

Научная статья
УДК 561.28:606

GRIFOLA FRONDOSA (DICKS.) GRAY КАК ОБЪЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ: ПЕРСПЕКТИВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ

Е.И. Дегтярёва¹, С.А. Коваленко², Т.А. Петровская¹, О.В. Зинкевич¹, А.В. Дегтярёва¹

¹Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь, Гомель

²Государственное научное учреждение «Институт леса НАН Беларуси», Беларусь, Гомель,

Аннотация. Изучены особенности вегетативного роста 4 штаммов *Grifola frondosa* в чистой культуре и на субстратах с использованием ольховых опилок и осинового стружки. Штаммы 202, 207, 265, 301 *G. frondosa* (Dicks.) Gray относятся к медленно растущим, т. к. у них РК (ростовой коэффициент) варьирует от 39,8 до 48,1. Полное обрастание чашек Петри наблюдалось на 14–17-е сут в зависимости от штамма грибов. Ольховые субстратные блоки полностью обрастали мицелием на 24–36, а осинные на 28–45-е сут. Плодовые тела формировались в течение 12–21 дня. Максимальная продуктивность получена у штаммов FIB-301 и FIB-265 в варианте с использованием осинового стружки с добавлением ржаных отрубей и составила 10–11 % от массы субстрата. Исследования выявили значительный полиморфизм коллекционных штаммов *G. frondosa* в отношении тестируемых грамположительных микроорганизмов. Были отобраны наиболее перспективные штаммы *G. frondosa* – FIB-265, FIB-301.

Ключевые слова: *Grifola frondosa*, плодоношение, продуктивность, антимикробные свойства

Для цитирования: *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray как объект биотехнологии: перспективы культивирования и использования антимикробных свойств / Е.И. Дегтярёва, С.А. Коваленко, Т.А. Петровская, О.В. Зинкевич, А.В. Дегтярёва // Экологический Вестник Северного Кавказа. 2024. Т. 20. № 4. С. 103-112.

Scientific article

GRIFOLA FRONDOSA (DICKS.) GRAY AS AN OBJECT OF BIOTECHNOLOGY: PROSPECTS OF CULTIVATION, UTILIZATION OF ANTI-ANTIMICROBIAL PROPERTIES

E.I. Degtyareva¹, S.A. Kovalenko², T.A. Petrovskaya¹, O.V. Zinkevich¹, A.V. Degtyareva¹

¹Educational Institution «Gomel State Medical University», Republic of Belarus, Gomel

²State Scientific Institution «Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus», Belarus, Gomel

Abstract. The peculiarities of vegetative growth of 4 strains of *Grifola frondosa* in pure culture and on substrates with alder sawdust and aspen shavings were studied. Strains 202, 207, 265, 301 *G. frondosa* (Dicks.) Gray are slow-growing, since their RK (growth coefficient) varied from 39,8 to 48,1. Complete overgrowth of cups was observed on the 14–17th day depending on the fungal strain. Alder substrate blocks were completely overgrown with mycelium on the 24–36th day, and aspen ones on the 28–45th day. Fruiting bodies were formed from 12 to 21 days. The maximum productivity was obtained in strains FIB-301 and FIB-265 in the variant using aspen chips with the addition of rye bran, and amounted to 10–11 % of the substrate weight. The studies revealed significant polymorphism of the collection strains of *G. frondosa* in relation to the tested gram-positive microorganisms. The most promising strains of *G. frondosa* were selected - FIB-265, FIB-301.

Keywords: *Grifola frondosa*, fructification, productivity, antimicrobial properties

For citation: *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray as an object of biotechnology: prospects of cultivation, utilization of anti-antimicrobial properties / E.I. Degtyareva, S.A. Kovalenko, T.A. Petrovskaya [et al.] // The North Caucasus Ecological Herald. 2024; 20 (4): 103-112.

Введение. В Беларуси *Grifola frondosa* (*майтаке*) внесена в Красную книгу Республики Беларусь (III категория (VU), уязвимый вид), найдена в Брестской, Гомельской, Минской областях [1]. Япония – одна из первых стран, которые впервые начали искусственное культивирование *G. frondosa*.

Этот гриб имеет высокую пищевую ценность: 100 г сухих грибов грифолы содержит

31,5 г белка (в т. ч. 18 аминокислот, незаменимые аминокислоты составляют 45,5 %), 1,7 г жира, 10,7 г сырой клетчатки, 49,69 г углеводов, 6,41 г зольных элементов (1637,9 мг К, 721 мг Р, 52,6 мг Fe, 175 мг Zn, 176,2 мг Ca, 0,04 мг Se, 3,97 мг Cu, 38,6 мг Na, 1,16 мг Cr), витамины [2].

G. frondosa обладает также широким спектром фармакологических эффектов. Основ-

ными биологически активными компонентами являются β -глюканы. Помимо D-фракции (комплекс β -глюкана с содержанием белка около 30 %), из *G. frondosa* получают множество других биоактивных полисахаридных фракций, таких как MD-фракция, X-фракция, грифолан, MZ-фракция и MT- α -глюкан [3–5]. В последние годы все большее число исследований связывают терапевтические эффекты полисахаридов *G. frondosa* с их способностью изменять микробиоту кишечника, оказывающую влияние на поддержание иммунного гомеостаза, что может быть связано с противоопухолевым действием полисахаридов [6]. Наиболее ценные препараты из майтаке представлены полисахаридными фракциями и полисахаридными белковыми комплексами, включая D-фракцию или MD-фракцию и грифолан, которые были одобрены для использования человеком в иммунотерапии и в качестве альтернативного адьюванта онкобольным при химиотерапии и лучевой терапии. Ни одно из этих соединений не проявляет каких-либо побочных эффектов [7].

В современной медицине антибиотики играют решающую роль в лечении бактериальных инфекций. Злоупотребление и неправильное назначение антибиотиков способствовали резкому росту антибиотикорезистентных бактериальных штаммов. Устойчивость к антибиотикам была названа одной из самых насущных проблем общественного здоровья в мире (Get smart: know when antibiotics work, 2014). Бактерии с множественной лекарственной устойчивостью стали глобальной угрозой, а высшие базидиомицеты могут стать источниками для получения лекарственных препаратов, обладающих новыми механизмами противомикробного действия в отношении бактерий с множественной антибиотикорезистентностью [8, 9].

Цель работы – изучить морфолого-культуральные и ростовые характеристики мицелия, плодоношение, урожайность штаммов 202, 207, 265, 301 *G. frondosa* (Dicks.) Gray, провести сравнительную характеристику их бактерицидных свойств в отношении грамположительных микроорганизмов.

Материалы и методы исследования. Объектами лабораторных исследований стали штаммы редкого вида ксилотрофных базидиомицетов из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» (FIB): *G. frondosa* (Dicks.) Gray (202, 207, 265, 301). 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. Штаммы 202 и 207 получены в 1999 г. из США, штамм 265 – в 2009 г. из России, штамм 301 – в 2011 г. из грибоводческого хозяйства «Виола» Брестской области.

Описание макроморфологических показателей, характеризующих рост каждого штамма, осуществляли по стандартным методикам, разработанным для исследования высших базидиальных грибов [10]. Изучение морфолого-культуральных особенностей роста и развития культур *G. frondosa* выполнено на сусло-агаровой питательной среде (САС) в чашках Петри диаметром 90 мм в трехкратной повторности (6° по Баллингу, pH 5,6). Инокуляцию чашек Петри осуществляли мицелиальными дисками 6 мм чистой культуры каждого штамма в центр, инкубирование проходило при температуре 25 °С. Ростовой коэффициент (РК) рассчитывали на 10-е сут по методике А.С. Бухало [11].

Изучение скорости роста мицелия культур на зерновом (овес) и растительных субстратах осуществляли в стеклянных емкостях объемом 0,5 л при температуре 25 °С. В эксперименте использовали два субстрата: на основе ольховых опилок (степень измельчения 1–3 мм) и осиновой стружки (степень измельчения 5–10 мм), обогащенных ржаными отрубями в весовом соотношении 4 : 1, с добавлением по 1 % мела и гипса (масса субстрата 200 г), повторность опыта шестикратная. Субстрат стерилизовали при давлении 0,12 МПа (температура 122 °С) в течение двух часов. Влажность субстрата с ольховыми опилками после автоклавирования составила 63 %, pH 5,3; с осиновой стружкой – влажность субстрата 61 %, pH 5,5. В емкости с субстратом вносили 5 % посевного мицелия. В культивационном помещении температура воздуха поддерживалась 22–24 °С, влажность – 75 %, освещенность – 504 люкс, содержание CO₂ – 671 ppm.

Урожайность грибов рассчитывали как отношение сырой массы базидиом к сырой массе субстрата. Биологическую эффективность определяли как отношение сырой массы плодовых тел к сухой массе субстрата. По этому показателю оценивают урожайность грибов на различных по составу и влажности субстратах. Коэффициент конверсии рассчитывали как отношение сухой массы плодовых тел к сухой массе субстрата. Статистическую обработку данных проводили с помощью MS Excel 2016.

Антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa* (штаммы 202, 207, 265, 301) изучены в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет».

Методика получения спиртовых экстрактов из плодовых тел G. frondosa и изучению их антимикробных свойств

Для получения вторичных метаболитов из сухих плодовых тел базидиальных ксилотрофных грибов проводили экстракцию 70 % этиловым спиртом. Применяли метод мацерации с продолжительным периодом нагрева экстракционной смеси до температуры +35 °С, предотвращающей разрушение энзимов. Спиртовые экстракты отделяли от плодовых тел грибов и фильтровали через фильтры.

С целью снижения в дальнейшем физико-химического воздействия спирта на тестируемые микроорганизмы отфильтрованные экстракты вносили во взвешенные пробирки и помещали в термостат с температурой +35 °С до полного выпаривания растворителя. Проводилось повторное взвешивание пробирок. После повторного взвешивания, сухие спиртовые экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), доводя раствор до 20000 мкг/мл, с использованием методов пропорции при расчетах. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) экстрактов определяли методом последовательных двукратных микроразведений в стерильных полистироловых круглодонных 96-луночных планшетах с V-образным дном (Starsedt, Германия) в трехкратной повторности. Метод последовательных микроразведений в бульоне является референтным фенотипическим методом определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным веществам. Процедура тестирования регламентируется стандартом ISO 20776-1:2006 [8, 12, 13].

На одном планшете в рядах А–Н определялась минимальная подавляющая концентрация одновременно для 8 штаммов микроорганизмов.

В исследование включены суточные культуры 6 клинических изолятов, взятых из рабочей коллекции кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии: *Staphylococcus aureus* (БС-1, БС-9, БС-12, БС-19), *Enterococcus faecalis* 35758 и *E. faecium* 33 VAN-R, которые были выделены от пациентов с различными гнойно-воспалительными заболеваниями (остеомиелит, пневмония, инфекции мочевыделительной системы, эндокардит, раневые инфекции, сепсис) в

лечебных учреждениях Республики Беларусь. Для контроля качества исследований в панель микроорганизмов для тестирования включены эталонные штаммы из Американской коллекции типовых культур (ATCC): *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 51299.

ДМСО использовали как растворитель сухих экстрактов из плодовых тел, исходная его концентрация составляла 20000 мкг/мл. Путем двукратных разведений были получены такие концентрации, как 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 310, 155, 80, 40, 20 мкг/мл. В таблицах представлены значения концентраций ДМСО в лунках после двукратных разведений экстрактов. В связи с тем, что ДМСО имеет собственную антибактериальную активность, то МПК экстрактов в отношении тест-культур учитывали как антимикробные свойства плодовых тел *G. frondosa* в лунках с концентрацией экстракта 2500 мкг/мл и меньше. Заполненные планшеты закрывали крышкой и, поместив в герметичные пакеты из полиэтилена с целью предупреждения высыхания, помещали в термостат при температуре +35 °С на 24 ч. По истечении времени инкубации нами были изучены антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. frondosa*, турбидиметрическим методом, учитывая задержку (угнетение) роста популяции тест-культур (по величине мутности среды) с помощью камеры визуального считывания (зеркало + увеличитель) Thermo V4007. Учет проводили только при наличии роста исследуемых микроорганизмов в 12-м ряду лунок (при отсутствии в лунках спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. frondosa*).

Метод тестирования бактерицидных свойств спиртовых экстрактов из плодовых тел G. frondosa

Для изучения бактерицидных свойств спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. frondosa* 10 мкл содержимого из каждой лунки планшета после инкубации (A1–A12) переносили на сектор агаризованной питательной среды Мюллера – Хинтона (Mueller-Hinton agar), поместив под чашку Петри шаблон для нанесения. Для каждой лунки использовали индивидуальные наконечники. Чашки подсушивали в термостате в течение 20 мин и маркировали, обозначив точку совмещения с шаблоном. Для каждого ряда планшета использовали отдельную чашку Петри. Чашки Петри выдерживали на столе 20 мин до полного выпитывания капель в питательную среду, после чего их переворачивали и инкубировали в термостате 24 ч при 35 °С. Пользуясь шаблоном, оценивали микробиологиче-

скую эффективность спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa*. Положительный результат (бактерицидный эффект) определялся отсутствием микробного роста в определенном секторе или при наличии роста в нем не более 1 колонии микроорганизмов [14–16].

Результаты исследования и их обсуждение. Коллекционные чистые культуры штаммов *G. frondosa* из пробирок пересевали на САС для получения маточного мицелия. Скорость роста колоний составляла от 2,69 мм в сут (FIB-207) до 3,04 мм (FIB-301). Штаммы *G. frondosa* по шкале А.С. Бухало относятся к медленн растущим, т. к. РК варьировал от 39,8 (FIB-202) до 48,1 (FIB-265). Полное обрастание чашек Петри наблюдалось на 14-е сут (штамм 202), 16-е сут (штаммы 265, 301) и 17-е сут (штамм 207).

Таким образом, показатели роста FIB-207 на САС самые низкие по сравнению с другими штаммами *G. frondosa*.

После полного обрастания чашек Петри мицелием инокулировали зерновой субстрат (овес фуражный). На 24-е сут мицелий FIB-202

колонизировал субстрат на 11 %, FIB-207 на 19 %, FIB-265 на 82 %, FIB-301 на 81 %.

Таким образом, штаммы 265 и 301 зерновой субстрат полностью колонизировали на 33–35-е сут, FIB-202 – на 59–61-е сут, FIB-207 – 55–57-е сут.

В охлажденный после стерилизации опилочный субстрат вносили зерновой посевной мицелий. На 24-е сут мицелий FIB-265 и FIB-301 освоили ольховый субстрат на 100 % и осиновый на 90 %; FIB-202 колонизировал ольховый субстрат на 65 %, а осиновый на 14 %; FIB-207 ольховый субстрат на 68 %, а осиновый на 52%.

Таким образом, FIB-265 и FIB-301 осваивали субстрат на основе ольховых опилок на 24-е сут, с осиновой стружкой – на 28-е сут; FIB-202 колонизировал ольховые блоки на 36-е сут, осиновые блоки на 45-е сут, а FIB-207 освоил субстрат на основе ольховых опилок на 31-е сут, с осиновой стружкой – на 34-е сут. Примордии появлялись через 2 месяца после инокуляции субстрата (рисунок 1)



штамм 202



штамм 265



штамм 301

Рисунок 1 – Образование примордиев штаммами *G. frondosa*
Figure 1 – Formation of primordia by *G. frondosa* strains

Начало плодоношения после инокуляции наблюдалось через 50–70 сут. Полный цикл плодоношения от инокуляции субстрата мицелием до сбора плодовых тел длился от 63 (FIB-202 на ольховом субстрате) до 83 сут (FIB-265 на ольховом субстрате). Плодовые тела формировались в течение 12–21 сут. Время формирования плодовых тел не влияет на их массу, т. к. FIB-202 на ольховом субстрате за 12 сут образовывал плодовые тела до 24 г, а FIB-265 на ольховом субстрате за 22 дня формировал пло-

вые тела массой до 11 г. FIB-207 в емкостях по 500 мл примордии дал на 77-е сут, но плодовые тела не сформировались. Однако на осиновых блоках массой по 700 г, данный штамм грибов дал по 50 г плодовых тел с 1 блока, т. е. 7 % от массы субстрата. Начало плодоношения штамма 207 отмечено на 97–100-е сут, плодовые тела формировались в течение 18–20 сут (рисунок 2). После увеличения массы ольховых блоков плодоношения штаммом 207 не было получено.



Рисунок 2 – Плодообразование FIB-207
Figure 2 – Fruit formation of FIB-207

Плодовые тела кустисто-листовидные, представляют собой массу разветвленных шляпок, выходящих из склероция. Шляпки кожисто-мясистые, боковые, плавно переходящие в ножки, с неровной радиально-морщинистой орехового цвета поверхностью, по направлению

к ножке поверхность более светлая. Край тонкий, неровный, лопастной. Центральная ножка короткая и толстая, вторичные ножки различной толщины, плоские, после высыхания серовато-кремовые (рисунок 3).



штамм 202



штамм 207



штамм 265



штамм 301

Рисунок 3 – Плодоношение коллекционных штаммов *G. frondosa*
Figure 3 – Fruiting of collection strains of *G. frondosa*

С целью оценки продуктивности коллекционных штаммов определяли их урожайность, биологическую эффективность и коэффициент конверсии за первую волну плодоношения (таблица 1). Средняя урожайность в зависимости от штаммовой принадлежности и состава субстрата варьировала от 4 % от сырой массы субстрата

(штамм 265 на ольховых опилках) до 11 % (штамм 265 на осиновой стружке).

Таким образом, урожайность *G. frondosa* зависит не только от штаммовой принадлежности, но и от опилочного субстрата.

Таблица 1 – Показатели эффективности биоконверсии питательных компонентов субстрата штаммами *G. frondosa*
Tabl 1 – Efficiency indicators of bioconversion of substrate nutrients by *G. frondosa* strains

Штамм	Субстрат	Масса плодовых тел с блока, г		Урожайность, %	Биологическая эффективность, %	Коэффициент конверсии, %
		свежих	сухих			
202	ольха	18,2±1,6	3,7±0,2	9,1	24,6	5,0
	осина	13,8±1,2	3,6±0,2	6,9	17,7	4,6
265	ольха	7,3±0,7	4,6±0,3	3,7	9,9	6,2
	осина	22,7±1,7	5,0±0,4	11,4	29,1	6,4
301	ольха	15,7±0,7	4,8±0,2	7,8	21,2	6,5
	осина	20,6±2,1	4,8±0,3	10,3	26,4	6,2

Биологическая эффективность на блоках с осиновой стружкой варьировала от 18 (штамм 202) до 29 % (штамм 265), на блоках с ольховыми опилками – от 10 (штамм 265) до 25 % (штамм 202). Этот показатель позволяет оценить урожайность грибов на различных по составу и влажности субстратах. Наиболее высокие показатели эффективности биоконверсии питательных компонентов субстрата показали штаммы 265 и 301, это говорит о том, что данные штаммы грибов использовали питательные вещества субстрата максимально хорошо. Это подтверждают и результаты биологической эффективности у этих штаммов.

Наиболее часто антибиотикорезистентными микроорганизмами являются: метициллинрезистентные *S. aureus* (MRSA), бактерии

семейства *Enterobacteriaceae*, продуцирующие β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). В связи с этим бактерии приобретают в лечебных стационарах устойчивость к β-лактамам антибиотикам – пенициллинам и цефалоспорином. Все это затрудняет традиционную терапию гнойно-воспалительных заболеваний (остеомиелита, пневмонии, инфекций мочевыделительной системы, эндокардита, раневых инфекций, сепсиса).

В ходе экспериментальных исследований были изучены антимикробные свойства спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa* в отношении 6 клинических изолятов: *S. aureus* (BC-1, BC-9, BC-12, BC-19), *E. faecalis* 35758 и *E. faecium* 33 VAN-R (таблица 2).

Таблица 2 – Минимальные концентрации спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa*, подавляющие рост тест-микроорганизмов (мкг/мл)

Tabl 2 – Minimum concentrations of alcoholic extracts from *G. frondosa* basidiomes that inhibit the growth of test microorganisms (µg/ml)

Тест-микроорганизмы	Штаммы <i>G. frondosa</i>						
	202 ольха	202 осина	265 ольха	265 осина	301 ольха	301 осина	207 осина
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1250	1250	2500	5000	2500	1250	2500*
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	625*	625	1250	625*	625	625	625
<i>E. faecium</i> 33 VAN-R	1250	2500	2500	1250*	2500	1250	2500*
<i>E. faecalis</i> 35758	312*	625	625	625	625	1250*	625*
<i>S. aureus</i> BC-1	625*	1250	1250	625	1250	1250	2500
<i>S. aureus</i> BC-9	156*	2500	625	156*	625	312*	2500*
<i>S. aureus</i> BC-12	156*	2500	625	312*	625	312*	1250
<i>S. aureus</i> BC-19	2500	2500	625	312*	625	312*	2500*

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

Выполнен *in vitro* скрининг антимикробных свойств экстрактов из базидиом различных штаммов *G. frondosa* (202, 207, 265, 301) по отношению к тест-микроорганизмам. Результаты, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что все спиртовые экстракты из плодовых тел *G. frondosa* (Dicks.) Gray проявили антимикробную активность в отношении тест-микроорганизмов. Установлено, что бактерицидные свойства экстрактов из макромицетов переменны и зависят от штамма гриба и субстрата, на котором его культивировали. Несомненными лидерами стали штаммы FIB-301 и FIB-265. Штамм 301 обладает бактерицидным действием в отношении всех тестируемых культур микроорганизмов, вне зависимости от субстрата, на котором его культивировали. Значения МПК находились в диапазоне от 312 до 2500. Штамм 207, культивированный на осиновом субстрате не обладает бактерицидным действием в отношении *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecium* 33 VAN-R, *S. aureus* БС-9, *S. aureus* БС-19. Штамм 265 прекрасно себя проявил в отношении всех тестируемых клинических изолятов *S. aureus*. Значения МПК находились в диапазоне от 156 до 1250.

По результатам исследований, проведенных нами ранее, было установлено, что штаммы ксилотрофных грибов *G. lingzhi* S. H. Wu, Y. Cao & Y. C. Dai (штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333, 357, 362) и *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. (штаммы 171, 335, 358) в отношении клинического изолята *S. aureus* БС-19 не обладают бактерицидными свойствами [16, 17].

Энтерококки могут вызывать различные инфекции: эндокардит, инфекцию мочевых путей, простатит, внутрибрюшную инфекцию. Ванкомицин-резистентные энтерококки (ВРЭ) могут быть также устойчивыми к другим гликопептидам, аминогликозидам. Нами выявлена эффективность спиртовых экстрактов из базидиом штаммов *G. frondosa* (FIB-202, FIB-265, FIB-301) в отношении *E. faecium* 33 VAN-R.

Нами установлено, что оценивать результат антимикробной активности грибных экстрактов в отношении стафило- и энтерококков лучше на вторые сутки инкубации планшетов в термостате. Для подтверждения бактерицидного действия экстракта на тест-культуры необходимо использовать модифицированный метод тестирования бактерицидности экстрактов МСВТ.

Проведенные исследования показали, что FIB-265, FIB-301 *G. frondosa* могут быть использованы в фунготерапии гнойно-воспалительных

заболеваний, вызванных стафило- и энтерококками. Потенциальным недостатком использования грибных экстрактов из плодовых тел для терапии бактериальных инфекций является подбор штамма базидиальных грибов *G. frondosa*.

Заключение. Проведенные исследования определили фенотипические отличия между штаммами *G. frondosa*, которые проявились в способности к колонизации субстрата, времени плодообразования, продуктивности, интенсивности конверсии веществ питательного субстрата.

Биологическая эффективность выращивания плодовых тел в варианте с осиновыми опилками достигала 29 % (FIB-265). Наиболее высокие показатели эффективности биоконверсии питательных компонентов субстрата показали штаммы 265 и 301.

В результате проведенного скрининга культур *G. frondosa* из коллекции штаммов грибов Института леса были отобраны наиболее перспективные штаммы FIB-265 и FIB-301 в плане плодоношения для внедрения их в производство.

Исследования выявили значительный полиморфизм коллекционных штаммов *G. frondosa* 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 были отобраны наиболее перспективные штаммы *G. frondosa* – FIB-265 и FIB-301.

Бактерицидность спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa* по отношению к тест-микроорганизмам штаммоспецифична. Штамм 202 лучше всего себя показал в отношении *E. faecalis* 35758, *E. faecalis* ATCC 51299; штамм 265 – *E. faecalis* 35758 и клинических изолятов *S. aureus*, штамм 301 – *E. faecalis* ATCC 51299, *S. aureus* БС-9, 12, 19; штамм 207 – *E. faecalis* ATCC 51299.

Список источников

1. Коваленко С.А. *Grifola frondosa* в коллекции штаммов грибов института леса НАН Беларуси // Лесное хозяйство: материалы 87-й науч.-техн. конф. профессор.-препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов (с международным участием), г. Минск, 29 янв. – 16 февр. 2023 г. [Электронный ресурс] / Белорус. гос. технол. ун-т ; отв. за изд. И.В. Войтов. Минск : БГТУ, 2023. С. 142-145.

2. Лекарственные грибы в традиционной китайской медицине и современных биотехнологиях / Ли Юй, Тулигуэл, Бао Хайин, А.А. Широ-

ких [и др.] / под общ. ред. В.А. Сысуева; НИИ сельского хозяйства Северо-Востока. Киров : О-Краткое, 2009. 320 с.

3. Masuda Y., Kodama N., Nanba H. Macrophage J774.1 cell is activated by MZ-Fraction (Klasma-MZ) polysaccharide in *Grifola frondosa* // Mycoscience. 2006. Vol. 47. P. 360-366.

4. Hong L., Xun M., Wutong W. Anti-diabetic effect of an alpha-glucan from fruit body of maitake (*Grifola frondosa*) on KK-Ay mice // J. Pharm. Pharmacol. 2007. Vol. 59. № 4. P. 575-582.

5. Structural characterization and antiviral activity of a novel heteropolysaccharide isolated from *Grifola frondosa* against enterovirus 71 / C. Zhao, L. Gao, C. Wang [at al.] // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 144. P. 382-389.

6. Natural polysaccharides exhibit anti-tumor activity by targeting gut microbiota / L. Liu, M. Li, M. Yu [at al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2019. Vol. 121. P. 743-751.

7. Wu J.-Y., Siu K.-C., Geng P. Bioactive ingredients and medicinal values of *Grifola frondosa* (Maitake) // Foods. 2021. Vol. 10. № 1. URL: <https://doi.org/10.3390/foods10010095>.

8. Tacconelli E. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery and Development. ICAN: African Infection Control Network, 2017. 24 p.

9. Особенности изучения бактерицидных свойств *Ganoderma lingzhi* / Е.И. Дегтярёва, Т.А. Петровская, О.В. Зинкевич, А.В. Дегтярёва // Смоленский медицинский альманах. 2023. № 4. С. 38-41.

10. Stamets P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Berkeley: Ten Speed Press, 2000. 614 p.

11. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев : Наукова думка, 1988. 144 с.

12. ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» P. 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. Available at: <https://www.iso.org/standard/41630.html> (accessed 12 Jun 2021).

13. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): disease burden and challenges in Europe / E. Tacconelli, R. Köck, K. Becker [at al.]. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC), 2010. 15 p.

14. Бактерицидные свойства янтаря и янтарной кислоты в отношении золотистого стафилококка / Е.И. Дегтярёва [и др.] // Вестник «НовГУ». 2022. № 2 (127). С. 69-75.

15. Дегтярёва Е.И., Коваленко С.А. Антимикробные и фунгицидные свойства ксилотрофных базидиомицетов, культивируемых на растительных субстратах с добавлением микроудобрений // Экологический Вестник Северного Кавказа. 2021. Т. 17. № 2. С. 28-37.

16. Влияние микроудобрений на урожайность, антимикробные и фунгицидные свойства ксилотрофных базидиомицетов / С.А. Коваленко, Е.И. Дегтярёва, Ю.В. Атанасова [и др.] // Веснік МДПУ імя І. П. Шамякіна. 2021. № 2 (58). С. 14-20.

17. Бактерицидные свойства *Ganoderma lucidum* в отношении золотистого стафилококка / Е.И. Дегтярёва, С.А. Коваленко, Ю.В. Вольштейн [и др.] // Проблемы лесоведения и лесоводства : сб. науч. тр. Ин-та леса НАН Беларуси. Гомель : Ин-т леса НАН Беларуси, 2023. Вып. 83. С. 316-328.

18. Бактерицидные свойства *Ganoderma lingzhi* / Е.И. Дегтярёва, С.А. Коваленко, Т.А. Петровская [и др.] // Лесное хозяйство : материалы 88-й науч.-техн. конф. профессор.-препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов (с междунар. участием), Минск, 29 янв. – 16 февр. 2024 г. [Электронный ресурс] / Белорус. гос. технол. ун-т; отв. за изд. И.В. Войтов. Минск : БГТУ, 2024. С. 92-96.

References

1. Kovalenko S.A. *Grifola frondosa* in the fungal strain collection of the Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus // Forestry: Proc. of the 87th Scientific and Technical Conf. of professors, teaching staff, research associates and postgraduate students (with international participation), Minsk, January 29 – February 16, 2023 [Electronic resource] / Belarusian State Technological University; ed. I.V. Voitov. Minsk: BSTU, 2023. Pp. 142-145.

2. Medicinal mushrooms in traditional Chinese medicine and modern biotechnology / Li Yu, Tuliguel, Bao Haiying, A.A. Shirokih [et al.] / edited by V.A. Sysuev; Research Institute of Agriculture of the North-East. Kirov: O-Kratkoe, 2009. 320 p.

3. Masuda Y., Kodama N., Nanba H. Macrophage J774.1 cell is activated by MZ-Fraction (Klasma-MZ) polysaccharide in *Grifola frondosa* // Mycoscience. 2006. Vol. 47. P. 360-366.

4. Hong L., Xun M., Wutong W. Anti-diabetic effect of an alpha-glucan from the fruit body of maitake (*Grifola frondosa*) on KK-Ay mice // *J. Pharm. Pharmacol.* 2007. Vol. 59. No. 4. P. 575-582.
5. Structural characterization and antiviral activity of a novel heteropolysaccharide isolated from *Grifola frondosa* against enterovirus 71 / C. Zhao, L. Gao, C. Wang [at al.] // *Carbohydr. Polym.* 2016. Vol. 144. P. 382-389.
6. Natural polysaccharides exhibit anti-tumor activity by targeting gut microbiota / L. Liu, M. Li, M. Yu [at al.] // *Int. J Biol. Macromol.* 2019. Vol. 121. R. 743-751.
7. Wu J.-Y., Siu K.-C., Geng P. Bioactive ingredients and medicinal values of *Grifola frondosa* (Maitake) // *Foods.* 2021. Vol. 10. No. 1. URL: <https://doi.org/10.3390/foods10010095>.
8. Tacconelli E. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery and Development. ICAN : African Infection Control Network, 2017. 24 p.
9. Features of the study of bactericidal properties of *Ganoderma lingzhi* / E.I. Degtyareva, T.A. Petrovskaya, O.V. Zinkevich, A.V. Degtyareva // *Smolensk Medical Almanac.* 2023. No. 4. P. 38-41.
10. Stamets P. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms.* Berkeley: Ten Speed Press, 2000. 614 p.
11. Bukhalo A.S. Higher edible basidiomycetes in pure culture. Kyiv : Naukova Dumka, 1988. 144 p.
12. ISO 20776-1:2006 "Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices" P. 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. Available at: <https://www.iso.org/standard/41630.html> (accessed 12 Jun 2021).
13. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): disease burden and challenges in Europe / E. Tacconelli, R. Köck, K. Becker [at al.]. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC), 2010. 15 p.
14. Bactericidal properties of amber and succinic acid against *Staphylococcus aureus* / E.I. Degtyareva [et al.] // *Bulletin of Novgorod State University.* 2022. No. 2 (127). P. 69-75.
15. Degtyareva E.I., Kovalenko S.A. Antimicrobial and fungicidal properties of xylotrophic basidiomycetes cultivated on plant substrates with the addition of microfertilizers // *Ecological Bulletin of the North Caucasus.* 2021. Vol. 17. No. 2. P. 28-37.
16. The effect of microfertilizers on crop yield, antimicrobial and fungicidal properties of xylotrophic basidiomycetes / S.A. Kovalenko, E.I. Degtyareva, Yu.V. Atanasova [et al.] // *Vesnik MDPU named after I. P. Shamyakin.* 2021. No. 2 (58). P. 14-20.
17. Bactericidal properties of *Ganoderma lucidum* against *Staphylococcus aureus* / E.I. Degtyareva, S.A. Kovalenko, Yu.V. Volshtein [et al.] // *Problems of forestry and silviculture: collection of scientific papers of the Forest Institute of the NAS of Belarus.* Gomel: Forest Institute of the NAS of Belarus, 2023. Issue 83. P. 316-328.
18. Bactericidal properties of *Ganoderma lingzhi* / E.I. Degtyareva, S.A. Kovalenko, T.A. Petrovskaya [et al.] // *Forestry: Proc. of the 88th Scientific and Technical Conf. of professors, teaching staff, research associates and postgraduate students (with international participation), Minsk, January 29 – February 16, 2024 [Electronic resource] / Belarusian State Technological University; responsible for the publication I.V. Voitov. Minsk : BSTU, 2024. Pp. 92-96.*

Сведения об авторах

Елена Ивановна Дегтярёва, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь, Гомель, elena.degtyaryova@tut.by

Снежана Александровна Коваленко, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий сектором пищевых и лекарственных ресурсов леса, Государственное научное учреждение «Институт леса Национальной академии наук Беларуси», Беларусь, Гомель, snejana.kovalenko@mail.ru

Татьяна Александровна Петровская, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь, Гомель, tuzhik84@mail.ru

Оксана Викторовна Зинкевич, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь, Гомель, zinkevich_ksenia@mail.ru

Анна Васильевна Дегтярёва, студентка лечебного факультета, Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь, Гомель, anna.degtyaryova@tut.by

Information about Authors

Elena Ivanovna Degtyareva, PhD in Biology, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Educational Institution «Gomel State Medical University», Belarus, Gomel, elena.degtyaryova@tut.by

Snezhana Alexandrovna Kovalenko, PhD in Agriculture, Associate Professor, Head of Forest Food & Medicinal Resources Sector, State Scientific Institution «Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus», Belarus, Gomel, snejana.kovalenko@mail.ru

Tatyana Alexandrovna Petrovskaya, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Educational Institution «Gomel State Medical University», Belarus, Gomel, tuzhik84@mail.ru

Oksana Viktorovna Zinkevich, Assistant of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Educational Institution «Gomel State Medical University», Belarus, Gomel, zinkevich_ksenia@mail.ru

Anna Vasilievna Degtyareva, medical student, Educational Institution «Gomel State Medical University», Belarus, Gomel, anna.degtyaryova@tut.by

Вклад авторов: авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации и заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Author contributions: The authors have made equivalent contribution to the publication and declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 25.09.2024; одобрена после рецензирования 05.11.2024; принята к публикации 14.11.2024

The article was submitted 25.09.2024; approved after reviewing 05.11.2024; accepted for publication 11.11.2024