

ОТРИМАННЯ МІЦЕЛІАЛЬНОЇ БІОМАСИ ЛІКУВАЛЬНИХ ГРИБІВ *GRIFOLA FRONDOSA* І *LAETIPORUS SULPHUREUS* НА СИНТЕТИЧНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Л.П. Дзигун, В.М. Ліновицька*

КПІ ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна

*Corresponding author: vmail@bigmir.net

Received 22 November 2019; Accepted 18 December 2019

Проблематика. Негативний вплив антропогенних факторів на навколишнє середовище і неправильний спосіб життя значної частини населення призводять до необхідності пошуку та розробки нових харчових продуктів і лікувально-профілактичних препаратів або вдосконалення існуючих технологій їх отримання на основі біологічних агентів, у т.ч. ксилотрофних базидієвих грибів. Тому визначення впливу умов глибинного культивування для штамів *Grifola frondosa* і *Laetiporus sulphureus* та виявлення основних факторів, що сприяють накопиченню міцеліальної біомаси, з метою розробки вітчизняних біотехнологій отримання препаратів харчового, лікувально-профілактичного та косметичного призначення є актуальним.

Мета. Дослідження штамів *G.frondosa* і *L. sulphureus* в умовах глибинного культивування на синтетичних середовищах, визначення фізіолого-біохімічних особливостей цих грибів та встановлення параметрів рідкого середовища, що сприяють накопиченню біомаси.

Методика реалізації. Глибинне культивування штамів 1707 *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray та 1518 *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill проводили в колбах Ерленмеєра на орбітальній качалці на рідких синтетичних живильних середовищах із різними значеннями рН, джерелами карбону та нітрогену, в умовах постійного перемішування за температури +28 °С. Вплив різних значень досліджуваних факторів встановлювали за рівнем накопичення міцеліальної біомаси, який визначали ваговим методом. Кислотність живильного середовища та культуральної рідини визначали потенціометричним методом.

Результати. Вивчено вплив вихідних значень рН рідкого синтетичного живильного середовища та різних джерел карбону і нітрогену на накопичення біомаси при культивуванні базидієвих грибів *G.frondosa* 1707 і *L.sulphureus* 1518. Визначено сприятливі для отримання міцеліальної біомаси значення рН та сполуки – джерела карбону і нітрогену.

Висновки. Досліджено ріст двох видів лікарських ксилотрофних базидієвих грибів 1707 *Grifola frondosa* та 1518 *Laetiporus sulphureus* на синтетичних середовищах в умовах глибинного культивування за різних вихідних значень рН рідкого живильного середовища та за різних джерел карбону і нітрогену. Визначено сприятливі для росту глибинного міцелію значення рН та встановлено, що найкращими для накопичення міцеліальної біомаси для штаму *G.frondosa* 1707 є джерела карбону – крохмаль і глюкоза, а джерела нітрогену – пептон і нітрат амонію. Для *L.sulphureus* 1518 сприятливим джерелом карбону є крохмаль, а джерелом нітрогену – пептон. Для глибинного культивування двох видів ксилотрофних лікарських базидієвих грибів запропоновано застосування синтетичного середовища: для *G.frondosa* 1707 – з вихідним рН 6,9, глюкозою та нітритом амонію, для *L.sulphureus* 1518 – з вихідним рН 6,6, крохмалем і пептоном.

Ключові слова: біотехнологія; *Grifola frondosa*; *Laetiporus sulphureus*; ксилотрофні базидієві гриби; глибинне культивування; синтетичне рідке живильне середовище; міцеліальна біомаса.

Вступ

Однією з важливих проблем сьогодення в Україні й у світі є отримання безпечних харчових продуктів із високими споживчими характеристиками, а також безпечних та ефективних лікувально-профілактичних і косметичних препаратів із застосуванням різноманітних біологічних агентів – бактерій, актиноміцетів, гри-

бів, рослин, тварин. З цієї точки зору перспективними є ксилотрофні базидієві гриби. Дослідження різних видів базидіоміцетів, біологічно активні речовини яких виявляють імуностимулювальні, антиоксидантні, антипроліферативні, антивірусні й адаптогенні властивості, привели до розробки низки технологій отримання лікувальних препаратів і харчових добавок на їх основі [1–5]. Біологічно активними речовина-

ми, що обумовлюють лікувальні ефекти таких препаратів, є білки, деякі низькомолекулярні сполуки та полісахариди: грифолан, лентинан, коріолан, шизофілан тощо [1–6]. Також залишається доцільним виробництво і застосування препаратів на основі висушеної біомаси плодових тіл або міцелію цінних лікувальних грибів, що вирізняються комплексною дією і отримуються порівняно нескладними технологіями. В той же час в Україні таких технологій не існує.

Серед ксилотрофних базидієвих грибів важливим їстівним видом є продуцент низки біологічно-активних сполук – *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray. Базидіоміцет *G. frondosa* є джерелом лікувально-профілактичних протеоглюканових і глюканових комплексів із протипухлинною, імуностимулювальною, антибактеріальною, антивірусною дією, а також здатністю до регулювання кров'яного тиску й антидіабетичними властивостями [1–7].

Також перспективним об'єктом є *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill, плодове тіла якого є їстівними у молодому віці та використовуються в народній медицині для лікування лихоманки, кашлю, захворювань шлунку та легень, а також як природний дезінфікуючий засіб [8]. З базидієм і міцелієм цього гриба виділений широкий спектр біологічно активних сполук, таких як полісахариди, протеополісахариди, ксантофіли, терпеноїди й алкалоїди [8–13]. Означені сполуки обумовлюють протипухлинні, протимікробні, противірусні, протизапальні, антиоксидантні, імуномодулювальні, гіпоглікемічні, тромболітичні та радіопротекторні властивості гриба [9–16].

У той же час відомості про умови культивування цих двох видів базидіоміцетів у літературі досить обмежені, особливо мало досліджено вид *L. sulphureus*. Так, у літературних джерелах наявні фрагментарні дані щодо морфолого-фізіологічних особливостей окремих штамів *G. frondosa* і *L. sulphureus* за певних умов культивування на рослинних субстратах, агаризованих та рідких живильних середовищах, при цьому часто вони стосуються не отримання біомаси, а досліджень ферментативної активності, фізіології, генетики тощо цих грибів. Таким чином, вивчення особливостей цих видів у культурі є актуальним.

Для отримання біомаси грибів, як у лабораторних, так і в промислових умовах, застосовується глибинне культивування із використанням рідких живильних середовищ, склад і

рН яких є важливими факторами, що обумовлюють високий вихід біомаси або цільових продуктів. При цьому літературних даних стосовно умов культивування штамів *G. frondosa* і *L. sulphureus* у глибинній культурі для отримання біомаси недостатньо або ж вони взагалі відсутні. Крім того, особливо важливими є дослідження росту грибів на синтетичних середовищах, що мають контрольований склад і є більш технологічними. Тому дослідження росту штамів *G. frondosa* і *L. sulphureus* на синтетичному середовищі, визначення фізіолого-біохімічних особливостей цих грибів та виявлення основних факторів, що сприяють накопиченню міцеліальної біомаси, є актуальним для розробки вітчизняних біотехнологій отримання препаратів харчового, лікувально-профілактичного та косметичного призначення. Також дослідження умов культивування різними способами та підтримка штамів *G. frondosa* у культурі є важливим, оскільки цей гриб занесений до Червоної книги України і належить до III категорії – рідкісний вид, що наявний невеликими популяціями, яким загрожує небезпека [17].

Метою представленої роботи було дослідження штамів *G. frondosa* і *L. sulphureus* в умовах глибинного культивування на синтетичних середовищах, визначення фізіолого-біохімічних особливостей цих грибів і встановлення параметрів рідкого середовища, що сприяють накопиченню біомаси.

Для досягнення поставленої мети було поставлено такі завдання:

- визначити вплив вихідних значень рН рідкого живильного середовища на накопичення біомаси;
- підібрати кращі для накопичення біомаси джерела карбону та нітрогену;
- оцінити можливість отримання біомаси на підбраному синтетичному середовищі.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були штам 1707 *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray та 1518 *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill, отримані з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України ІБК [18].

Глибинне культивування проводили в колбах Ерленмеєра 100, 250 або 750 мл, в умовах постійного перемішування з допомогою орбітальної качалки (60 об/хв для *G. frondosa* та 120 об/хв для *L. sulphureus*), за температури

+28 °C. Колби інокулювали отриманою попередньо глибинною культурою в кількості 10 об. %.

Для дослідження рН, відбору краших для накопичення біомаси джерел карбону та нітрогену в умовах глибинного культивування використовували рідке синтетичне живильне середовище такого складу (г/дм³): NH₄NO₃ – 3; KH₂PO₄ – 1; K₂HPO₄ – 1; MgSO₄×3H₂O – 0,6; глюкоза – 20 [19].

Найсприятливіші для накопичення біомаси штамми *G. frondosa* і *L. sulphureus* значення рН визначали на зазначеному вище синтетичному середовищі, в якому зміною концентрації KH₂PO₄ і K₂HPO₄ отримували розчини з різним значенням рН – від 4,7 до 8,1.

Джерелами карбону, що вивчалися, були додані в кількості, еквівалентній 20 г/дм³ глюкози: інулін, ксиліоза, лактоза, мальтоза, маніт, крохмаль, сахароза, фруктоза, гліцерин, глюкоза. Визначення краших джерел нітрогену проводили на середовищі такого складу (г/дм³): глюкоза – 20; KH₂PO₄ – 1; K₂HPO₄ – 1; MgSO₄×3H₂O – 0,6, до якого як джерела нітрогену (в еквіваленті 3 г/дм³ NaNO₃) додавали: пептон, гістидин, лейцин, лізин, триптофан, NaNO₃, NH₄NO₃, NaNO₂, NH₄Cl.

Накопичення біомаси визначали ваговим методом, висушуючи міцелій до постійної ваги за температури +105 °C. Кислотність визначали потенціометричним методом за допомогою рН-метра.

Усі дослідження виконувались у трьох повторах і статистично обчислювались за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel. Значення концентрації міцеліальної біомаси подано як середнє арифметичне із зазначенням похибки середнього арифметичного. Статистично достовірними вважали результати досліджень, які за *t*-критерієм Стьюдента мали рівень значущості $p \leq 0,05$.

Результати

Важливим фактором, що впливає на фізіологічний стан базидіоміцетів, є кислотність середовища, яка зумовлює як ростові, так і біосинтетичні властивості грибів і є важливим параметром ведення біотехнологічного процесу глибинного культивування. Тому на першому етапі досліджень відібраних штамів *G. frondosa* і *L. sulphureus* визначався вплив вихідних значень рН рідкого живильного середовища на накопичення міцеліальної біомаси (табл. 1).

Таблиця 1: Накопичення міцеліальної біомаси штамми 1707 *Grifola frondosa* і 1518 *Laetiporus sulphureus* на синтетичному середовищі з різними вихідними значеннями рН, 28 ± 1 °C, 10 доба ($p < 0,05$)

рН	Концентрація міцеліальної біомаси, г/дм ³	
	<i>G. frondosa</i> 1707	<i>L. sulphureus</i> 1518
4,7	0,74 ± 0,02	0,41 ± 0,02
5,3	1,02 ± 0,01	0,50 ± 0,03
5,9	1,20 ± 0,01	1,43 ± 0,07
6,6	1,26 ± 0,01	3,84 ± 0,2
6,9	1,34 ± 0,01	1,13 ± 0,06
7,4	1,25 ± 0,02	1,02 ± 0,05
8,1	0,85 ± 0,01	0,18 ± 0,02

Одним із важливих факторів для росту і розвитку базидієвих грибів і в природному середовищі, і в умовах штучного культивування є джерела карбону та нітрогену. Для зберігання в культурі, підтримки росту і проведення досліджень ксилотрофних базидієвих грибів переважно застосовують середовища на основі суміші органічних речовин, що містять обидва необхідних елементи – пивне сусло, дріжджовий екстракт, відвари картоплі, зерна, рослинної маси тощо, а для промислового культивування крашими є живильні середовища, що містять певні органічні та неорганічні сполуки з визначеною концентрацією карбону та нітрогену. Це найчастіше глюкоза, сахароза, крохмаль, неорганічні солі з нітрогеном (амонійні, нітратні абошо), пептон [1, 2, 19]. І хоча на складніших середовищах рівень накопичення біомаси зазвичай вищий, часто економічно доцільнішим і більш технологічним є використання для культивування ксилотрофних базидієвих грибів синтетичних середовищ.

Результати щодо накопичення міцеліальної біомаси штамми 1707 *Grifola frondosa* та 1518 *Laetiporus sulphureus* залежно від джерел карбону та нітрогену в рідкому живильному середовищі наведено в табл. 2 і 3 відповідно.

Обговорення

Одним з етапів розробки біотехнології отримання препаратів на основі біомаси базидієвих грибів є встановлення оптимальних умов проведення безпосередньо процесу культивування, тобто підбір складу живильного середовища, визначення сприятливих температур, інтенсивності перемішування, необхідності аерації тощо. При цьому важливими параметрами, що потребують досліджень, є рівень рН і

Таблиця 2: Накопичення міцеліальної біомаси штамми 1707 *Grifola frondosa* і 1518 *Laetiporus sulphureus* на середовищах із різними джерелами карбону, $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 10-та доба ($p < 0,05$)

Джерела карбону	Концентрація міцеліальної біомаси, г/дм ³	
	<i>G. frondosa</i> 1707	<i>L. sulphureus</i> 1518
Глюкоза	1,46 ± 0,02	0,4 ± 0,02
Інулін	0,89 ± 0,02	1,5 ± 0,10
Ксилоза	1,01 ± 0,02	5,8 ± 0,30
Лактоза	1,02 ± 0,01	0,5 ± 0,03
Мальтоза	0,71 ± 0,01	1,2 ± 0,10
Маніт	0,74 ± 0,03	3,2 ± 0,20
Крохмаль	1,24 ± 0,02	6,5 ± 0,30
Сахароза	0,70 ± 0,02	0,8 ± 0,04
Фруктоза	0,57 ± 0,01	0,4 ± 0,02
Гліцерин	0,80 ± 0,03	6,4 ± 0,30

Таблиця 3: Накопичення міцеліальної біомаси штамми 1707 *Grifola frondosa* і 1518 *Laetiporus sulphureus* на середовищах із різними джерелами нітрогену, $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 10-та доба ($p < 0,05$)

Джерела нітрогену	Концентрація міцеліальної біомаси, г/дм ³	
	<i>G. frondosa</i> 1707	<i>L. sulphureus</i> 1518
NaNO ₃	1,04 ± 0,02	2,4 ± 0,12
Гістидин	1,07 ± 0,01	1,0 ± 0,05
Лейцин	0,98 ± 0,01	1,4 ± 0,07
Лізин	0,89 ± 0,02	0,7 ± 0,03
Триптофан	0,98 ± 0,02	1,0 ± 0,05
NH ₄ NO ₃	1,28 ± 0,02	1,3 ± 0,06
NaNO ₂	0,67 ± 0,01	1,0 ± 0,04
NH ₄ Cl	1,08 ± 0,02	2,9 ± 0,15
Пептон	1,34 ± 0,02	4,2 ± 0,21

склад живильного середовища, а саме сполуки, що можуть бути ефективно використані як джерела карбону та нітрогену.

За даними різних авторів, для культивування *G. frondosa* застосовують рідкі середовища з рН 5,0–6,0 [19, 20, 21], але дослідження стосовно підбору оптимальних для накопичення міцеліальної біомаси *G. frondosa* значень рН у ширшому діапазоні фрагментарні. Відомостей щодо впливу рН середовища на ріст *L. sulphureus* при глибинному культивуванні в літературі взагалі не наведено.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що більшому накопиченню міцеліальної біомаси в умовах глибинного культивування на синтетичному середовищі сприяє рН 6,9 для *G. frondosa* 1707, рН 6,6 для *L. sulphureus* 1518 ($1,34 \pm 0,01$ та $3,84 \pm 0,2$ г/дм³ міцеліальної біомаси відповідно). Таким чином, для цих двох видів сприятливим виявились схожі,

близькі до нейтрального, значення рН середовища.

У той же час сприятливі для накопичення міцеліальної біомаси джерела карбону та нітрогену для цих двох видів відрізнялися. Так, було встановлено, що сприятливими для накопичення міцеліальної біомаси у штаму 1707 *G. frondosa* є живильні середовища, в яких джерелами карбону були глюкоза та крохмаль. Максимальна кількість міцеліальної біомаси на цих середовищах становила $1,46 \pm 0,02$ та $1,24 \pm 0,02$ г/дм³ відповідно.

Кращим джерелом нітрогену для дослідженого штаму *G. frondosa* був пептон. Накопичення біомаси на синтетичному середовищі з пептоном становило $1,34 \pm 0,02$ г/дм³. Серед неорганічних джерел нітрогену найсприятливішим виявився нітрат амонію – $1,28 \pm 0,02$ г/дм³ міцеліальної біомаси, що було не набагато менше, ніж на середовищі з пептоном.

Найсприятливішим для накопичення біомаси *L. sulphureus* джерелом карбону серед досліджуваних є крохмаль ($6,5 \pm 0,3$ г/дм³), а джерелом нітрогену – пептон ($4,2 \pm 0,21$ г/дм³). Достатньо високе накопичення міцеліальної біомаси відзначалось і на середовищах, де джерелом карбону був гліцерин ($6,4 \pm 0,3$ г/дм³), а джерелом нітрогену – хлорид амонію ($2,9 \pm 0,15$ г/дм³).

Загалом аналіз отриманих даних стосовно впливу різних джерел карбону та нітрогену на накопичення міцеліальної біомаси показав, що штами *G. frondosa* і *L. sulphureus* здатні, хоч і по-різному, засвоювати моно- та дисахариди, а також неорганічні солі нітрогену й амінокислоти. При цьому краще засвоєння спиртів характерне для *L. sulphureus*, а полісахарид крохмаль добре споживається обома видами. Кращим джерелом нітрогену виявився для обох видів пептон, а всі інші джерела нітрогену впливали на накопичення міцеліальної біомаси у обох видів по-різному.

Висновки

Досліджено ріст двох видів лікарських ксилотрофних базидієвих грибів *Grifola frondosa* 1707 та *Laetiporus sulphureus* 1518 на синтетичних середовищах в умовах глибинного культивування за різних вихідних значень рН рідкого живильного середовища та різних джерел карбону і нітрогену.

Визначено сприятливі для росту глибинного міцелію значення рН: 6,9 – для *G. frondosa*, 6,6 – для *L. sulphureus* ($1,34 \pm 0,01$ та $3,84 \pm 0,2$ г/дм³ міцеліальної біомаси відповідно).

Встановлено, що за досліджених концентрацій джерел карбону (в кількості, еквівалентній 20 г/дм³ глюкози) та нітрогену (в еквіваленті 3 г/дм³ NaNO₃) найкращими для накопичення міцеліальної біомаси відповідно є: для штаму *G. frondosa* 1707 – крохмаль, глюкоза та пептон і нітрат амонію, а для *L. sulphureus* 1518 – крохмаль та пептон.

Для глибинного культивування двох видів ксилотрофних лікарських базидієвих грибів запропоновано застосування синтетичного середовища для *G. frondosa* 1707 з вихідним рН 6,9, глюкозою та нітратом амонію, для *L. sulphureus* 1518 – з вихідним рН 6,6, крохмалем і пептоном.

Отримані дані свідчать про можливість отримання міцеліальної біомаси лікарських ксилотрофних базидіоміцетів *Grifola frondosa* та *Laetiporus sulphureus* із застосуванням способу глибинного культивування на синтетичних середовищах. Отримана міцеліальна біомаса цих двох видів може бути використана як харчова добавка або як сировина для отримання біологічно активних субстанцій.

Фінансування

Робота виконана на кафедрі промислової біотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського в рамках ініціативно-пошукової теми “Біосинтетична діяльність вищих базидієвих грибів” 01/5-17.

References

- [1] Buchalo AS, Babitskaya BG, Bisko NA, Wasser SP, Dudka IA, Mytropska NY, et al. Biological features of medicinal macromycetes in culture. Kyiv: Alterpres; 2011. Volume 1; 212 p.
- [2] Bisko NA, Babitskaya VL, Buchalo AS, Krupodorova TA, Lomberg ML, Mykchaylova OB, et al. Biological features of medicinal macromycetes in culture. Kyiv: Alterpres; 2012. Volume 2; 459 p.
- [3] Panchak LV. Russulaceae family mushrooms lectins: function, purification, structural features and possibilities of practical applications. Biotechnologia Acta. 2019;12(1):29-38 DOI: 10.15407/biotech12.01.029
- [4] Poyedinok NL, Tugay TI, Tugay AV, Mykchaylova OB, Sergiichuk NN, Negriyko AM. Influence of nitrogen concentration on photoinduced growth, enzymatic activity and melanine synthesis by *Inonotus obliquus* (Ach.:Pers.) Pilát. Biotechnologia Acta. 2019;12(4):34-41. DOI: 10.15407/biotech12.04.034
- [5] Vetter J. Biological values of cultivated mushrooms – A review. Acta Alimentaria. 2019;48(2):229-40. DOI: 10.1556/066.2019.48.2.11
- [6] Zhang L, editor. Progress in molecular biology and translational science: Glycans and glycosaminoglycans as clinical biomarkers and therapeutics. Academic Press; 2019. Volume 163; 551 p. DOI: 10.1016/s1877-1173(19)30072-9
- [7] Zhang ZQ, Liu LP, Lei L, Wang CN, Tang QL, Wu TX. Antioxidative and immunomodulatory activities of the exopolysaccharides from submerged culture of hen of the woods or Maitake culinary-medicinal mushroom, *Grifola frondosa* (agaricomycetes) by addition of *Rhizoma Gastrodiae* extract and its main components. Int J Med Mushrooms. 2019;21(8):825-39. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2019031597
- [8] Grundemann C, Reinhardt JK, Lindequist U. European medicinal mushrooms: Do they have potential for modern medicine? Phytomedicine. 2020;66:153131. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.153131
- [9] Younis AM, Yosri M, Stewart JK. In vitro evaluation of pleiotropic properties of wild mushroom *Laetiporus sulphureus*. Ann Agricult Sci. 2019;64:79-87. DOI: 10.1016/j.aos.2019.05.001
- [10] Acharya K, Ghosh S, Khatua S, Mitra P. Pharmacognostic standardization and antioxidant capacity of an edible mushroom *Laetiporus sulphureus*. J Consumer Protect Food Safety. 2016;1(1):33-42. DOI: 10.1007/s00003-015-0977-1
- [11] Hwang HS, Yun JW. Hypoglycemic effect of polysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Laetiporus sulphureus* on streptozotocin-induced diabetic rats. Biotechnol Bioproc Eng. 2010;15:173-81. DOI: 10.1007/s12257-009-0160-6
- [12] Koch J, Witt S, Lindequist U. The influence of selected higher basidiomycetes on the binding of lipopolysaccharide to CD14+ cells and on the release of cytokines. Int J Med Mushrooms. 2002;4:229-35. DOI: 10.1615/IntJMedMushr.v4.i3.50
- [13] Lindequist U, Niedermeyer THJ, Jülich WD. The Pharmacological potential of mushrooms. eCAM. 2005;2(3):285-99. DOI: 10.1093/ecam/neh107
- [14] Khatua S, Ghosh S, Acharya K. *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. as food as medicine. Pharmacog J. 2017;9(6):1-15. DOI: 10.5530/pj.2017.6s.151
- [15] Younis AM, Yosri M, Stewart JK. In vitro evaluation of pleiotropic properties of wild mushroom *Laetiporus sulphureus*. Ann Agricult Sci. 2019;64:79-87. DOI: 10.1016/j.aos.2019.05.001

- [16] Dzygun LP. Medicinal xylophilic basidiomycetes *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murill – Perspective object of biotechnology. *Naukovi Visti NTUU KPI*. 2011;3:40-9.
- [17] Didukh JP, editor. Red data book of Ukraine. Plant kingdom. Kyiv: Hlobkonsaltyng; 2009. 900 p.
- [18] Bisko NA, Lomborg ML, Mytropolska NY, Mykchaylova OB. The IBK Mushroom Culture Collection. Kyiv: Alterpres; 2016. 120 p.
- [19] Buchalo AS. Higher edible Basidiomycetes in pure culture. Kyiv: Naukova Dumka; 1988. 144 p.
- [20] Lee BC, Bae JT, Pyo HB, Choe TB, Kim SW, Hwang HJ, et al. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme Microb Technol*. 2003;32(5):574-81. DOI: 10.1016/s0141-0229(03)00026-7

Л.П. Дзыгун, В.М. Линовицкая

ПОЛУЧЕНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ ЛЕЧЕБНЫХ ГРИБОВ *GRIFOLA FRONDOSA* И *LAETIPORUS SULPHUREUS* НА СИНТЕТИЧЕСКИХ СРЕДАХ

Проблематика. Негативное влияние антропогенных факторов на окружающую среду и неправильный образ жизни значительной части населения приводят к необходимости поиска и разработки новых пищевых продуктов и лечебно-профилактических препаратов или усовершенствования существующих технологий их получения на основе биологических агентов, в т.ч. ксилотрофных базидиальных грибов. Поэтому определение влияния условий глубинного культивирования для штаммов *Grifola frondosa* и *Laetiporus sulphureus* и выявление основных факторов, способствующих накоплению мицелиальной биомассы, с целью разработки отечественных биотехнологий получения препаратов пищевого, лечебно-профилактического и косметического назначения является актуальным.

Цель. Исследование штаммов *G. frondosa* и *L. sulphureus* в условиях глубинного культивирования на синтетической среде, определение физиолого-биохимических особенностей этих грибов и подбор параметров жидкой питательной среды, способствующих накоплению биомассы.

Методика реализации. Глубинное культивирование штаммов 1707 *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray и 1518 *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill проводили в колбах Эрленмейера на орбитальной качалке на жидких синтетических питательных средах с разными значениями pH, источниками углерода и азота, в условиях постоянного перемешивания при температуре +28 °C. Влияние разных значений исследуемых факторов устанавливали по уровню накопления мицелиальной биомассы, который определяли весовым методом. Кислотность питательной среды и культуральной жидкости определяли потенциометрическим методом.

Результаты. Изучено влияние исходного значения pH жидкой синтетической питательной среды и разных источников углерода и азота на накопление биомассы при культивировании базидиальных грибов *G. frondosa* и *L. sulphureus*. Определены благоприятные для получения мицелиальной биомассы значения pH и вещества – источники углерода и азота.

Выводы. Исследован рост двух видов лекарственных ксилотрофных базидиальных грибов 1707 *Grifola frondosa* и 1518 *Laetiporus sulphureus* на синтетических средах в условиях глубинного культивирования при разных начальных значениях pH и с различными источниками углерода и азота. Определены благоприятные для роста глубинного мицелия значения pH и установлено, что наилучшими для накопления мицелиальной биомассы для штамма *G. frondosa* 1707 являются источники углерода – крахмал и глюкоза, а источники азота – пептон и нитрат аммония. Для *L. sulphureus* 1518 благоприятным источником углерода является крахмал, а источником азота – пептон. Для глубинного культивирования двух видов ксилотрофных лекарственных базидиальных грибов предложено использование синтетической среды: для *G. frondosa* 1707 – с исходным pH 6,9, глюкозой и нитратом аммония, для *L. sulphureus* 1518 – с исходным pH 6,6, крахмалом и пептоном.

Ключевые слова: биотехнология; *Grifola frondosa*; *Laetiporus sulphureus*; ксилотрофные базидиальные грибы; глубинное культивирование; синтетические жидкие питательные среды; мицелиальная биомасса.

L.P. Dzyhun, V.M. Linovytska

OBTAINING MYCELIAL BIOMASS OF MEDICINAL FUNGI *GRIFOLA FRONDOSA* AND *LAETIPORUS SULPHUREUS* ON SYNTHETIC MEDIA

Background. The negative impact of anthropogenic factors on the environment and the wrong way of life of a significant part of the population leads to the need to search and develop new food products and therapeutic and preventive medicines or to improve existing technologies for their production, based on different biological objects, including xylophilic basidium fungi. Therefore, definition of condition influence of submerged cultivation for strains *Grifola frondosa* and *Laetiporus sulphureus* and definition of principal factors which favour the accumulation of mycelial biomass to work out home biotechnologies of receiving food, medical preventive, and cosmetic preparations is relevant.

Objective. The purpose of the paper is analysis of strains *G. frondosa* and *L. sulphureus* under condition of submerged cultivation on synthetic medium, definition of physiological-biochemical peculiarities of these fungi and determination of liquid medium parameters, promoting the accumulation of biomass.

Methods. Submerged cultivation of strains 1707 *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray and 1518 *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill was carried out in Erlenmeyer flasks on an orbital rocking-chair on liquid synthetic nutrient medium with different pH values, nitrogen and carbon sources, under conditions of constant stirring at temperature of +28 °C. The influence of different values of the studied factors was defined by the level of accumulation of mycelial biomass determined by the weight method. The acidity of the nutrient and culture fluid was determined by potentiometric method.

Results. The influence of the initial pH value of a liquid synthetic nutrient medium and various sources of carbon and nitrogen on the biomass accumulation during the cultivation of basidium fungi *G. frondosa* and *L. sulphureus* was studied. pH values, as well as sources of carbon and nitrogen favourable for obtaining mycelial biomass were defined.

Conclusions. The growth of two species of medicinal xylophilic basidium fungi *Grifola frondosa* 1707 and *Laetiporus sulphureus* 1518 on synthetic medium under condition of submerged cultivation at different initial pH values and with different sources of carbon and nitrogen was studied. The pH value favourable for the growth of submerged mycelium was determined and it was established that the best sources for the accumulation of mycelial biomass for *G. frondosa* 1707 strain are carbon ones – starch and glucose, and nitrogen source – peptone and ammonium nitrate. For *L. sulphureus* 1518, the favorable carbon source is starch, a source of nitrogen is peptone. For the submerged cultivation of two types of xylophilic medicinal basidium fungi, the use of a synthetic medium has been proposed: for *G. frondosa* 1707 – with an initial pH 6.9, glucose and ammonium nitrate, and for *L. sulphureus* 1518 – with an initial pH 6.6, starch and peptone.

Keywords: biotechnology; *Grifola frondosa*; *Laetiporus sulphureus*; xylophilic basidium fungi; submerged cultivation; synthetic liquid nutrient medium; mycelial biomass.