

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *INONOTUS OBLIQUUS* (FR.) PILÁT.

Дегтярева Е.И.¹, Коваленко С.А.², Велюгина А. С.², Петровская Т.А.¹,
Дегтярева А.В.¹

¹ УО «Гомельский государственный медицинский университет»
(г. Гомель, Беларусь)

E-mail: elena.degtyaryova@tut.by

² ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»

(г. Гомель, Беларусь)

E-mail: snejana.kovalenko@mail.ru

В искусственных условиях на субстрате, содержащем березовую стружку и пшеничные отруби в весовом соотношении 4:1 в институте леса получены плодовые тела *Inonotus obliquus*. Исследования по выявлению бактерицидных свойств спиртовых экстрактов, полученных из плодовых тел штаммов *I. obliquus* определили значительный полиморфизм коллекционных штаммов в отношении тестируемых грамположительных микроорганизмов. Был отобран наиболее перспективный штамм *I. obliquus* – FIB-535.

Во всем мире возрастает интерес к разработке лекарственных препаратов на основе природных соединений. Одним из перспективных источников получения лекарственных препаратов является гриб чага. Чага является стерильной формой трутовика скошенного *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát. Согласно Фармакопее XV, этот гриб проявляет широкий спектр терапевтической активности. Основным действующим компонентом чаги является хромогенный комплекс, отнесенный к меланинам. Он проявляет антиоксидантную, генопротекторную, радиопротекторную, противовоспалительную, противоопухолевую, иммуномодулирующую, энтеросорбционную активность. Актуальным является поиск штаммов *I. obliquus*, обладающих бактерицидными свойствами в отношении возбудителей гнойных инфекций [1].

Объектами исследований являлись чистые культуры 3 штаммов *I. obliquus*, прошедшие генетическую верификацию, жизнеспособность которых поддерживается в коллекции штаммов грибов Института леса НАН Беларуси (FIB). Все коллекционные штаммы прошли видовую идентификацию с использованием молекулярно-генетических методов: секвенирования рибосомального оперона ядерной ДНК базидиальных грибов (типировка вида основывается на анализе нуклеотидной структуры ампликонов 18SRNA-ITS1-5,8SRNA-ITS2-28S региона рДНК) в лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса. Видовую идентификацию проводили путем сравнения полученной нуклеотидной последовательности с депонентами международного генного банка Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США). Происхождение штаммов представлено в таблице 1.

Целью наших исследований являлось изучение бактерицидных свойств спиртовых экстрактов, полученных из плодовых тел штаммов *I. obliquus*, культивированных на растительных субстратах.

Таблица 1 – Происхождение штаммов *I. obliquus* [1]

Штамм	Происхождение штамма	Дата поступления в коллекцию
FIB-468	ГОЛХУ «Гомельский опытный лесхоз», Макеевское лесничество, квартал 295, выдел 10, 52°24'49" N, 30°51'36" E	2019
FIB-504	ГОЛХУ «Гомельский опытный лесхоз», Романовичское лесничество, квартал 68, выдел 6, 52°26'34" N, 31°09'54" E	2021
FIB-535	ГЛХУ «Щучинский лесхоз», Мостовское лесничество, квартал 146, выдел 13, 53°27'54" N, 24°33'28" E	2022

Антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из базидиом изучены в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет».

Для получения вторичных метаболитов из сухих плодовых тел базидиальных ксилотрофных грибов проводили экстракцию 70% этиловым спиртом. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) экстрактов определяли методом микроразведений в стерильных полистироловых круглодонных 96-луночных планшетах (Starsedt, Германия). На одном планшете в рядах А-Г определялась минимальная подавляющая концентрация одновременно для 8 штаммов микроорганизмов. Для тестирования были использованы суточные культуры 6 клинических изолятов: *Staphylococcus aureus*: БС-1, БС-9, БС-12, БС-19; *Enterococcus faecalis* 35758, *E. faecium* 33 VAN-R. В панель микроорганизмов для тестирования включены эталонные штаммы из Американской коллекции типовых культур (ATCC) *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 51299. Планшеты инкубировали в термостате 48 ч при 35°C. Учет МПК проводили по отсутствию видимого роста микроорганизмов, сравнивая опытные и контрольные лунки, а также лунки с не инокулированной питательной средой в камере для визуального считывания (зеркало + увеличитель) Thermo V4007 [2].

Для изучения бактерицидных свойств экстрактов из плодовых тел ксилотрофных грибов 10 мкл содержимого из каждой лунки планшета после инкубации (А1-А12) переносили на сектор плотной питательной среды, поместив под чашку Петри шаблон для нанесения [3].

В ходе проведенного экспериментального исследования были изучены антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из сухих плодовых тел изучаемых штаммов. Использование этилового спирта в качестве экстрагента сухой биомассы плодовых тел позволяет получить большое количество вторичных метаболитов (от 0,06 до 1,18 г). Значения МПК спиртовых экстрактов плодовых тел ксилотрофных грибов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Минимальные концентрации грибных спиртовых экстрактов, подавляющие рост тест-микроорганизмов (мкг/мл)

Тест-микро- организмы	Штаммы <i>I. obliquus</i>		
	468	504	535
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	625	625	625
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	78	156	78
<i>E. faecium</i> 33 VAN-R	78	1250	625
<i>E. faecalis</i> 35758	78	312	78
<i>S. aureus</i> БС-1	78	78	78
<i>S. aureus</i> БС-9	78	78	78
<i>S. aureus</i> БС-12	78	78	78
<i>S. aureus</i> БС-19	78	78	78

Примечание – данная концентрация грибного экстракта оказывает на тест-микроорганизмы бактериостатическое действие.

Выполнен *in vitro* скрининг антимикробных свойств экстрактов из базидиом различных штаммов *I. obliquus* (FIB – 468, 504, 535) по отношению к тест-микроорганизмам. Результаты, представленные в таблице 2 свидетельствуют о том, что все спиртовые экстракты из плодовых тел *I. obliquus* проявили антимикробную активность в отношении тест-микроорганизмов. Установлено, что бактериостатическое действие экстрактов из макромицетов вариабельно и зависит от штамма гриба.

Результаты, представленные в таблице свидетельствуют о том, что тест-микроорганизмы чувствительны к экстрактам, полученным из плодовых тел FIB-468, 504, 535 *I. obliquus*. Наблюдалась антимикробная активность в отношении золотисто стафилококка, как ATCC-штамма, так и клинических изолятов, значения МПК колебались от 78 до 625 мкг/мл; в отношении энтерококков значения МПК колебались от 78 до 1250 мкг/мл.

Для определения бактерицидного действия экстрактов на тест-культуры использовали модифицированный метод тестирования бактерицидности экстрактов МСВТ (рисунок 1).

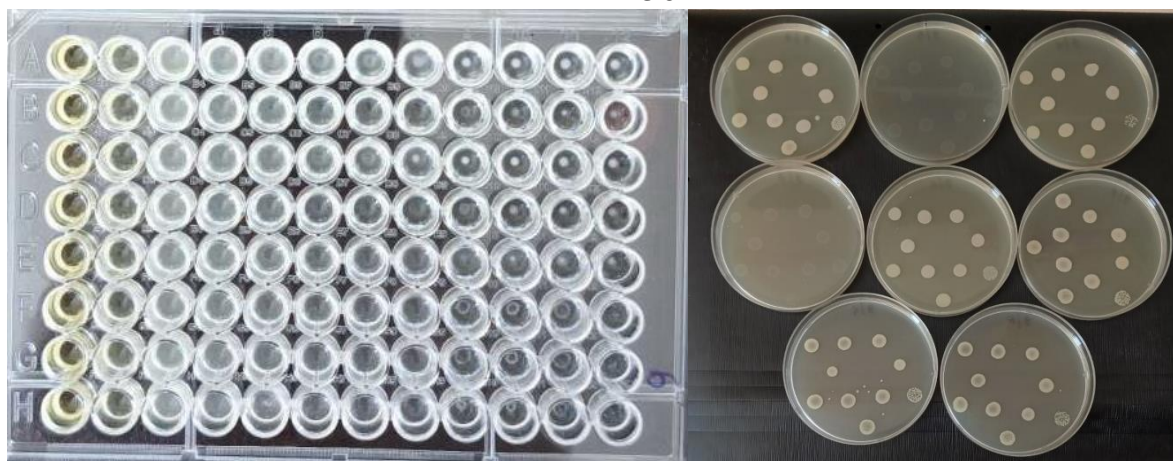
По результатам ранее проведенных исследований изучения морфолого-культуральных особенностей вегетативного роста на растительных субстратах штаммов *I. obliquus* был выделен наиболее перспективный штамм для культивирования (FIB-504), т.к. он отличился максимальной продуктивностью (41,9%). FIB-535 и FIB-468 имели продуктивность 25,6% и 21,2% соответственно.



FIB-468



FIB-504



FIB-535

Рисунок 1 – Бактерицидное действие экстрактов на тест-культуры

Метод тестирования бактерицидности экстрактов МСВТ дал нам возможность оценить антимикробную активность грибных экстрактов. Нами было установлено, что в отношении антимикробных свойствах лучше себя зарекомендовал FIB-535.

Исследования выявили значительный полиморфизм коллекционных штаммов *I. obliquus* в отношении 6 клинических изолятов: *S. aureus* (БС-1, БС-9, БС-12, БС-19), *E. faecalis* 35758, *E. faecium* 33 VAN-R; *S. aureus* ATCC 29213,

E. faecalis ATCC 51299. В отношении грамположительных микроорганизмов был отобран наиболее перспективный штамм *I. obliquus* – FIB-535. Бактерицидность спиртовых экстрактов из базидиом ксилотрофных грибов по отношению к тест-микроорганизмам штаммоспецифична.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов Д. В. Березовый гриб чага: противовоспалительное, антиоксидантное, иммуномодулирующее, противовирусное действие и возможности применения российского препарата БиоЧага у больных COVID-19 / Д. В. Дедов, О. Н. Усольцева // Врач. – 2022. – Т. 33, № 8. – С. 85–87.
2. Дегтярева Е. И. Антимикробные и фунгицидные свойства ксилотрофных базидиомицетов, культивированных на растительных субстратах с добавлением микроудобрений / Е. И. Дегтярева, С. А. Коваленко // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 28–37.
3. *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray как объект биотехнологии: перспективы культивирования и использования антимикробных свойств / Е. И. Дегтярева [и др.] // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2024. – Т. 20, № 4. – С. 103–113.



УДК 57.03+57.08+582.29

ВЛАЖНОСТЬ ТАЛЛОМА ЭПИФИТНОГО ЛИШАЙНИКА КОНТРОЛИРУЕТ СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОТОКАМИ CH₄ И CO₂ С ЕГО ПОВЕРХНОСТИ

Евграфова С.Ю.^{1,2}, Матвиенко А.И.¹, Ковалева Н.М.¹, Децура А.Е.¹,
Порфирьева Е.В.¹, Меняйло О.В.³, Масягина О.В.¹

¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

² Институт мерзлотоведения СО РАН

(г. Якутск, Россия)

³ Международное агентство по атомной энергии,

(г. Вена, Австрия)

e-mail: esj@yandex.ru

Исследованы потоки парниковых газов (ПГ) (CO₂, CH₄) с поверхности таллома эпифитного лишайника (ЭЛ) *Evernia mesomorpha*, типичного для лиственничников, произрастающих на вечной мерзлоте. Показано, что содержание влаги в талломе ЭЛ определяет величину и направление потоков ПГ с его поверхности. Так, таллом *E. mesomorpha* при избыточном увлажнении увеличивает выделение CO₂, а при снижении влажности таллома повышает продукцию CH₄ и фотоассимиляцию CO₂.

Эпифитные лишайники (ЭЛ), как и другие лишайники, используют пойкилогидрическую стратегию использования воды и питательных