al., 2010). Добре вивченим є вміст різних біологічно активних речовин як у плодових тілах, так і у міцелії багатьох видів базидієвих грибів. Зокрема, для *Laricifomes officinalis* встановлено наявність кумарину (Hwang et al., 2013), тритерпенів (Naranmandakh et al., 2018), сесквітерпеноїдів (Elkhateeb et al., 2020), цитокінінів (Vedenicheva et al., 2019), полісахаридів (Muszyńska et al., 2020), фенольних та індольних сполук (Fijałkowska et al., 2020; Flores, Cusumano, et al., 2023) та інших. Наявність такого широкого переліку метаболітів свідчить про високий біосинтетичний потенціал таких базидієвих грибів, у тому числі, оскільки у синтезі деяких із названих вище сполук залучені як ферменти з групи цитохромів P450 (Syed et al., 2014; Wang et al., 2021), так і інші ферменти (Sánchez-Corzo et al., 2021). Ці ферменти також залучені до біотрансформації ксенобіотиків, що вже було підтверджено для міцелію певних видів. Серед дереворуйнівних базидієвих грибів біотрансформацію ксенобіотиків було досліджено для міцелію *Phanerochaete chrysosporium* (Rodarte-Morales et al., 2012), *Phlebia acanthocystis* (Xiao & Kondo, 2020a), *Pycnoporus spp.* (Cheute et al., 2024), *Stropharia rugosoannulata* Farl. ex Murrill (Carstens et al., 2020) тощо.

Добре вивченими є процеси біотрансформації фенольних сполук, барвників та обмеженого переліку інших ксенобіотиків, але відомих на сьогодні даних недостатньо для розуміння закономірностей перетворень різних класів хімічних речовин. Зокрема, недостатньо досліджена біотрансформація синтетичних сполук, що мають амідний зв'язок, хоча близько 25% фармацевтичних препаратів містять такий зв'язок (Choudhuri et al., 2024).

Для нашого дослідження був обраний модельний біциклічний амід N-циклогексилбензамід, що має аліфатичне та ароматичне кільце, зв'язані амідним зв'язком (**6**, рис. 6.1). Наявність цих двох структур одного розміру, але різної будови, дає змогу оцінити особливості процесу біотрансформації та визначити найбільш сприятливі центри для метаболічної модифікації.

Для вирішення цієї задачі були поставлені такі завдання:

1. Дослідження біотрансформації N-циклогексилбензаміду міцелієм штамів *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Laricifomes officinalis* 2498, *Pleurotus ostreatus* 297, *Schizophyllum commune* 1768, 1769.
2. Аналіз біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду (**7**, рис. 6.1) міцелієм штамів *L. officinalis* 2498 та *P. ostreatus* 297.
3. Дослідити стереоселективність процесу біотрансформації N-циклогексилбензаміду та N-циклопентилбензаміду (**8**, рис. 6.3) міцелієм штаму *P. ostreatus* 297.
4. Оцінити вплив додавання лецитину на процес біотрансформації на прикладі *L. officinalis* 2498.

**Дослідження біотрансформації N-циклогексилбензаміду.** Зменшення концентрації N-циклогексилбензаміду після 3 діб біотрансформації спостерігалось для міцелію усіх семи досліджених штамів. Найбільш ефективним у деградації цієї сполуки був міцелій штаму *F. pinicola* 361 (91,8%), а найменш ефективним – *L. officinalis* 2498 (56,5%). У отриманих зразках після біотрансформації N-циклогексилбензаміду міцелієм усіх досліджених штамів, крім міцелію двох штамів *S. commune* 1768 та 1769, встановлено присутність метаболіту з  $m/z$  (величиною в мас-спектрометрії, що позначає відношення маси іону ( $m$ ) до його заряду ( $z$ )) 220. ЯМР-спектрометрія підтверджує, що вказаний метаболіт є гідроксильованою похідною вихідної сполуки. Гідроксилування відбувалося по аліфатичному кільцю з утворенням 4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксаміду (**11**, рис. 6.1) міцелієм штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498 та *P. ostreatus* 297.

**Дослідження біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду.** Для міцелію штамів *L. officinalis* 2498 та *P. ostreatus* 297 було проведено додаткове дослідження біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду для кращого розуміння впливу розміщення амідного зв'язку в сполуці на її біотрансформацію. Ця сполука була обрана, тому що вона є структурно оберненим амідом до N-циклогексилбензамід (рис. 6.1). Міцелій штаму *P. ostreatus* 297 було обрано через високу ефективність та стереоселективність біотрансформації попереднього аміду, а штам *L. officinalis* 2498 – через низьку здатність до метаболізму цієї ж сполуки, що дозволило б зафіксувати як позитивні так і негативні кількісні зміни у біотрансформації сполук з різною орієнтацією амідного зв'язку.

Отримані результати свідчать про високий рівень деградації N-фенілциклогексанкарбоксаміду міцелієм штаму *P. ostreatus* 297 (96,2%) та помірний для міцелію штаму *L. officinalis* 2498 (58,2%). ЯМР-спектроскопія підтвердила утворення гідроксильованого метаболіту за аліфатичним кільцем, однак кількість утворених метаболітів була недостатньою для проведення дослідження стереоселективності процесу біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду.

Таким чином, у результаті біотрансформації за участі міцелію базидієвих грибів N-фенілциклогексанкарбоксамід (**6**, рис. 6.1) трансформувався у 4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксамід (**11**, рис. 6.1), а N-циклогексилбензамід (**7**, рис. 6.1) – у N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензамід (**12**, рис. 6.1). Проте оскільки отримані метаболіти мають хіральний центр, важливо не лише ідентифікувати одержані у результаті біотрансформації метаболіти, а й розуміти стереоселективність та регіоселективність процесу біотрансформації. Тому, виділені у результаті біотрансформації за участі грибів метаболіти були додатково проаналізовані на предмет наявності ізомерів.

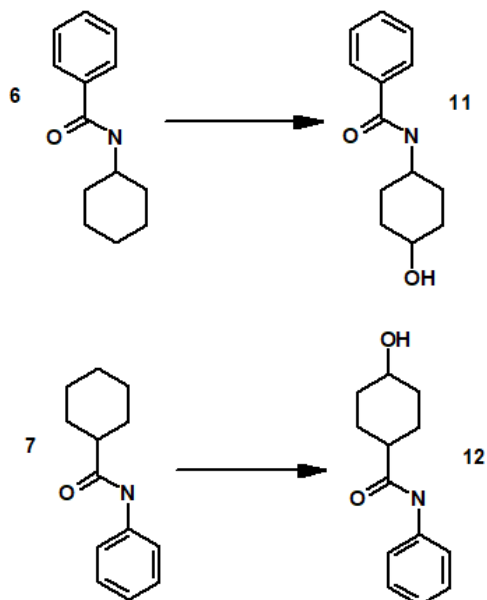


Рис. 6.1. Шлях біотрансформації амідів міцелієм дереворуйнівних базидієвих грибів

Після біотрансформації N-циклогексилбензаміду міцелієм *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566 та *L. officinalis* 2498 встановлено два діастереоізомери утвореного гідроксильованого метаболіту, але лише міцелій *P. ostreatus* 297 здійснив перетворення виключно з утворенням транс стереізомера вказаного метаболіту (рис. 6.2), тому ця реакція є стереоселективною.

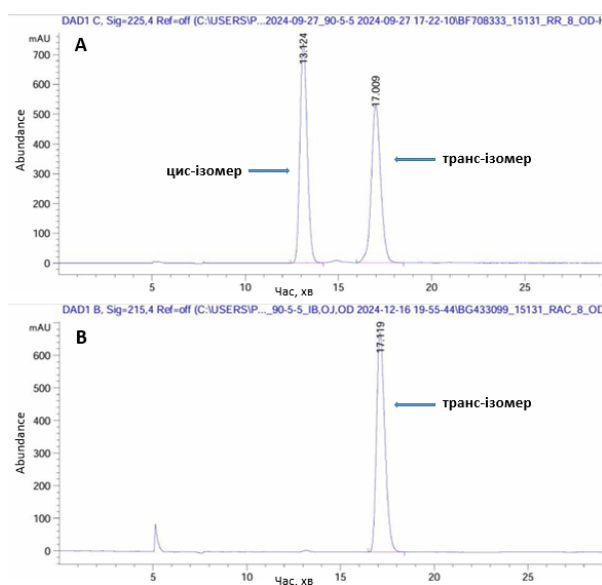


Рис. 6.2. Хіральна хроматограма А – стандартного зразка N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензаміду в вигляді суміші цис- та транс-ізомерів; В – N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензаміду, отриманого після біотрансформації N-циклогексилбензаміду міцелієм *Pleurotus ostreatus* 297

Дослідження біотрансформації N-циклопентилбензаміду. Додаткове дослідження біотрансформації іншого представника гомологічного ряду N-циклобензамідів – N-циклопентилбензаміду – міцелієм штаму *P. ostreatus* 297 продемонструвало утворення двох гідроксильованих нестеріоселективних метаболітів (рис. 6.3), що свідчить про меншу стеріоселективність процесу біотрансформації міцелієм цього штаму відносно іншого ксенобіотика. Одержані результати свідчать про перспективність використання міцелію цього штаму для біотрансформації похідних циклобензаміду, проте для кращого розуміння стеріоселективності та можливої енантіоселективності процесу біотрансформації за участі міцелію *P. ostreatus* 297 доцільно провести додаткові дослідження з використанням ширшого переліку хіральних ксенобіотиків.

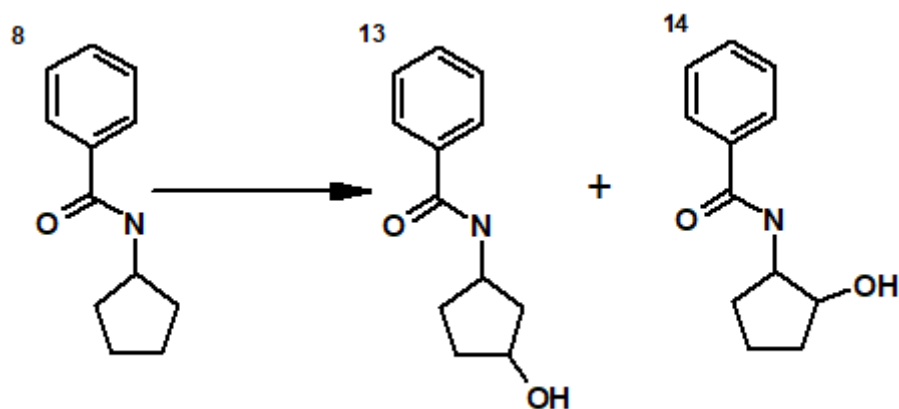


Рис. 6.3. Шлях біотрансформації N-циклопентилбензаміду (8) міцелієм *Pleurotus ostreatus* 297 до N-(3-гідрокси-циклопентил)-бензаміду (13) та N-(2-гідрокси-циклопентил)-бензаміду (14)

Дослідження біотрансформації N-циклогексилбензаміду та N-фенілциклогексанкарбоксаміду міцелієм штаму *L. officinalis* 2498 проведено у двох варіантах для оцінки впливу додавання лецитину до складу живильного середовища на процес біотрансформації, тому міцелій цього штаму вирощували як на звичайному живильному середовищі ГПД, так і на модифікованому середовищі ГПД з 20 мл/л лецитину, оскільки ця модифікація сприяла накопиченні більшої кількості біомаси за менший період часу. Однак кількість N-циклогексилбензаміду після біотрансформації міцелієм, вирощеним за стандартною методикою на ГПД, зменшилася на 61%, тоді як при використанні

міцелію, вирощеного на оптимізованому нами живильному середовищі, вихідна концентрація речовини зменшилася на 56,5% відповідно. Під час дослідження біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду ці показники становили 58,2% при використанні стандартного живильного середовища ГПД та 50% при використанні модифікованого живильного середовища.

Іншими авторами повідомлялося, що додавання соєвого лецитину позитивно впливало на біотрансформацію пентахлорфенолу міцелієм *Anthracoephyllum discolor* (Mont.) Singer (= *Xerotus discolor* Mont.) (Bustamante et al., 2014), однак у нашій роботі такий вплив соняшникового лецитину не спостерігався. Проте, порівнювати отримані результати важко, оскільки це різні види грибів, які відрізняються біологічними властивостями, а також використано лецитини різного складу та походження. У зв'язку з тим, що використання лецитину у складі живильного середовища ускладнює процедуру екстракції його подальше використання у дослідженні біотрансформації ксенобіотиків є недоцільним, оскільки він не збільшує кількість утворених метаболітів та перешкоджає екстрагуванню утворених метаболітів.

Нещодавно досліджена біотрансформація коротколанцюгових п-алкілзаміщених циклогексанів за участі міцелію *Candida maltosa* Komag., Nakase & Katsuya та *Cutaneotrichosporon mucoides* (E. Guého & M.T. Sm.) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout (≡ *Trichosporon mucoides* E. Guého & M.T. Sm.) продемонструвала гідроксилювання метил- та етилциклогексану в кількох положеннях (Schlüter et al., 2019). Однак отримані нами результати демонструють кращу регіоселективність роботи ферментів базидієвих грибів за одним із таких положень. Також слід зазначити, що міцелій штаму *L. officinalis* 2498 демонстрував гідроксилювання в циклогексановому кільці N-фенілциклогексанкарбоксаміду, що також відзначено при біотрансформації циклогексану дріжджами *Candida maltosa*, *Trichosporon cutaneum* (Beurm., Gougerot & Vaucher bis) M. Ota (= *Cutaneotrichosporon cutaneum* (Beurm., Gougerot & Vaucher bis) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout), *T. domesticum* Sugita, A. Nishikawa & Shinoda (= *Apiotrichum domesticum* (Sugita, A. Nishikawa &

Shinoda) Yurkov & Boekhout) та *T. mucoides* (Dallinger et al., 2016). Раніше гідроксилювання N-циклогексилбензаміду в аналогічному положенні було описано для *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (Fonken et al., 1968). Однак досі немає даних щодо біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду та N-циклопентилбензаміду.

Узагальнюючи отримані результати, необхідно зазначити, що для трьох біциклічних амідів було встановлено утворення гідроксильованих метаболітів у результаті біотрансформації за участі міцелію дереворуйнівних базидієвих грибів. Як правило, гідроксилювання відбувалося переважно за алкільним кільцем, і лише при біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду спостерігалось утворення гідроксильованого метаболіту за бензольним кільцем у пара-положенні, що свідчить про певну специфічність цього процесу. Наведені експериментальні результати мають практичне значення, оскільки розширюють розуміння метаболізму біциклічних амідів базидієвими грибами, що є важливим, зважаючи на широке поширення амідного зв'язку у хімічних сполуках. Крім того, у цій роботі вперше повідомляється про успішну біотрансформацію N-фенілциклогексанкарбоксаміду та N-циклопентилбензаміду до відповідних гідроксильованих метаболітів міцелієм базидієвих грибів.

Результати розділу частково висвітлені у науковій публікації (Bondaruk, Korzh, et al., 2025).

## РОЗДІЛ 7.

### БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ДИХЛОРАНІЛІНІВ МІЦЕЛІЄМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ ПІД ЧАС ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

Дихлораніліни, які є хлорвмісними похідними аніліну (органічна сполука з фенольним кільцем (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), що приєднане до аміногрупи (-NH<sub>2</sub>)) використовуються як проміжні продукти в комерційному синтезі різних азобарвників (El-Ghamry et al., 2025), барвників (Isibor, 2024), гербіцидів (Dong et al., 2023), та є вихідними сполуками при синтезі інгредієнтів косметичних та лікарських засобів (Rebelo et al., 2023). Однак такі характеристики, як стабільність та токсичність, роблять ці сполуки небезпечними при потрапленні в навколишнє середовище (Argese et al., 2001; Rebelo et al., 2023; Wang et al., 2025). Повідомляється, що 3,4- та 3,5-дихлораніліни є особливо шкідливими, тоді як 2,3-, 2,4- та 2,5-дихлораніліни також є високотоксичними (Valentovic et al., 1995). Хлораніліни легко потрапляють в навколишнє середовище, що призводить до збільшення їх концентрації в ґрунті та воді через їхню високу стійкість та низький рівень біорозкладу (Tasca & Fletcher, 2018). Тому важливо досліджувати біотрансформацію цих сполук, оскільки цей процес може призводити як до зниження токсичності, так і до її збільшення, залежно від хімічної природи ксенобіотика (Mahanayak, 2024).

Здатність трансформувати різні аніліни або дихлораніліни була раніше описана для *Aspergillus niveus* Blochwitz, *A. terreus* Thom, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries (Rodrigues et al., 2023), *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. (Emtiazi et al., 2001), *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard & Crous (Chan Ho Tong et al., 2015), *Podospora anserina* (Rabenh.) Niessl (Martins et al., 2009), *Trichoderma virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx, *T. reesei* E.G. Simmons (Cocaign et al., 2013). Біодеградація 3,4-дихлораніліну деякими нитчастими грибами переважно відбувається під час перших 7 – 15 діб інкубації. Два штами *Fusarium oxysporum* Schltdl. і один штам *Aspergillus niger* Tiegh. метаболізують 3,4-дихлоранілін у п'ять метаболітів, що можуть утворюватися

через окислення, ко-денітрифікацію, N-ацетилювання та полімеризацію (Castillo et al., 2014).

Біотрансформація анілінів за участі грибів відділу Basidiomycota недостатньо вивчена. Повідомляється, що позаклітинна пероксидаза з *Coprinus cinereus* (Schaeff.) Gray ( $\equiv$  *Coprinopsis cinerea* (Schaeff.) Redhead) може каталізувати окислювальну олігомеризацію 4-хлораніліну (Chang et al., 1999). Кремер та Стернер (1996) повідомили, що 250 штамів базидіоміцетів було досліджено для виявлення здатності до деградації та метаболізму 3,4-дихлораніліну, але лише 21 штаб, що належить до родів *Collybia* (Fr.) Staude, *Cyathus* Haller, *Filoboletus* Henn., *Gloeophyllum* P. Karst., *Marasmius* Fr., *Merulius* Fr., *Phellinus* Quél., *Schizophyllum* Fr., *Stereum* Hill ex Pers., та *Stropharia* (Fr.) W. Saunders & W.G. Sm. та шість неідентифікованих штамів змогли метаболізувати цю сполуку. Детальна інформація надається лише для *Filoboletus* sp. TA9054, що метаболізував 3,4-дихлоранілін при максимальній концентрації 1,2 мМ, тоді як 1,0 мМ сполуки був повністю видалений після 15–17 діб інкубації (Kremer & Sterner, 1996). Відомо, що міцелій штаму *Phanerochaete chrysosporium* ATCC 34541 може мінералізувати 3,4-дихлоранілін лише за оптимальних умов ферментації починаючи із 2-ї доби культивування, але повне розкладання цього ксенобіотика було встановлено лише після 21 доби культивування, за відсутності впливу лігнінпероксидази (Sandermann et al., 1998). Біотрансформацію 3,4-дихлораніліну також досліджували для штамів *P. chrysosporium* ATCC 24725 та ATCC 20696, *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. SH1 та *Trametes versicolor* штаб PV1 у двох різних середовищах. Найвища швидкість мінералізації 3,4-дихлораніліну була виявлена для міцелію *T. versicolor* (47,7 мкг·г сухої ваги<sup>-1</sup>·добу<sup>-1</sup>) на середовищі Кірка, тоді як міцелій *S. hirsutum* не метаболізував цю сполуку (Morgan et al., 1991). Для міцелію іншого штаму, *T. versicolor* K-41, повідомлялося про здатність знижувати концентрацію 3,4-дихлораніліну після 2 діб інкубування (Mori et al., 2018). Це свідчить про те, що біотрансформація 3,4-дихлораніліну добре вивчена, на відміну від біотрансформації інших дихлоранілінів, які також активно використовуються, тому важливим є вивчення

біотрансформації інших ізомерів дихлораніліну, оскільки розміщення хлору у різних положеннях надає сполуці інших хімічних та фізичних властивостей (Naumann, 2000).

У представленій експериментальній роботі міцелій семи штамів п'яти видів базидієвих грибів оцінювали на здатність до біотрансформації 2,6-дихлораніліну (**9**, рис. 7.3) та 3,5-дихлораніліну (**10**, рис. 7.3). За даними Кремер та Стернер (1996), біодеградація дихлоранілінів міцелієм базидіоміцетів триває 15–17 діб, тому спершу, відповідно до літературних даних, було проведено попереднє скринінгове дослідження біотрансформації дихлоранілінів, проте за наших умов експерименту всі досліджені штами продемонстрували набагато вищу швидкість біодеградації обох досліджених дихлоранілінів. Тому надалі інкубування культур з 2,6- та 3,5-дихлоранілінами проводили впродовж 3 діб. У табл. 7.1 наведено результати біотрансформації досліджуваних дихлоранілінів міцелієм вибраних штамів базидієвих грибів через 72 години з моменту додавання речовин. Отриманий показник деградації 2,6-дихлораніліну коливався від 97,56% до 99,85%, тоді як показник 3,5-дихлораніліну коливався від 83,95% до 95,32%, що демонструє дещо кращий метаболізм 2,6-дихлораніліну міцелієм досліджуваних штамів базидіоміцетів. Отримані результати свідчать, що навіть 72 години є достатнім часом для біодеградації дихлоранілінів.

Таблиця 7.1

Рівень біодеградації дихлоранілінів (% від початкової концентрації) міцелієм вибраних штамів базидієвих грибів (глибинне культивування)

Вид, штам	Ступінь біодеградації, %	
	2,6-дихлоранілін	3,5-дихлоранілін
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	97,56±2,04	91,27±4,03
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	98,84±1,06	92,39±0,61
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	99,05±0,45	91,35±3,75
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497*	99,40	95,32
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	99,85±0,05	89,85±6,95
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	99,10±0,20	83,95±5,05
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	98,50±0,40	85,78±2,72

Примітка: \* – n=1 для *L. officinalis*, n=2 для решти штамів.

Біотрансформація 3,5-дихлораніліну майже для всіх досліджуваних штамів відбувалася з утворенням схожого профілю метаболітів. Найкраща конверсія 3,5-дихлораніліну була встановлена для міцелію *L. officinalis* 2497 та становила 95,32%, найнижча – для міцелію *S. commune* 1769 та становила 83,95%. Проте для всіх досліджених видів без виключень рівень біоконверсії вказаної сполуки був високим.

У процесі біотрансформації 3,5-дихлораніліну для *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297, *S. commune* 1768, 1769 було виявлено два метаболіти, а саме 3,5-дихлорнітробензол та 3,5-дихлороацетанлід. На рис. 7.1 представлені хроматограми, що відображають профілі цих метаболітів для міцелію штамів *G. sichuanense* 2566 (А) та *S. commune* 1768 (В).

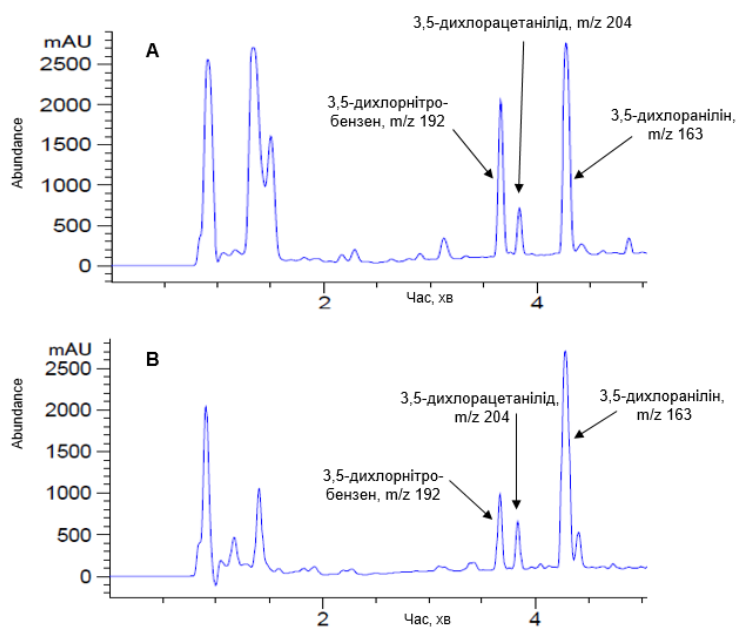


Рис. 7.1. Хроматограма (ВЕРХ, sig=215) зразків, отриманих у результаті біотрансформації 3,5-дихлораніліну міцелієм: А – *Ganoderma sichuanense* 2566; В – *Schizophyllum commune* 1768

Крім вище зазначених метаболітів, невелика кількість 2-аміно-4,6-дихлорфенолу, 4-аміно-2,6-дихлорфенолу та, ймовірно, 5-аміно-2,3-дихлорфенолу була виявлена після біотрансформації міцелієм штаму *F. pinicola* 361, чого не відбувалося під час біотрансформації міцелієм інших досліджуваних

грибів. Крім того, було проведено перетворення 3,5-дихлораніліну на 3,5-дихлорфенол міцелієм цього штаму. Виключенням був міцелій штаму *G. sichuanense* 1848, оскільки метаболізм 3,5-дихлораніліну відбувався відмінним шляхом, порівняно з іншими дослідженими нами штамми, так у процесі біотрансформації зазначеного дихлораніліну міцелієм цього штаму утворювався лише один метаболіт – 3,5-дихлорнітробензол.

Біотрансформація 2,6-дихлораніліну не відбувалася з утворенням схожого профілю метаболітів для усіх досліджених штамів. Найвища конверсія 2,6-дихлораніліну була виявлена під час біотрансформації міцелієм *P. ostreatus* 297 та становила 99,85%, а найнижча — для міцелію *F. pinicola* 361 та становила 97,56%, проте для всіх видів без виключень рівень біоконверсії згаданої сполуки був вкрай високим.

У результаті біотрансформації дихлораніліну міцелієм штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566 та *G. sichuanense* 1848 була встановлена біотрансформація 2,6-дихлораніліну до 4-аміно-3,5-дихлорфенолу, однак для решти досліджених штамів утворення цього метаболіту не встановлено (рис. 7.2).

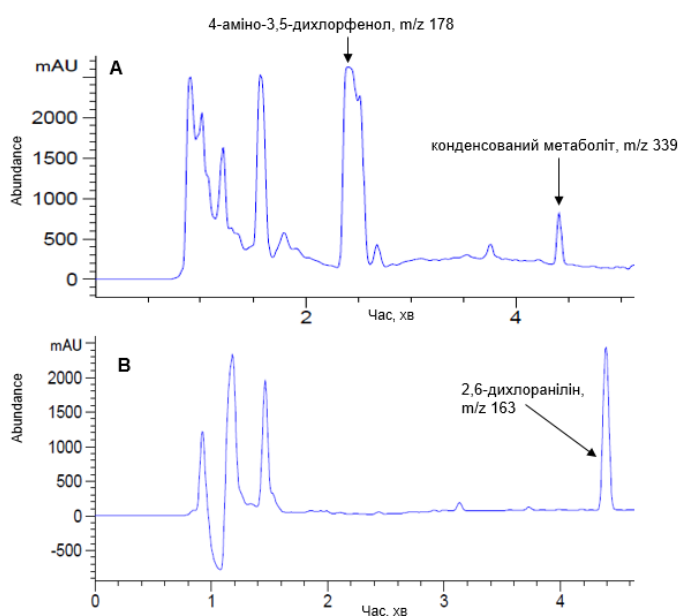


Рис. 7.2. Хроматограма (ВЕРХ, sig=215) зразків, отриманих у результаті біотрансформації 2,6-дихлораніліну міцелієм: А – *Fomitopsis pinicola* 361; В – *Schizophyllum commune* 1768

Показово, що нітрифікація та ацетилювання аміногрупи 2,6-дихлораніліну не відбувалися під час біотрансформації цієї сполуки міцелієм досліджуваних штамів, на відміну від біотрансформації 3,5-дихлораніліну. Утворення метаболіту з  $m/z$  339, що на нашу думку відповідає конденсованому продукту, було встановлено для міцелію штаму *F. pinicola* 361, проте його кількість була недостатньою для ідентифікації. Порівняння шляхів біотрансформації обох досліджуваних сполук демонструє утворення меншої кількості метаболітів для 2,6-дихлораніліну.

2,6-дихлоранілін та 3,5-дихлоранілін є вихідними сполуками для синтезу різних препаратів та пестицидів (Lindh et al., 2007; Shaalan & Belal, 2013; Vasileiadis et al., 2018; Shailakshi et al., 2024), водночас вказані дихлораніліни є метаболітами, що утворюються в результаті розкладу диклофенаку, іпродіону, вінклозоліну та інших сполук (Pan et al., 2025), що є небезпечним через їх здатність до накопичення та нефротоксичності. Збільшення нефротоксичного потенціалу дихлораніліну, порівняно з хлоранілінами, пов'язане зі збільшенням кількості хлоридних атомів та їх положенням у молекулі. Відомо, що нефротоксичний потенціал зменшується таким чином: 3,5-дихлоранілін > 2,5-дихлоранілін > 2,4-, 2,6- та 3,4-дихлоранілін > 2,3-дихлоранілін (Lo et al., 1990). Зважаючи на стабільність цих сполук, необхідні подальші дослідження для розробки ефективних, практичних та екологічно чистих методів видалення дихлоранілінів.

Існує кілька підходів до вивчення біотрансформації 3,5-дихлораніліну (10, рис. 7.3) міцелієм грибів. Зокрема, біотрансформацію різних дихлоранілінів вже досліджували для чистої культури *Filoboletus* sp. TA9054 (Kremer & Sterner, 1996), однак міцелій цього штаму не метаболізував 3,5-дихлоранілін, хоча мав здатність до біотрансформації 3,4-дихлораніліну. Відомо про ацетилювання дихлораніліну деякими видами грибів із залученням ферменту N-ацетилтрансферазу (Martins et al., 2009; Rodrigues et al., 2023). Це спонукало до дослідження використання інших грибних ферментів у перетворенні дихлоранілінів. Зокрема, досліджено біодеградацію 3,5-дихлораніліну сумішшю

лакази (отриманої з міцелію *T. versicolor*) з  $MnO_2$  та медіаторами, з встановленням найкращих результатів при використанні катехолу та суміші лакази з  $MnO_2$ , що призводило до повної деградації 3,5-дихлораніліну (Sarker et al., 2020). Однак, цей метод є дорожчим порівняно із глибинним культивуванням базидіоміцетів. Уперше нами повідомляється про біотрансформацію 3,5-дихлораніліну в 3,5-дихлороацетанлід (**15**, рис. 7.3), 4-аміно-2,6-дихлоранілін (**20**, рис. 7.3), 2-аміно-4,6-дихлорфенол (**17**, рис. 7.3), 3,5-дихлорфенол (**19**, рис. 7.3) та 3,5-дихлорнітробензол (**16**, рис. 7.3) міцелієм базидіоміцетів.

При порівнянні біотрансформації 3,5-дихлораніліну за участі грибів та ссавців можна спостерігати подібні метаболіти. Біотрансформацію 3,5-дихлораніліну досліджували в первинно ізольованих клітинах ниркової кори, отриманих від самців щурів лінії Fischer 344, з отриманням кількох метаболітів (Racine et al., 2016). Двома з отриманих метаболітів були 3,5-дихлороацетанлід та 3,5-дихлорнітробензол, що також було встановлено у нашій роботі. З них 3,5-дихлороацетанлід не є цитотоксичним, тоді як 3,5-дихлорнітробензол є потенційним нефротоксичним метаболітом. Водночас у нашому дослідженні не був ідентифікований 3,5-дихлорфенілгідроксиамін (**18**, рис. 7.3) після грибної біотрансформації, порівняно з біотрансформацією ссавцями (Rankin et al., 2021).

Міцелій *Phanerochaete chrysosporium* та *Pleurotus pulmonarius* здатний повністю розкласти різні ароматичні вуглеводні, включаючи 2,6-дихлороанілін та 2,4-дихлороанілін, у ґрунті протягом 30 діб інкубації (D'Annibale et al., 2005). Але отримані нами результати демонструють, що розкладання 2,6-дихлораніліну міцелієм штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297, *S. commune* 1768 та 1769 є швидшим процесом і тому є більш перспективним для майбутнього практичного використання. Утворення конденсованих метаболітів, що спостерігається при біотрансформації 2,6-дихлораніліну міцелієм *F. pinicola* 361, було раніше описано для *Filoboletus* sp. TA9054 після 15 діб культивування (Kremer & Sterner, 1996). Уперше в нашій роботі повідомляється про утворення 4-аміно-3,5-дихлорфенолу (**21**, рис. 7.3) після біотрансформації 2,6-дихлораніліну міцелієм базидіоміцетів.

Згідно з вищезазначеною інформацією, біотрансформація 2,6-дихлораніліну (**9**, рис. 7.3) та 3,5-дихлораніліну (**10**, рис. 7.3) відбувається через такі шляхи: ацетилювання, нітрування та окислення за різними положеннями (рис. 7.3). У нашому дослідженні міцелій базидіоміцетів може забезпечувати майже всі ці перетворення, крім окислення аміногрупи (**18**, рис. 7.3). Отримані результати вперше повідомляють про властивість базидіоміцетів перетворювати досліджувані дихлораніліни на гідроксильовані метаболіти.

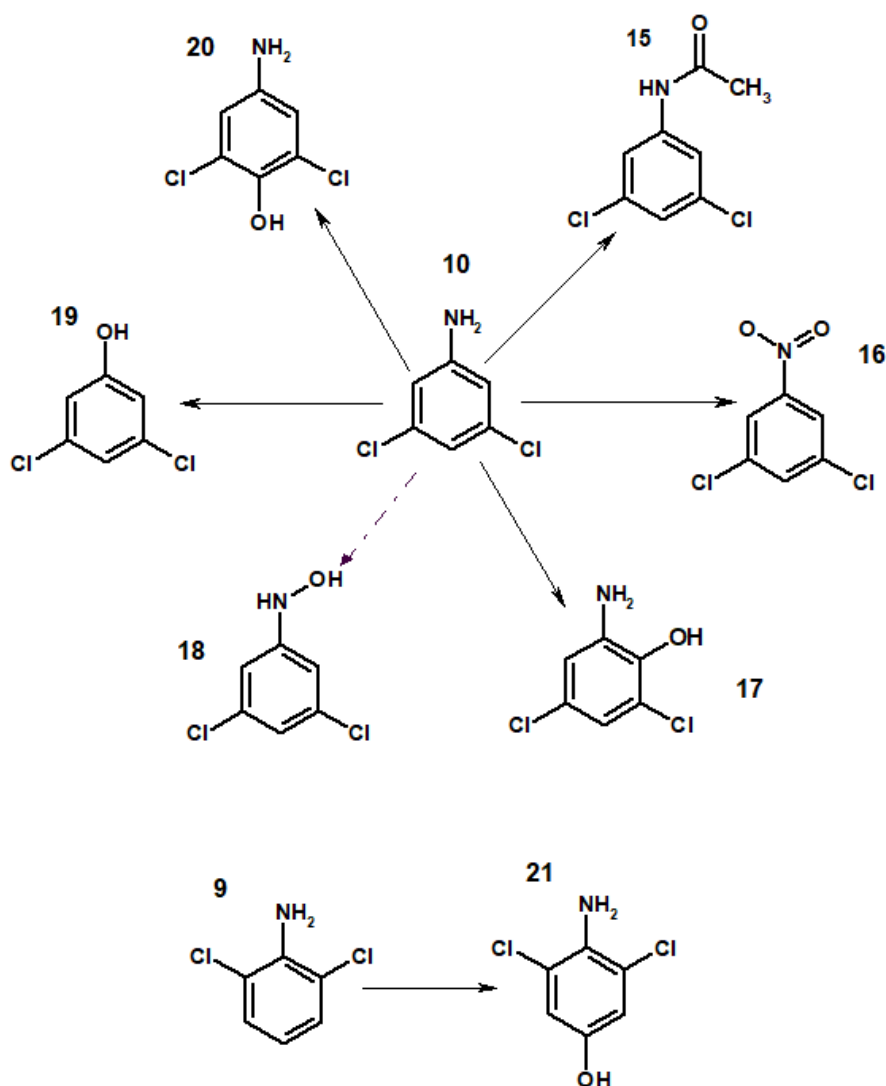


Рис. 7.3. Шляхи біотрансформації дихлоранілінів. Суцільними лініями позначені метаболіти, отримані в результаті грибнової біотрансформації в нашому дослідженні; пунктирною лінією показано метаболіт згідно з літературними даними (Rankin et al., 2021).

Таким чином, проведене дослідження демонструє здатність міцелію всіх досліджених нами штамів дереворуйнівних базидієвих грибів перетворювати

токсичні дихлораніліни. Ступінь деградації обох досліджених дихлоранілінів був високим для всіх семи штамів і варіював від 83,95% до 99,85%. Серед досліджених базидіоміцетів міцелій штаму *L. officinalis* 2497 виявився найефективнішим у зменшенні вихідної концентрації обох досліджених дихлоранілінів. Для міцелію штамів *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297, *S. commune* 1768 та 1769 було визначено здатність метаболізувати 3,5-дихлоранілін до 3,5-дихлорацетаніліду та 3,5-дихлорнітробензолу, тоді як міцелій штаму *F. pinicola* 361 метаболізував 3,5-дихлоранілін до 3,5-дихлорацетаніліду та гідроксильованих метаболітів. Міцелій штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848 та 2566 перетворював 2,6-дихлоранілін на 4-аміно-3,5-дихлорфенол. Для підтвердження перетворення 2,6-дихлораніліну на 4-аміно-3,5-дихлорфенол та 3,5-дихлорфенол було проведено ЯМР-спектроскопію. Отримані результати вперше повідомляють про утворення гідроксильованих метаболітів під час грибнової біотрансформації дихлоранілінів.

Результати розділу висвітлені у науковій публікації (Bondaruk, Bulava, et al., 2025).

## РОЗДІЛ 8.

### БІОТРАНСФОРМАЦІЯ АКТИВНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ МІЦЕЛІЄМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ

Через широке використання лікарських препаратів для лікування людей і тварин та їх неповний метаболізм в цільових організмах спостерігається їх накопичення в навколишньому середовищі. Наразі такі фармацевтичні препарати класифікуються як забруднювачі, що викликають занепокоєння (Majewska et al., 2021; Świacka et al., 2022). До цих фармацевтичних препаратів належать, зокрема, такі активні фармацевтичні інгредієнти, як диклофенак та напроксен, оскільки добре відомо, що ці сполуки мають токсичну дію на навколишнє середовище (Wojcieszynska & Guzik, 2020; Wojcieszynska et al., 2023). Негативним ефектом від надмірного використання цих речовин також стало їх накопичення у харчових продуктах тваринного походження (Przedpełska et al., 2025). Повідомляється, що очисні споруди не здатні видалити повністю диклофенак та напроксен, однак є досить ефективними у видаленні їх метаболітів (Duarte et al., 2024; Placová et al., 2024), що зумовлює потребу в розвитку альтернативних методів знешкодження залишків нестероїдних протизапальних препаратів. Одним із перспективних варіантів вважається біотрансформація (Placova et al., 2023), тому нами було проведено дослідження біотрансформації напроксену та диклофенаку міцелієм дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів.

Міцелій усіх досліджених штамів дереворуйнівних базидієвих грибів здатний рунувати такі активні фармацевтичні інгредієнти нестероїдних протизапальних препаратів як напроксен (5, рис. 8.1) та диклофенак (4, рис. 8.2) (Табл. 8.1). Найбільше зменшення концентрації напроксену спостерігалось після біотрансформації за участі міцелію штаму *Fomitopsis pinicola* 361 (97,1%), а диклофенаку – міцелію штаму *Pleurotus ostreatus* 297 (92,3%). Слід зазначити, що міцелій штаму *P. ostreatus* 297 також виявився найбільш ефективним при біотрансформації 2,6-дихлораніліну, який є попередником синтезу диклофенаку.

Рівень біодеградації напроксену та диклофенаку (% від початкової концентрації) міцелієм вибраних штамів базидієвих грибів (глибинне культивування)

Вид, штам	Ступінь деградації, %	
	напроксен	диклофенак
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	97,1	72,4
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	83,6	76,2
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	79,9	81,0
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	88,4	85,1
<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	84,8	83,1
<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	78,1	80,5
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	84,7	92,3
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	94,4	55,6
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	83,0	59,1

При порівнянні ступеня біодеградації напроксену та диклофенаку міцелієм досліджених штамів варто відзначити певну специфічність процесу біотрансформації, так, зокрема міцелій штамів *F. pinicola* 361, *S. commune* 1768, 1769 та *P. ostreatus* 297 демонстрували вищий ступінь біодеградації напроксену, ніж диклофенаку, але більшість досліджених штамів розкладали обидва активних фармацевтичних інгредієнтів на одному рівні – близько 80%. Варто відзначити, що лише міцелій штамів *G. sichuanense* 1848 та *L. officinalis* 5004 демонстрували дещо вищий ступінь деградації диклофенаку серед досліджених штамів.

Після проведення аналітичного аналізу було встановлено, що міцелій двох штамів *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498 та *S. commune* 1769 метаболізували напроксен (**5**, рис. 8.1) на деметилнапроксен з  $m/z$  215 (**22**, рис. 8.1) та гідроксинапроксен з  $m/z$  245 (**23**, рис. 8.1). Крім того, у досліджуваних зразках, отриманих у результаті біотрансформації напроксену міцелієм трьох штамів *L. officinalis* був виявлений метаболіт з  $m/z$  179, який не вдалося ідентифікувати через його незначну кількість. Водночас деметилнапроксен був також виявлений при біотрансформації напроксену міцелієм штаму *L. officinalis* 5004, тоді як

гідроксильований метаболіт не був присутній у цьому досліджуваному зразку. Це вказує на різні шляхи біотрансформації для досліджуваних штамів (рис. 8.1).

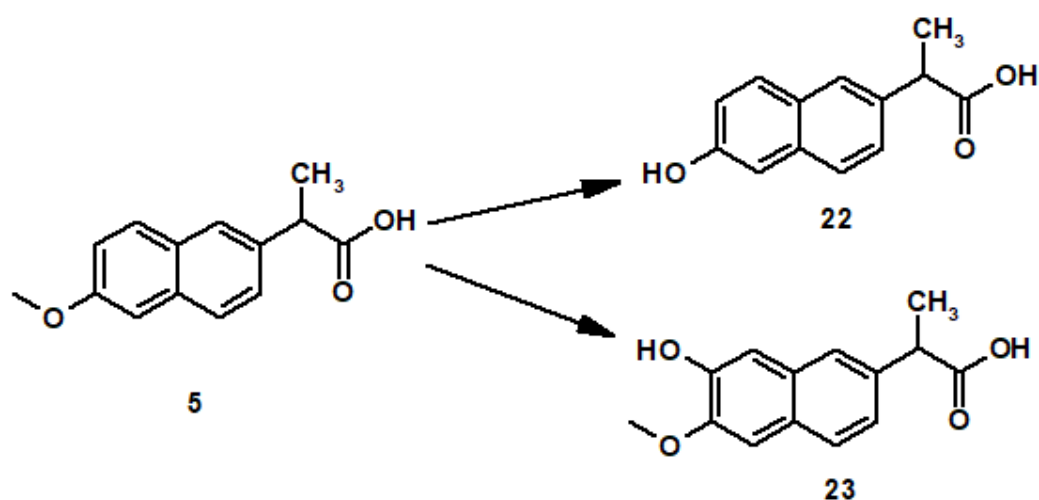


Рис. 8.1. Узагальнені шляхи біотрансформації напроксену (5) міцелієм базидієвих грибів

Хоча деградація напроксену базидіоміцетами відома, вона залишається маловивченою. Біотрансформація цього активного фармацевтичного інгредієнта вже була досліджена для міцелію таких видів як *Funalia trogii* (Berk.) Bondartsev & Singer (= *Coriolopsis trogii* (Berk.) Domański) (Aracagök et al., 2017), *Phanerochaete chrysosporium* (Rodarte-Morales et al., 2012), *Pleurotus djamor* (Cruz-Ornelas et al., 2019) та *Trametes versicolor* (Marco-Urrea et al., 2010; Rodríguez-Rodríguez et al., 2010). Однак міцелій не всіх базидієвих грибів здатний до біотрансформації напроксену. Зокрема, *Clitocybe nebularis* (Batsch) P. Kumm. не зміг метаболізувати цю сполуку, хоча він був здатний біотрансформувати інші подібні сполуки (Klenk et al., 2019). Як правило, більшість досліджень зосереджена на здатності грибного міцелію деградувати напроксен, однак мало що було вивчено стосовно метаболітів, що утворюються в результаті процесу біотрансформації. Це пояснюється тим, що молекула напроксену стійка до мікробної біотрансформації завдяки наявності двох ароматичних кілець (Domaradzka et al., 2015). Враховуючи стабільність цієї сполуки та прогалину в знаннях про біотрансформацію грибів, критично важливим є ідентифікувати утворені у процесі метаболіти. Деметилнапроксен вже був виявлений у біотрансформації за участі міцелію *T. versicolor* (Marco-Urrea et al., 2010). Хоча

попередніх повідомлень про присутність гідроксинапроксену у біотрансформації напроксену міцелієм базидіоміцетів немає, проте повідомляється про отримання згаданих вище метаболітів при використанні іммобілізованих лаказ отриманих шляхом культивування *T. versicolor* (Zdarta et al., 2019). Водночас, присутність обох метаболітів спостерігалася у біотрансформації напроксену міцелієм *Aspergillus niger* (Aracagök et al., 2017). Отримані результати демонструють перспективи використання міцелію дев'яти досліджуваних штамів дереворуйнівних базидієвих грибів для деградації та біотрансформації напроксену.

Одержані результати демонструють здатність усіх досліджених штамів розкласти диклофенак, що є досить важливим, зважаючи на те що ця сполука класифікована як забруднювач, що викликає значне занепокоєння, через екотоксикологічний вплив та високу стійкість до руйнування в навколишньому середовищі. Повідомляється, що до 75% від використаного диклофенаку (за деякими оцінками) потрапляє у воду та ґрунт (Ramírez-Durán et al., 2025). У результаті біотрансформації диклофенаку (4, рис. 8.2) міцелієм дереворуйнівних базидієвих грибів виявлено більше метаболітів, порівняно із біотрансформацією напроксену. Але відмічено штамову специфічність процесу біотрансформації диклофенаку, що було добре виражено при біотрансформації диклофенаку міцелієм трьох штамів *L. officinalis*. У зразках, отриманих у результаті біотрансформації диклофенаку міцелієм штамів *L. officinalis* 2498 та 5004, було встановлено наявність трьох метаболітів. Один з метаболітів характеризувався піком з показником  $m/z$  279, що відповідає 1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-ону (25, рис. 8.2). Два інші метаболіти характеризувалися піками з однаковим показником  $m/z$  294, але мали різний час утримування. Існують гідроксильовані форми першого метаболіту — 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2Н-індол-2-ону (24, рис. 8.2) та 1-(2,6-дихлорфеніл)-1,3-дигідро-5-гідрокси-2Н-індол-2-ону (27, рис. 8.2). Усі три описані метаболіти утворилися в результаті реакції карбоксильних та аміногруп, які є у молекули диклофенаку. На противагу цьому, міцелій штаму *L. officinalis* 2497 метаболізував диклофенак лише до

гідроксидиклофенаку, що характеризувався піком з показником  $m/z$  312 (**26**, рис. 8.2), але кількість цього метаболіту була невеликою. Присутність гідроксидиклофенаку у результаті біотрансформації диклофенаку було встановлено для міцелію таких штамів як *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *P. ostreatus* 297 та *S. commune* 1769. Слід зазначити, що міцелій штамів *F. pinicola* 361 та *G. sichuanense* 2566 також здійснював гідроксилування 2,6-дихлораніліну, який є попередником синтезу диклофенаку, що свідчить про певну специфічність роботи грибних ферментів при перетворенні сполуки такої конфігурації. Однак, наявність таких конденсованих метаболітів як 1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-ону (**25**, рис. 8.2) та 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2H-індол-2-ону (**24**, рис. 8.2) виявлено лише у результаті біотрансформації диклофенаку за участі міцелію штаму *F. pinicola* 361.

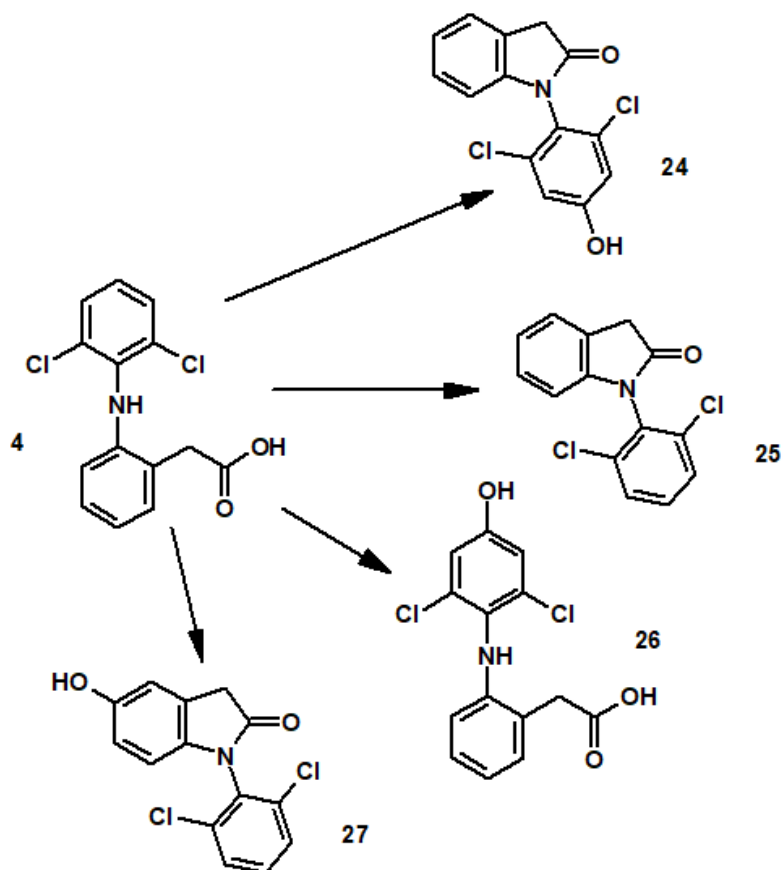


Рис. 8.2. Узагальнені шляхи біотрансформації диклофенаку (**4**) міцелієм базидієвих грибів

Біотрансформація диклофенаку міцелієм грибів є відносно швидким процесом, зокрема поява гідроксильованих метаболітів спостерігається

протягом 24 годин після введення сполуки. Однак ці метаболіти є нестабільними в культуральному середовищі через грибну активність. Це спостерігалось для міцелію штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 2566, *L. officinalis* 2497, *P. ostreatus* 297 та *S. commune* 1769, оскільки гідроксидиклофенак був виявлений у незначних кількостях. Відомо, що у деградації диклофенаку за участі міцелію базидієвих грибів ключовими ферментами є лаказа та цитохромоксидаза P450 (Aracagök et al., 2018). Якщо тривалість процесу біотрансформації перевищує 3 дні, відбувається накопичення метаболітів зі структурно перебудованими функціональними групами (Kasonga et al., 2021). Що узгоджується з результатами, отриманими в нашому дослідженні, які вказують на накопичення конденсованих форм метаболітів. Повідомляється, що 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2H-індол-2-ону (**24**, рис. 8.2) також був виявлений при біотрансформації диклофенаку міцелієм *Fomes meliae* (Underw.) Murrill ( $\equiv$  *Fomitopsis meliae* (Underw.) Gilb.) та *Penicillium oxalicum* Currie & Thom (Olicón-Hernández et al., 2019; Dhiman et al., 2022). Однак ідентифікація структури цього метаболіту відбулася під час біотрансформації диклофенаку *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dang. (Liakh et al., 2023). Отже, у роботі вперше встановлено утворення 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2H-індол-2-ону та 1-(2,6-дихлорфеніл)-5-гідрокси-1,3-дигідро-2H-індол-2-ону під час біотрансформації диклофенаку міцелієм базидіоміцетів.

Це дослідження свідчить про ефективність міцелію дев'яти штамів базидієвих грибів у біодеградації таких активних фармацевтичних інгредієнтів, як напроксен та диклофенак. Міцелій штамів *F. pinicola* 361, *L. officinalis* 2497, 2498 та *S. commune* 1769 трансформували напроксен у деметилнапроксен та гідроксинапроксен, що є добре відомими метаболітами цього активного фармацевтичного інгредієнта. Водночас міцелій штаму *L. officinalis* 5004 трансформував напроксен лише в деметилнапроксен. Диклофенак був трансформований у гідроксидиклофенак міцелієм п'яти штамів, у 1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-он міцелієм двох штамів, та у 1-(2,6-дихлорфеніл)-1,3-дигідро-5-гідрокси-2H-індол-2-он та 1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-

дигідро-2Н-індол-2-он міцелієм трьох штамів дереворуйнівних базидієвих грибів. Дослідженні штами базидієвих грибів виявилися більш ефективними у руйнуванні напроксену, порівняно із диклофенаком, що є досить важливим, зважаючи на його стійкість у навколишньому середовищі.

Результати розділу частково висвітлені у науковій публікації (Bondaruk, Korzh, et al., 2025).

## РОЗДІЛ 9

### БІОТРАНСФОРМАЦІЯ АДАМАНТАНУ МІЦЕЛІСМ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ

Адамантан – це насичений трициклічний вуглеводень, для якого характерна високосиметрична кліткоподібна структура, що складається з трьох конденсованих циклогексанових кілець, розташованих у певній конфігурації (Štimac et al., 2017). Популярність застосування цього вуглеводню зумовлена тим, що його додавання до молекул лікарських речовин призводило до набуття ними певного рівня ліпофільності, за рахунок чого отримані речовини ставали більш ефективними, через що адамантан також називають ліпофільною кулею. Такі модифікації лікарських препаратів з метою посилення ліпофільності та стабільності характеризувалися також і покращенням фармакокінетики (Wanka et al., 2013). Адамантанове кільце наявне у таких активних фармацевтичних інгредієнтах, як адапален (Rusu et al., 2020; Bicknell et al., 2024), амантадин, римантадин та мемантин (Butterworth, 2021), саксагліптин (Liao et al., 2019), тромантадин, адпфостин, адаротен, опаганіб (Al-Omary et al., 2023) та інших. Усі ці активні фармацевтичні інгредієнти входять до широкого переліку лікарських засобів, які застосовуються для лікування різних хвороб, від вугрового висипу до діабету. При цьому слід зазначити, що хоча амантадин та мемантадин спершу використовувались як противірусні засоби, проте зараз їх також рекомендують використовувати при розладі свідомості у результаті черепно-мозкових травм для пришвидшення відновлення, хоча вплив цих препаратів у таких ситуаціях все ще досліджується (Ma & Zafonte, 2020). Амантадин, уже понад 50 років, також використовується при лікуванні хвороби Паркінсона (Rascol et al., 2021). Усе це призводить до розробки ще більшої кількості речовин, що є похідними адамантану (Poriołek et al., 2024). Крім того, адамантан також є найменшою одиницею групи діамантоїдів, що використовуються як функціональні адитивні матеріали та структурні молекули у нанотехнологіях, а також використовується при синтезі каталізаторів (Agnew-Francis & Williams, 2016; Yeung et al., 2020). Приймаючи до уваги те, що

адамтан є високостабільним та ліпофільним, важливо розуміти шляхи його метаболізму в навколишньому середовищі та ідентифікувати його похідні, утворені в результаті цього процесу. Крім того, адамтан є чудовим модельним об'єктом для розуміння грибної біотрансформації вуглеводнів, оскільки має широкий перелік похідних сполук з різноманітним застосуванням та цінними біологічними властивостями.

Ми провели дослідження біотрансформації адамтану як модельного об'єкта міцелієм 9 штамів 5 видів базидієвих грибів, оскільки це дозволить оцінити особливості процесу біотрансформації сполук схожої хімічної будови міцелієм базидієвих грибів. Дослідження проводилося у два етапи:

1. Дослідження здатності міцелію дев'яти штамів базидієвих грибів – *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Laricifomes officinalis* 2497, 2498, 5004, *Pleurotus ostreatus* 297, *Schizophyllum commune* 1768, 1769 – біотрансформувати адамтан (3, рис. 9.2).
2. Провести аналіз динаміки біотрансформації адамтану на адамтанол (26, рис. 9.2) міцелієм штамів *G. sichuanense* 1848 та *L. officinalis* 2498.

Отримані результати свідчать про певну специфічність процесу біотрансформації адамтану до адамтанолу за участі базидієвих грибів, зокрема, у результаті проведеної роботи така властивість виявлена для міцелію штамів *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848 (рис. 9.1), 2566, *L. officinalis* 2498, 5004, *P. ostreatus* 297. Таким чином, міцелій шести досліджених штамів модифікував адамтан до адамтанолу, тоді як міцелій трьох штамів не здійснював такого перетворення. Зокрема, міцелій двох штамів *Schizophyllum commune* 1768 та 1769 не здійснював гідроксильовання адамтану, хоча утворення гідроксильованих метаболітів у результаті біотрансформації ксенобіотиків з бензольними кільцями було встановлено для міцелію штаму *S. commune* 1769. Однак, можливо, що міцелій досліджених штамів цього виду не здійснює гідроксильовання аліфатичних сполук, оскільки при

біотрансформації амідів для цих штамів також не було встановлено гідроксильованих метаболітів, на відміну від решти досліджених штамів.

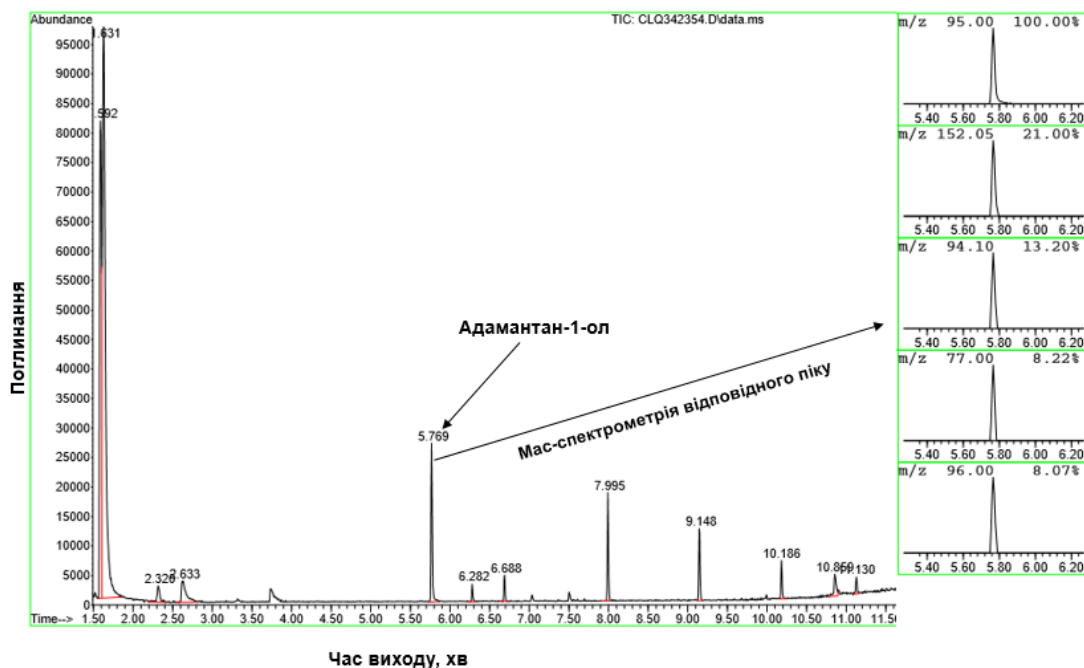


Рис. 9.1. Хроматограма газової хроматографії зразка баотрансформації адамантану міцелієм штаму *Ganoderma sichuanense* 1848

Утворення гідроксильованого метаболіту адамантану також не встановлено для міцелію штаму *L. officinalis* 2497, тоді як міцелій двох інших штамів цього виду здійснював гідроксильовання вихідної сполуки, що свідчить про певну штамспецифічність цього процесу. Узагальнена схема шляху біотрансформації адамантану наведена на рис. 9.2.

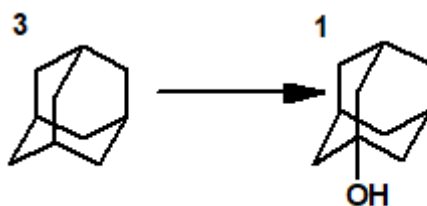


Рис. 9.2. Шлях біотрансформації адамантану (3) до адамантанолу (1) міцелієм базидієвих грибів

Визначення утворених продуктів біотрансформації проводили на 7-му добу після внесення адамантану, однак для кращого розуміння перебігу процесу біотрансформації було проведено дослідження кінетики перетворення адамантану на адамантанол міцелієм двох штамів базидієвих грибів:

*G. sichuanense* 1848 та *L. officinalis* 2498. Результати конверсії адамантану на адамантанол міцелієм обраних штамів представлені на рис. 9.3.

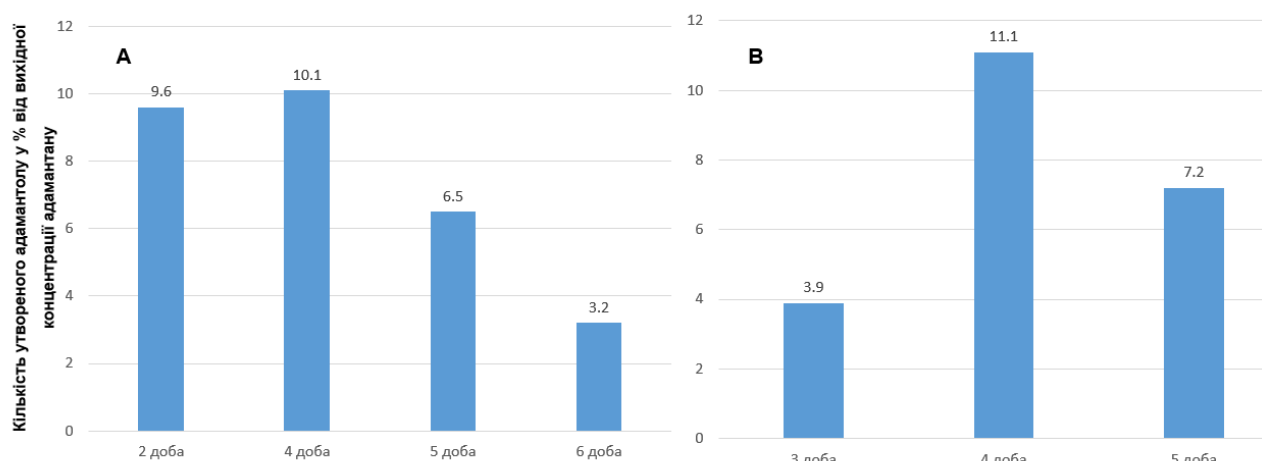


Рис. 9.3. Кінетика перетворення адамантану на адамантанол міцелієм базидієвих грибів: А – *Ganoderma sichuanense* 1848, В – *Laricifomes officinalis* 2498

Отримані результати з дослідження перетворення адамантану на адамантанол міцелієм двох штамів базидіоміцетів свідчить про дещо кращу ефективність міцелію штаму *L. officinalis* 2498, але міцелій штаму *G. sichuanense* 1848 характеризувався більшим відсотком конверсії адамантану на зазначений метаболіт уже на 2-гу добу після внесення досліджуваної сполуки. Варто відзначити, що для обох штамів максимальна конверсія була встановлена на 4-ту добу глибинного культивування після внесення адамантану, після чого спостерігалось зниження концентрації адамантанолу, що може бути спричиненим зниженням концентрації адамантану у культуральній рідині та можливими подальшими перетвореннями адамантанолу до інших продуктів. Однак при дослідженні біотрансформації адамантан-1-олу та адамантан-2-олу міцелієм штаму *L. officinalis* 2498, як найбільш ефективного у попередніх дослідженнях, біотрансформація не відбувалася.

Утворення гідроксильованих метаболітів у результаті біотрансформації різних похідних адамантану встановлено для міцелію таких грибів, як *Absidia cylindrospora* Hagem та *Beauveria bassiana* (Lehman & Stewart, 2001), а утворення адамантанолу як продукту біотрансформації адамантану описане для таких

представників відділу Ascomycota: *Aspergillus niger*, *A. cellulosa* Hopffe (= *A. fumigatus* Fresen.) та *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not. (Asakawa & Noma, 2020). Проте серед базидієвих грибів здатність до біотрансформації адамантану залишається низькою. Зокрема, серед 30 досліджених представників базидієвих грибів різних порядків лише для міцелію видів *Abortiporus biennis* (Bull.) Singer, *Dichomitus albidofuscus* (Domański) Domański та *Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm. встановлено перетворення адамантану на адамантан-1-ол (Zhuk et al., 2015). Міцелій *D. albidofuscus* був найефективнішим при біотрансформації та характеризувався 39% конверсією адамантану в адамантанол після 8-ми діб культивування, тоді як отримані нами результати демонструють найвищий показник конверсії для міцелію штаму *L. officinalis* 2498 – 11,1 % на 4-ту добу культивування після внесення сполуки. Слід зазначити, що у дослідженнях було використано різні варіанти внесення адамантану у культуральну рідину, зокрема, згідно з літературними даними, використання пропанолу як розчинника сприяє підвищеному виходу процесу біотрансформації. Також слід відзначити високу селективність міцелію *D. albidofuscus* при біотрансформації похідного адамантану – адамантанону до адамантанолу з виходом 71% (Zhuk et al., 2021), що свідчить про високу ефективність міцелію цього виду при біотрансформації адамантану та його похідних до гідроксильованих метаболітів.

Хоча нами не виявлено процесу біотрансформації адамантанолу міцелієм штаму *L. officinalis* 2498, однак про біотрансформацію цієї сполуки іншими базидієвими грибами відомо. Зокрема, міцелій штаму *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. CBS 279.55 трансформував адамантан-1-ол до адамантан-1,3-діолу (Nikitenkova, Sydorenko, et al., 2026), чого у нашій роботі не було виявлено. Відомо, що процес біотрансформації похідних адамантану є видоспецифічним. Так при дослідженні біотрансформації адамантанону міцелієм таких базидієвих грибів як *Bjerkandera adusta*, *Cerrena zonata* (Berk.) H.S. Yuan, *Dichomitus albidofuscus*, *D. squalens* (P. Karst.) D.A. Reid, *Fomitopsis pinicola*, *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill, *Laetiporus portentosus* (Berk.) Rajchenb., *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus sapidus* Quél., *Polyporus*

*umbellatus* (Pers.) Fr., *Trametes versicolor*, *Wolfiporia cocos* встановлено певну видову специфічність до відновлення чи окиснення вихідної сполуки. (Nikitenkova, Albuquerque, et al., 2026) Тому варто дослідити і інші штами базидієвих грибів на здатність до біотрансформації адамантанолу у майбутніх дослідженнях.

Підсумовуючи наведену вище інформацію, можна зробити висновок про ефективність використання міцелію шести із дев'яти досліджених штамів дереворуйнівних базидієвих грибів у біотрансформації адамантану. Міцелій таких штамів, як *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2498, 5004 та *P. ostreatus* 297 здійснювали приєднання гідроксильної групи до молекули адамантану, що є досить перспективним, оскільки у подальшому отриманий метаболіт може ефективно використовуватись як білдинг блок у структурі різних активних фармацевтичних інгредієнтів. Найефективнішим у перетворенні адамантану на адамантанол виявився міцелій штаму *L. officinalis* 2498 з найвищим показником конверсії на 4-ту добу глибинного культивування після внесення вихідної сполуки.

## РОЗДІЛ 10

### АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Наша робота складалася з двох частин: підготовчої, цілями якої було забезпечення стабільного та передбачуваного результату процесу біотрансформації, та основної частини, метою якої було дослідження особливостей біотрансформації різних сполук міцелієм чистих культур базидієвих грибів.

Невід'ємною частиною експериментальної роботи є верифікація культур, тому на першому етапі було відібрано дев'ять штамів п'яти видів базидієвих грибів, що зберігалися у Колекції культур шапинкових грибів (ІВК). Нами було відібрано штами, чисті культури яких виділено з плодових тіл, що росли на хвойних породах дерев, оскільки у такій деревині міститься велика кількість рослинних метаболітів різноманітної хімічної будови, що стимулює розвиток ферментних систем відповідних дереворуйнівних грибів. Для восьми штамів за допомогою методів молекулярної біології було здійснено верифікацію культур, оскільки один із штамів (*Laricifomes officinalis* 5004) уже було верифіковано співробітниками відділу мікології. У результаті було підтверджено видову приналежність восьми штамів базидієвих грибів, а штами ІВК 1848 та 2566 переідентифіковано як *Ganoderma sichuanense*.

Для усіх дев'яти штамів п'яти видів базидієвих грибів було здійснено підбір оптимального субстрату для тривалого зберігання грибного міцелію при низьких температурах, оскільки таке довготривале та стабільне зберігання культур забезпечує краще збереження ферментативної активності грибного міцелію, що важливе для розробки стабільних біотехнологічних процесів.

Процес біотрансформації, який ми вивчали є цільноклітинною біотрансформацією, перевагою якої є ефективність, низька вартість та універсальність, тому було проведено дослідження накопичення біомаси усіма обраними штамами під час глибинного культивування на стандартному

живильному середовищі для підбору оптимального часу внесення біологічно активних речовин до тестованих культур. Це є важливим етапом подальшої роботи, оскільки від фази росту грибного міцелію залежить кількість ферментів, які безпосередньо беруть участь у досліджуваному процесі.

У експериментальній роботі було використано штами базидієвих грибів із різною швидкістю росту, зокрема *L. officinalis*, для якого характерна повільна швидкість росту під час глибинного культивування. Для оптимізації процесу накопичення біомаси трьох штамів *L. officinalis* було досліджено вплив різних факторів, таких як зміна рН живильного середовища та додавання лецитину до складу стандартного живильного середовища. Найбільш ефективно на накопичення біомаси вплинуло додавання лецитину до складу живильного середовища – такий ефект для штамів цього виду нами було відмічено вперше. Встановлений для цього виду факт можливості стимуляції накопичення біомаси є вкрай важливим не лише для дослідження біотрансформації, а і вивчення процесів синтезу цінних метаболітів та широкого переліку біологічних властивостей. Однак слід зазначити, що результати наших подальших досліджень продемонстрували, що використання живильного середовища із лецитином для вирощування грибного міцелію для подальшої біотрансформації різних сполук не є доцільним, оскільки присутність лецитину суттєво впливає на такі етапи виділення та очищення отриманих метаболітів.

Таким чином, в ході першої частини нашого дослідження було підтверджено та встановлено видову приналежність восьми штамів п'яти видів базидієвих грибів, підібрано умови довготривалого зберігання міцелію досліджених штамів та встановлено час для внесення ксенобіотиків у живильне середовище для кожного штаму.

У ході виконання основної експериментальної частини роботи, яка безпосередньо стосувалася вивчення здатності грибного міцелію до біотрансформації ксенобіотиків, було використано речовини різної хімічної будови: біциклічні аміди, дихлораніліни, диклофенак, напроксен, адамантан та адамантанол. У ході дослідження було використано сполуки як аліфатичної, так

і ароматичної будови для кращого розуміння перебігу процесу біотрансформації досліджених сполук міцелієм базидієвих грибів.

Результати щодо вказаних сполук, викладені у попередніх розділах, свідчать про здатність міцелію досліджених штамів до біодеградації (табл. 10.1) та біотрансформації досліджених сполук. Ці два процеси є взаємопов'язаними (див. розділ 1.1), проте не тотожними. Під час нашого дослідження ми фіксували досить високі рівні розкладання вищезгаданих сполук міцелієм усіх досліджених штамів, однак виявити та ідентифікувати конкретні метаболіти, що утворюються під час процесу біотрансформації ксенобіотиків, вдалося не у всіх випадках. Це може бути пов'язане із рядом факторів, серед яких швидкість подальшого метаболічного перетворення цих метаболітів (розкладання) з утворенням подальших продуктів. Висока здатність до деградації в ряді випадків є перевагою, оскільки штами з такими характеристиками можуть бути використані для біоремедіації та знешкодження ксенобіотиків.

Міцелій штамів, що утворюють велику кількість метаболітів (за умови, що подальший метаболізм цих метаболітів є незначним), може бути використаним для розробки методів «зеленої хімії» з метою отримання сполук з певними модифікаціями. До вказаної групи, серед досліджених, можна віднести міцелії двох штамів – *Fomitopsis pinicola* 361 та *L. officinalis* 2498 – що біотрансформували усі тестовані сполуки до певних метаболітів, у кількостях достатніх для ідентифікації та подальшого виділення. Найменш ефективним як у біодеградації, так і у біотрансформації ксенобіотиків різної будови був міцелій штаму *Schizophyllum commune* 1768, оскільки для зразків, одержаних після біотрансформації за участі міцелію вказаного штаму, метаболіти виявлено лише у результаті біотрансформації 3,5-дихлораніліну. Водночас для міцелію іншого штаму цього виду – *S. commune* 1769 – присутність метаболітів виявлено у результаті біотрансформації трьох з шести сполук: 3,5-дихлораніліну, напроксену та диклофенаку.

Таблиця 10.1

Узагальнена таблиця рівня біодеградації ксенобіотиків (% від початкової концентрації речовини) міцелієм вибраних штамів базидієвих грибів

Вид, штам	Ксенобіотик					
	Н-циклогексил-бензамід	N-фенілциклогексан-карбоксамід	2,6-дихлоранілін	3,5-дихлоранілін	напроксен	диклофенак
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	91,8	x	97,6	91,3	97,1	72,4
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	85,6	x	98,8	92,4	83,6	76,2
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	65,2	x	99,1	91,4	79,9	81,0
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	x	x	99,4	95,3	88,4	85,1
<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	61	58,2	x	x	84,8	83,1
<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	x	x	x	x	78,1	80,5
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	78,4	96,2	99,9	89,9	84,7	92,3
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	72,4	x	99,1	83,9	94,4	55,6
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	61,1	x	98,5	85,8	83,0	59,1
<b>Усереднений показник стійкості речовини</b>	73,61±12,15	77,20±26,87	98,53±1,39	90,00±3,92	86,00±6,30	76,14±12,04

Примітка: x – дослідження не проводилося.

Згідно із представленими у таблиці 10.1 досліджені речовини розподілялися у такій послідовності в залежності від їх стійкості, від найбільш стійкої, до найбільш біодеградабельної: N-циклогексилбензамід > диклофенак > N-фенілциклогексанкарбоксамід (дослідження проведено лише для міцелію двох штамів) > напроксен > 3,5-дихлоранілін > 2,6-дихлоранілін (табл. 10.1). Найменш стійкими до деградації за участі міцелію досліджених штамів були 2,6- та 3,5-дихлораніліни, що належать до ароматичних сполук та мають лише одне ароматичне кільце, на відміну від решти досліджених сполук. У цьому випадку міцелій майже всіх штамів показав надзвичайно високі результати, що часто перевищують 90% деградації від вихідної кількості речовини. Найбільш стійкими серед досліджених сполук були диклофенак та N-циклогексилбензамід; крім того, рівень їх біодеградації сильно варіює залежно від штаму.

Під час виконання експериментальної роботи використано сполуки як аліфатичної, так і ароматичної будови. Міцелій базидієвих грибів біотрансформував сполуки обох типів, проте слід зазначити, що ступінь деградації сполук аліфатичної будови був дещо меншим порівняно зі ступенем деградації сполук ароматичної будови. Це може бути пов'язано з особливостями роботи грибних ферментів відносно сполук ароматичної природи, однак це потребує додаткових досліджень із використанням ширшого переліку ксенобіотиків.

Перспективними є одержані результати по деградації напроксену, оскільки цей активний фармацевтичний інгредієнт містить два бензольних кільця, тому вказана сполука розглядається як стійка до деградації. Для міцелію чотирьох штамів – *L. officinalis* 2497, 2498, *S. commune* 1769 та *F. pinicola* 361 – встановлено утворення лише двох метаболітів: деметилнапроксену та гідроксинапроксену, а для міцелію одного із штамів – *L. officinalis* 5004 – лише деметилнапроксену. Це досить поширені метаболіти напроксену, які характеризуються меншою стійкістю, порівняно із вихідною сполукою.

Основним, але не єдиним, шляхом біотрансформації досліджених ксенобіотиків, було гідроксилювання, яке спостерігалось в більшості варіантів

поєднання штаму-сполука (табл. 10.2). Зокрема у результаті біотрансформації біциклічних амідів міцелієм досліджених штамів ми спостерігали утворення гідроксильованих метаболітів з різним ступенем стеріоселективності залежно від виду. У той час як міцелії більшості досліджених штамів не характеризувалися стереоселективністю процесу біотрансформації, для міцелію штаму *Pleurotus ostreatus* 297 виявлено гідроксильований метаболіт N-циклогексилбензаміду лише у вигляді трансізомера. Проте при проведенні подальшого дослідження біотрансформації іншого представника гомологічного ряду N-циклобензамідів – N-циклопентилбензаміду – міцелієм цього штаму такої стереоселективності не спостерігалось. Натомість було отримано два метаболіти з гідроксильною групою у різних положеннях, які були сумішшю цис- та транс-ізомерів, що свідчить про певну специфічність процесу біотрансформації. Оскільки стереоселективна біотрансформація відбувалася за циклогексановим кільцем, яке досить часто є структурною одиницею різних хімічних речовин, отримані результати свідчать про можливість використання міцелію штаму *P. ostreatus* 297 для потенційного стереоселективного та регіоселективного перетворення інших сполук схожої будови.

Три сполуки серед досліджених містили два атоми хлору: 2,6-дихлоранілін, 3,5-дихлоранілін та диклофенак. Крім того, 2,6-дихлоранілін є вихідною сполукою при синтезі диклофенаку. Одержані результати демонструють різні шляхи метаболізму для двох дихлоранілінів: для 2,6-дихлораніліну встановлено приєднання гідроксильованої групи міцелієм лише трьох штамів з семи досліджених, а для 3,5-дихлораніліну основними реакціями у ході процесу біотрансформації стали ацетилювання та заміщення аміногрупи на нітрогрупу, тоді як приєднання гідроксильованої групи спостерігалось лише міцелієм штаму *F. pinicola* 361 для утворення мінорних метаболітів. Відзначено певні закономірності у процесі біотрансформації як 2,6-дихлораніліну, так і диклофенаку. По-перше, міцелій штаму *P. ostreatus* 297 був найефективнішим у

Таблиця 10.2

Узагальнена таблиця здатності міцелію базидієвих грибів до утворення гідроксильованих метаболітів різних ксенобіотиків

Вид, штам	Ксенобіотик						
	N-циклогексил-бензамід	N-фенілциклогексан-карбоксамід	2,6-дихлоранілін	3,5-дихлоранілін	напроксен	диклофенак	адамантан
<i>Fomitopsis pinicola</i> 361	-ОН	х	-ОН*	-ОН*	-ОН*	-ОН*	-ОН
<i>Ganoderma sichuanense</i> 2566	-ОН	х	-ОН	М	Б	-ОН	-ОН
<i>Ganoderma sichuanense</i> 1848	-ОН	х	-ОН	М	Б	Б	-ОН
<i>Laricifomes officinalis</i> 2497	х	х	Б	М	-ОН*	-ОН	Б
<i>Laricifomes officinalis</i> 2498	-ОН	-ОН	х	х	-ОН*	-ОН*	-ОН
<i>Laricifomes officinalis</i> 5004	х	х	х	х	М	-ОН*	-ОН
<i>Pleurotus ostreatus</i> 297	-ОН	-ОН	Б	М	Б	-ОН*	-ОН
<i>Schizophyllum commune</i> 1769	Б	х	Б	М	-ОН*	-ОН	Б
<i>Schizophyllum commune</i> 1768	Б	х	Б	М	Б	Б	Б

Примітка: х – дослідження не проводилося; -ОН – утворювався лише гідроксильований метаболіт, -ОН\* – крім гідроксилування, виявлено інші шляхи метаболізму, Б – встановлено лише деградацію сполуки, метаболіти не були ідентифіковані, М – спостерігалися інші шляхи метаболізму

деградації обох сполук. По-друге, міцелій штамів *F. pinicola* 361 та *G. sichuanense* 2566 здійснював гідроксилування як 2,6-дихлораніліну, так і диклофенаку. Одержані результати вказують на можливість відтворюваності результатів біотрансформації структурних одиниць, у процесі біотрансформації їх похідних.

Для порівняння гідрофобності утворених метаболітів з вихідними речовинами побудовано табл. 10.3, у якій наведено логарифми коефіцієнта розподілу (LogP), який відображає ступінь гідрофобності сполуки. Наведені дані свідчать, що у результаті біотрансформації досліджених речовин міцелієм обраних штамів, як правило, утворюються більш гідрофільні метаболіти. Лише у випадку біотрансформації 3,5-дихлораніліну відбувалося утворення як більш гідрофільних, так і більш гідрофобних метаболітів у порівнянні з вихідною сполукою. Це також підтверджує здатність міцелію обраних штамів до деградації ксенобіотиків, оскільки більшість утворених метаболітів має менше значення гідрофобності, що впливає на їхню стійкість у навколишньому середовищі.

Таблиця 10.3

Показник гідрофобності (LogP) досліджених сполук та їх метаболітів

Речовина	LogP*	Метаболіти	LogP
N-циклогексил-бензамід	2,892	N-(4-гідрокси-циклогексил)бензамід	0,805
N-фенілциклогексанкарбоксамід	3,192	4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксамід	1,105
N-циклопентил-бензамід	2,333	N-(3-гідрокси-циклопентил)-бензамід	0,936
		N-(2-гідрокси-циклопентил)-бензамід	0,936
2,6-дихлоранілін	2,352	4-аміно-3,5-дихлорфенол	2,049
3,5-дихлоранілін	2,352	3,5-дихлороацетанлід	2,952
		3,5-дихлорнітробензол	2,901
		4-аміно-2,6-дихлоранілін	2,049
		2-аміно-4,6-дихлорфенол	2,049
		3,5-дихлорфенол	3,302

напроксен	3,037	Деметилнапроксен	2,733
		Гідроксинапроксен	2,742
диклофенак	4,400	Гідроксидиклофенак	3,700
		1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-он	3,800
		1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2Н-індол-2-он	3,400
		1-(2,6-дихлорфеніл)-1,3-дигідро-5-гідрокси-2Н-індол-2-он	3,400
адамантан	5,022	Адамантанол	1,895

Примітка: \* LogP – дані розраховано з використанням XLogP3 3.0 (PubChem release 2025.09.15).

Таким чином, серед досліджених штамів видів базидієвих грибів найбільш перспективними є міцелії штамів *F. pinicola* 361 та *L. officinalis* 2498, які біотрансформували усі досліджені сполуки з утворенням метаболітів. При цьому слід звернути увагу, що міцелій обох штамів змінює показник рН культуральної рідини під час свого росту. Відзначено, що кисле рН культуральної рідини в процесі росту міцелію штаму *F. pinicola* 361 може сприяти утворенню більшої кількості гідроксильованих метаболітів або перешкоджати їх подальшій біодеградації, порівняно із міцелієм решти штамів, оскільки лише для цього штаму встановлено утворення гідроксильованих метаболітів для усіх тестованих ксенобіотиків. Це свідчить про перспективність і необхідність продовження детального дослідження впливу показника рН культуральної рідини на процес біотрансформації ксенобіотиків штамми видів базидієвих грибів.

Одержані результати демонструють, що міцелій усіх досліджених штамів базидієвих дереворуйнівних грибів здатний до біотрансформації сполук різноманітної хімічної будови.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у визначенні біотрансформаційного потенціалу дев'яти штамів базидієвих дереворуйнівних грибів з Колекції культур шапинкових грибів ІВК – *Fomitopsis pinicola* 361, *Ganoderma sichuanense* 1848, 2566, *Laricifomes officinalis* 2497, 2498, 5004, *Pleurotus ostreatus* 297, *Schizophyllum commune* 1768, 1769 – щодо широкого спектра ксенобіотиків (біциклічних амідів, дихлоранілінів, напроксену, диклофенаку та адамантану).

Основні наукові та практичні результати дослідження дають змогу сформулювати такі висновки:

1. За допомогою методів молекулярної біології (зокрема, секвенування ділянок ITS та RPB2) верифіковано видову належність восьми обраних штамів базидієвих дереворуйнівних грибів, ізольованих із хвойних порід деревини, що зберігаються в Колекції культур шапинкових грибів ІВК. Підтверджено видову приналежність шести штамів, а штами ІВК 1848 та 2566 переідентифіковано як штами *G. sichuanense*.
2. Модифіковано та впроваджено ефективні способи довготривалого зберігання міцелію досліджуваних штамів базидіоміцетів на зерновому та дерев'яних субстратах. Перелік субстратів, що підходять для довготривалого зберігання міцелію, доповнено шліфованим та нешліфованим ячменем. Встановлено, що метод криозберігання міцелію при температурі  $-80^{\circ}\text{C}$  на підібраних субстратах забезпечує збереження високої життєздатності всіх досліджених культур щонайменше протягом 12 місяців, що також гарантує відтворюваність подальших досліджень.
3. Визначивши закономірності динаміки накопичення міцеліальної біомаси обраних штамів в умовах глибинного культивування, встановлено оптимальний для внесення ксенобіотиків для дослідження процесу біотрансформації. Для міцелію штамів *P. ostreatus* 297 та

*S. commune* 1769 внесення ксенобіотика відбувалося уже на 4-й день глибинного культивування, тоді як для міцелію штамів *S. commune* 1768 – 5-й, *G. sichuanense* 2566 та 1848 – 7-й, *L. officinalis* 2497 – 20-й, *L. officinalis* 2498 та 5004 – 30-й. Для трьох повільно зростаючих штамів *L. officinalis* модифіковано склад живильного середовища шляхом додавання 20 мл/л лецитину, що дозволило збільшити вихід біомаси в 9–13 разів.

4. Доведено високу здатність міцелію досліджуваних грибів до біотрансформації N-циклогексилбензаміду. Найвищий рівень біодеградації було встановлено для міцелію штаму *F. pinicola* 361, який забезпечив ступінь розкладання сполуки на 91,8%. За допомогою вискоелективної рідинної хроматографії та ядерно-магнітно-резонансної спектроскопії ідентифіковано ключовий проміжний метаболіт: 4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксамід. Міцелій штаму *P. ostreatus* 297 продемонстрував високу стереоселективність процесу біотрансформації вихідної сполуки, утворюючи метаболіт у вигляді одного транс-ізомеру, тоді як міцелій інших досліджених штамів утворював метаболіт у вигляді суміші цис- і транс-ізомерів.
5. Оцінено стійкість ізомерів дихлораніліну до біотрансформації та біодеградації міцелієм базидіоміцетів. Встановлено, що міцелій досліджених штамів виявляє вищий потенціал до деградації 2,6-дихлораніліну (97,56–99,85%) ніж 3,5-дихлораніліну (83,95–95,32%). Основними шляхами біотрансформації цих сполук були гідроксилювання, N-окиснення, дезамінування та ацетилювання.
6. Встановлено здатність міцелію обраних штамів грибів здійснювати деградацію активних фармацевтичних інгредієнтів: диклофенаку та напроксену. Рівень біодеградації напроксену становив від 78,1 (*L. officinalis* 5004) до 97,1% (*F. pinicola* 361). Основними метаболітами були деметилнапроксен та гідроксинапроксен. Рівень біодеградації диклофенаку становив від 55,6 (*S. commune* 1769) до 92,3% (*P. ostreatus*

297). Основними шляхами біотрансформації диклофенаку міцелієм більшості штамів були гідроксилування та внутрішньомолекулярна циклізація.

7. Здійснено комплексне дослідження біотрансформації адамантану міцелієм дев'яти штамів базидієвих грибів. Продемонстровано, що штами *F. pinicola* 361, *G. sichuanense* 1848, 2566, *L. officinalis* 2497, 2498, 5004 та *P. ostreatus* 297 здатні до гідроксилування каркасної структури адамантану з утворенням адамантанолу. Одержані результати розширили перелік видів базидієвих грибів, здатних до біотрансформації адамантану. Встановлено, що адамантанол наявний вже через 24 години після внесення адамантану, а найвищий показник конверсії (11,1%) виявлений для міцелію штаму *L. officinalis* 2498 на четверту добу культивування після внесення сполуки.
8. Уперше встановлено, що основним шляхом біотрансформації досліджених ксенобіотиків міцелієм вказаних штамів грибів було гідроксилування. У ряді випадків фіксували метаболіти, що є продуктами деметилування та N-окиснення. Зазначені шляхи біотрансформації характеризувалися утворенням метаболітів із меншим значенням ліпофільності порівняно з вихідними речовинами, що відкриває перспективи застосування цих культур як специфічних біокаталізаторів у органічному синтезі. Отже, встановлено ефективність використання міцелію дев'яти досліджених штамів у біотрансформації біологічно активних речовин різної хімічної будови, що демонструє перспективність використання міцелію обраних штамів для «зеленої хімії».

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бухало, А. С., Дзигун, Л. П., & Ліновицька, В. М. (2013). Виділення вищих базидіоміцетів, перспективних продуцентів біологічно активних речовин, у чисту культуру і їх довготривале зберігання. *Наукові вісті Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут»*, 3, 12–17.
2. Соломко, Е. Ф., Ломберг, М. Л., Митропольська, Н. Ю., & Чоловська, О. В. (2000). Ріст окремих видів лікарських макроміцетів на поживних середовищах різного складу. *Український ботанічний журнал*, 57, 119–126.
3. Agnew-Francis, K. A., & Williams, C. M. (2016). Catalysts containing the adamantane scaffold. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 358(5), 675–700. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500949>
4. Agrawal, N., Verma, P., & Shahi, S. K. (2018). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (phenanthrene and pyrene) by the ligninolytic fungi *Ganoderma lucidum* isolated from the hardwood stump. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0197-5>
5. Akerman-Sanchez, G., & Rojas-Jimenez, K. (2021). Fungi for the bioremediation of pharmaceutical-derived pollutants: A bioengineering approach to water treatment. *Environmental Advances*, 4, 100071. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100071>
6. Akhtar, N., & Mannan, M. A. (2020). Mycoremediation: expunging environmental pollutants. *Biotechnology Reports*, 26, e00452. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00452>
7. Akpasi, S. O., Anekwe, I. M. S., Tetteh, E. K., Amune, U. O., Shoyiga, H. O., Mahlangu, T. P., & Kiambi, S. L. (2023). Mycoremediation as a potentially promising technology: current status and prospects—A review. *Applied Sciences*, 13(8), 4978. <https://doi.org/10.3390/app13084978>
8. Akrouf, I., Staita, K., Zouari-Mechichi, H., Ghariani, B., Khmaissa, M., Navarro, D., Doan, A., Albert, Q., Faulds, C., Sciara, G., Record, E., & Mechichi, T. (2024).

- Valorizing fungal diversity for the degradation of fluoroquinolones. *Heliyon*, 10(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30611>
9. Aladekoyi, O., Siddiqui, S., Hania, P., Hamza, R., & Gilbride, K. (2024). Accumulation of antibiotics in the environment: Have appropriate measures been taken to protect Canadian human and ecological health? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 280, 116513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116513>
10. Alam, N., Cha, Y. J., Shim, M. J., Lee, T. S., & Lee, U. Y. (2010). Cultural conditions for mycelial growth and molecular phylogenetic relationship in different wild strains of *Schizophyllum commune*. *Mycobiology*, 38(1), 17–25. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.1.017>
11. Alharbi, S. K., Nghiem, L. D., Merwe, J. P. van de, Leusch, F. D. L., Asif, M. B., Hai, F. I., & Price, W. E. (2019). Degradation of diclofenac, trimethoprim, carbamazepine, and sulfamethoxazole by laccase from *Trametes versicolor*: transformation products and toxicity of treated effluent. *Biocatalysis and Biotransformation*. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10242422.2019.1580268>
12. Ali, S. (2018). Fungal biotransformation of synthetic levodopa to stable dopamine in l-ascorbate-mediated aerobic-thermophilic biochemical process. *3 Biotech*, 8(8), 370. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1398-5>
13. Al-Maali, G. (2015). The influence of metal citrates obtained by aquanotechnology on growth of the strains of medical macromycetes *Ganoderma lucidum* 1900 and *Trametes versicolor* 353. *Ukrainian Botanical Journal*, 72(4), 393–397.
14. Almási, É., Sahu, N., Krizsán, K., Bálint, B., Kovács, G. M., Kiss, B., Cseklye, J., Drula, E., Henrissat, B., Nagy, I., Chovatia, M., Adam, C., LaButti, K., Lipzen, A., Riley, R., Grigoriev, I. V., & Nagy, L. G. (2019a). Comparative genomics reveals unique wood-decay strategies and fruiting body development in the Schizophyllaceae. *New Phytologist*, 224(2), 902–915. <https://doi.org/10.1111/nph.16032>

15. Almási, É., Sahu, N., Krizsán, K., Bálint, B., Kovács, G. M., Kiss, B., Cseklye, J., Drula, E., Henrissat, B., Nagy, I., Chovatia, M., Adam, C., LaButti, K., Lipzen, A., Riley, R., Grigoriev, I. V., & Nagy, L. G. (2019b). The genome of *Auriculariopsis ampla* sheds light on fruiting body development and wood-decay of bark-inhabiting fungi. <https://doi.org/10.1101/550103>
16. Al-Omary, F. A. M., Alvarez, N., Al-Rasheed, L. S., Veiga, N., Hassan, H. M., & El-Emam, A. A. (2023). Novel Adamantane-linked isothiourea derivatives as potential chemotherapeutic agents: synthesis, structural insights, and antimicrobial/anti-proliferative profiles. *ACS Omega*, 8(14), 13465–13477. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01469>
17. Amobonye, A., Aruwa, C. E., Aransiola, S., Omame, J., Alabi, T. D., & Lalung, J. (2023). The potential of fungi in the bioremediation of pharmaceutically active compounds: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1207792. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1207792>
18. Aracagök, Y. D., Göker, H., & Cihangir, N. (2017). Biodegradation of micropollutant naproxen with a selected fungal strain and identification of metabolites. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 72(5–6), 173–179. <https://doi.org/10.1515/znc-2016-0162>
19. Aracagök, Y. D., Göker, H., & Cihangir, N. (2018). Biodegradation of diclofenac with fungal strains. *Archives of Environmental Protection*, 44(1). <https://doi.org/10.24425/118181>
20. Areesanan, A., Wasilewicz, A., Nicolay, S., Grienke, U., Zimmermann-Klemd, A. M., Rollinger, J. M., & Gründemann, C. (2025). Evaluation of in vitro pharmacological activities of medicinal mushrooms in the context of dry eye disease. *Frontiers in Pharmacology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1557359>
21. Aref Hasan, H., Mohamad Almomany, A., Hasan, S., & Al-Abdallat, A. M. (2018). Assessment of genetic diversity among *Pleurotus* spp. isolates from Jordan. *Journal of Fungi*, 4(2), 52. <https://doi.org/10.3390/jof4020052>

22. Argese, E., Bettiol, C., Agnoli, F., Zambon, A., Mazzola, M., & Ghirardini, A. V. (2001). Assessment of chloroaniline toxicity by the submitochondrial particle assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(4), 826–832.
23. Arya, D., Kumar, S., & Kumar, S. (2011). Biodegradation dynamics and cell maintenance for the treatment of resorcinol and p-cresol by filamentous fungus *Gliomastix indicus*. *Journal of Hazardous Materials*, 198, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.009>
24. Asakawa, Y., & Noma, Y. (2020). Biotransformation of sesquiterpenoids, ionones, damascones, adamantanes, and aromatic compounds by green algae, fungi, and mammals. *B Handbook of Essential Oils* (3rd ed.). CRC Press.
25. Ashfield, N., Li, J., Bouzas-Monroy, A., & Boxall, A. B. A. (2025). Silent side effects: pharmaceuticals as contaminants of emerging concern. *Annual Review of Environment and Resources*, 50(2025), 273–301. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-111523-101837>
26. Badotti, F., de Oliveira, F. S., Garcia, C. F., Vaz, A. B. M., Fonseca, P. L. C., Nahum, L. A., Oliveira, G., & Góes-Neto, A. (2017). Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). *BMC Microbiology*, 17(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0958-x>
27. Bakratsas, G., Antoniadis, K., Athanasiou, P. E., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2024). Laccase and biomass production via submerged cultivation of *Pleurotus ostreatus* using wine lees. *Biomass*, 4(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/biomass4010001>
28. Bakratsas, G., Tsoumanis, C., Stamatis, H., & Katapodis, P. (2024). Exopolysaccharide production in submerged fermentation of *Pleurotus ostreatus* under red and green light. *Fermentation*, 10(6), 313. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060313>
29. Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S., & Tripathi, M. (2022). Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants:

- a review for a green and sustainable environment. *Toxics*, 10(8), 484. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>
30. Barh, A., Kumari, B., Sharma, S., Annepu, S. K., Kumar, A., Kamal, S., & Sharma, V. P. (2019). Mushroom mycoremediation: Kinetics and mechanism. B *Smart Bioremediation Technologies* (p. 1–22). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00001-9>
31. Becker, D., Rodriguez-Mozaz, S., Insa, S., Schoevaart, R., Barceló, D., de Cazes, M., Belleville, M.-P., Sanchez-Marcano, J., Misovic, A., Oehlmann, J., & Wagner, M. (2017). Removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater by enzymatic treatment with fungal laccases. *Organic Process Research & Development*, 21(4), 480–491. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.6b00361>
32. Beltrán-Flores, E., Torán, J., Caminal, G., Blánquez, P., & Sarrà, M. (2020). The removal of diuron from agricultural wastewaters by *Trametes versicolor* immobilized on pinewood in simple channel reactors. *Science of The Total Environment*, 728, 138414. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138414>
33. Ben Ayed, A., Akrouf, I., Albert, Q., Greff, S., Simmler, C., Armengaud, J., Kielbasa, M., Turbé-Doan, A., Chaduli, D., Navarro, D., Bertrand, E., Faulds, C. B., Chamkha, M., Maalej, A., Zouari-Mechichi, H., Sciara, G., Mechichi, T., & Record, E. (2022). Biotransformation of the fluoroquinolone, levofloxacin, by the white-rot fungus *Coriolopsis gallica*. *Journal of Fungi*, 8(9), 965. <https://doi.org/10.3390/jof8090965>
34. Bertéli, M. B. D., Pinheiro, C. R., Philadelpho, B. O., Otero, D. M., Ribeiro, C. D. F., de Souza, C. O., Ferreira, E. de S., Ruiz, S. P., do Valle, J. S., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2022). Long-term cryopreservation of *Lentinus crinitus* strains by wheat grain technique. *Journal of Microbiological Methods*, 198, 106491. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106491>
35. Bicknell, J., Agarwal, S. A., Petersen, K. J., Loya, J. D., Lutz, N., Sittinger, P. M., Teat, S. J., Settineri, N. S., & Campillo-Alvarado, G. (2024). Engineering lipophilic aggregation of adapalene and adamantane-based cocrystals via Van

- der Waals forces and hydrogen bonding. *Crystal Growth & Design*, 24(12), 5222–5230. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.4c00457>
36. Binder, M., Hibbett, D. S., Larsson, K., Larsson, E., Langer, E., & Langer, G. (2005). The phylogenetic distribution of resupinate forms across the major clades of mushroom-forming fungi (Homobasidiomycetes). *Systematics and Biodiversity*, 3(2), 113–157. <https://doi.org/10.1017/S1477200005001623>
37. Bisko, N., Lomberg, M., Mykchaylova, O., & Mytropolska, N. (2024). *IBK Mushroom Culture Collection*. <https://ukraine.ipt.gbif.no/resource?r=ibk&v=1.8>
38. Bleha, R., Třešnáková, L., Sushytskyi, L., Capek, P., Čopíková, J., Klouček, P., Jablonský, I., & Synytsya, A. (2022). Polysaccharides from basidiocarps of the polypore fungus *Ganoderma resinaceum*: isolation and structure. *Polymers*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/polym14020255>
39. Bodensteiner, P., Binder, M., Moncalvo, J.-M., Agerer, R., & Hibbett, D. (2004). Phylogenetic relationships of cyphelloid homobasidiomycetes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33(2), 501–515. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.06.007>
40. Bondaruk, S. V., & Al-Maali, G. A. (2025). The effect of substrate on cryopreservation of the mycelium of wood decay basidiomycetes. *Chornomorski botanical journal*, 21(4), 330–337. <https://doi.org/10.32999/ksu1990-553X/2025-21-4-2>
41. Bondaruk, S. V., Bulava, S. O., Korzh, R. A., Lesyk, D. S., Polovynko, V. V., Fedyk, A. V., & Al-Maali, G. A. (2025). Biotransformation of 2,6-dichloroaniline and 3,5-dichloroaniline by the mycelium of basidiomycetes. *Ukrainian Botanical Journal*, 82(6), 594–603.
42. Bondaruk, S. V., Korzh, R. A., & Al-Maali, G. A. (2025). Biotransformation of xenobiotics by mycelium of *Laricifomes officinalis* (Polyporales, Basidiomycota). *Ukrainian Botanical Journal*, 82(4), 336–344.

43. Boromenskyi, D. O., & Bisko, N. A. (2020). Influence of cultivation conditions on biomass and endopolysaccharide production by species of the genus *Ganoderma* (Ganodermataceae). *Ukrainian Botanical Journal*, 77(2), 117–124.
44. Borpatragohain, B., Sahoo, S., & Rai, A. (2019). An overview on the impact, interaction and fate of xenobiotic-soil organic matter complexes. *International Journal of Chemical Studies*, 7(3), 4935–4941.
45. Buchicchio, A., Bianco, G., Sofò, A., Masi, S., & Caniani, D. (2016). Biodegradation of carbamazepine and clarithromycin by *Trichoderma harzianum* and *Pleurotus ostreatus* investigated by liquid chromatography – high-resolution tandem mass spectrometry (FTICR MS-IRMPD). *Science of The Total Environment*, 557–558, 733–739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.119>
46. Buratti, S., Rinaldi, F., Calleri, E., Bernardi, M., Oliva, D., Malgaretti, M., De Girolamo, G., Barucco, B., Girometta, C. E., & Savino, E. (2023). *Ganoderma resinaceum* and *Perenniporia fraxinea*: two promising wood decay fungi for pharmaceutical degradation. *Journal of Fungi*, 9(5), 555. <https://doi.org/10.3390/jof9050555>
47. Bustamante, M., Rubilar, O., & Diez, M. C. (2014). Effect of soya lecithin on solubilization and biodegradation of pentachlorophenol by *Anthracoxyllum discolor*. *American Journal of Analytical Chemistry*, 5(1), 28–38. <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.51005>
48. Butterworth, R. F. (2021). Potential for the repurposing of adamantane antivirals for COVID-19. *Drugs in R&D*, 21(3), 267–272. <https://doi.org/10.1007/s40268-021-00351-6>
49. Buzina, W., Lang-Loidolt, D., Braun, H., Freudenschuss, K., & Stammberger, H. (2001). Development of molecular methods for identification of *Schizophyllum commune* from clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(7), 2391–2396. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.7.2391-2396.2001>
50. Cabarroi-Hernández, M., Villalobos-Arámbula, A. R., Mabel Gisela Torres-Torres, null, Decock, C., & Guzmán-Dávalos, L. (2019). The *Ganoderma*

- weberianum-resinaceum lineage: Multilocus phylogenetic analysis and morphology confirm *G. mexicanum* and *G. parvulum* in the Neotropics. *MycKeys*, 59, 95–131. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.59.33182>
51. Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarossa, A., & Zaghini, A. (2023). The use of antibiotics and antimicrobial resistance in veterinary medicine, a complex phenomenon: a narrative review. *Antibiotics*, 12(3), 487. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487>
52. Cao, L., Garcia, S. L., & Wurzbacher, C. (2025). Profiling trace organic chemical biotransformation genes, enzymes and associated bacteria in microbial model communities. *Journal of Hazardous Materials*, 485, 136811. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136811>
53. Cao, Y., Wu, S.-H., & Dai, Y.-C. (2012). Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”. *Fungal Diversity*, 56(1), 49–62. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0178-5>
54. Carreño-Ruiz, S. D., Lázaro, A. a. Á., García, S. C., Hernández, R. G., Chen, J., Navarro, G. K. G., Fajardo, L. V. G., Pérez, N. D. C. J., Cruz, M. T. D. L., Blanco, J. C., & Cappello, R. E. (2019). New record of *Schizophyllum* (Schizophyllaceae) from Mexico and the confirmation of its edibility in the humid tropics. *Phytotaxa*, 413(2), 137–148. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.413.2.3>
55. Carstens, L., Cowan, A. R., Seiwert, B., & Schlosser, D. (2020). Biotransformation of phthalate plasticizers and bisphenol a by marine-derived, freshwater, and terrestrial fungi. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00317>
56. Cartabia, M., Girometta, C. E., Baiguera, R. M., Buratti, S., Babbini, S., Bernicchia, A., & Savino, E. (2022). Lignicolous fungi collected in Northern Italy: identification and morphological description of isolates. *Diversity*, 14(5), 413. <https://doi.org/10.3390/d14050413>
57. Casas, N., Parella, T., Vicent, T., Caminal, G., & Sarrà, M. (2009). Metabolites from the biodegradation of triphenylmethane dyes by *Trametes versicolor* or

- laccase. *Chemosphere*, 75(10), 1344–1349.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.029>
58. Castillo, J. M., Nogales, R., & Romero, E. (2014). Biodegradation of 3,4 dichloroaniline by fungal isolated from the preconditioning phase of winery wastes subjected to vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials*, 267, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.052>
59. Castro-Rios, K., & Bermeo-Escobar, L. P. (2021). Methods for the culture conservation of edible and medicinal fungi: Review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(4), 620–625. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2021.10.4.620-625>
60. Chan Ho Tong, L., Dairou, J., Bui, L.-C., Bouillon, J., Rodrigues-Lima, F., Dupret, J.-M., & Silar, P. (2015). Screen for soil fungi highly resistant to dichloroaniline uncovers mostly *Fusarium* species. *Fungal Genetics and Biology*, 81, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.05.011>
61. Chang, H. C., Holland, R. D., Bumpus, J. A., Churchwell, M. I., & Doerge, D. R. (1999). Inactivation of *Coprinus cinereus* peroxidase by 4-chloroaniline during turnover: comparison with horseradish peroxidase and bovine lactoperoxidase. *Chemico-Biological Interactions*, 123(3), 197–217. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(99\)00136-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(99)00136-2)
62. Chefetz, B., Marom, R., Salton, O., Oliferovsky, M., Mordehay, V., Ben-Ari, J., & Hadar, Y. (2019). Transformation of lamotrigine by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Environmental Pollution*, 250, 546–553. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.057>
63. Chelaliche, A. S., Alvarenga, A. E., Lopez, C. A. M., Zapata, P. D., & Fonseca, M. I. (2021). Proteomic insight on the polychlorinated biphenyl degrading mechanism of *Pleurotus pulmonarius* LBM 105. *Chemosphere*, 265, 129093. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129093>
64. Chen, A., Li, W., Zhang, X., Shang, C., Luo, S., Cao, R., & Jin, D. (2021). Biodegradation and detoxification of neonicotinoid insecticide thiamethoxam by

- white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 126017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126017>
65. Chen, S., Zhu, M., Guo, X., Yang, B., & Zhuo, R. (2023). Coupling of Fenton reaction and white rot fungi for the degradation of organic pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 254, 114697. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114697>
66. Chen, W., Lee, M.-K., Jefcoate, C., Kim, S.-C., Chen, F., & Yu, J.-H. (2014). Fungal cytochrome P450 monooxygenases: their distribution, structure, functions, family expansion, and evolutionary origin. *Genome Biology and Evolution*, 6(7), 1620–1634. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu132>
67. Chenthamara, D., Ramakrishnan, S. G., Khusro, A., Subramaniam, S., Alghamdi, S., Almeahmadi, M., Kabrah, A., Sahibzada, M. U. K., & Eftekhari, A. (2022). Diclofenac biotransformation and toxicity assessment of laccase from *Pleurotus floridanus*. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 67(5), 439–450. <https://doi.org/10.14715/cmb/2021.67.5.56>
68. Cheute, V. M. S., Uber, T. M., dos Santos, L. F. O., Backes, E., Dantas, M. P., Contato, A. G., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Corrêa, R. C. G., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2024). Biotransformation of pollutants by *Pycnoporus* spp. in submerged and solid-state fermentation: mechanisms, achievements, and perspectives. *Biomass*, 4(2), 313–328. <https://doi.org/10.3390/biomass4020015>
69. Choi, K., Joo, H., Rose, R. L., & Hodgso, E. (2006). Metabolism of chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon by human hepatocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 20(6), 279–291. <https://doi.org/10.1002/jbt.20145>
70. Choi, Y., Nguyen, H. T. K., Lee, T. S., Kim, J. K., & Choi, J. (2020). Genetic diversity and dye-decolorizing spectrum of *Schizophyllum commune* population. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(10), 1525–1535. <https://doi.org/10.4014/jmb.2006.06049>
71. Choudhuri, K., Zhang, Z., & Loh, T.-P. (2024).  $\beta$ -Silyl alkynoates: versatile reagents for biocompatible and selective amide bond formation. *Science Advances*, 10(38), eadp7544. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adp7544>

72. Chowdhary, A., Kathuria, S., Singh, P. K., Agarwal, K., Gaur, S. N., Roy, P., Randhawa, H. S., & Meis, J. F. (2013). Molecular characterization and in vitro antifungal susceptibility profile of *Schizophyllum commune*, an emerging basidiomycete in bronchopulmonary mycoses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(6), 2845–2848. <https://doi.org/10.1128/AAC.02619-12>
73. Chu, Y., Zhang, C., Wang, R., Chen, X., Ren, N., & Ho, S.-H. (2022). Biotransformation of sulfamethoxazole by microalgae: Removal efficiency, pathways, and mechanisms. *Water Research*, 221, 118834. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118834>
74. Coccagn, A., Bui, L.-C., Silar, P., Chan Ho Tong, L., Busi, F., Lamouri, A., Mougín, C., Rodrigues-Lima, F., Dupret, J.-M., & Dairou, J. (2013). Biotransformation of *Trichoderma* spp. and their tolerance to aromatic amines, a major class of pollutants. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(15), 4719–4726. <https://doi.org/10.1128/AEM.00989-13>
75. Coelho-Moreira, J. da S., Bracht, A., Souza, A. C. da S. de, Oliveira, R. F., Sá-Nakanishi, A. B. de, Souza, C. G. M. de, & Peralta, R. M. (2013). Degradation of diuron by *Phanerochaete chrysosporium*: role of ligninolytic enzymes and cytochrome P450. *BioMed Research International*, 2013(1), 251354. <https://doi.org/10.1155/2013/251354>
76. Coelho-Moreira, J. da S., Brugnari, T., Sá-Nakanishi, A. B., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2018). Evaluation of diuron tolerance and biotransformation by the white-rot fungus *Ganoderma lucidum*. *Fungal Biology*, 122(6), 471–478. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.10.008>
77. Conesa, A., Punt, P. J., & van den Hondel, C. A. M. J. J. (2002). Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *Journal of Biotechnology*, 93(2), 143–158. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00394-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00394-7)
78. Crawford, R. (2011). Biodegradation: principles, scope, and technologies. *Comprehensive Biotechnology. Second Edition*, 3–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00368-8>

79. Cruz-Morató, C., Jelić, A., Perez, S., Petrović, M., Barceló, D., Marco-Urrea, E., Sarrà, M., & Vicent, T. (2013). Continuous treatment of clofibric acid by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor: Identification of transformation products and toxicity assessment. *Biochemical Engineering Journal*, 75, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.020>
80. Cruz-Ornelas, R., Sánchez-Vázquez, J. E., Amaya-Delgado, L., Guillén-Navarro, K., & Calixto-Romo, A. (2019). Biodegradation of NSAIDs and their effect on the activity of ligninolytic enzymes from *Pleurotus djamor*. *3 Biotech*, 9(10), 373. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1904-4>
81. Čvančarová, M., Moeder, M., Filipová, A., Reemtsma, T., & Cajthaml, T. (2013). Biotransformation of the antibiotic agent flumequine by ligninolytic fungi and residual antibacterial activity of the transformation mixtures. *Environmental Science & Technology*, 47(24), 14128–14136. <https://doi.org/10.1021/es403470s>
82. Daâssi, D., Bouassida, M., Almaghrabi, F., Chamkha, M., Daâssi, D., Bouassida, M., Almaghrabi, F., & Chamkha, M. (2025). Mycoremediation: an innovative and sustainable approach. *B Bioremediation for Environmental Sustainability*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1009012>
83. Dallinger, A., Duldhardt, I., Kabisch, J., Schlüter, R., & Schauer, F. (2016). Biotransformation of cyclohexane and related alicyclic hydrocarbons by *Candida maltosa* and *Trichosporon* species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.015>
84. D'Annibale, A., Ricci, M., Leonardi, V., Quarantino, D., Mincione, E., & Petruccioli, M. (2005). Degradation of aromatic hydrocarbons by white-rot fungi in a historically contaminated soil. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(6), 723–731. <https://doi.org/10.1002/bit.20461>
85. Dave, V., Khirwadkar, P., & Dashora, K. (2014). A review on biotransformation. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2.
86. Debnath, S., Hore, S., Das, P., & Saha, A. K. (2022). The evaluation of selected bioactivities of fungal mycelium of a wild *Schizophyllum commune* Fr. from

- submerged cultures. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(2), e3250–e3250. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3250>
87. Del Álamo, A. C., Pariente, M. I., Molina, R., & Martínez, F. (2022). Advanced bio-oxidation of fungal mixed cultures immobilized on rotating biological contactors for the removal of pharmaceutical micropollutants in a real hospital wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 425, 128002. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128002>
88. Deng, W., Zhao, W., & Yang, Y. (2022). Degradation and detoxification of chlorophenols with different structure by lac-4 laccase purified from white-rot fungus *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13), 8150. <https://doi.org/10.3390/ijerph19138150>
89. Dhiman, N., Chaudhary, S., Singh, A., Chauhan, A., & Kumar, R. (2022). Sustainable degradation of pharmaceutical waste using different fungal strains: enzyme induction, kinetics and isotherm studies. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 102156. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102156>
90. Dinakarkumar, Y., Ramakrishnan, G., Gujjula, K. R., Vasu, V., Balamurugan, P., & Murali, G. (2024). Fungal bioremediation: an overview of the mechanisms, applications and future perspectives. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 6, 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2024.07.002>
91. Domaradzka, D., Guzik, U., & Wojcieszynska, D. (2015). Biodegradation and biotransformation of polycyclic non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14(2), 229–239. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9364-8>
92. Dong, Y., Yao, X., Zhang, W., & Wu, X. (2023). Development of simultaneous determination method of pesticide high toxic metabolite 3,4-dichloroaniline and 3,5 dichloroaniline in chives using HPLC-MS/MS. *Foods*, 12(15), 2875. <https://doi.org/10.3390/foods12152875>
93. Dresch, P., D'Aguzzo, M. N., Rosam, K., Grienke, U., Rollinger, J. M., & Peintner, U. (2015). Fungal strain matters: colony growth and bioactivity of the European medicinal polypores *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola* and

- Piptoporus betulinus*. *AMB Express*, 5(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0093-0>
94. Duarte, C., Di Lorenzo, T., & Reboleira, A. S. P. S. (2024). Environmental risk of diclofenac in European groundwaters and implications for environmental quality standards. *Scientific Reports*, 14(1), 20689. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71747-y>
95. Duffus, J. (1993). Glossary for chemists of terms used in toxicology (IUPAC Recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry*, 65(9), 2003–2122. <https://doi.org/10.1351/pac199365092003>
96. Eichlerová, I., Homolka, L., Tomšovský, M., & Lisá, L. (2015). Long term storage of *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* isolates using different cryopreservation techniques and its impact on laccase activity. *Fungal Biology*, 119(12), 1345–1353. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.10.004>
97. El-Aasr, M., Eliwa, D., Albadry, M., Ibrahim, A.-R. S., Kabbash, A., Meepagala, K. M., Khan, I. A., Khan, S. I., & Ross, S. A. (2021). Microbial transformation of some simple isoquinoline and benzyloisoquinoline alkaloids and *in vitro* studies of their metabolites. *Phytochemistry*, 189, 112828. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112828>
98. El-Ghamry, H. A., Gaber, M., Napolion, M. S., Atta, A., Mohamed, T. M., & El-Wakiel, N. A. (2025). Synthesis, characterization and theoretical studies of nitroxoline azo dye metal complexes and their role in mitigation of rheumatoid arthritis. *Scientific Reports*, 15(1), 20213. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-06518-4>
99. Elkhateeb, W. A., Daba, G. M., Elnahas, M. O., & Thomas, P. W. (2020). *Fomitopsis officinalis* mushroom: ancient gold mine of functional components and biological activities for modern medicine. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(4), 285–289. [https://doi.org/10.4103/epj.epj\\_46\\_19](https://doi.org/10.4103/epj.epj_46_19)
100. Emtiazi, G., Satarii, M., & Mazaherion, F. (2001). The utilization of aniline, chlorinated aniline, and aniline blue as the only source of nitrogen by fungi in

- water. *Water Research*, 35(5), 1219–1224. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00370-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00370-5)
101. Feng, L., Wang, L., Lei, Y., Li, J., & Zhao, F. (2025). Molecular Mechanism during mycelium subculture degeneration of *Volvariella volvacea*. *Journal of Fungi*, 11(1), 7. <https://doi.org/10.3390/jof11010007>
102. Feng, M., Zhou, J., Yu, X., Wang, H., Guo, Y., & Mao, W. (2021). Bioremediation of triphenyl phosphate by *Pycnoporus sanguineus*: metabolic pathway, proteomic mechanism and biotoxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 125983. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125983>
103. Ferrando-Climent, L., Cruz-Morató, C., Marco-Urrea, E., Vicent, T., Sarrà, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2015). Non conventional biological treatment based on *Trametes versicolor* for the elimination of recalcitrant anticancer drugs in hospital wastewater. *Chemosphere*, 136, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.051>
104. Fijałkowska, A., Krakowska, A., Lazur, J., Włodarczyk, A., Zięba, P., Suchanek, M., Sulkowska-Ziaja, K., & Muszyńska, B. (2021). Fortified mycelium of *Fomitopsis officinalis* (Agaricomycetes) as a source of biologically active substances effective in the prevention of civilization diseases. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 23(9), 29–44. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021039778>
105. Fijałkowska, A., Muszyńska, B., Sułkowska-Ziaja, K., Kała, K., Pawlik, A., Stefaniuk, D., Matuszewska, A., Piska, K., Pękala, E., Kaczmarczyk, P., Piętka, J., & Jaszek, M. (2020). Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases. *Scientific Reports*, 10(1), 20081. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76899-1>
106. Flores, G. A., Cusumano, G., Ianni, F., Blasi, F., Angelini, P., Cossignani, L., Pellegrino, R. M., Emiliani, C., Venanzoni, R., Zengin, G., Acquaviva, A., Di Simone, S. C., Libero, M. L., Nilofar, Orlando, G., Menghini, L., & Ferrante, C. (2023). *Fomitopsis officinalis*: spatial (pileus and hymenophore) metabolomic

- variations affect functional components and biological activities. *Antibiotics*, 12(4), 766. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040766>
107. Flores, G. A., Girometta, C. E., Cusumano, G., Pellegrino, R. M., Silviani, S., Bistocchi, G., Arcangeli, A., Ianni, F., Blasi, F., Cossignani, L., Rubini, A., Tirillini, B., Emiliani, C., Menghini, L., Ferrante, C., Venanzoni, R., & Angelini, P. (2023). Diversity of *Pleurotus* spp. (Agaricomycetes) and their metabolites of nutraceutical and therapeutic importance. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 25(6). <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2023048295>
108. Flórez-Restrepo, M. A., López-Legarda, X., Rostro-Alanis, M. de J., Parra-Saldívar, R., & Segura-Sánchez, F. (2025). Biotransformation of acetaminophen by *Ganoderma parvulum* ligninolytic enzymes immobilized on chitosan microspheres. *Fermentation*, 11(7), 387. <https://doi.org/10.3390/fermentation11070387>
109. Fonken, G. S., Herr, M. E., Murray, H. C., & Reineke, L. M. (1968). Microbiological oxygenation of alicyclic amides. *The Journal of Organic Chemistry*, 33(8), 3182–3187. <https://doi.org/10.1021/jo01272a034>
110. Frascaroli, G., Hunter, C., Roberts, J., & Escudero, A. (2024). Antibiotic removal by three promising microalgae strains: biotic, abiotic routes, and response mechanisms. *Water, Air, & Soil Pollution*, 235(9), 600. <https://doi.org/10.1007/s11270-024-07385-x>
111. Gałazka, A., Jankiewicz, U., & Orzechowski, S. (2025). The role of ligninolytic enzymes in sustainable agriculture: applications and challenges. *Agronomy*, 15(2), 451. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020451>
112. Galvão, T. C., Mohn, W. W., & de Lorenzo, V. (2005). Exploring the microbial biodegradation and biotransformation gene pool. *Trends in Biotechnology*, 23(10), 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.08.002>
113. Gao, Y., Feng, Y., Chang, Y., Zhu, Z., Zhao, H., Xu, W., Zhao, M., Xiao, Y., Tian, L., & Xiu, Y. (2024). Biotransformation of ginsenoside rb1 to ginsenoside rd and 7 rare ginsenosides using *Irpex lacteus* with HPLC-HRMS/MS

- identification. *ACS Omega*, 9(21), 22744–22753.  
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00837>
114. Ghariani, B., Zouari-Mechichi, H., Alessa, A. H., Alqahtani, H., Alsaigh, A. A., & Mechichi, T. (2025). Biotransformation of antibiotics by *coriolopsis gallica*: degradation of compounds does not always eliminate their toxicity. *Antibiotics*, 14(9), 897. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14090897>
115. Girometta, C. E., Rovelli, L., Bracco, F., Brescia, F., Baiguera, R. M., Chiatante, G., Picco, A. M., & Savino, E. (2021). The Medicinal Wood-Decay Species *Laricifomes officinalis* in the Alpe Veglia–Alpe Devero Natural Park (Italian Alps): Spatial Analysis and Growth Tests of Pure Cultures. *Acta Mycologica*, 56. <https://doi.org/10.5586/am.569>
116. Golan-Rozen, N., Seiwert, B., Riemenschneider, C., Reemtsma, T., Chefetz, B., & Hadar, Y. (2015). Transformation pathways of the recalcitrant pharmaceutical compound carbamazepine by the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*: effects of growth conditions. *Environmental Science & Technology*, 49(20), 12351–12362. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02222>
117. Grabarczyk, M., Mączka, W., Wińska, K., Kondas, A., Żarowska, B., Maciejewska, G., Gębarowska, E., & Pietr, S. J. (2019). *Pleurotus ostreatus* as a biocatalyst to obtain bicyclic hydroxylactones with three or four methyl groups. *Catalysts*, 9(8), 643. <https://doi.org/10.3390/catal9080643>
118. Guglielmo, F., Bergemann, S. E., Gonthier, P., Nicolotti, G., & Garbelotto, M. (2007). A multiplex PCR-based method for the detection and early identification of wood rotting fungi in standing trees. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1490–1507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03378.x>
119. Guillén-Navarro, G. K., Márquez-Rocha, F. J., & Sanchez-Vázquez, J. E. (1998). Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Revista Iberoamericana De Micología*, 15(4), 302–306.
120. Hadibarata, T., Kristanti, R. A., & Hamdzah, M. (2014). Biosorption and biotransformation of fluoranthene by the white-rot fungus *Pleurotus eryngii*

- F032. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 61(2), 126–133.  
<https://doi.org/10.1002/bab.1155>
121. Haight, J.-E., Nakasone, K. K., Laursen, G. A., Redhead, S. A., Taylor, D. L., & Glaeser, J. A. (2019). *Fomitopsis mounceae* and *F. schrenkii*—two new species from North America in the *F. pinicola* complex. *Mycologia*, 111(2), 339–357.  
<https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1564449>
122. Hamza, A., Shankar, M. P., Chowdary, U. S., Ghanekar, S., Sahoo, S., Krishnaiah, C. V., & Kumar, D. S. (2024). Submerged production of mycelium biomass and bioactive compounds from *P. ostreatus* in a controlled fermentation medium. *Food and Humanity*, 2, 100302. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100302>
123. Han, M. L., Vlasák, J., & Cui, B. K. (2015). *Daedalea americana* sp. Nov. (Polyporales, Basidiomycota) evidenced by morphological characters and phylogenetic analysis. *Phytotaxa*, 204(4), 277–286.  
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.204.4.4>
124. Han, M.-L., Chen, Y.-Y., Shen, L.-L., Song, J., Vlasák, J., Dai, Y.-C., & Cui, B.-K. (2016). Taxonomy and phylogeny of the brown-rot fungi: *Fomitopsis* and its related genera. *Fungal Diversity*, 80(1), 343–373.  
<https://doi.org/10.1007/s13225-016-0364-y>
125. Han, M.-L., Song, J., & Cui, B.-K. (2014). Morphology and molecular phylogeny for two new species of *Fomitopsis* (Basidiomycota) from South China. *Mycological Progress*, 13(3), 905–914. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-0976-0>
126. Harper, R., & Moody, S. C. (2023). Filamentous Fungi are potential bioremediation agents of semi-synthetic textile waste. *Journal of Fungi*, 9(6), 661. <https://doi.org/10.3390/jof9060661>
127. Hata, T., Kawai, S., Okamura, H., & Nishida, T. (2010). Removal of diclofenac and mefenamic acid by the white rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 and identification of their metabolites after fungal transformation. *Biodegradation*, 21(5), 681–689. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9334-3>

128. He, J., Han, X., Luo, Z.-L., Li, E.-X., Tang, S.-M., Luo, H.-M., Niu, K.-Y., Su, X., & Li, S.-H. (2022). Species diversity of *Ganoderma* (Ganodermataceae, Polyporales) with three new species and a key to *Ganoderma* in Yunnan Province, China. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1035434>
129. He, X.-L., Li, Q., Peng, W.-H., Zhou, J., Cao, X.-L., Wang, D., Huang, Z.-Q., Tan, W., Li, Y., & Gan, B.-C. (2017). Intra- and inter-isolate variation of ribosomal and protein-coding genes in *Pleurotus*: Implications for molecular identification and phylogeny on fungal groups. *BMC Microbiology*, 17, 139. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1046-y>
130. Hegazy, M.-E. F., Mohamed, T. A., ElShamy, A. I., Mohamed, A.-E.-H. H., Mahalel, U. A., Reda, E. H., Shaheen, A. M., Tawfik, W. A., Shahat, A. A., Shams, K. A., Abdel-Azim, N. S., & Hammouda, F. M. (2015). Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(1), 17–33. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2014.11.009>
131. Hera, D., Cooper, J., Buchanan, P. K., Dhimi, M. K., & Dickie, I. A. (2025). Multi-gene phylogeny and morphology of *Pleurotus* in Aotearoa New Zealand reveal a new variety of *Pleurotus pulmonarius*. *Fungal Biology*, 130(3): 101747. <https://doi.org/10.1101/2025.04.29.651148>
132. Hernik, D., Szczepańska, E., Brenna, E., Patejuk, K., Olejniczak, T., Strzała, T., & Boratyński, F. (2023). *Trametes hirsuta* as an attractive biocatalyst for the preparative scale biotransformation of isosafrole into piperonal. *Molecules*, 28(8), 3643. <https://doi.org/10.3390/molecules28083643>
133. Hkiri, N., Olicón-Hernández, D. R., Pozo, C., Chouchani, C., Asses, N., & Aranda, E. (2023). Simultaneous Heavy metal-polycyclic aromatic hydrocarbon removal by native tunisian fungal species. *Journal of Fungi*, 9(3), 299. <https://doi.org/10.3390/jof9030299>

134. Hodgson, E. (2010). Introduction to Biotransformation (Metabolism). B Hayes' *Handbook of Pesticide Toxicology* (p. 865–875). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00036-7>
135. Hoenigl, M., Aspeck, E., Valentin, T., Heiling, B., Seeber, K., Krause, R., Stammberger, H., Beham, A., & Buzina, W. (2013). Sinusitis and frontal brain abscess in a diabetic patient caused by the basidiomycete *Schizophyllum commune*: case report and review of the literature. *Mycoses*, 56(3), 389–393. <https://doi.org/10.1111/myc.12040>
136. Horincar V.-B., Popa A.-M., Parfene G., & Bahrim G. (2015). Evaluation of some biotechnological parameters influencing the *Pleurotus ostreatus* biomass production by submerged cultivation. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI: Food Technology*, 39(2), 55–63.
137. Hoyos, L. V., Chaves, A., Grandezz, D., Medina, A., Correa, J., Ramirez-Castrillon, M., Valencia, D., & Caicedo-Ortega, N. H. (2023). Systematic screening strategy for fungal laccase activity of endophytes from *Otoba gracilipes* with bioremediation potential. *Fungal Biology*, 127(9), 1298–1311. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.08.003>
138. Hu, H., Barbieri, M., López-García, E., Postigo, C., López de Alda, M., Caminal, G., & Sarrà, M. (2022). Fungal degradation of selected medium to highly polar pesticides by *Trametes versicolor*: kinetics, biodegradation pathways, and ecotoxicity of treated waters. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414(1). <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03267-x>
139. Hwang, C. H., Jaki, B. U., Klein, L. L., Lankin, D. C., McAlpine, J. B., Napolitano, J. G., Fryling, N. A., Franzblau, S. G., Cho, S. H., Stamets, P. E., Wang, Y., & Pauli, G. F. (2013). Chlorinated coumarins from the polypore mushroom *Fomitopsis officinalis* and their activity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Natural Products*, 76(10), 1916–1922. <https://doi.org/10.1021/np400497f>
140. Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Abeywickrama, P. D., Aluthmuhandiram, J. V. S., Brahamanage, R. S., Brooks,

- S., Chaiyasen, A., Chethana, K. W. T., Chomnunti, P., Chepkirui, C., Chuankid, B., de Silva, N. I., Doilom, M., Faulds, C., Gentekaki, E., ... Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97(1), 1–136. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>
141. Ichinose, H. (2013). Cytochrome P450 of wood-rotting basidiomycetes and biotechnological applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 60(1), 71–81. <https://doi.org/10.1002/bab.1061>
142. Ide, M., Ichinose, H., & Wariishi, H. (2012). Molecular identification and functional characterization of cytochrome P450 monooxygenases from the brown-rot basidiomycete *Postia placenta*. *Archives of Microbiology*, 194(4), 243–253. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0753-2>
143. Ilyas, M., & Soeka, Y. S. (2019). Accelerated rate storage and viability test of Basidiomycetous fungal strains were cryopreserved at—80° C. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 308(1), 012069. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/308/1/012069>
144. Imami, A., Herold, N., Spielmeier, A., Hausmann, H., Dötzer, R., Behnken, H. N., Leonhardt, S., Weil, A., Schoof, S., & Zorn, H. (2016). Biotransformation of Dimethenamid-P by the basidiomycete *Irpex consors*. *Chemosphere*, 165, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.011>
145. Imami, A., Riemer, S., Schulze, M., Amelung, F., Gorshkov, V., Rühl, M., Ammenn, J., & Zorn, H. (2015). Depolymerization of lignosulfonates by submerged cultures of the basidiomycete *Irpex consors* and cloning of a putative versatile peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology*, 81, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.07.007>
146. Isibor, J. I. (2024). Synthesis of dyes and the textile industry. B *Dye Chemistry—Exploring Colour From Nature to Lab*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005497>
147. Iyanagi, T. (2007). Molecular mechanism of phase i and phase ii drug-metabolizing enzymes: implications for detoxification. B *International Review*

- of Cytology* 260, 35–112. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(06\)60002-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(06)60002-8)
148. Jakovljević, V. D., & Vrvić, M. M. (2017). The potential application of selected fungi strains in removal of commercial detergents and biotechnology. B *Application and Characterization of Surfactants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68184>
149. Jancova, P., Anzenbacher, P., & Anzenbacherova, E. (2010). Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 154(2), 103–116. <https://doi.org/10.5507/bp.2010.017>
150. Jargalmaa, S., Eimes, J. A., Park, M. S., Park, J. Y., Oh, S.-Y., & Lim, Y. W. (2017). Taxonomic evaluation of selected *Ganoderma* species and database sequence validation. *PeerJ*, 5, e3596. <https://doi.org/10.7717/peerj.3596>
151. Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3–4), 90–100. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>
152. Jeschke, P. (2022). Manufacturing Approaches of New Halogenated Agrochemicals. *European Journal of Organic Chemistry*, 2022(12), e202101513. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202101513>
153. Jong, S.-C., & Birmingham, J. M. (2001). Cultivation and Preservation of Fungi in Culture. B D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, & P. A. Lemke (Ред.), *Systematics and Evolution* (p. 193–202). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-10189-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-662-10189-6_7)
154. Joshi, M., Patel, H., Gupte, S., & Gupte, A. (2013). Nutrient improvement for simultaneous production of exopolysaccharide and mycelial biomass by submerged cultivation of *Schizophyllum commune* AGMJ-1 using statistical optimization. *3 Biotech*, 3(4), 307–318. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0103-3>

155. Jureczko, M., Krawczyk, T., López de Alda, M., Garcia-Vara, M., Banach-Wiśniewska, A., & Przysaś, W. (2024). Removal of the cytostatic drugs bleomycin and vincristine by white-rot fungi under various conditions, and determination of enzymes involved, degradation by-products, and toxicity. *Science of The Total Environment*, 954, 176420. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176420>
156. Jureczko, M., & Przysaś, W. (2021). Removal of two cytostatic drugs: Bleomycin and vincristine by white-rot fungi – a sorption study. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(1), 651–662. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00635-8>
157. Kasonga, T. K., Coetzee, M. A. A., Kamika, I., & Momba, M. N. B. (2021). Assessing the fungal simultaneous removal efficiency of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen in aquatic environment. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.755972>
158. Kathiravan, A., & Joel Gnanadoss, J. (2021). White-rot fungi-mediated bioremediation as a sustainable method for xenobiotic degradation. *Environmental and Experimental Biology*, 19(3), 103–119. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.11>
159. Kaur, M., Chadha, P., Kaur, S., Kaur, A., Kaur, R., Yadav, A. K., & Kaur, R. (2018). *Schizophyllum commune* induced genotoxic and cytotoxic effects in *Spodoptera litura*. *Scientific Reports*, 8(1), 4693. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22919-0>
160. Kauserud, H. (2023). ITS alchemy: On the use of ITS as a DNA marker in fungal ecology. *Fungal Ecology*, 65, 101274. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2023.101274>
161. Khajehzadeh, M., Ghobad-Nejhad, M., Moghimi, H., Abolhasani Soorki, A., Dai, Y.-C., & Si, J. (2024). Degradation of high concentrations of anthracene using white-rot wood-inhabiting fungi and investigation of enzyme activities. *Mycobiology*, 52(5), 298–305. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2409485>

162. Khan, M. F., Hof, C., Niemcová, P., & Murphy, C. D. (2023). Recent advances in fungal xenobiotic metabolism: Enzymes and applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 39(11), 296. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03737-7>
163. Klenk, J. M., Kontny, L. H., Escobedo-Hinojosa, W., Nebel, B. A., & Hauer, B. (2019). Oxyfunctionalization of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by filamentous-fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 724–738. <https://doi.org/10.1111/jam.14342>
164. Komorowicz, M., Janiszewska-Latterini, D., Przybylska-Balcerek, A., & Stuper-Szablewska, K. (2023). Fungal biotransformation of hazardous organic compounds in wood waste. *Molecules*, 28(12), 4823. <https://doi.org/10.3390/molecules28124823>
165. Kopaczyk, J. M., Warguła, J., & Jelonek, T. (2020). The variability of terpenes in conifers under developmental and environmental stimuli. *Environmental and Experimental Botany*, 180, 104197. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104197>
166. Kowalczyk, J. E., Peng, M., Pawlowski, M., Lipzen, A., Ng, V., Singan, V., Wang, M., Grigoriev, I. V., & Mäkelä, M. R. (2019). The white-rot basidiomycete *dichomitus squalens* shows highly specific transcriptional response to lignocellulose-related aromatic compounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00229>
167. Kozarski, M., Klaus, A., Špirović-Trifunović, B., Miletić, S., Lazić, V., Žižak, Ž., & Vunduk, J. (2024). Bioprospecting of Selected species of polypore fungi from the western balkans. *Molecules*, 29(2). <https://doi.org/10.3390/molecules29020314>
168. Kózka, B., Nałęcz-Jawecki, G., Turło, J., & Giebułtowicz, J. (2020). Application of *Pleurotus ostreatus* to efficient removal of selected antidepressants and immunosuppressant. *Journal of Environmental Management*, 273, 111131. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111131>

169. Kremer, S., & Sterner, O. (1996). Metabolism of 3,4-dichloroaniline by the basidiomycete *Filoboletus* species TA9054. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1155–1159. <https://doi.org/10.1021/jf950539u>
170. Krupodorova, T., Barshteyn, V., Dzhagan, V., Pluzhnyk, A., Zaichenko, T., & Blume, Y. (2024). Enhancement of antioxidant activity and total phenolic content of *Fomitopsis pinicola* mycelium extract. *Fungal Biology and Biotechnology*, 11(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s40694-024-00187-0>
171. Krupodorova, T., Barshteyn, V., Tsygankova, V., Sevindik, M., & Blume, Y. (2024). Strain-specific features of *Pleurotus ostreatus* growth in vitro and some of its biological activities. *BMC Biotechnology*, 24(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00834-9>
172. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12), msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
173. Lage, S., Kudahettige, N. P., Ferro, L., Matsakas, L., Funk, C., Rova, U., & Gentili, F. G. (2019). Microalgae cultivation for the biotransformation of birch wood hydrolysate and dairy effluent. *Catalysts*, 9(2), 150. <https://doi.org/10.3390/catal9020150>
174. Lee, H., Yun, S. Y., Jang, S., Kim, G.-H., & Kim, J.-J. (2015). Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Creosote-Contaminated soil by *Peniophora incarnata* KUC8836. *Bioremediation Journal*, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1080/10889868.2014.939136>
175. Lee, S.-Y., Kim, S.-H., Hong, C.-Y., Kim, H.-Y., Ryu, S.-H., & Choi, I.-G. (2015). Biotransformation of (-)- $\alpha$ -pinene by whole cells of white rot fungi, *Ceriporia* sp. ZLY-2010 and *Stereum hirsutum*. *Mycobiology*, 43(3), 297–302. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.3.297>
176. Lehman, L. R., & Stewart, J. D. (2001). Filamentous fungi potentially useful catalysts for the biohydroxylations of non-activated carbon centers. *Current Organic Chemistry*, 5(4), 439–470. <https://doi.org/10.2174/1385272013375490>

177. Li, H.-J., Han, M.-L., & Cui, B.-K. (2013). Two new *Fomitopsis* species from southern China based on morphological and molecular characters. *Mycological Progress*, 12(4), 709–718. <https://doi.org/10.1007/s11557-012-0882-2>
178. Li, J., Han, L.-H., Liu, X.-B., Zhao, Z.-W., & Yang, Z. L. (2020). The saprotrophic *Pleurotus ostreatus* species complex: Late Eocene origin in East Asia, multiple dispersal, and complex speciation. *IMA Fungus*, 11, 10. <https://doi.org/10.1186/s43008-020-00031-1>
179. Li, J., He, X., Liu, X.-B., Yang, Z. L., & Zhao, Z.-W. (2017). Species clarification of oyster mushrooms in China and their DNA barcoding. *Mycological Progress*, 16(3), 191–203. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1266-9>
180. Li, X., Shen, X., Jiang, W., Xi, Y., & Li, S. (2024). Comprehensive review of emerging contaminants: detection technologies, environmental impact, and management strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 278, 116420. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116420>
181. Liakh, I., Harshkova, D., Hrouzek, P., Bišová, K., Aksmann, A., & Wielgomas, B. (2023). Green alga *Chlamydomonas reinhardtii* can effectively remove diclofenac from the water environment – A new perspective on biotransformation. *Journal of Hazardous Materials*, 455, 131570. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131570>
182. Liang, Q., Wei, L., Chen, Y., Xu, B., & Zhang, N. (2024). Morphological and molecular identification of *Schizophyllum commune* causing storage bulb rot disease of Lanzhou edible lily in China and its biological characteristics. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1489999>
183. Liao, Q., Jiang, L., Li, C., Shen, Y., Wang, M., Cao, C., & Hu, X. (2019). An efficient and practical method for the synthesis of saxagliptin intermediate 2-(3-hydroxy-1-adamantane)-2-oxoacetic acid and its optimization. *Journal of Chemistry*, 2019(1), 5375670. <https://doi.org/10.1155/2019/5375670>
184. Linde, G. A., Luciani, A., Lopes, A. D., Valle, J. S. do, & Colauto, N. B. (2018). Long-term cryopreservation of basidiomycetes. *Brazilian Journal of*

- Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 49(2), 220–231. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.08.004>
185. Lindh, C. H., Littorin, M., Amilon, A., & Jönsson, B. A. G. (2007). Analysis of 3,5-dichloroaniline as a biomarker of vinclozolin and iprodione in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM*, 21(4), 536–542. <https://doi.org/10.1002/rcm.2866>
186. Liu, J., Zhang, X., Yang, M., Hu, M., & Zhong, G. (2018). Toxicity assessment of chlorpyrifos-degrading fungal bio-composites and their environmental risks. *Scientific Reports*, 8(1), 2152. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20265-9>
187. Liu, S., Han, M.-L., Xu, T.-M., Wang, Y., Wu, D.-M., & Cui, B.-K. (2021). Taxonomy and phylogeny of the *Fomitopsis pinicola* complex with descriptions of six new species from East Asia. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.644979>
188. Liu, S.-R., & Zhang, W.-R. (2018). Optimization of submerged culture conditions involving a developed fine powder solid seed for exopolysaccharide production by the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Food Science and Biotechnology*, 28(4), 1135–1145. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0536-5>
189. Liu, Y., Wang, S., Yin, Y., & Xu, F. (2013). Evaluation of genetic diversity of Chinese *Pleurotus ostreatus* cultivars using DNA sequencing technology. *Annals of Microbiology*, 63(2), 571–576. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0505-9>
190. Lo, H. H., Brown, P. I., & Rankin, G. O. (1990). Acute nephrotoxicity induced by isomeric dichloroanilines in Fischer 344 rats. *Toxicology*, 63(2), 215–231. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(90\)90044-h](https://doi.org/10.1016/0300-483x(90)90044-h)
191. Lomberg, M., Krupodorova, T., Krasinko, V., & Mykchaylova, O. (2023). The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes from the genus *Hericium*. *Botanica Serbica*, 47(2), 241–249.
192. Lomberg, M. L., Renker, C., Buchalo, A. S., Solomko, E. F., & Kirchhoff, B. (2003). Micromorphological and molecular biological study of culinary

- medicinal mushroom *Hypsizygus marmoreus* (Peck) Bigel. (Agaricomycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5. <https://doi.org/10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.90>
193. Lomberg, M., Mikhailova, O., & N.a, N. (2015). Mushroom culture collection (IBK) as a subject of national heritage of Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 72(1), 22–28.
194. Loyd, A. L., Barnes, C. W., Held, B. W., Schink, M. J., Smith, M. E., Smith, J. A., & Blanchette, R. A. (2018). Elucidating «lucidum»: Distinguishing the diverse laccate *Ganoderma* species of the United States. *PloS One*, 13(7), e0199738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199738>
195. Lu, C., Zhang, J., Zhao, X., Zi, Y., & Xiao, X. (2025). Biotransformation of phenolic acids in foods: pathways, key enzymes, and technological applications. *Foods*, 14(13), 2187. <https://doi.org/10.3390/foods14132187>
196. Luangharn, T., Karunarathna, S. C., Dutta, A. K., Paloi, S., Promputtha, I., Hyde, K. D., Xu, J., & Mortimer, P. E. (2021). *Ganoderma* (Ganodermataceae, Basidiomycota) species from the Greater Mekong Subregion. *Journal of Fungi*, 7(10), 819. <https://doi.org/10.3390/jof7100819>
197. Lzaod, S., & Dutta, T. (2022). Biotransformation of 4, 4'-dihydroxybiphenyl and dienestrol by laccase from *Trametes versicolor*. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 8, 100169. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100169>
198. Ma, H. M., & Zafonte, R. D. (2020). Amantadine and memantine: A comprehensive review for acquired brain injury. *Brain Injury*, 34(3), 299–315. <https://doi.org/10.1080/02699052.2020.1723697>
199. Maadani Mallak, A., Lakzian, A., Khodaverdi, E., Haghnia, G. H., & Mahmoudi, S. (2020). Effect of *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* on triclosan biodegradation and activity of laccase and manganese peroxidase enzymes. *Microbial Pathogenesis*, 149, 104473. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104473>
200. Mahanayak, B. (2024). Biotransformation reactions of xenobiotics: Mechanisms and implications for environmental and human health. *World Journal of Biology*

201. Majewska, M., Harshkova, D., Pokora, W., Baścik-Remisiewicz, A., Tułodziecki, S., & Aksmann, A. (2021). Does diclofenac act like a photosynthetic herbicide on green algae? *Chlamydomonas reinhardtii* synchronous culture-based study with atrazine as reference. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111630. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111630>
202. Manimekalai, R., & Swaminathan, T. (2000). Removal of hazardous compounds by lignin peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioprocess Engineering*, 22(1), 29–33. <https://doi.org/10.1007/PL00009096>
203. Mantovani, T. R. D., Tanaka, H. S., Umeo, S. H., Zaghi, J. L. L., do Valle, J. S., Paccola-Meirelles, L. D., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2012). Cryopreservation at –20 and –70 °C of *Pleurotus ostreatus* on grains. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3), 484–488. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0289-4>
204. Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Blánquez, P., Vicent, T., & Caminal, G. (2010). Biodegradation of the analgesic naproxen by *Trametes versicolor* and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR. *Bioresource Technology*, 101(7), 2159–2166. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.019>
205. Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Vicent, T., & Caminal, G. (2009). Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 74(6), 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.040>
206. Marian, I. M., Valdes, I. D., Hayes, R. D., LaButti, K., Duffy, K., Chovatia, M., Johnson, J., Ng, V., Lugones, L. G., Wösten, H. A. B., Grigoriev, I. V., & Ohm, R. A. (2024). High phenotypic and genotypic plasticity among strains of the mushroom-forming fungus *Schizophyllum commune*. *Fungal genetics and biology : FG & B*, 173, 103913. <https://doi.org/10.1101/2024.02.21.581338>
207. Martins, M., Rodrigues-Lima, F., Dairou, J., Lamouri, A., Malagnac, F., Silar, P., & Dupret, J.-M. (2009). An acetyltransferase conferring tolerance to toxic

- aromatic amine chemicals: Molecular and functional studies\*. *Journal of Biological Chemistry*, 284(28), 18726–18733.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M109.015230>
208. Mastrángelo, M. M., Valdés, M. E., Eissa, B., Ossana, N. A., Barceló, D., Sabater, S., Rodríguez-Mozaz, S., & Giorgi, A. D. N. (2022). Occurrence and accumulation of pharmaceutical products in water and biota of urban lowland rivers. *Science of The Total Environment*, 828, 154303.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154303>
209. Matheny, P. B., Wang, Z., Binder, M., Curtis, J. M., Lim, Y. W., Nilsson, R. H., Hughes, K. W., Hofstetter, V., Ammirati, J. F., Schoch, C. L., Langer, E., Langer, G., McLaughlin, D. J., Wilson, A. W., Frøslev, T., Ge, Z.-W., Kerrigan, R. W., Slot, J. C., Yang, Z.-L., ... Hibbett, D. S. (2007). Contributions of rpb2 and tef1 to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 430–451.  
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.08.024>
210. Matinde, R., Sempombe, J., Mugoyela, V., Nyakirang'ani, N., Kaale, E., Masota, N. E., & Makoye, P. M. (2022). Biotransformation of standard antibiotics by *Pleurotus ostreatus* mushroom and in vitro antibacterial activity of resulted metabolites. Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1753751/v1>
211. Mikolasch, A., & Hahn, V. (2021). Laccase-catalyzed derivatization of antibiotics with sulfonamide or sulfone structures. *Microorganisms*, 9(11), 2199.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9112199>
212. Mir-Tutusaus, J. A., Parladé, E., Llorca, M., Villagrasa, M., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S., Martínez-Alonso, M., Gaju, N., Caminal, G., & Sarrà, M. (2017). Pharmaceuticals removal and microbial community assessment in a continuous fungal treatment of non-sterile real hospital wastewater after a coagulation-flocculation pretreatment. *Water Research*, 116, 65–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.005>
213. Mišković, J., Rašeta, M., Krsmanović, N., & Karaman, M. (2023). Update on mycochemical profile and selected biological activities of genus *Schizophyllum*

- Fr. 1815. *Microbiology Research*, 14(1), 409–429.  
<https://doi.org/10.3390/microbiolres14010031>
214. Moncalvo, J.-M., Vilgalys, R., Redhead, S. A., Johnson, J. E., James, T. Y., Catherine Aime, M., Hofstetter, V., Verduin, S. J. W., Larsson, E., Baroni, T. J., Greg Thorn, R., Jacobsson, S., Cléménçon, H., & Miller, O. K. (2002). One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23(3), 357–400. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00027-1](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00027-1)
215. Moreno-Barragán, A. S., Benalcázar-Pozo, C. A., Bermúdez-del Sol, A., Moreno-Barragán, A. S., Benalcázar-Pozo, C. A., & Bermúdez-del Sol, A. (2023). Environmental contamination by pharmaceuticals and its impact on human health. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 27. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1561-31942023000400021&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1561-31942023000400021&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
216. Morgan, P., Lewis, S. T., & Watkinson, R. J. (1991). Comparison of abilities of white-rot fungi to mineralize selected xenobiotic compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 34(5), 693–696. <https://doi.org/10.1007/BF00167925>
217. Mori, T., Ohno, H., Ichinose, H., Kawagishi, H., & Hirai, H. (2021). White-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* metabolizes chloropyridinyl-type neonicotinoid insecticides by an *N*-dealkylation reaction catalyzed by two cytochrome P450s. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123831. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123831>
218. Mori, T., Sudo, S., Kawagishi, H., & Hirai, H. (2018). Biodegradation of diuron in artificially contaminated water and seawater by wood colonized with the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Journal of Wood Science*, 64(5), 690–696. <https://doi.org/10.1007/s10086-018-1740-x>
219. Mougín, C., Laugero, C., Asther, M., & Chaplain, V. (1997). Biotransformation of s-triazine herbicides and related degradation products in liquid cultures by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Pesticide Science*, 49(2), 169–

177. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199702\)49:2%253C169::AID-PS520%253E3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199702)49:2%253C169::AID-PS520%253E3.0.CO;2-0)
220. Muszyńska, B., Fijałkowska, A., Sułkowska-Ziaja, K., Włodarczyk, A., Kaczmarczyk, P., Nogaj, E., & Piętka, J. (2020). *Fomitopsis officinalis*: A species of arboreal mushroom with promising biological and medicinal properties. *Chemistry & Biodiversity*, 17(6), e2000213. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000213>
221. Mykchaylova, O. B., Bisko, N. A., Sukhomlyn, M. M., Lomberg, M. L., Pasaylyuk, M. V., Sukhomlyn, M. M., Petrichuk, Y. V., & Gryganskyi, A. P. (2017b). Biological peculiarities of a rare medicinal mushroom *Fomitopsis officinalis* (Fomitopsidaceae, Polyporales) on agar media and plant substrates. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 469–475.
222. Mykchaylova, O. B., Gryganskyi, A. P., Lomberg, M. L., & Bisko, N. A. (2017a). The study of morphological and cultural properties of *Sparassis crispa* (Sparassidaceae, Polyporales). *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 550–558. [https://doi.org/10.15421/2017\\_159](https://doi.org/10.15421/2017_159)
223. Mykchaylova, O. B., Negriyko, A. M., Bespalova, O. Y., Polovets, Ya. V., Shchotkina, N., & Poyedinok, N. L. (2024a). Influence of low-intensity light on the biosynthetic activity of the medicinal macromycete *Laricifomes officinalis* (Fomitopsidaceae, Polyporales) in vitro. *Biotechnologia Acta*, 17(1), 43–54. <https://doi.org/10.15407/biotech17.01.043>
224. Mykchaylova, O. B., Negriyko, A. M., Lopatko, K. G., Shchotkina, N., & Poyedinok, N. L. (2024b). Photoregulation of the biosynthetic activity of *Laricifomes officinalis* using colloidal solutions of metal nanoparticles and laser irradiation. *Biotechnologia Acta*, 17(3), 66–77. <https://doi.org/10.15407/biotech17.03.066>
225. Mykchaylova, O., Poyedinok, N., & Shchetinin, V. (2022). Screening of strains of the medicinal mushroom *Fomitopsis officinalis* (vill.) Bondartsev & Singer promising for biotechnological use. *Innovative Biosystems and Bioengineering*, 6(3–4), 110–118. <https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.3-4.271383>

226. Naranmandakh, S., Murata, T., Odonbayar, B., Suganuma, K., Batkhuu, J., & Sasaki, K. (2018). Lanostane triterpenoids from *Fomitopsis officinalis* and their trypanocidal activity. *Journal of Natural Medicines*, 72(2), 523–529. <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1182-1>
227. Narayanan, M., El-sheekh, M., Ma, Y., Pugazhendhi, A., Natarajan, D., Kandasamy, G., Raja, R., Saravana Kumar, R. M., Kumarasamy, S., Sathiyam, G., Geetha, R., Paulraj, B., Liu, G., & Kandasamy, S. (2022). Current status of microbes involved in the degradation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) pollutants in the aquatic ecosystem. *Environmental Pollution*, 300, 118922. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118922>
228. Nasreen, Z., Kausar, T., Nadeem, M., & Bajwa, R. (2005). Study of different growth parameters in *Ganoderma lucidum*. *Micología Aplicada Internacional*, 17(1), 5–8.
229. Naumann, K. (2000). Influence of chlorine substituents on biological activity of chemicals: A review. *Pest Management Science*, 56(1), 3–21. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200001\)56:1%253C3::AID-PS107%253E3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200001)56:1%253C3::AID-PS107%253E3.0.CO;2-P)
230. Nguyen, L. T., Le, V. V., Nguyen, B. T. T., Nguyen, H. T. T., Tran, A. D., & Ngo, N. X. (2023). Optimization of mycelial growth and cultivation of wild *Ganoderma sinense*. *BioTechnologia*, 104(1). <https://doi.org/10.5114/bta.2023.125087>
231. Nguyen, T. T. T., Nguyen, H. D., Bui, A. T., Pham, K. H. T., Van, K. T. P., Tran, L. T., & Tran, M. H. (2023). Phylogenetic analysis and morphology of *Ganoderma multipileum*, a *Ganoderma* species associated with dieback of the metropolitan woody plant *Delonix regia* (Boj. Ex Hook.) Raf. In Vietnam. *Science Progress*, 106(3), 00368504231195503. <https://doi.org/10.1177/00368504231195503>
232. Nikitenkova, V. V., Albuquerque, W., Gand, M., Janssen, S., Li, B., Zorn, H., & Zhuk, T. S. (2026). Diamondoid ketones as structural probes for active sites of

- fungal enzymes. *Molecular Catalysis*, 592, 115741.  
<https://doi.org/10.1016/j.mcat.2026.115741>
233. Nikitenkova, V. V., Sydorenko, A. M., Zorn, H., & Zhuk, T. (2026). Biocatalytic synthesis of diamondoid diols by the brown-rot fungus *Wolfiporia cocos*. *ChemBioChem*, 27(3), e202500930. <https://doi.org/10.1002/cbic.202500930>
234. Ningombam, L., Mana, T., Pradhan, S., Apum, G., & Singh, Y. D. (2025). Fungal bioremediation in environmental pollution and recent strategies. *Discover Environment*, 3(1), 100. <https://doi.org/10.1007/s44274-025-00267-x>
235. Nowak, M., Zawadzka, K., Szemraj, J., Góralczyk-Bińkowska, A., & Lisowska, K. (2021). Biodegradation of chloroxilenol by *Cunninghamella elegans* IM 1785/21GP and *Trametes versicolor* IM 373: Insight into ecotoxicity and metabolic pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4360. <https://doi.org/10.3390/ijms22094360>
236. Olicón-Hernández, D. R., Camacho-Morales, R. L., Pozo, C., González-López, J., & Aranda, E. (2019). Evaluation of diclofenac biodegradation by the ascomycete fungus *Penicillium oxalicum* at flask and bench bioreactor scales. *Science of The Total Environment*, 662, 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.248>
237. Oliveira, M., & Azevedo, L. (2022). Molecular markers: an overview of data published for fungi over the last ten years. *Journal of Fungi*, 8(8), 803. <https://doi.org/10.3390/jof8080803>
238. Pan, K., Zhu, W., Huang, Y., Wang, C., Liu, H., Li, Q., Zhu, Q., Hu, J., Zhang, M., Qiu, J., Yan, X., & Hong, Q. (2025). Unveiling the degradation mechanism of 3,5-dichloroaniline: Activated sludge acclimation, strain isolation and gene cloning. *Journal of Hazardous Materials*, 488, 137337. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137337>
239. Papp, V. (2024). The Lingzhi naming dilemma: Overlooked and long-forgotten names threaten nomenclatural stability. *Fungal Biology Reviews*, 47, 100338. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2023.100338>

240. Park, N., & Park, S.-S. (2014). Purification and characterization of a novel laccase from *Fomitopsis pinicola* mycelia. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 583–589. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.019>
241. Park, Y.-J., Kwon, O.-C., Son, E.-S., Yoon, D.-E., Han, W., Yoo, Y.-B., & Lee, C.-S. (2012a). Taxonomy of *Ganoderma lucidum* from Korea Based on rDNA and partial  $\beta$ -tubulin gene sequence analysis. *Mycobiology*, 40(1), 71–75. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2012.40.1.071>
242. Park, Y.-J., Kwon, O.-C., Son, E.-S., Yoon, D.-E., Han, Nam J.-Y., W., Yoo, Y.-B., & Lee, C.-S. (2012b). Genetic diversity analysis of *Ganoderma* species and development of a specific marker for identification of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(25). <https://doi.org/10.5897/AJMR12.846>
243. Pasailiuk, M. (2020). Total flavonoid content, lipid peroxidation and total antioxidant activity of *Hericium coralloides*, *Fomes fomentarius* and *Schizophyllum commune* cultivated by the method of direct confrontation. *Italian Journal of Mycology*, 49, 25–37. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/10668>
244. Pathak, V. M., Verma, V. K., Rawat, B. S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., Mohapatra, A., Pandey, V., Rana, N., & Cunill, J. M. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962619>
245. Pattu, A. N. H., Charlena, C., Yanto, D. H. Y., Suparto, I. H., & Oktaviani, M. (2024). Biodegradation of the ciprofloxacin antibiotic by white rot fungus *Trametes hirsuta* D7. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 27(12), 590–596. <https://doi.org/10.14710/jksa.27.12.590-596>
246. Pervaiz, I., Ahmad, S., Madni, M. A., Ahmad, H., & Khaliq, F. H. (2013). Microbial biotransformation: A tool for drug designing (Review). *Prikladnaia*

- Biokhimiia* *I* *Mikrobiologiya*, 49(5), 435–449.  
<https://doi.org/10.7868/s0555109913050097>
247. Phang-Lyn, S., & Llerena, V. A. (2025). Biochemistry, Biotransformation. B  
*StatPearls*. StatPearls Publishing.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544353/>
248. Phonemany, M., Sysouphanthong, P., Rujanapun, N., Sarker, S. D., Nahar, L.,  
Puttarak, P., Hiransai, P., Thongklang, N., & Charoensup, R. (2025).  
Identification and therapeutic efficacy of *Pleurotus djamor* var *fuscopruinosus*.  
*Scientific Reports*, 15(1), 18929. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-02900-4>
249. Pietrzak, A., Dąbrówka, B., Popiół, J., Pękała, E., & Słoczyńska, K. (2025). Phase  
II metabolism in xenobiotic biotransformation: General mechanisms and the  
underestimated role of microbial systems. *Drug Metabolism Reviews*, 58(1), 1–  
25. <https://doi.org/10.1080/03602532.2025.2582864>
250. Placova, K., Halfar, J., Brozova, K., & Heviankova, S. (2023). Issues of Non-  
steroidal anti-inflammatory drugs in aquatic environments: A review study.  
*Engineering Proceedings*, 57(1), 13.  
<https://doi.org/10.3390/engproc2023057013>
251. Placová, K., Heviánková, S., Halfar, J., Brožová, K., Motyka, O., Čabanová, K.,  
Drabinová, S., & Chromíková, J. (2024). The ability of UWWTP to remove  
NSAIDs: Impact on water quality in the Odra River Czech Republic concerning  
incoming European legislation. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 16,  
100477. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100477>
252. Polak, J., & Jarosz-Wilkolazka, A. (2010). Publication – Synthesis of  
phenoxazinone-type pharmaceutical compounds by fungal biomass – University  
of Maria Curie-Skłodowska. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska,  
Pharmacia, sectio DDD*, ISSN 0867-0609, 23(2), 35–40.
253. Popiołek, Ł., Janas, W., Hordyjewska, A., & Biernasiuk, A. (2024). Novel  
adamantane derivatives: synthesis, cytotoxicity and antimicrobial properties.  
*Applied Sciences*, 14(9), 3700. <https://doi.org/10.3390/app14093700>

254. Przedpeńska, L., Witczak, A., & Pokorska-Niewiada, K. (2025). Non-steroidal anti-inflammatory drugs as emerging water and food contaminants: Review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 24(3), 571–605. <https://doi.org/10.1007/s11157-025-09735-5>
255. Quinn, L., Dempsey, R., Casey, E., Kane, A., & Murphy, C. D. (2015). Production of drug metabolites by immobilised *Cunninghamella elegans*: From screening to scale up. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 42(5), 799–806. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1594-9>
256. Racine, C. R., Ferguson, T., Preston, D., Ward, D., Ball, J., Anestis, D., Valentovic, M., & Rankin, G. O. (2016). The role of biotransformation and oxidative stress in 3,5-dichloroaniline (3,5-DCA) induced nephrotoxicity in isolated renal cortical cells from male Fischer 344 rats. *Toxicology*, 341–343, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.01.006>
257. Ramírez-Durán, N., Moreno-Perlín, T., Can-Ubando, L. C., Manzanares-Leal, G. L., Moreno-Pérez, P. A., Sandoval-Trujillo, H., Isaac-Olivé, K., Aranda, E., & Batista-García, R. A. (2025). Advancing fungal biodegradation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs—Challenges and future perspectives. *Current Opinion in Biotechnology*, 93, 103293. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2025.103293>
258. Ramos, A., Mendoza, G., & Serrano-Márquez, L. (2025). Antibacterial and Antifungal Activity and Acute Toxicity of Crude Extracts From the Wild Edible Mushrooms *Cantharellus veraecrucis*, *Cantharellus violaceovinosus*, and *Turbinellus floccosus*. *International Journal of Food Science*, 2025(1), 5004650. <https://doi.org/10.1155/ijfo/5004650>
259. Rankin, G. O., Racine, C. R., Valentovic, M. A., & Anestis, D. K. (2021). Nephrotoxic potential of putative 3,5-dichloroaniline (3,5-DCA) metabolites and biotransformation of 3,5-DCA in isolated kidney cells from Fischer 344 rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 292. <https://doi.org/10.3390/ijms22010292>

260. Rascol, O., Fabbri, M., & Poewe, W. (2021). Amantadine in the treatment of Parkinson's disease and other movement disorders. *The Lancet Neurology*, 20(12), 1048–1056. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00249-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00249-0)
261. Rebelo, D., Antunes, S. C., & Rodrigues, S. (2023). The silent threat: exploring the ecological and ecotoxicological impacts of chlorinated aniline derivatives and the metabolites on the aquatic ecosystem. *Journal of Xenobiotics*, 13(4), 604–614. <https://doi.org/10.3390/jox13040038>
262. Richter, C., Wittstein, K., Kirk, P. M., & Stadler, M. (2015). An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. *Fungal Diversity*, 71(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0313-6>
263. Rivera-Hoyos, C. M., Morales-Álvarez, E. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., Rodríguez-Vázquez, R., & Delgado-Boada, J. M. (2013). Fungal laccases. *Fungal Biology Reviews*, 27(3), 67–82. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2013.07.001>
264. Rodarte-Morales, A. I., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Lema, J. M. (2012). Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus *Phanerochaete chrysosporium* in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply. *Biodegradation*, 23(1), 145–156. <https://doi.org/10.1007/s10532-011-9494-9>
265. Rodrigues, A. D., Dos Santos Montanholi, A., Shimabukuro, A. A., Yonekawa, M. K. A., Casseiro, N. S., Silva, D. B., Marchetti, C. R., Weirich, C. E., Beatriz, A., Zanoelo, F. F., Marques, M. R., Giannesi, G. C., das Neves, S. C., Oliveira, R. J., Ruller, R., de Lima, D. P., & Dos Anjos Dos Santos, E. (2023). N-acetylation of toxic aromatic amines by fungi: Strain screening, cytotoxicity and genotoxicity evaluation, and application in bioremediation of 3,4-dichloroaniline. *Journal of Hazardous Materials*, 441, 129887. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129887>
266. Rodríguez-Delgado, M., Orona-Navar, C., García-Morales, R., Hernandez-Luna, C., Parra, R., Mahlknecht, J., & Ornelas-Soto, N. (2016). Biotransformation kinetics of pharmaceutical and industrial micropollutants in groundwaters by a

- laccase cocktail from *Pycnoporus sanguineus* CS43 fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 108, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.003>
267. Rodríguez-Rodríguez, C. E., Marco-Urrea, E., & Caminal, G. (2010). Naproxen degradation test to monitor *Trametes versicolor* activity in solid-state bioremediation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1), 1152–1155. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.091>
268. Rusu, A., Tanase, C., Pascu, G.-A., & Todoran, N. (2020). Recent advances regarding the therapeutic potential of adapalene. *Pharmaceuticals*, 13(9), 217. <https://doi.org/10.3390/ph13090217>
269. Rybczyńska-Tkaczyk, K. (2022). Bioremoval and detoxification of the anticancer drug mitoxantrone using immobilized crude versatile peroxidase (icVP/Ba) *Bjerkandera adusta* CCBAS 930. *Biology*, 11(11), 1553. <https://doi.org/10.3390/biology11111553>
270. Sá, H., Michelin, M., Silvério, S. C., Polizeli, M. de L. T. M., Silva, A. R., Pereira, L., Tavares, T., & Silva, B. (2024). *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus sajor-caju* laccases for sulfamethoxazole biotransformation: Enzymatic degradation, toxicity and cost analysis. *Journal of Water Process Engineering*, 59, 104943. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.104943>
271. Saikia, S., Yadav, M., Hoque, R. A., & Yadav, H. S. (2023). Bioremediation mediated by manganese peroxidase – An overview. *Biocatalysis and Biotransformation*, 41(3), 161–173. <https://doi.org/10.1080/10242422.2022.2113517>
272. Sakurai, K., Yuasa, M., Ohji, S., Hosoyama, A., Sato, M., Fujita, N., & Kawasaki, H. (2019). Gene mutations in *Ganoderma lucidum* during long-term preservation by repeated subculturing. *Biopreservation and Biobanking*, 17(5), 395–400. <https://doi.org/10.1089/bio.2018.0149>
273. Samir, A., Ashour, F. H., Hakim, A. A. A., & Bassyouni, M. (2022). Recent advances in biodegradable polymers for sustainable applications. *Npj Materials Degradation*, 6(1), 68. <https://doi.org/10.1038/s41529-022-00277-7>

274. Sammut, C., Alvarado, P., & Saar, I. (2019). *Schizophyllum amplum* (Agaricales, Schizophyllaceae): A rare Basidiomycete from Malta and Estonia. *Italian Journal of Mycology*, 48, 50–56. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/9426>
275. Sánchez-Corzo, L. D., Álvarez-Gutiérrez, P. E., Meza-Gordillo, R., Villalobos-Maldonado, J. J., Enciso-Pinto, S., & Enciso-Sáenz, S. (2021). Lignocellulolytic enzyme production from wood rot fungi collected in Chiapas, Mexico, and their growth on lignocellulosic material. *Journal of Fungi*, 7(6), 450. <https://doi.org/10.3390/jof7060450>
276. Sandermann, H., Heller, W., Hertkorn, N., Hoque, E., Pieper, D., & Winkler, R. (1998). A New intermediate in the mineralization of 3,4-dichloroaniline by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9), 3305–3312. <https://doi.org/10.1128/aem.64.9.3305-3312.1998>
277. Santos, L. C. R. M. dos, Almeida, J. D. R. de, Sousa, N. S. O. de, Fernandes, F. da S., Ennes, J. F. V., Frickmann, H., Souza, J. V. B. de, & Souza, É. S. de. (2026). Amazonian fungal diversity and the potential of basidiomycetes as sources of novel antimicrobials. *Biology*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/biology15030261>
278. Santos, I. J. S., Grossman, M., Sartoratto, A., Ponezi, A., & Durrant, L. (2012). Degradation of the recalcitrant pharmaceuticals carbamazepine and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by ligninolytic fungi. *Chemical Engineering Transactions*, 27, 169–174. <https://doi.org/10.3303/CET1227029>
279. Sarker, A., Lee, S.-H., Kwak, S.-Y., Nandi, R., & Kim, J.-E. (2020). Comparative catalytic degradation of a metabolite 3,5-dichloroaniline derived from dicarboximide fungicide by laccase and MnO<sub>2</sub> mediators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 196, 110561. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110561>
280. Schleiffer, M., & Speiser, B. (2022). Presence of pesticides in the environment, transition into organic food, and implications for quality assurance along the

- European organic food chain – A review. *Environmental Pollution*, 313, 120116.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120116>
281. Schlüter, R., Dallinger, A., Kabisch, J., Duldhardt, I., & Schauer, F. (2019). Fungal biotransformation of short-chain n-alkylcycloalkanes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(10), 4137–4151.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-019-09749-4>
282. Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Fungal Barcoding Consortium, Fungal Barcoding Consortium Author List, Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K.-D., Bai, F.-Y., Barreto, R. W., Begerow, D., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241–6246.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
283. Serody, J., Matthew, B., & Hewlett, J. (2024). Submerged fermentation of *Ganoderma tsugae* for the optimized production of exopolysaccharides. *Journal of Advanced Technological Education*.  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.13989024>
284. Sevindik, E., Sarsenova, A. N., Abievich, A. S., Sofyalioglu, E., Esenomanovna, D. T., & Eken, C. (2022). Phylogenetic analysis of some fungi species in West Kazakhstan based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(3), 12783–12783.  
<https://doi.org/10.15835/nbha50312783>
285. Shaalan, R. A., & Belal, T. S. (2013). Validated stability-indicating HPLC-DAD method for the simultaneous determination of diclofenac sodium and diflunisal in their combined dosage form. *Scientia Pharmaceutica*, 81(3), 713–732.  
<https://doi.org/10.3797/scipharm.1301-24>
286. Shailakshi, Rosmi Tees, Gloria D'souza, Dr Sapna Kumari M, Dr Geetha M Pinto, & Priya. (2024). A comparative study of green and conventional synthesis of schiff base and its metal complexes from 3, 5-dichloro aniline and 3-chloro-4

- fluroaniline. *International Research Journal on Advanced Engineering and Management (IRJAEM)*, 6(07), 2323–2327.  
<https://doi.org/10.47392/IRJAEM.2024.0336>
287. Silar, P. (2019). Phenotypic instability in fungi. *Advances in Applied Microbiology*, 107, 141–187. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.03.002>
288. Silva, A., Delerue-Matos, C., Figueiredo, S. A., & Freitas, O. M. (2019). The use of algae and fungi for removal of pharmaceuticals by bioremediation and biosorption processes: A review. *Water*, 11(8), 1555. <https://doi.org/10.3390/w11081555>
289. Sing, N. N., Husaini, A., Zulkharnain, A., & Roslan, H. A. (2017). Decolourisation capabilities of ligninolytic enzymes produced by *Marasmius cladophyllus* UMAS MS8 on remazol brilliant blue r and other azo dyes. *BioMed Research International*, 2017(1), 1325754. <https://doi.org/10.1155/2017/1325754>
290. Singh, A. K., Fernandez-Lafuente, R., Schmidt, J. E., Boczkaj, G., & Bilal, M. (2024). Biocatalytic functionalities of lignin peroxidase-based systems in lignin depolymerization and pollutants removal from environmental matrices. *Current Pollution Reports*, 10(3), 345–361. <https://doi.org/10.1007/s40726-024-00310-0>
291. Singh, S. K., Singh, P. N., Gaikwad, S. B., & Maurya, D. K. (2018). Conservation of fungi: a review on conventional approaches. B S. K. Sharma & A. Varma (Ed.), *Microbial Resource Conservation: Conventional to Modern Approaches* (p. 223–237). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96971-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96971-8_8)
292. Smitha, M., & Singh, S. (2017). Microbial bio transformation: A process for chemical alterations. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, 4(2). <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.04.00085>
293. Sobral, A. F., Cunha, A., Costa, I., Silva-Carvalho, M., Silva, R., & Barbosa, D. J. (2025). Environmental xenobiotics and epigenetic modifications: implications

- for human health and disease. *Journal of Xenobiotics*, 15(4), 118.  
<https://doi.org/10.3390/jox15040118>
294. Spirin, V., Runnel, K., Vlasák, J., Viner, I., Barrett, M. D., Ryvarden, L., Bernicchia, A., Rivoire, B., Ainsworth, A. M., Grebenc, T., Cartabia, M., Niemelä, T., Larsson, K.-H., & Miettinen, O. (2024). The genus *Fomitopsis* (Polyporales, Basidiomycota) reconsidered. *Studies in Mycology*, 107, 149–249.  
<https://doi.org/10.3114/sim.2024.107.03>
295. Stefanova, P., Georgieva, A., Brazkova, M., Baldzhieva, R., Goranov, B., Blazheva, D., Slavov, A., & Angelova, G. (2025). Molecular identification, mycelial growth kinetics, and antimicrobial potential of newly isolated medicinal mushroom *Fomitopsis pinicola* from Bulgaria. *Journal of Fungi*, 11(10), 727. <https://doi.org/10.3390/jof11100727>
296. Štimac, A., Šekutor, M., Mlinarić-Majerski, K., Frkanec, L., & Frkanec, R. (2017). Adamantane in drug delivery systems and surface recognition. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 22(2), 297. <https://doi.org/10.3390/molecules22020297>
297. Subedi, K., Basnet, B. B., Panday, R., Neupane, M., & Tripathi, G. R. (2021). Optimization of growth conditions and biological activities of nepalese *Ganoderma lucidum* strain Philippine. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2021, 4888979.  
<https://doi.org/10.1155/2021/4888979>
298. Sułkowska-Ziaja, K., Korczyński, M., Tropa, M., Galanty, A., Lazur, J., Kubica, P., Kała, K., Paško, P., & Muszyńska, B. (2025). A comparative study on the mycelium and fruiting body of *Meripilus giganteus*: chemical composition and biological activity. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(5), 302.  
<https://doi.org/10.3390/cimb47050302>
299. Sun, J., Yang, H., Ge-Zhang, S., Chi, Y., & Qi, D. (2024). Identification of a *Fomitopsis pinicola* from Xiaoxing'an mountains and optimization of cellulase activity. *Forests*, 15(9), 1673. <https://doi.org/10.3390/f15091673>

300. Sun, Y.-F., Xing, J.-H., He, X.-L., Wu, D.-M., Song, C.-G., Liu, S., Vlasák, J., Gates, G., Gibertoni, T., & Cui, B.-K. (2022). Species diversity, systematic revision and molecular phylogeny of Ganodermataceae (Polyporales, Basidiomycota) with an emphasis on Chinese collections. *Studies in Mycology*, 101(1), 287–415. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.05>
301. Supreeth, M., & Raju, N. S. (2017). Biotransformation of chlorpyrifos and endosulfan by bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(15), 5961–5971. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8401-7>
302. Świacka, K., Maculewicz, J., Smolarz, K., & Caban, M. (2022). Long-term stability of diclofenac and 4-hydroxydiclofenac in the seawater and sediment microenvironments: Evaluation of biotic and abiotic factors. *Environmental Pollution*, 304, 119243. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119243>
303. Syed, K., Shale, K., Pagadala, N. S., & Tuszynski, J. (2014). Systematic identification and evolutionary analysis of catalytically versatile cytochrome P450 monooxygenase families enriched in model basidiomycete fungi. *PLOS ONE*, 9(1), e86683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086683>
304. Sz wajkowska-Michałek, L., Przybylska-Balcerek, A., Rogoziński, T., & Stuper-Szablewska, K. (2020). Phenolic Compounds in Trees and Shrubs of Central Europe. *Applied Sciences*, 10(19). <https://doi.org/10.3390/app10196907>
305. Tan, Z., Losantos, D., Li, Y., & Sarrà, M. (2023). Biotransformation of chloramphenicol by white-rot-fungi *Trametes versicolor* under cadmium stress. *Bioresource Technology*, 369, 128508. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128508>
306. Tang, F. H. M., Lenzen, M., McBratney, A., & Maggi, F. (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, 14(4), 206–210. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>
307. Tasca, A. L., & Fletcher, A. (2018). State of the art of the environmental behaviour and removal techniques of the endocrine disruptor 3,4-dichloroaniline. *Journal of Environmental Science and Health. Part A*,

- Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 53(3), 260–270.  
<https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1394701>
308. Testa, B. (2008). Biotransformation Reactions and Their Enzymes. B *The Practice of Medicinal Chemistry* (p. 655–673). Academic Press.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374194-3.00032-9>
309. Testa, B., & Pannatier, A. (2012). Role of phase I metabolism in drug activation and clinical treatment outcomes. B *Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions* (p. 1–23). John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9780470921920.edm126>
310. Thorn, R. G., Consiglio, G., Setti, L., Kekki, T., Daigneault, B. C., & O’Neill, E. S. T. (2025). The sexual morph of *Hohenbuehelia subreniformis* (Pleurotaceae) discovered in Finland. *Fungal Systematics and Evolution*, 16, 307–316.  
<https://doi.org/10.3114/fuse.2025.16.17>
311. Thulasinathan, B., Jayabalan, T., Sethupathi, M., Kim, W., Muniyasamy, S., Sengottuvelan, N., Nainamohamed, S., Ponnuchamy, K., & Alagarsamy, A. (2021). Bioelectricity generation by natural microflora of septic tank wastewater (STWW) and biodegradation of persistent petrogenic pollutants by basidiomycetes fungi: An integrated microbial fuel cell system. *Journal of Hazardous Materials*, 412, 125228.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125228>
312. Tišma, M., Zelić, B., & Vasić-Rački, Đ. (2010). White-rot fungi in phenols, dyes and other xenobiotics treatment—A brief review. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 34–47.
313. Tormo-Budowski, R., Cambroner-Heinrichs, J. C., Durán, J. E., Masís-Mora, M., Ramírez-Morales, D., Quirós-Fournier, J. P., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2021). Removal of pharmaceuticals and ecotoxicological changes in wastewater using *Trametes versicolor*: A comparison of fungal stirred tank and trickle-bed bioreactors. *Chemical Engineering Journal*, 410, 128210.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128210>

314. Torres-Farradá, G., Thijs, S., Rineau, F., Guerra, G., & Vangronsveld, J. (2024). White rot fungi as tools for the bioremediation of xenobiotics: A review. *Journal of Fungi*, 10(3), 167. <https://doi.org/10.3390/jof10030167>
315. Tran, N. H., Urase, T., & Kusakabe, O. (2010). Biodegradation characteristics of pharmaceutical substances by whole fungal culture *Trametes versicolor* and its laccase. *Journal of Water and Environment Technology*, 8(2), 125–140. <https://doi.org/10.2965/jwet.2010.125>
316. Tsujiyama, S., Muraoka, T., & Takada, N. (2013). Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) using vanillin as an activator. *Biotechnology Letters*, 35(7), 1079–1083. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1179-5>
317. Uber, T. M., de Oliveira Pateis, V., Cheute, V. M. S., dos Santos, L. F. O., de Figueiredo Trindade, A. R., Contato, A. G., dos Santos Filho, J. R., Corrêa, R. C. G., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2025). Immobilization of *Trametes versicolor* laccase by interlinked enzyme aggregates with improved ph stability and its application in the degradation of bisphenol A. *Reactions*, 6(1), 9. <https://doi.org/10.3390/reactions6010009>
318. Vaksmaa, A., Guerrero-Cruz, S., Ghosh, P., Zeghal, E., Hernando-Morales, V., & Niemann, H. (2023). Role of fungi in bioremediation of emerging pollutants. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1070905>
319. Valentovic, M. A., Ball, J. G., Anestis, D. K., & Rankin, G. O. (1995). Comparison of the *in vitro* toxicity of dichloroaniline structural isomers. *Toxicology in Vitro*, 9(1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/0887-2333\(94\)00188-Z](https://doi.org/10.1016/0887-2333(94)00188-Z)
320. Vasileiadis, S., Puglisi, E., Papadopoulou, E. S., Pertile, G., Suci, N., Pappolla, R. A., Tourna, M., Karas, P. A., Papadimitriou, F., Kasiotakis, A., Ipsilanti, N., Ferrarini, A., Sułowicz, S., Fornasier, F., Menkissoglu-Spiroudi, U., Nicol, G. W., Trevisan, M., & Karpouzias, D. G. (2018). Blame it on the metabolite: 3,5-dichloroaniline rather than the parent compound is responsible for the decreasing

- diversity and function of soil microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(22), e01536-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01536-18>
321. Vedenicheva, N., Al-Maali, G., Bisko, N., Kosakivska, I., Garmanchuk, L., & Ostapchenko, L. (2019). Effect of bioactive extracts with high cytokinin content from micelial biomass of *Hericium coralloides* and *Fomitopsis officinalis* on tumor cells in vitro. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 79(3), 31–37. [https://doi.org/10.17721/1728\\_2748.2019.79.31-37](https://doi.org/10.17721/1728_2748.2019.79.31-37)
322. Vera, M., Nyanhongo, G. S., Pellis, A., Rivas, B. L., & Guebitz, G. M. (2019). Immobilization of *Myceliophthora thermophila* laccase on poly(glycidyl methacrylate) microspheres enhances the degradation of azinphos-methyl. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(16), 47417. <https://doi.org/10.1002/app.47417>
323. Vergili, I., Kaya, Y., Gönder, Z. B., Boergers, A., & Tuerk, J. (2019). Occurrence and prioritization of pharmaceutical active compounds in domestic/municipal wastewater treatment plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(2), 252–258. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02550-z>
324. Vieira Gomes, D. C., de Alencar, M. V. O. B., Dos Reis, A. C., de Lima, R. M. T., de Oliveira Santos, J. V., da Mata, A. M. O. F., Soares Dias, A. C., da Costa, J. S., de Medeiros, M. das G. F., Paz, M. F. C. J., Gayoso E Almendra Ibiapina Moreno, L. C., Castro E Sousa, J. M. de, Islam, M. T., & Melo Cavalcante, A. A. de C. (2019). Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 112, 108643. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108643>
325. Villani, A., Galli, E., Paciolla, C., Stea, G., Logrieco, A. F., Siniscalco, C., Mulè, G., & Susca, A. (2015). Molecular characterization of *Pleurotus eryngii* varieties occurring in Italy. *Sydowia An International Journal of Mycology*, 67, 33–43. <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia67-2015-0033>

326. Viswanath, B., Rajesh, B., Janardhan, A., Kumar, A. P., & Narasimha, G. (2014). Fungal laccases and their applications in bioremediation. *Enzyme Research*, 2014, 163242. <https://doi.org/10.1155/2014/163242>
327. Wan Mohtar, W. H. M., Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., Zahuri, A. A., Ibrahim, M. F., Show, P.-L., Ilham, Z., Jamaludin, A. A., Abdul Patah, M. F., Ahmad Usuldin, S. R., & Rowan, N. (2022). Role of ascomycete and basidiomycete fungi in meeting established and emerging sustainability opportunities: A review. *Bioengineered*, 13(7–12), 14903–14935. <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2184785>
328. Wang, F., Yao, J., Chen, H., Chen, K., Trebše, P., & Zaray, G. (2010). Comparative toxicity of chlorpyrifos and its oxon derivatives to soil microbial activity by combined methods. *Chemosphere*, 78(3), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.10.030>
329. Wang, J., Hirai, H., & Kawagishi, H. (2012). Biotransformation of acetamiprid by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 831–835. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3435-8>
330. Wang, J., Tanaka, Y., Ohno, H., Jia, J., Mori, T., Xiao, T., Yan, B., Kawagishi, H., & Hirai, H. (2019). Biotransformation and detoxification of the neonicotinoid insecticides nitenpyram and dinotefuran by *Phanerochaete sordida* YK-624. *Environmental Pollution*, 252, 856–862. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.022>
331. Wang, Q., Cao, R., Zhang, Y., Qi, P., Wang, L., & Fang, S. (2021). Biosynthesis and regulation of terpenoids from basidiomycetes: Exploration of new research. *AMB Express*, 11, 150. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01304-7>
332. Wang, S., Araujo, S. P., Lomheim, L., Mack, E. E., Edwards, E. A., & Passeport, E. (2025). Reductive dechlorination of 2,3-dichloroaniline by in an anaerobic enrichment culture. *Environmental Science & Technology*, 59(29), 15261–15271. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5c04190>

333. Wang, Y., Shi, Y., Li, H., Wang, S., & Wang, A. (2024). Whole genome identification and biochemical characteristics of the *Tilletia horrida* cytochrome P450 gene family. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10478. <https://doi.org/10.3390/ijms251910478>
334. Wanka, L., Iqbal, K., & Schreiner, P. R. (2013). The lipophilic bullet hits the targets: medicinal chemistry of adamantane derivatives. *Chemical Reviews*, 113(5), 3516–3604. <https://doi.org/10.1021/cr100264t>
335. Waszczuk, U., Zapora, E., Berezovska, D., Stocki, M., Wołkowycki, M., Malewski, T., Hsiang, T., Oszako, T., & Borowik, P. (2022). Use of secondary metabolites of wood-decaying fungi to reduce damping off disease. *Forests*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/f13081208>
336. Wińska, K., Grabarczyk, M., Mączka, W., Kondas, A., Maciejewska, G., Bonikowski, R., & Anioł, M. (2017). Synthesis and biotransformation of bicyclic unsaturated lactones with three or four methyl groups. *Molecules*, 22(1), 147. <https://doi.org/10.3390/molecules22010147>
337. Wojcieszńska, D., & Guzik, U. (2020). Naproxen in the environment: Its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 1849–1857. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10343-x>
338. Wojcieszńska, D., Łagoda, K., & Guzik, U. (2023). Diclofenac biodegradation by microorganisms and with immobilised systems—A review. *Catalysts*, 13(2), 412. <https://doi.org/10.3390/catal13020412>
339. Wu, H.-T., Lu, F.-H., Su, Y.-C., Ou, H.-Y., Hung, H.-C., Wu, J.-S., Yang, Y.-C., & Chang, C.-J. (2014). *In vivo* and *in vitro* anti-tumor effects of fungal extracts. *Molecules*, 19(2), 2546–2556. <https://doi.org/10.3390/molecules19022546>
340. Xiao, P., & Kondo, R. (2020a). Biodegradation and biotransformation of pentachlorophenol by wood-decaying white rot fungus *Phlebia acanthocystis* TMIC34875. *Journal of Wood Science*, 66(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s10086-020-1849-6>

341. Xiao, P., & Kondo, R. (2020b). Potency of *Phlebia* species of white rot fungi for the aerobic degradation, transformation and mineralization of lindane. *Journal of Microbiology*, 58(5), 395–404. <https://doi.org/10.1007/s12275-020-9492-x>
342. Xiao, P., Mori, T., Kamei, I., Kiyota, H., Takagi, K., & Kondo, R. (2011a). Novel metabolic pathways of organochlorine pesticides dieldrin and aldrin by the white rot fungi of the genus *Phlebia*. *Chemosphere, Special Issue in Honour and Remembrance of Dr. Larry Needham*, 85(2), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.028>
343. Xiao, P., Mori, T., & Kondo, R. (2011b). Biotransformation of the organochlorine pesticide trans-chlordane by wood-rot fungi. *New Biotechnology*, 29(1), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.06.013>
344. Xing, J.-H., Sun, Y.-F., Han, Y.-L., Cui, B.-K., & Dai, Y.-C. (2018). Morphological and molecular identification of two new *Ganoderma* species on *Casuarina equisetifolia* from China. *MycoKeys*, 34, 93–108. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.34.22593>
345. Yashavardhan, M. H., Bajaj, S., Shukla, S. K., & Vibhuti, A. (2021). Biotransformation: basics and applied perspectives. B A. Singh, S. Srivastava, D. Rathore, & D. Pant (Ed.), *Environmental Microbiology and Biotechnology: Volume 2: Bioenergy and Environmental Health* (p. 337–357). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-7493-1\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-15-7493-1_16)
346. Yeung, K.-W., Dong, Y., Chen, L., Tang, C.-Y., Law, W.-C., & Tsui, G. C.-P. (2020). Nanotechnology of diamondoids for the fabrication of nanostructured systems. *Nanotechnology Reviews*, 9(1), 650–669. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2020-0051>
347. Yin, R., Wu, J., Nagai, K., Mori, T., Ono, A., Wang, J., Kawagishi, H., & Hirai, H. (2024). Biodegradation of non-steroidal anti-inflammatory drug loxoprofen by a hyper lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 under non-ligninolytic conditions. *Chemosphere*, 364, 143265. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143265>

348. Ying, Y.-M., Xu, Y.-L., Yu, H.-F., Zhang, C.-X., Mao, W., Tong, C.-P., Zhang, Z.-D., Tang, Q.-Y., Zhang, Y., Shan, W.-G., & Zhan, Z.-J. (2019). Biotransformation of Huperzine A by *Irpex lacteus*-A fungal endophyte of *Huperzia serrata*. *Fitoterapia*, 138, 104341. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104341>
349. Zaghi, J. L. L., Bertéli, M. B. D., de Freitas, J. D. S., de Oliveira Filho, O. B. Q., Lopes, A. D., Ruiz, S. P., do Valle, J. S., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2020). Five-year cryopreservation at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  of edible and medicinal basidiomycetes by wheat grain technique. *Journal of Microbiological Methods*, 176, 106030. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106030>
350. Zalesky, T., Bradshaw, A. J., Bair, Z. J., Meyer, K. W., & Stamets, P. (2024). Fungal cryopreservation across 61 genera: Practical application and method evaluation. *Mycologia*, 116(5), 865–876. <https://doi.org/10.1080/00275514.2024.2363135>
351. Zampelli, S., & Verna, R. (2025). Environmental pollution from pharmaceuticals. *Life*, 15(9), 1341. <https://doi.org/10.3390/life15091341>
352. Zdarta, J., Jankowska, K., Wyszowska, M., Kijewska-Gawrońska, E., Zgoła-Grześkowiak, A., Pinelo, M., Meyer, A. S., Moszyński, D., & Jesionowski, T. (2019). Robust biodegradation of naproxen and diclofenac by laccase immobilized using electrospun nanofibers with enhanced stability and reusability. *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109789. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109789>
353. Zeng, L., Xu, Y.-H., Wan, L.-L., Sun, Y.-F., & Cui, B.-K. (2025). Taxonomy and phylogeny of the *Pleurotus djamor* complex with descriptions of a new species from China. *MycKeys*, 126, 119–133. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.126.162530>
354. Zervakis, G. I., Venturella, G., Fryssouli, V., Inglese, P., Polemis, E., & Gargano, M. L. (2019). *Pleurotus opuntiae* revisited—An insight to the phylogeny of dimitic *Pleurotus* species with emphasis on the *P. djamor* complex. *Fungal Biology*, 123(3), 188–199. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.12.005>

355. Zhang, H., Zhang, X., & Geng, A. (2020). Expression of a novel manganese peroxidase from *Cerrena unicolor* BBP6 in *Pichia pastoris* and its application in dye decolorization and PAH degradation. *Biochemical Engineering Journal*, 153, 107402. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107402>
356. Zhang, J., Chi, Y., & Zhang, J. (2022). Analysis of CYP450 gene expression and function in white-rot fungus, *Lenzites gibbosa*, treated with Congo red. *Biotechnic & Histochemistry*, 97(7), 519–535. <https://doi.org/10.1080/10520295.2022.2028307>
357. Zhang, Y., & Geissen, S.-U. (2010). In vitro degradation of carbamazepine and diclofenac by crude lignin peroxidase. *Journal of Hazardous Materials*, 176(1–3), 1089–1092. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.133>
358. Zhang, Z., Guo, H., Sun, J., Gong, X., Wang, C., & Wang, H. (2021). Exploration of the biotransformation processes in the biodegradation of phenanthrene by a facultative anaerobe, strain PheF2, with Fe(III) or O<sub>2</sub> as an electron acceptor. *Science of The Total Environment*, 750, 142245. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142245>
359. Zhao, Y., Zhong, X., Yan, J., Sun, C., Zhao, X., & Wang, X. (2022). Potential roles of gut microbes in biotransformation of natural products: An overview. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.956378>
360. Zhong, D.-F., Sun, L., Liu, L., & Huang, H.-H. (2003). Microbial transformation of naproxen by *Cunninghamella* species. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24(5), 442–447.
361. Zhou, H., Bao, L., Peng, Z., Bai, Y., Su, Q., Yu, L., Ma, C., He, J., & Tan, W. (2025). Multigene identification of a giant wild strain of *Ganoderma mutabile* (ZHM1939) and screening of its culture substrates. *Life*, 15(9), 1475. <https://doi.org/10.3390/life15091475>
362. Zhou, L.-W., Cao, Y., Wu, S.-H., Vlasák, J., Li, D.-W., Li, M.-J., & Dai, Y.-C. (2015). Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus

- phylogeny. *Phytochemistry*, 114, 7–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.023>
363. Zhou, M., Wang, C.-G., Wu, Y.-D., Liu, S., & Yuan, Y. (2021). Two new brown rot polypores from tropical China. *MycKeys*, 82, 173–197.  
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.82.68299>
364. Zhu, S., Chen, A., Chai, Y., Cao, R., Zeng, J., Bai, M., Peng, L., Shao, J., & Wang, X. (2023). Extracellular enzyme mediated biotransformation of imidacloprid by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Mechanisms, pathways, and toxicity. *Chemical Engineering Journal*, 472, 144798.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.144798>
365. Zhu, S., Chen, A., Zhang, J., Luo, S., Yang, J., Chai, Y., Zeng, J., Bai, M., Yang, Z., & Lu, G. (2024). Deciphering the biodegradation of thiamethoxam by *Phanerochaete chrysosporium* with natural siderite: Synergistic mechanisms, transcriptomics characterization, and molecular simulation. *Journal of Hazardous Materials*, 480, 136327.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136327>
366. Zhuk, T. S., Goldmann, M., Hofmann, J., Pohl, J. C. S., & Zorn, H. (2015). Preparative aerobic oxidations with basidiomycetous enzymes: CH-functionalization of adamantane. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 122, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.08.002>
367. Zhuk, T. S., Skorobohatko, O. S., Albuquerque, W., & Zorn, H. (2021). Scope and limitations of biocatalytic carbonyl reduction with white-rot fungi. *Bioorganic Chemistry*, 108, 104651.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104651>
368. Zhuo, R., & Fan, F. (2021). A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. *The Science of the Total Environment*, 778, 146132.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146132>

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

**Статті в наукових виданнях, що індексовані у наукометричній базі  
даних Scopus**

1. **Bondaruk S.V.**, Korzh R.A., Al-Maali G.A. 2025. Biotransformation of xenobiotics by mycelium of *Laricifomes officinalis* (Polyporales, Basidiomycota). *Ukrainian Botanical Journal*, 82(4): 336–344.  
<https://doi.org/10.15407/ukrbotj82.04.336>
2. **Bondaruk S.V.**, Bulava S.O., Korzh R.A., Lesyk D.S., Polovynko V.V., Fedyk A.V., Al-Maali G.A. 2025. Biotransformation of 2,6-dichloroaniline and 3,5-dichloroaniline by the mycelium of basidiomycetes. *Ukrainian Botanical Journal*, 82(6): 594–603.  
<https://doi.org/10.15407/ukrbotj82.06.594>

**Статті в наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових  
видань України**

1. **Бондарук, С.**, & Аль-Маалі, Г. 2025. Вплив субстрату на кріозберігання міцелію дереворуйнівних базидіоміцетів. *Chornomorski Botanical Journal*, 21(4), 330–337.  
<https://doi.org/10.32999/ksu1990-553X/2025-21-4-2>

**Публікації в матеріалах доповідей наукових конференцій**

1. **Бондарук С.В.**, Булава С.О., Аль-Маалі Г.А. 2022. Дослідження біотрансформації дихлоранілінів базидієвими грибами. *Матеріали IV Науково-практичної конференції PLANTA+. Наука, практика та освіта з міжнародною участю*, 1 (с. 156–157).  
Форма участі: заочна.
2. **Бондарук С.В.**, Булава С.О., Аль-Маалі Г.А. 2023. Дослідження біотрансформації адамантану чистими культурами базидієвих

грибів. *Матеріали міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології»*. (с. 49).

Форма участі: очна, усна доповідь.

3. Al-Maali G., Volovenko O., Lesyk D., Korzh R., **Bondaruk S.**, Velbovets A., Fedyk A., Borysko P., Ryabukhin S., Volochnyuk D. 2025. Biotransformation of bicyclic amides by *Cunninghamella elegans*. *Biotrans 17th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations*. (p. 192).

Форма участі: очна, постерна доповідь.

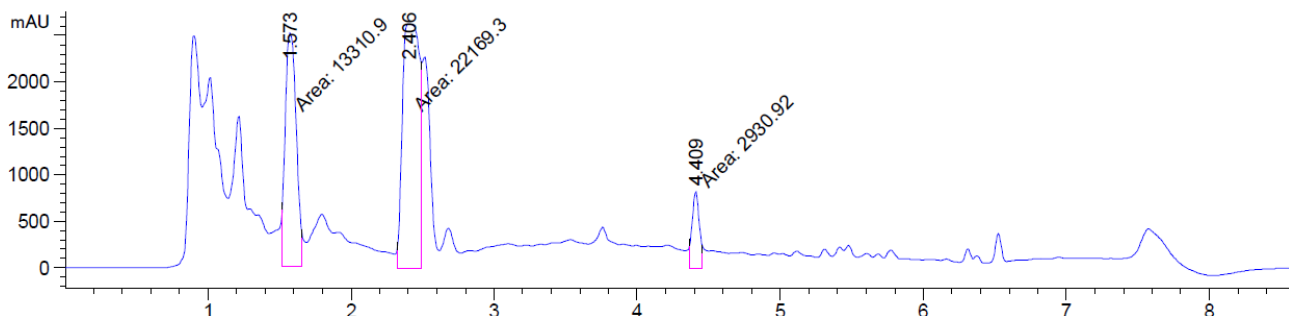
4. **Bondaruk S.V.**, Korzh R.A., Al-Maali G.A. 2025. The biotransformation of naproxen by the mycelium of wood decay basidiomycetes. *Матеріали міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології»*. (с. 58).

*Особистий внесок: одержання експериментальних даних, їх аналіз, підготовка тексту тез.*

Форма участі: очна, усна доповідь.

## ДОДАТОК Б. ХРОМАТОГРАМИ ДОСЛІДЖЕНИХ ЗРАЗКІВ

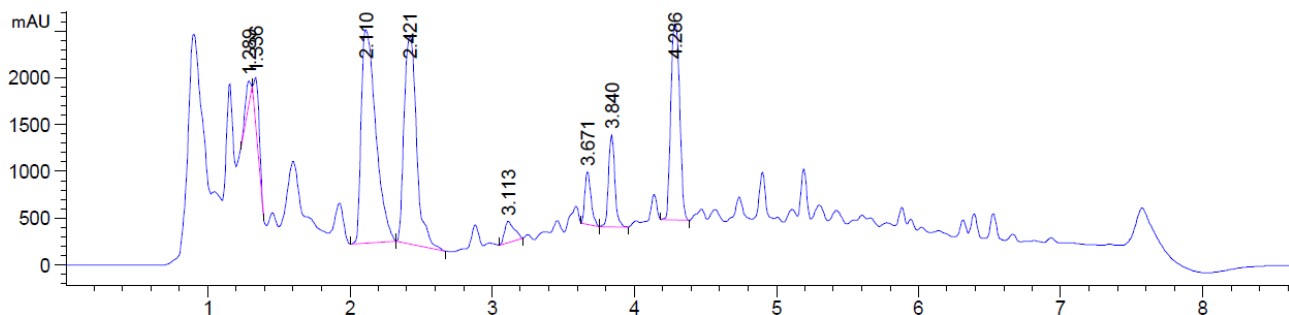
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Fomitopsis pinicola* 361



Час виходу	m/z	Назва
1.573	187	ГМ*
2.406	178	4-аміно-3,5-дихлорофенол
4.409	339	Конденсований метаболіт

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

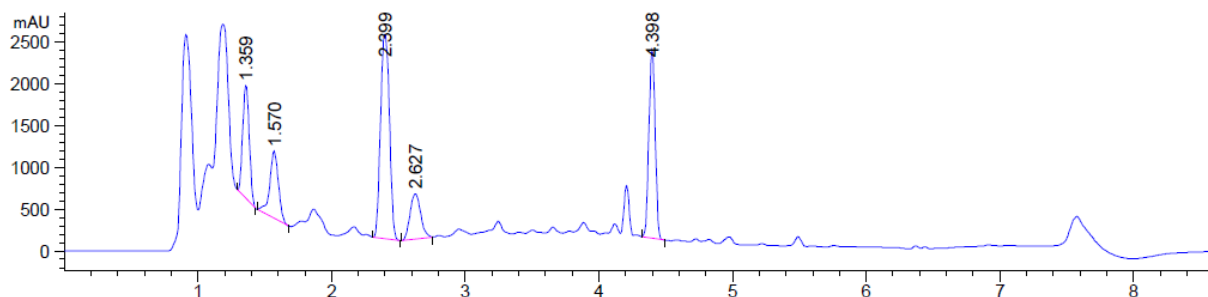
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Fomitopsis pinicola* 361



Час виходу	m/z	Назва
1.289	-	ГМ*
1.336	178	4-аміно-2,6-дихлорофенол
2.110	160	3,5-дихлорофенол
2.421	178	5-аміно-2,3-дихлорофенол (можлива)
3.113	178	2-аміно-4,6-дихлорофенол
3.671	192	3,5-дихлоронітробензен
3.840	204	3,5-дихлороацетанлід
4.286	163	3,5-дихлороанілін

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

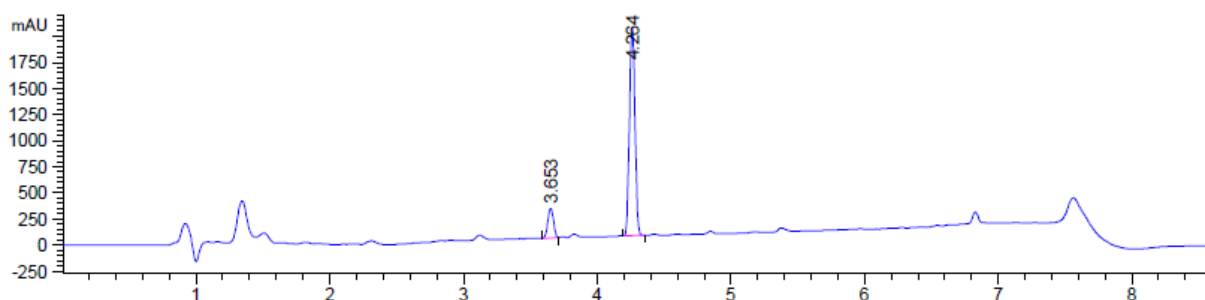
ВЕРХ метаболитів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Ganoderma sichuanense* 1848



Час виходу	m/z	Назва
1.359	-	ГМ*
1.570	130	ГМ*
2.399	178	4-аміно-3,5-дихлорофенол
2.627	178	3-аміно-2,4-дихлорофенол
4.398	163	2,6-дихлороанілін

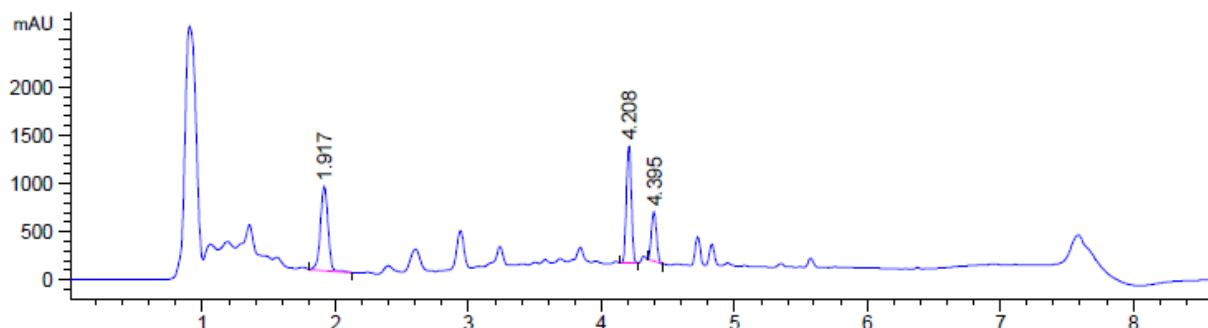
\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

ВЕРХ метаболитів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Ganoderma sichuanense* 1848



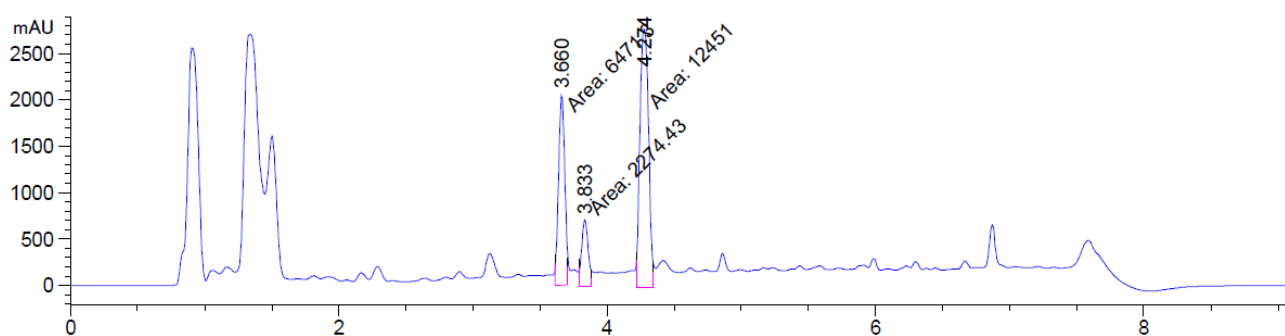
Час виходу	m/z	Назва
3.653	192	3,5-дихлоронітробензен
4.264	163	3,5-дихлороанілін

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Ganoderma sichuanense* 2566



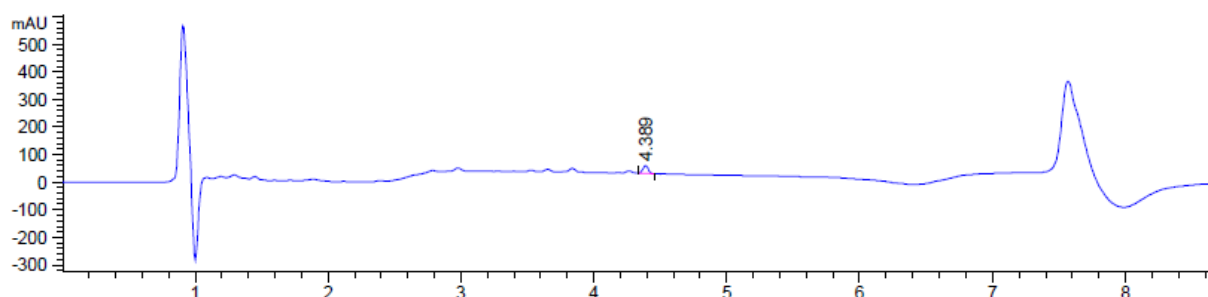
Час виходу	m/z	Назва
1.917	178	4-аміно-3,5-дихлорофенол
4.208	494	Конденсований метаболіт
4.395	163	2,6-дихлороанілін

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Ganoderma sichuanense* 2566



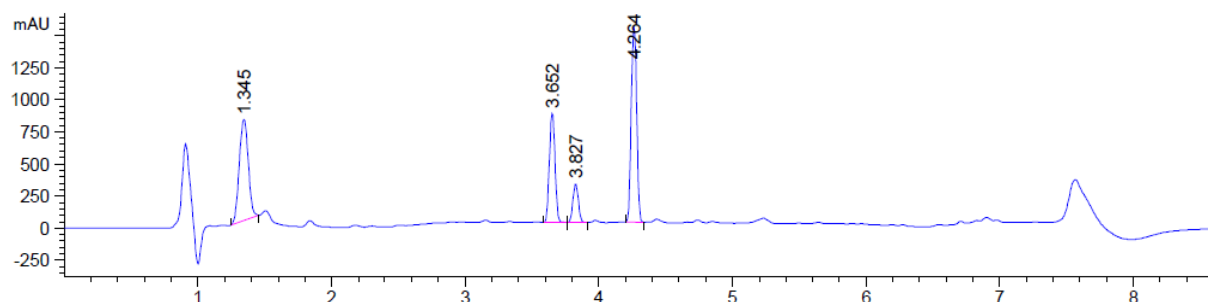
Час виходу	m/z	Назва
3.660	192	3,5-дихлоронітробензен
3.833	204	3,5-дихлороацетанлід
4.274	163	3,5-дихлороанілін

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Pleurotus ostreatus* 297



Час виходу	m/z	Назва
4.389	163	2,6-дихлороанілін

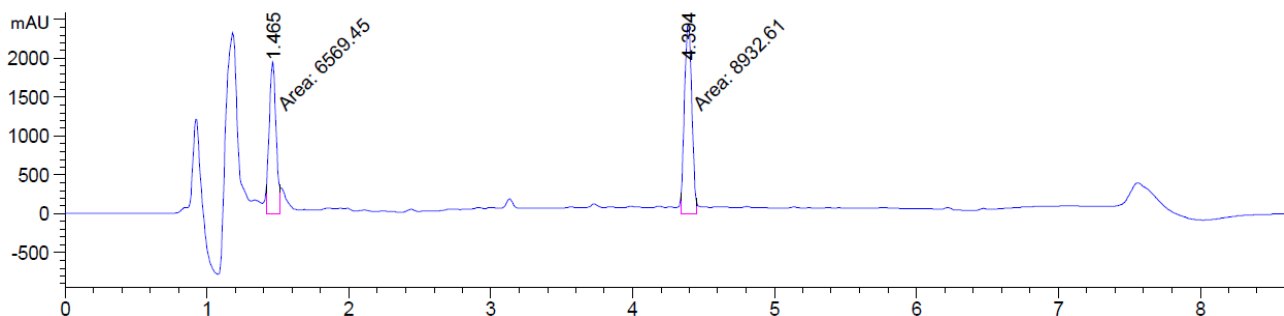
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Pleurotus ostreatus* 297



Час виходу	m/z	Назва
1.345	-	ГМ*
3.652	192	3,5-дихлоронітробензен
3.827	204	3,5-дихлороацетанлід
4.264	163	3,5-дихлороанілін

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

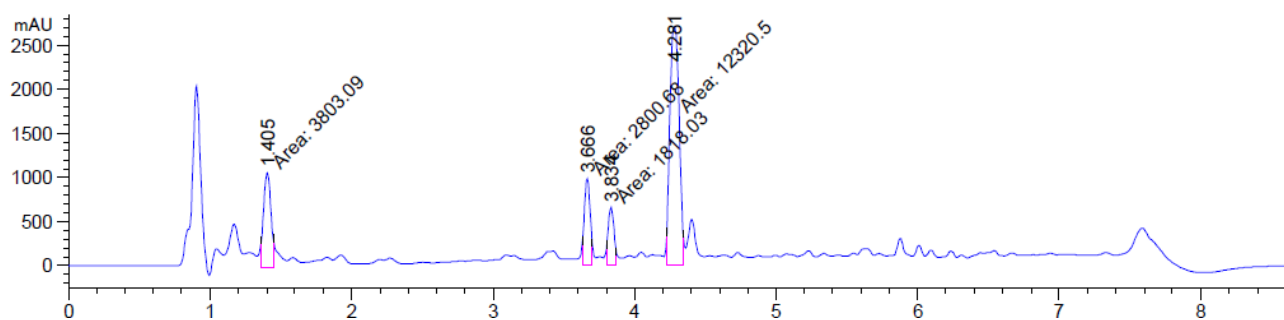
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Schizophyllum commune* 1768



Час виходу	m/z	Назва
1.465	-	ГМ*
4.394	163	2,6-дихлороанілін

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

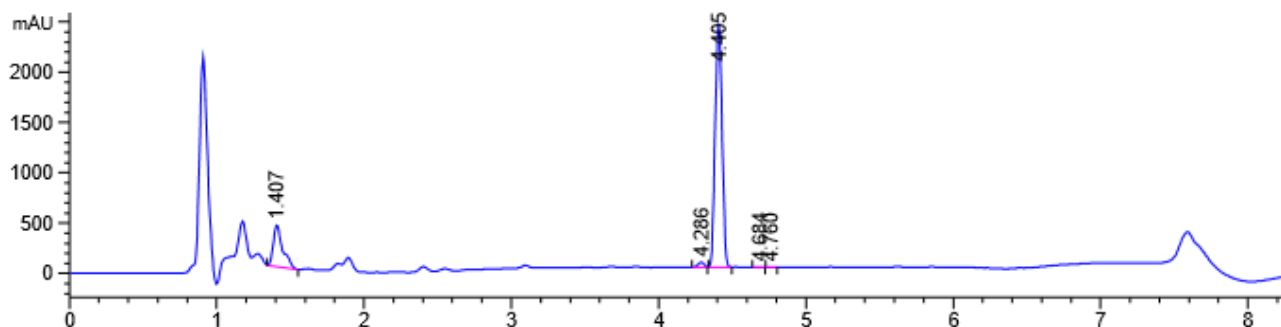
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Schizophyllum commune* 1768



Час виходу	m/z	Назва
1.408	-	ГМ*
3.658	192	3,5-дихлоронітробензен
3.832	204	3,5-дихлороацетанлід
4.268	163	3,5-дихлороанілін

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

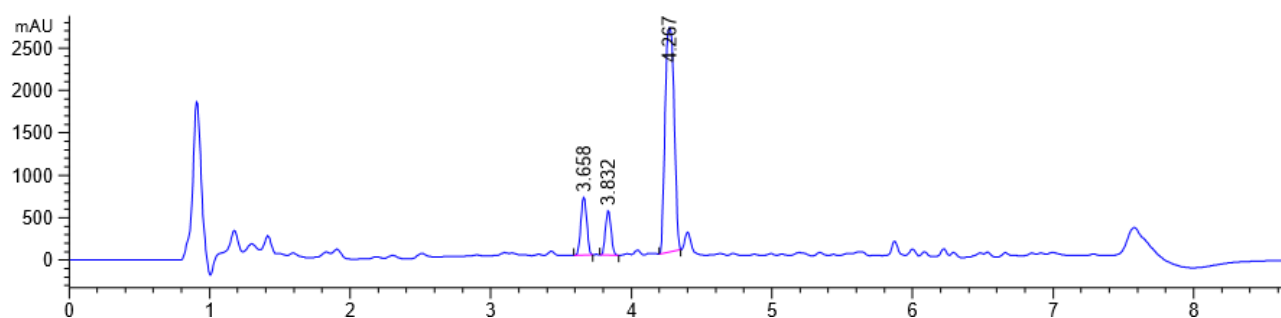
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 2,6-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Schizophyllum commune* 1769



Час виходу	m/z	Назва
1.407	-	ГМ*
4.405	163	2,6-дихлороанілін

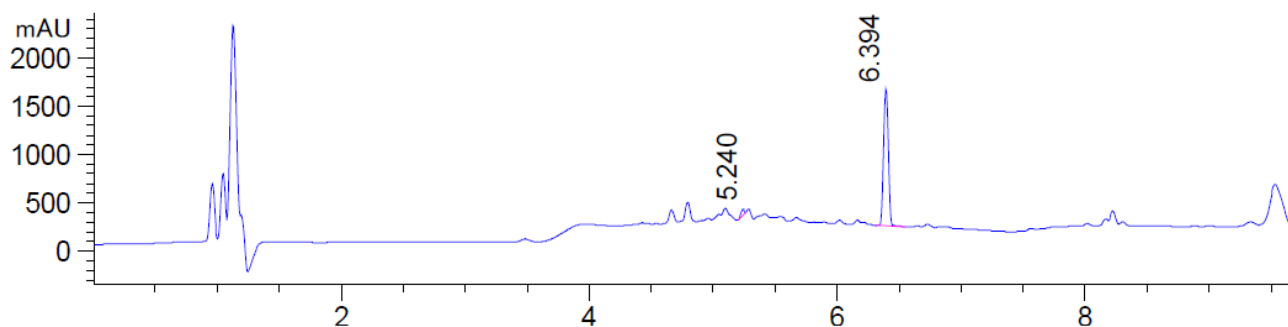
\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації 3,5-дихлораніліну під час глибинного культивування міцелію *Schizophyllum commune* 1769



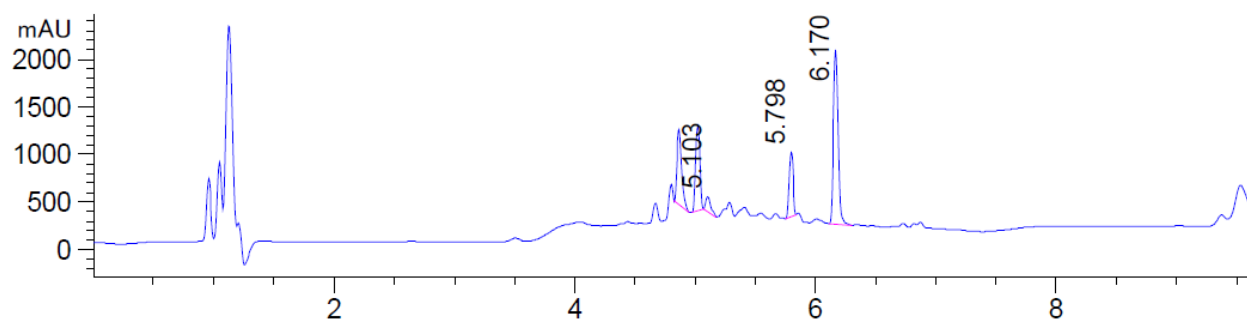
Час виходу	m/z	Назва
3.658	192	3,5-дихлоронітробензен
3.832	204	3,5-дихлороацетанлід
4.267	163	3,5-дихлороанілін

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації N-фенілциклогексанкарбоксаміду під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2498



Час виходу	m/z	Назва
5.240	220	4-гідрокси-N-фенілциклогексан-1-карбоксамід
6.394	204	N-фенілциклогексанкарбоксамід

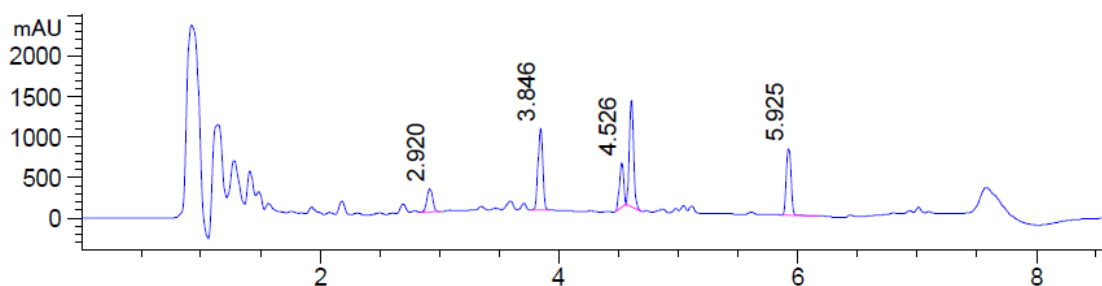
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації N-циклогексилбензаміду під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2498



Час виходу	m/z	Назва
5.103	220	N-(4-гідрокси-циклогексил)-бензамід
5.798	306	ГМ*
6.170	204	N-циклогексилбензамід

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

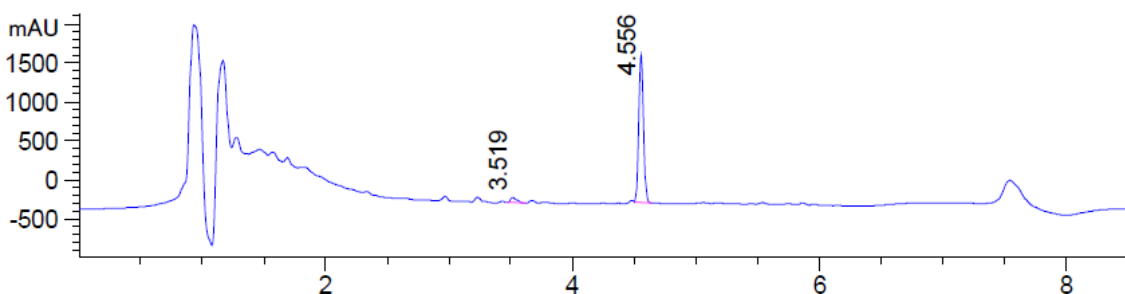
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації диклофенаку під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 5004



Час виходу	m/z	Назва
2.920	294	1-(2,6-дихлорфеніл)-5-гідрокси-1,3-дигідро2H-індол-2-он
3.846	294	1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2H-індол-2-он
4.526	102	ГМ*
4.607	297	диклофенак

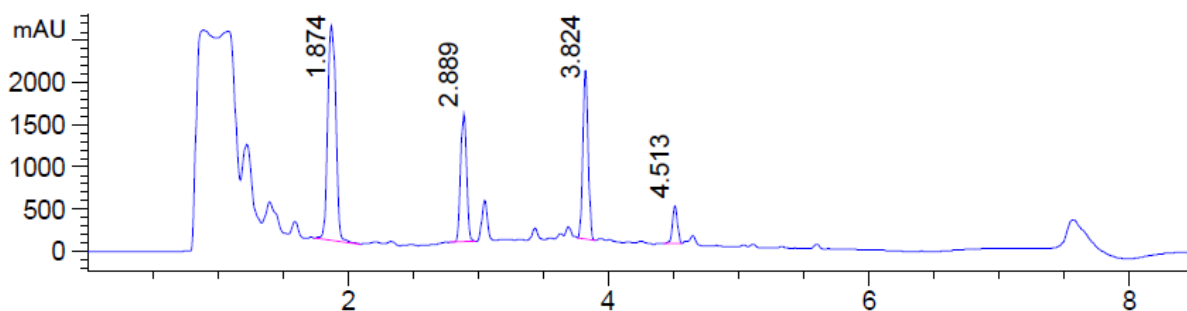
\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації диклофенаку під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2497



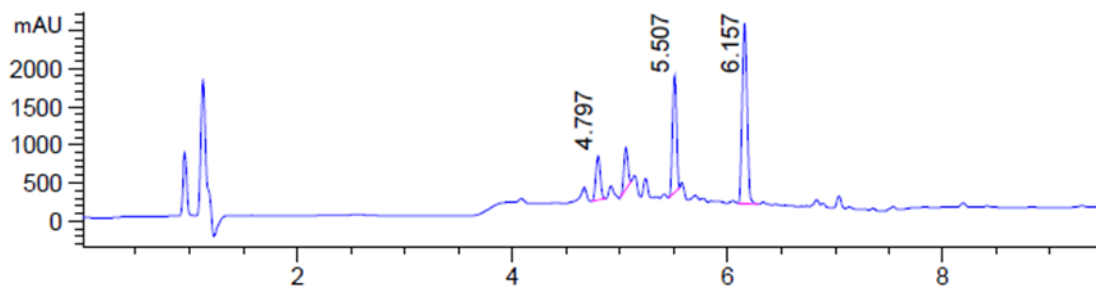
Час виходу	m/z	Назва
3.519	312	гідроксидиклофенак
4.556	296	диклофенак

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації диклофенаку під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2498



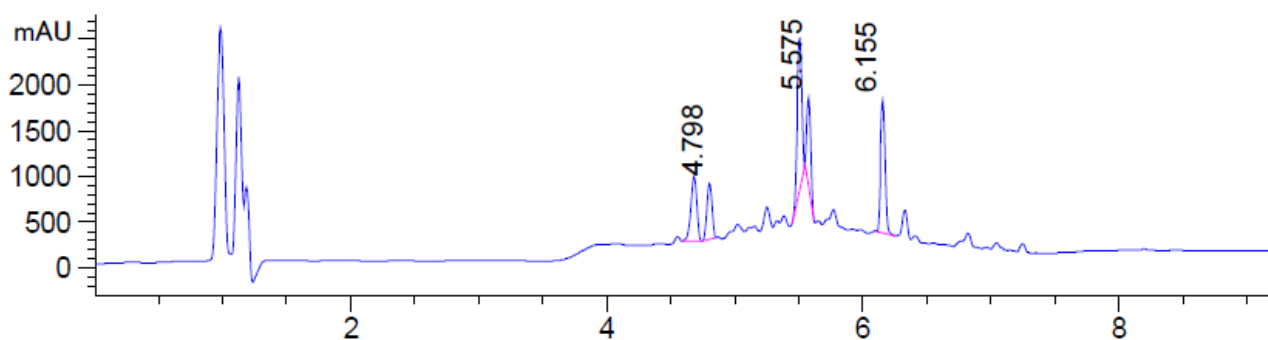
Час виходу	m/z	Назва
1.874	279	1-(2,6-дихлорфеніл)індолін-2-он
2.889	294	1-(2,6-дихлорфеніл)-5-гідрокси-1,3-дигідро-2H-індол-2-он
3.824	294	1-(2,6-дихлор-4-гідроксифеніл)-1,3-дигідро-2H-індол-2-он
4.513	297	диклофенак

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації напроксену під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 5004



Час виходу	m/z	Назва
4.797	203	Конденсований метаболіт
5.507	217	6-О-деметилнапроксен
6.157	231	напроксен

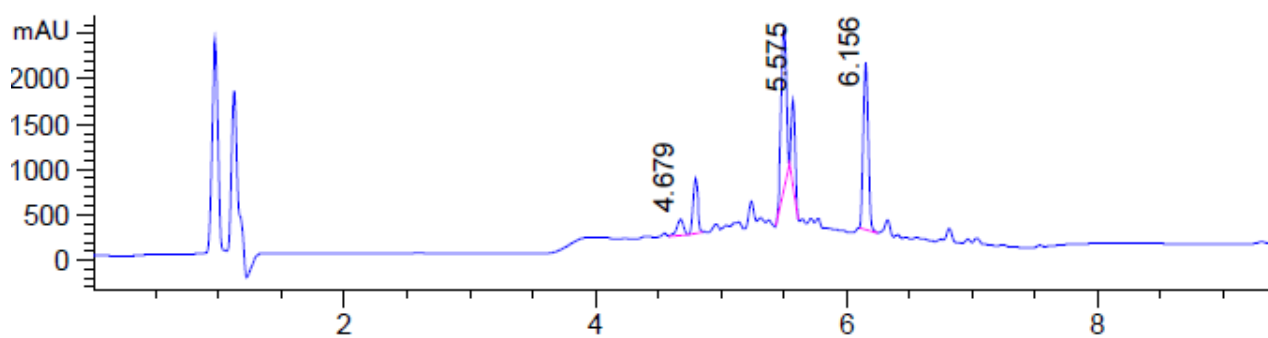
ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації напроксену під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2497



Час виходу	m/z	Назва
4.679	277	Конденсований метаболіт
4.798	307	ГМ*
5.504	217	6-О-деметилнапроксен
5.575	247	7-гідроксинапроксен
6.155	231	напроксен

\*ГМ – грибний метаболіт, що міститься у контрольному зразку (без додавання дослідженої сполуки).

ВЕРХ метаболітів, що утворюються після біотрансформації напроксену під час глибинного культивування *Laricifomes officinalis* 2498



Час виходу	m/z	Назва
4.679	277	Конденсований метаболіт
4.797	203	Не встановлено
5.504	217	6-О-деметилнапроксен
5.575	247	7-гідроксинапроксен
6.156	231	напроксен