

А.С. Велюгина, мл. науч. сотр.;  
С.А. Коваленко, зав. сектором, канд. с.-х. наук  
(ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», г. Гомель)

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РОСТА МИЦЕЛИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ *INONOTUS OBLIQUUS*

Одним из перспективных и высокотехнологичных сегментов мирового рынка биотехнологий является промышленное культивирование высших грибов в контролируемых условиях. В процессе культивирования они накапливают высокоактивные вторичные метаболиты, на основе которых производят лекарственные средства.

Перспективным объектом для разработки на его основе лекарственных препаратов, пищевых добавок и косметических средств различной направленности действия является гриб *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát [1]. Согласно Фармакопее XIV, этот гриб, природного происхождения, является лекарственным сырьем и проявляет широкий спектр терапевтической активности. Основным действующим компонентом чаги является хромогенный комплекс, отнесенный к меланинам [2, 3].

Экстракты гриба *I. obliquus* содержат высокомолекулярный пигментный или так называемый полифенольный комплекс, имеющий сложный химический состав, значительную часть в котором занимают разнообразные фенольные соединения. Соединения полифенольного комплекса гриба *I. obliquus* обладают следующими биологически активными свойствами: антибактериальными, противоопухолевыми, противовоспалительными, антиоксидантными; эффективно подавляют перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, предотвращают одноцепочные разрывы ДНК, повреждения биомембран, окисление SH групп белков и глутатиона [4, 5]. Показано, что экстракты и меланин чаги проявляют противовирусную активность в отношении вирусов гриппа, простого герпеса 2-го типа, иммунодефицита (ВИЧ-1) и осповакцины. Особого внимания заслуживает эффективность водных экстрактов и меланина чаги в отношении новой коронавирусной инфекции, доказано, что они ингибируют репликацию коронавируса SARS-CoV-2 [6, 7]. Чага, стерильная форма трутовика скошенного, является едва ли не единственным базидиальным грибом, внесенным в государственную фармакопею и реестр лекарственных средств Республики Беларусь.

На сегодняшний день из природного сырья трутовика скошенного производят лекарственный препарат Бефунгин, который, наряду с измельченной чагой, внесен в государственные реестры лекарственных препаратов Беларуси и Российской Федерации.

В последние годы в странах Азии наблюдается повышенный спрос на натуральную чагу. В этой связи отечественные производители увеличивают объемы производства данного вида продукции. Большие объемы заготовки гриба *I. obliquus*, учитывая длительное время возобновления (не менее 4-5 лет), привели к истощению его запасов в природе. В связи с этим актуальным является разработка биотехнологии гриба *I. obliquus*, что позволит заменить дефицитное природное сырье на биомассу, полученную в искусственных условиях. При культивировании гриба, важным является селекция высокопродуктивных штаммов, подбор условий [5].

Объектами наших исследований являлись 20 изолятов *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát – трутовик скошенный, или чага (все штаммы прошли видовую идентификацию в лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»). Изоляты были отобраны в результате предварительного скрининга на способность образовывать зачатки плодовых тел.

Изучение морфолого-культуральных особенностей развития мицелия штаммов *I. obliquus* осуществлялось *in vitro* в стандартных условиях культивирования на агаризованном солодовом экстракте в трехкратной повторности (сахаристость 4%, рН 6,5) по стандартным методикам, разработанным для исследования высших базидиальных грибов (Бухало, 1988). Культуры инкубировали в термостате при температуре 25°C. Ростовой коэффициент (РК) рассчитывали на 10-е сутки по методике А.С. Бухало.

Полное зарастание чашки Петри трутовиком скошенным наблюдалось на 10-24 сутки. Все штаммы по радиальной скорости роста колоний грибов условно были разделены на группы: быстрорастущие (более 3,5 мм/сут), растущие с умеренной скоростью (3-3,5 мм/сут), медленно растущие (до 3,0 мм/сут). Установлено, что изучаемые штаммы обладают различными макроморфологическими показателями роста на солодовой агаризованной среде (САС) (таблица).

К быстрорастущим штаммам можно отнести штаммы 535, 621, 591. Скорость роста составляла 3,8 – 4,2 мм в сутки, а полное обрастание чашек Петри наблюдалось на 10-11 сутки. Ростом с умеренной скоростью отличались штаммы 499, 500, 501, 534, 563, 566, 597, 610, 611, 621, 622. В данном случае обрастание чашек наблюдалось на 11-16 сутки. Медленно растущими штаммами оказались 544, 565, 587, 588, 589, 590, 608, 623. Значения ростовых коэффициентов варьировали от 16,5 (FIB-544) до 81 (FIB-535).

Таблица – Особенности роста штаммов *I. obliquus* на САС

№	Штамм	Диаметр колонии, ( $\bar{X} \pm m_x$ ), мм			Скорость роста колонии, мм / сут	РК	Полное обрастание, сут
		5 сут.	7 сут.	10 сут.			
1	FIB-499	28,3±0,9	42,3±1,4	65,3±0,8	3,0	58,8	14-16
2	FIB-500	33,0±0,5	46,0±1,0	66,3±0,9	3,0	59,7	17-18
3	FIB-501	34,7±1,4	48,2±1,0	69,7±0,5	3,2	62,7	17
4	FIB-534	32,8±1,1	49,7±1,1	70,0±1,4	3,2	63,0	14
5	FIB-535	50,5±0,4	69,7±0,7	90,0±0,0	4,2	81,0	10
6	FIB-544	21,5±0,6	29,8±1,7	44,0±1,6	1,9	16,5	24
7	FIB-563	32,0±1,1	45,7±1,6	70,0±1,5	3,2	42,0	12-13
8	FIB-565	27,8±0,9	35,2±0,5	57,7±1,2	2,6	43,3	15
9	FIB-566	36,5±1,1	51,2±0,3	73,7±0,8	3,4	55,0	12-13
10	FIB-587	35,2±0,3	46,3±0,2	62,3±0,8	2,8	46,8	14
11	FIB-588	34,5±0,2	46,0±0,4	64,2±0,3	2,9	48,1	14
12	FIB-589	30,8±0,4	42,2±0,3	61,2±0,7	2,8	45,9	14
13	FIB-590	33,3±0,2	45,3±0,2	64,2±0,5	2,9	57,8	14
14	FIB-597	37,2±0,8	56,5±0,5	82,0±0,6	3,8	61,5	11
15	FIB-608	23,0±0,8	39,2±0,7	64,5±0,9	2,9	29,0	13
16	FIB-610	35,0±0,6	51,0±0,4	76,2±0,4	3,5	45,7	12
17	FIB-611	33,3±0,2	46,3±0,5	71,2±0,6	3,3	42,7	13
18	FIB-621	39,3±0,4	55,2±0,3	83,8±0,5	3,9	62,9	11
19	FIB-622	38,8±0,7	50,3±0,2	75,5±0,5	3,5	45,3	13
20	FIB-623	29,2±0,5	42,3±0,7	64,8±0,4	2,9	38,9	14

Макропризнаки культуры также имели значительные различия. Так было выделено 3 основных вида текстуры колонии: пушистая, войлочная и колонии с пушистым краем и войлочной центральной частью. В первые сутки зарастания среды все штаммы имели пушистую текстуру, однако со временем она менялась. Некоторые штаммы так и оставались пушистыми (FIB-590), а у некоторых мицелий полностью становился свалывшимся, без приподнимающихся гиф – войлочным (565, 566, 597, 608). Остальные штаммы сохраняли баланс в виде пушистого края колонии и войлочной центральной части.

Цвет наружной поверхности колоний варьировал от кремово-бежевого до коричневого. Большинство исследуемых колонии обладали желтым цветом преимущественно в центральной части. Данный оттенок появлялся у мицелия в большинстве случаев на 5 сутки роста. Поверхность колонии в основном имела крупные зоны, отличающиеся по цветам. Также были отмечены штаммы с ровной (608) и лопастной (544) поверхностями. Форма колонии по характеру развития воздушного мицелия была двух типов. Неравномерный тип формы колонии с увеличением к центру наблюдался у 11 штаммов (499, 544, 563, 565, 566, 587, 588, 589, 590, 621, 623). У остальных штаммов наблюдался равномерный тип.

Центральная часть колоний по строению была плоской. Край колонии в подавляющем большинстве случаев прижатый. Внешняя линия колонии во многих случаях гладкой. Реверзум (обратная сторона колонии) полностью потемнел у штаммов 589, 608, 610, 611, 623. У некоторых колоний наблюдалась затемненность в зоне инокулюма (544, 563, 565, 566, 587, 621, 622). У всех штаммов *I. obliquus* на 10-16 сутки роста появлялись зачатки плодовых тел – трубочки. Примордии (трубочки) образовывались либо на блоке инокулюма, либо на среде в центральной зоне и имели серый либо коричневый оттенок.

Таким образом, следует отметить, что *I. obliquus* является перспективным видом с хорошими возможностями для биотехнологии благодаря своему штаммовому разнообразию, способности поддерживаться в чистой культуре на протяжении длительного времени и способности осваивать искусственные субстраты.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Буренков С.С. Особенности развития березового гриба *Inonotus obliquus* Pil // *Eo ipso*. 2024. № 3. С. 18-21.

2. Бурмасова М.А., Сысоева М.А. Химический состав и биологическая активность бутанольной фракции, выделенной из меланина чаги // *Химико-фармацевтический журнал*. 2017. Т. 51. №. 4. С. 45-47.

3. Чернигова Е.Г., Григорьева К.В., Баженов Б.Н., Шабалина О.В. Влияние условий экстракции на свойства препаратов березового гриба *Inonotus obliquus* (чага) // *Вестник Иркутского университета*. 2022. Вып. 25. С. 66-67.

4. Ли Н.Г., Каленик Т.К., Моткина Е.В., Моткина М.А. Исследование компонентного состава СО<sub>2</sub>-экстракта березового гриба *Inonotus obliquus* методом хромато-масс-спектрометрии // *XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс*. 2020. Т. 9. № 1(49). С. 105-110.

5. Вишневецкий М.В. Чага: звездный час. Современные сведения об уникальном российском грибе. М.: Проспект, 2022. 128 с.

6. Исследование противовирусной активности водорастворимого меланина из аптечной чаги (*Inonotus obliquus*) в отношении вируса гриппа А субтипов H5N1, H3N2 и H1N1pdm09 в экспериментах *in vitro* Филиппова Е.И. [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023. Т. 100. №1. С. 103-109.

7. Дедов Д.В., Усольцева О.Н. Березовый гриб чага: противовоспалительное, антиоксидантное, иммуномодулирующее, противовирусное действие и возможности применения российского препарата БиоЧага у больных COVID-19 // *Врач*. 2022. Т. 33. №. 8. С. 85-87.