

5-бөлім  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Раздел 5  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Section 5  
**BIOTECHNOLOGY**

<sup>1</sup>Мустафин К.Г.,

<sup>2</sup>Ахметсадыков Н.Н.,

<sup>3</sup>Бисько Н.А., <sup>2</sup>Сулейменова Ж.Б.,

<sup>2</sup>Нармуратова Ж.Б.,

<sup>2</sup>Садуаева Ж.К.

<sup>1</sup>Алматын университеті энергетикасы және байланыс техникасы, Қазақстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Научно-производственное предприятие «Антиген», Қазақстан, г. Алматы

<sup>3</sup>Институт Ботаники имени М.Г. Холодного, Украина, г. Киев

### Подбор оптимальных условий культивирования для повышенного синтеза биомассы базидиального гриба *Trametes versicolor*

<sup>1</sup>Mustafin K.G.,

<sup>2</sup>Ahmetsadykov N.N., <sup>3</sup>Bisko N.A.,

<sup>2</sup>Suleimenova Zh.B.,

<sup>2</sup>Narmuratova Zh.B.,

<sup>2</sup>Saduyeva Zh.K.

<sup>1</sup>Almaty University of Power Engineering & Telecommunications, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Research and production company «Antigen», Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>M.G. Kholodny Institute of Botany, Ukraine, Kiev

### Selection of the optimal culture conditions for high biomass synthesis by *Trametes versicolor*

<sup>1</sup>Мустафин К.Г.,

<sup>2</sup>Ахметсадыков Н.Н.,

<sup>3</sup>Бисько Н.А., <sup>2</sup>Сулейменова Ж.Б.,

<sup>2</sup>Нармуратова Ж.Б.,

<sup>2</sup>Садуаева Ж.К.

<sup>1</sup>Алматы энергетика және байланыс университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>ЖШС ҒӨК «Антиген», Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>М.Г. Холодной атындағы Ботаника институты, Украина, Киев

### *Trametes versicolor* базидиальді саңырауқұлағының биомасса синтезін жоғарылату үшін дақылдаудың тұрақты жағдайына іріктеме жасау

Настоящая статья посвящена изучению оптимальных условий культивирования (состав питательной среды, температура, pH, скорость растворения кислорода) для повышенного синтеза грибной биомассы в условиях глубинного культивирования. Объектами исследований служили штаммы гриба *T. versicolor* 353, 5095, 5131 из коллекции шляпочных грибов Института ботаники НАН Украины. Исследование роста исследуемых штаммов на питательных средах с разными источниками углерода и азота позволило установить, что наиболее подходящим источником азота для всех штаммов был пептон, а углерода – глюкоза. Установлено, что из всех исследуемых штаммов *T. versicolor* 353 является биотехнологически перспективным объектом для получения биомассы и экзополисахаридов при культивировании на глюкозо-пептон-дрожжевой среде. Оптимальное соотношение концентрации углерода к азоту в питательной среде составляет C/N = 26,6. В этих условиях штамм *T. versicolor* 353 способен синтезировать на глюкозо-пептон-дрожжевой среде до 11,6 г/л биомассы. Оптимальными параметрами глубинного культивирования штамма *T. versicolor* 353 для максимального накопления биомассы являются следующие: температура 30,0±1,0°C, pH 5,0±0,5, скорость растворения кислорода (гО<sub>2</sub>/л•ч) – 0,55.

**Ключевые слова:** *Trametes versicolor*, биологически активные соединения, биомасса, глубинное культивирование, гриб.

For most substances, fungal biomass obtained by submerged cultivation has higher nutritional value. In present study optimal culture conditions (composition of culture medium, temperature, pH, oxygen dissolution rate) for increased biomass synthesis in submerged culture have been studied. The objects of research work were strains *T. versicolor* 353, 5095, 5131 from the collection of mushrooms of the Institute of Botany of Ukraine. Investigation of the tested strains growth on nutrient media with different carbon and nitrogen sources revealed that the most appropriate nitrogen source for all strains was peptone and the carbon-glucose. It was found that among all of strains tested the *T. versicolor* 353 is perspective strain for biomass and exopolysaccharides production when cultivated on glucose-peptone-yeast medium. The optimal C/N ratio was 26,6. *T. versicolor* 353 is able to synthesize in glucose-peptone-yeast medium up to 11.6g/l of biomass. The optimal parameters of submerged cultivation of *T. versicolor* 353 strain for maximal accumulation of fungal biomass are as follows: temperature 30,0±1,0°C, pH 5,0±0,5, the oxygen dissolution rate (gO<sub>2</sub>/l/h) – 0.55.

**Key words:** *Trametes versicolor*, biologically active compounds, biomass, submerged cultivation, fungi.

Мақала ерекшелігі дақылдандырудың терең жағдайында саңырауқұлақ биомассасының синтезін арттыру үшін дақылдандырудың тұрақты жағдайында зерттеу (қоректік ортаның құрамы, температура, pH, оттегі еруінің жылдамдығы). Украинадағы М.Г. Холодной атындағы ботаника институтындағы қалпақты саңырауқұлақ жинағынан зерттеу объектісі ретінде *T. Versicolor* 353, 5095, 5131 саңырауқұлақтың штамдары қолданылды. Зерттеуге алынған штамның қоректік ортада әр түрлі көмірсу және азот көздерінде өсуді зерттеу, барлық штамм түрлеріне, көбінесе жақсы әсер еткен азот – пептон, ал көмірсудан – глюкоза болып табылатындығы анықталды. Глюкоза-пептон ашытқы ортасында дақылдау кезінде экзополисахаридтердің және биомассы алу үшін, барлық зерттеу штамдарының ішінде *T. versicolor* 353 штамы биотехнологиялық кең объект болатындығы дәлелденді. Қоректік ортада азоттың көмірсуға концентрациясының тұрақты қатынасы C/N = 26,6. Бұл жағдайда *T. versicolor* 353 штамы глюкоза-пептон ашытқы ортасында 11,6 г/л-ге дейін биомасса синтездеуге қабілетті. *T. versicolor* 353 штамын тұрақты тәсілдермен тереңдік дақылдандыру кезінде биомассаның максималды дәрежесіне жету үшін келесідей болу қажет: температура 30,0±1,0 °C, pH 5,0±0,5, оттегі еріту жылдамдығы (гО<sub>2</sub>/л\*ч) – 0,55.

**Түйін сөздер:** *Trametes versicolor*, биологиялық белсенді қосылыстар, биомасса, тереңдік дақылдау, саңырауқұлақ.

**ПОДБОР ОПТИМАЛЬ-  
НЫХ УСЛОВИЙ  
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ  
ДЛЯ ПОВЫШЕННОГО  
СИНТЕЗА БИОМАССЫ  
БАЗИДИАЛЬНОГО  
ГРИБА *TRAMETES  
VERSICOLOR***

Одним из приоритетных направлений развития современной микологии является разработка технологии получения биологически активных соединений с использованием базидиальных грибов, которые являются продуцентами целого ряда биологически активных веществ – белков, липидов, полисахаридов, органических кислот, ферментов, витаминов и др. Многие из этих соединений являются фармакологически активными и, по сравнению с продуктами химического синтеза, менее токсичными и более эффективными. Большинство работ по поиску и выделению биологически активных веществ базидиомицетов проведены с использованием плодовых тел [1-9]. Известно, что биологически активные соединения, получаемые из высших грибов содержатся не только в базидиомах, но и в вегетативном мицелии гриба, получаемом путем жидкофазного и твердофазного культивирования [10-13]. Важным преимуществом получения биомассы мицелия с помощью биотехнологических методов являются экологическая чистота получаемых препаратов, возможность создания крупномасштабного производства и доступность сырьевых ресурсов.

Одним из наиболее перспективных видов ксилотрофных грибов является *T. versicolor* (трутовик разноцветный) – гриб, имеющий тысячелетнюю историю применения в качестве лекарства от многих болезней. Гриб содержит полноценный комплекс биологически активных веществ, из которых наиболее важными являются иммуномодулирующие и противоопухолевые полисахариды, регулирующие процессы метаболизма. К первым полисахаридным препаратам онкостатического действия, которые начали производить в Японии, относятся крестин (PSK) из мицелия *T. versicolor*, который представляет собой β-D-глюкан-протеиновый комплекс [14, 15]. Кроме того, гриб содержит в себе белки, ферменты, витамины и необходимые организму человека аминокислоты. Считается, что основными действующими компонентами белково-полисахаридных комплексов являются высокомолекулярные глюканы, гликаны и гетерополисахариды, обладающие способностью тормозить рост опухолей. Глюканы с высоким молекулярным весом оказались более эффективными, чем низкомолекулярные.

Грибные полисахариды способствуют предотвращению онкогенеза, обладают выраженной противоопухолевой активностью в отношении различных аллогенных и сингенных опухолей и предотвращают развитие метастаз. Полисахариды не воздействуют на раковые клетки непосредственно, а активизируют различные иммунные реакции в организме. Проявление полисахаридами разнообразного противоопухолевого воздействия является результатом усиления ответной реакции предшественников T – клеток и макрофагов на цитокины, произведенные лимфоцитами после специфического распознавания опухолевых клеток. Вторичные же метаболиты с низкой молекулярной массой оказывают влияние на такие процессы, как апоптоз, ангиогенез, развитие метастазов, регуляция клеточного цикла и передача сигнальных каскадов в клетке [16].

В настоящее время 70% – 80% всех грибных препаратов получают из плодовых тел и 20% – 30% – из экстракта мицелия грибов и культуральной жидкости [17-19]. Получение препаратов из плодовых тел обычно занимает несколько месяцев и, более того, в таких условиях очень трудно контролировать качество производимого продукта. В этом отношении получение грибной биомассы в условиях глубинного культивирования при оптимальных условиях выращивания может стать экономически целесообразным и доступным способом получения высококачественной экологически чистой продукции. Существующие исследования по искусственному выращиванию высших грибов направлены на увеличение выхода целевых продуктов (биомассы, белка, аминокислот), создание грибного аромата, разработку новых относительно дешевых и простых питательных сред. Одним из вариантов этих направлений может быть также поиск или создание новых промышленных штаммов грибов, оптимизация качественного и количественного состава питательных сред для направленного биосинтеза биологически активных соединений. При этом следует отметить, что выращивание биомассы глубинным способом по скорости процесса более чем на порядок выше, чем традиционное получение плодовых тел, что позволяет значительно сократить время получения биомассы, увеличить ее количество, а за счет оптимизации состава питательной среды и условий культивирования проводить направленный синтез биологически активных соединений.

Данные о динамике накопления в биомассе лекарственных базидиомицетов отдельных биологически активных соединений, особенностях

их структуры, биологической активности, методах управления процессами их биосинтеза являются неполными. В связи с этим актуальным является проведение исследований, направленных на получение биомассы гриба *T. versicolor* в условиях глубинного культивирования.

## Материалы и методы

Объектами исследований служили штаммы гриба *T. versicolor* 353, 5095, 5131 из коллекции шляпочных грибов Института ботаники имени Н.Г.Холодного НАН Украины. Исходные культуры выращивали на сусле – агаре в течение 5-7 суток. Эксперименты ставили на лабораторных качалках (80 и 150 об/мин) в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл жидкой среды. Среды инокулировали гомогенизированной биомассой определенного штамма (10 % по объему) и инкубировали при температуре  $28,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  [20].

Глубинное культивирование проводили на жидких средах следующего состава:

1) глюкозо – пептон – дрожжевая среда (ГПД), г/л: глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дрожжевой экстракт – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,25; вода – 1 л.

2) нативная молочная сыворотка производства ОАО «Яготинского маслозавода», массовая часть (%): лактоза – 60; белок – 10; липиды – 2; молочная кислота – 7,85; витамины – 0,15; зола – 7.

3) нативная крахмальная крупка (отход производства ОАО «Кремнянского крахмального завода»). Состав, массовая часть (%): крахмал – 76,3; белок – 15,6; липиды – 1,3; эндополисахариды – 5,2; зола – 1,6.

4) глюкозо-аспарагиновая среда (ГА), (г/л): глюкоза – 10,0; аспарагин – 0,4;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5; вода – 1 л

Полученную биомассу отфильтровывали через капроновые фильтры и дважды промывали дистиллированной водой. Грибную биомассу рассчитывали весовым методом по абсолютно сухому веществу после высушивания при температуре  $105,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  до постоянного веса. В конце культивирования в культуральной жидкости измеряли значения pH.

При исследовании влияния разных источников углерода и азота на синтез биомассы штаммы культивировали на стандартной среде (глюкоза+дрожжевой экстракт, ГДЭ) такого состава, г/л: глюкоза – 20, дрожжевой экстракт – 2,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  – 4,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,25; вода дистиллированная – 1 л. Для изучения влияния

разных источников углерода на синтез биомассы в питательные среды вместо глюкозы в качестве источника углерода добавляли сахарозу, мальтозу или крахмал в количестве, эквивалентном 20 г глюкозы по углероду. В качестве источника азота вместо  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  использовали  $\text{KNO}_3$  и пептон, которые вносили в среду в количестве, эквивалентном 4 г  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  по азоту.

Для установления влияния соотношения источников углерода и азота в питательной среде на накопление биомассы использовали 2 варианта сред ГПД. В 1-й вариант среды входил оптимальный для вида источник углерода, эквивалентный 20, 25, 30 или 35 г глюкозы по углероду и оптимальный для этого вида источник азота, эквивалентный 4 г  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  по азоту. Во 2-й вариант среды входил оптимальный для вида по составу и концентрации источник углерода и оптимальный для вида источник азота в концентрациях эквивалентных 4, 5 или 6 г  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Штаммы культивировали в стационарных условиях при 28 °С в течение 14 суток.

Питательную среду инокулировали 4 дисками ( $d = 0,7$  мм) мицелия исследуемого штамма, который был выращен на ГПДА (среда ГПД агаризованная). Штаммы культивировали поверхностным способом на протяжении 14 суток при 28 °С. Биомассу отфильтровывали и высушивали при 105 °С до постоянной массы.

Исследования роста культур при разных значениях концентрации ионов водорода (рН) проводили в 100 мл конических колбах с 50 мл синтетической среды. До стерилизации кислотность среды до разных значений рН доводили с помощью 1N HCl или 1N NaOH. После стерилизации рН среды составило 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 и 7,0. Инокулированные среды дисками мицелия (диаметр дисков 7 мм) колбы со средой с выше упомянутыми рН инкубировали поверхностно при температуре  $28,0 \pm 2,0$  °С в течение 29 суток.

Скорость растворения кислорода в среде определяли сульфитным методом, который является наиболее удобным среди известных методов оценки степени аэрирования куль-туральной среды и который характеризует скорость растворения кислорода и одновременно с этим позволяет определить его количество, необходимое для достижения максимального экономического коэффициента образования того или иного продукта [21].

Повторность проведения опытов – трех – и пятикратная. Результаты, полученные при сравнительном изучении штаммов, обработаны статистическими методами анализа, вычислены значения средних квадратических отклонений, коэффициентов вариации, доверительных интервалов с помощью компьютерных пакетов Microsoft Office Excell и StatSoft Statistika 6.0. В таблицах и рисунках представлены средние статистически достоверные данные.

### Результаты и их обсуждение

Подбор состава питательной среды для повышенного синтеза грибной биомассы гриба *Trametes versicolor*

Большое влияние на накопление биомассы, физиологическую активность и синтез биологически активных соединений оказывают правильно подобранные источники углеродного и азотного питания. В качестве источников углеродного питания исследовались моносахариды (глюкоза), дисахариды (мальтоза) и полисахариды (крахмал). В качестве источников азота исследовались пептон,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  и  $\text{KNO}_3$ .

Полученные результаты свидетельствуют, что все исследованные штаммы *T. versicolor* растут на питательных средах с углеродными соединениями разной природы (таблица 1). Максимальное количество биомассы на всех средах отмечено у штамма *T. versicolor* 353. Максимальное количество биомассы наблюдалось на глюкозе, затем следовала сахароза, мальтоза и крахмал.

**Таблица 1** – Количество биомассы штаммов *T. versicolor* (г/л) на ГДЭ (глюкоза+дрожжевой экстракт) среде с различными источниками углерода на 14 сутки культивирования

| Штамм      | Источники углерода |              |              |              |
|------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|
|            | Глюкоза            | Крахмал      | Мальтоза     | Сахароза     |
| <b>353</b> | <b>4,25±</b>       | <b>2,50±</b> | <b>2,83±</b> | <b>4,00±</b> |
| 5095       | 2,66±              | 1,33±        | 2,25±        | 2,51±        |
| 5131       | 2,33±              | 2,33±        | 3,25±        | 1,25±        |

Исследование роста вышеперечисленных видов и штаммов на питательных средах с разными источниками углерода и азота позволило установить, что все культуры способны усваивать широкий спектр углеродных субстратов. Наиболее подходящим источником азота для всех штаммов был пептон.

Нами было установлено, что наилучшим источником азота для накопления биомассы всеми исследованными штаммами *T. versicolor*

был пептон (таблица 2). Положительное влияние пептона на рост штаммов заключается в его комплексном составе, в который входят высоко- и низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты. Более того, в состав пептидов также входят ростовые вещества, что делает пептон отличным источником азотного питания для базидиальных грибов. Аммиачный и нитратный азот усваивался культурами в меньшей степени.

**Таблица 2** – Количество биомассы штаммов *T. versicolor* (г/л) на ГДЭ (глюкоза + дрожжевой экстракт) среде с различными источниками азота на 14 сутки культивирования

| Штамм      | Источник азота                                   |              |                  |
|------------|--|--------------|------------------|
|            | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | Пептон       | KNO <sub>3</sub> |
| <b>353</b> | <b>2,66±</b>                                     | <b>8,50±</b> | <b>5,36±</b>     |
| 5095       | 2,50±  | 7,45±        | 5,62±            |
| 5131       | 2,330,17   | 6,70±        | 4,17±            |

Оптимизация среды для повышенного синтеза биомассы грибов *T. versicolor* включает в себя не только подбор оптимальных источников углерода и азота, но и поиск их оптимального соотношения (таблицы 3, 4). Необходимые для максимального синтеза биомассы значения количественного соотношения углерода и азота в среде можно получить двумя путями: в первом случае варьируя концентрацией источника углерода при постоянной концентрации азота, во

втором – наоборот. В связи с этим, было исследовано влияние количественного соотношения углерода и азота в питательных средах на синтез биомассы *T.versicolor* в обоих случаях. Для *T. versicolor* 353 увеличение концентрации глюкозы в питательной среде до 25 или 30 г/л с повышением соотношения С к N до 22,2 или 26,6 стимулировало синтез биомассы, количество которой возрастало на 14,0 – 85,0 % (таблица 3).

**Таблица 3** – Накопление биомассы культурой *T. versicolor* 353 на среде ГПД с разными концентрациями углерода

| Штамм                    | Содержание глюкозы в среде, г/л |             |              |             |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------|-------------|
|                          | 20                              | 25          | 30           | 35          |
|                          | C:N = 17,7                      | C:N = 22,2  | C:N = 26,6   | C:N = 31,1  |
| <i>T. versicolor</i> 353 | 8,50 ± 0,27                     | 9,01 ± 0,21 | 11,66 ± 0,46 | 6,61 ± 0,24 |

Дальнейшее повышение содержания глюкозы в среде до 35 г/л ингибировало синтез биомассы. При соотношении С к N = 31,1 процесс синтеза замедлялся, количество биомассы уменьшалось почти в 2 раза по сравнению с количеством биомассы при 30 г/л глюкозы в среде. Результаты экспериментов по изучению влияния

концентрации пептона в питательной среде на накопление биомассы штаммом *T. versicolor* 353 показали, что увеличение его содержания до 4 или 5 г/л (в исходной среде содержание пептона составляло 3 г/л) с одновременным уменьшением соотношения С к N до 20 и 16 приводили к снижению количества биомассы (таблица 4).

**Таблица 4** – Накопление биомассы культурой *T. versicolor* 353 на среде ГПД с разными концентрациями азота

| Штамм                    | Содержание пептона в среде, г/л |             |             |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|-------------|
|                          | 3,0                             | 4,0         | 5,0         |
|                          | C:N = 26,6                      | C:N = 20    | C:N = 16    |
| <i>T. versicolor</i> 353 | 11,60 ± 0,44                    | 8,88 ± 0,25 | 5,88 ± 0,09 |

Таким образом было установлено, что для культуры *T. versicolor* 353 оптимальное соотношение концентрации углерода к азоту в питательной среде составляет C/N = 26,6. В этих условиях штамм *T. versicolor* 353 способен синтезировать на среде ГПД до 11,6 г/л биомассы.

*Подбор оптимальных условий культивирования (температура, рН, аэрация) для повышенной синтеза биомассы гриба T. versicolor*

Температура, концентрация ионов водорода (рН) и аэрация являются важнейшими факторами, регулирующими накопление биомассы базидиомицетов, в частности, грибов *T. versicolor*. Для определения степени влияния этих факторов на уровень накопления биомассы было проведено глубинное культивирование на оптимизированной глюкозо-пептон-дрожжевой среде (ГПД).

Температура. В качестве критерия для определения оптимальной температуры исполь-

зовали радиальную скорость роста на твердой оптимизированной питательной среде (ГПДА). Кроме подбора оптимальных температурных условий чрезвычайно важно установление граничных температур инкубации. Верхняя и нижняя граничные (критичные) температуры инкубации – это температуры, при которых рост мицелия не наблюдается, но сохраняется его жизнеспособность и при перенесении в более подходящие условия рост культуры возобновляется. Изучение динамики роста мицелия и жизнеспособности штаммов проводили при 4, 8, 24, 28, 30, 32, 34, 37, 42 и 44°C. Штаммы выращивали на оптимизированной среде ГПДА. При изучении влияния высоких температур мицелий инкубировали в течение 3-х суток. Жизнеспособность грибных культур определяли при температуре 28 °С. Результаты представлены в таблице 5.

**Таблица 5** – Скорость радиального роста мицелия разных штаммов *T. versicolor* на бреде ГПДА при разных значениях температур, мм/сут

| Штамм      | Температура инкубации, ±1 ° |                |                 |                 |                  |                 |
|------------|-----------------------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
|            | 8                           | 24             | 28              | 30              | 32               | 34              |
| <b>353</b> | <b>1,9±0,08</b>             | <b>5,6±0,1</b> | <b>11,5±0,2</b> | <b>12,7±0,2</b> | <b>10,3±0,35</b> | <b>7,5±0,35</b> |
| 5095       | 2,3±0,10                    | 6,3±0,1        | 10,5±0,2        | 11,5±0,2        | 6,4±0,41         | 6,4±0,41        |
| 5131       | 1,5±0,02                    | 5,7±0,2        | 9,7±0,2         | 10,6±0,2        | 8,5±0,35         | 7,1±0,35        |

В результате исследования влияния низких и высоких температур на рост и жизнедеятельность мицелия исследованных штаммов *T. versicolor* было установлено, что при температуре 4 °С все штаммы не проявляли признаков роста, однако сохраняли жизнеспособность, о чем свидетельствует возобновление роста при изменении температуры инкубации на 28°C.

При температуре 37 °С рост мицелия отсутствовал у всех исследованных штаммов *T. versicolor*, однако мицелий этих штаммов не те-

рял жизнеспособность и возобновлял рост при 28°C на протяжении семи дней. При нахождении при температуре 42 – 44 °С в течение 3-х суток мицелий погибал и не возобновлял рост при переносе в термостат при 28 °С.

рН среды. Ранее нами было установлено, что кардинальные (минимальные, максимальные) значения и оптимум кислотности для роста и спороношения грибов зависят от условий культивирования, в частности, от состава питательной среды, температуры, аэрации.

Большинство видов грибов растут при разных значениях кислотности, однако, оптимальными для роста мицелия высших базидиомицетов считается диапазон pH 5,0–6,0. Базидиомицеты рода *Trametes* способны расти в широком диапазоне pH (от 3,5 до 7,5), но оптимальные значения pH имеют видо-

вые и штаммовые различия. Исследования роста культур при разных значениях концентрации ионов водорода (pH) показали, что для штамма *T. versicolor* 353 активный рост мицелия наблюдается в диапазоне начальных значений pH среды от 4,5 до 6,5 (рисунок 1).

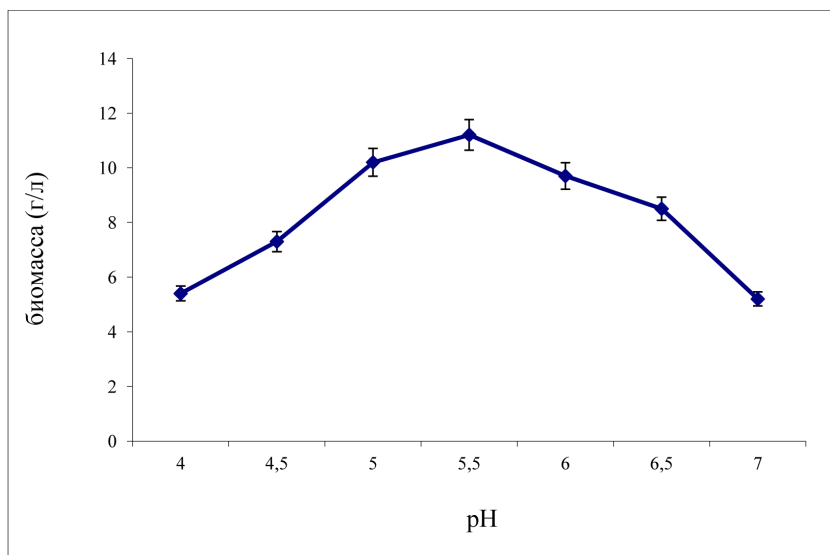


Рисунок 1 – Накопление биомассы штамма *T. versicolor* 353 при разных значениях pH среды

Как видно из рисунка 1 диапазон pH от 3,5 до 4,0 был не благоприятен для роста глубинной культуры *T. versicolor* 353 на исследуемой среде. Наибольший выход биомассы наблюдался при исходном значении pH = 5,5.

Аэрация. Насыщение среды кислородом влияет на синтез биомассы, морфологию клеток, биосинтез метаболитов. Аэрация в зависимости от биологических особенностей вида может уменьшать, увеличивать или не оказывать влияние на синтез биомассы и на

продукцию полисахаридов. У некоторых видов грибов повышение аэрации приводит к увеличению скорости роста и уменьшению продукции экзополисахаридов.

Влияние аэрации на рост штамма *T. versicolor* 353 изучали, варьируя уровень массообмена за счет изменения объема питательной среды в колбах объемом 500 мл.

Установлено, что увеличение аэрации способствовало увеличению грибной биомассы (таблица 6).

Таблица 6 – Влияние интенсивности аэрации на синтез биомассы штамма *T. versicolor* 353

| Объем среды в колбе, мл | Скорость растворения кислорода, г O <sub>2</sub> /л·ч | Биомасса, г/л |
|-------------------------|---|---------------|
| 50                      | 0,55  | 13,4          |
| 100                     | 0,325   | 13,0          |
| 150                     | 0,21  | 12,5          |
| 200                     | 0,155   | 12,0          |
| 250                     | 0,13  | 9,5           |
| 300                     | 0,115   | 8,5           |



Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что

— гически перспективным объектом для получения биомассы и экзополисахаридов при культивировании на глюкозо – пептон – дрожжевой среде;

– оптимальные параметры глубинного культивирования штамма *T. versicolor* 353 для мак-симального накопления биомассы следующие: температура 30,0±1,0°C, pH 5,0±0,5, скорость растворения кислорода, (гО<sub>2</sub>/л·ч ) – 0,55.

### Литература

- 1 Беккер З.И. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во МГУ. – 1988. – С. 277.
- 2 Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология. – 2004. – Т. 38. – № 2. – С. 1 – 4.
- 3 Гарибова Л.В., Сидорова И.И. Грибы // Энциклопедия природы России. – М.: Изд-во «АБФ», – 1999. – С.352.
- 4 Гарибова Л.В. Обзор и анализ современных систем грибов. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. -1999. – С.28.
- 5 Гарибова Л.В. Основы микологии. Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2005. – С. 207.
- 6 Феофилова Е.П. Биотехнология мицелиальных грибов: достижения и перспективы развития // Современная микология России. -Тез. докл. I конгр. микологов России. М.: Национальная академия микологии. – 2002. – С. 294-295.
- 7 Шиврина А.Н., низовская О.П. Биосинтетическая деятельность высших грибов. М.-Л.: Наука. – 1969. – С. 241.
- 8 Reshetnicov S.V., Wasser S.P., Tan K.K. International Journal of – Medicinal Mushrooms. – 2001. V. 3. – № 2 – 3. – P. 86.
- 9 Sliva D. *Ganoderma lucidum* in cancer research. Leukemia Research. – 2006. – V. 30. – P. 767-768.
- 10 Автономова А.В., Краснополяская Л.М., Максимов В.Н. Оптимизация состава питательной среды для погруженно-го культивирования *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst // Микробиология. – 2006. – Т. 75. – №2. – С. 186 – 192.
- 11 Автономова А.В., Белицкий И.В., Исакова Е.Б. и др. Водорастворимые полисахариды мицелия *Ganoderma lucidum*: биотехнологии получения и противоопухолевые свойства // Успехи медицинской микологии. 2006. – Т. VII. – С. 217 – 219.
- 12 Краснополяская Л.М. Грибы класса Basidiomycetes — источники лекарственных веществ // Современные проблемы микологии, альгологии и фитопатологии: сборник статей. М.: МГУ ИД «Муравей». – 1998. – С. 230-232.
- 13 Сидоренко М.Л. Биотехнология трутовика лекарственного // Мат. II Междунар. научно-технич. конф. молод. уч. «Актуальные проблемы технологии живых систем». Владивосток. – 2007. – С. 73-76.
- 14 Fisher M., Yang LX. Anticancer effects and mechanisms of polysaccharide-K (PSK): implications of cancer immunotherapy. Anticancer Res. – 2002. -Vol. 22. – P. 1737–1754.
- 15 Yang QY. Yun Zhi polysaccharopeptide (PSP) and the general aspects of its research // Fung Sci. -1997. – Vol. 12. – P. 1 – 8.
- 16 Zaidman BZ, Yassin M, Mahajna J, Wasser SP. Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics // Appl Microbiol Biotechnol. – 2005. № 67(4). -P. 453 – 68.
- 17 Chang S.T. Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21<sup>st</sup> century: nongreen revolution // Int. J. Med. Mushr. – 1999. – № 1. – P. 1-7.
- 18 Shiao MS. Natural products of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum*: occurrence, biological activities and pharmacological functions // Chem. Rec. – 2003. № 3(3). – P. 172-80.
- 19 Deng Pan et al. Structure characterization of a novel neutral polysaccharide isolated from *G. lucidum* fruiting bodies // Food Chemistry. – 2012. – Vol. 135. – № 3. – P. 1097–1103.
- 20 Бухало А.С., Соломко Э.Ф., Пархоменко Л.П., и др. Опыт глубинного выращивания *Pleurotus ostrestus* (Fr.) Kumm. на комплексных средах // Производство высших съедобных грибов СССР. Киев: Наук. Думка. – 1978. – С. 29-32.
- 21 Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: Из-во МГУ. – 1976. – С.276.

### References

- 1 Bekker ZI (1988) Physiology and biochemistry of fungi [Fiziologija i biohimija gribov] MSU, Moscow, Russia. 277. (In Russian)
- 2 Belova NV (2004) Prospects for the use of biologically active compounds of higher basidiomycetes in Russia. Mycology and Phytopathology [Perspektivy ispol'zovanija biologicheski aktivnyh soedinenij vysshih bazidiomicetov v Rossii. Mikologija i fitopatologija] 38:2:1-4. (In Russian)
- 3 Garibova LV, Sidirova II (1988) Mushrooms. Encyclopedia of Russian nature [Griby. Enciklopedija prirody Rossii] ABF, Moscow, Russia. (In Russian)
- 4 Garibova LV (1999) Review and analysis of modern systems of mushrooms [Obzor i analiz sovremennyh sistem gribov]. Karelian Research Centre of Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk. 28. (In Russian)
- 5 Garibova LV (2005) Fundamentals of mycology. Morphology and taxonomy of fungi and organisms mushroom of similar [Osnovy mikologii. Morfologija i sistematika gribov i gribopodobnyh organizmov]. Association of scientific editions KMK, Moscow, Russia. 207. (In Russian)

- 6 Feofilova EP (2002) Biotechnology of filamentous fungi : achievements and prospects. Modern Russian mycology. Proc. rep. I stamping. Russian [Biotehnologija micelial'nyh gribov: dostizhenija i perspektivy razvitija. Sovremennaja mikologija Rossii. Tez. dokl. I kongr. mikologov Rossii] The National Academy of Mycology, Moscow, Russia. 294-295. (In Russian)
- 7 Shivrina AN, Nyzovskaya OP (1969) Biosynthetic activity of higher fungi. [Biosinteticheskaja dejatel'nost' vysshih gribov] Nauka, Moscow-Leningrad. 241. (In Russian)
- 8 Reshetnicov SV, Wasser SP, Tan KK (2001) International Journal of-Medicinal Mushrooms. 3:86. (In English)
- 9 Sliva D (2006) Ganoderma lucidum in cancer research. Leukemia Research. 30:767-768. (In English)
- 10 Avtonomova AB, Krasnopol'skaja LM, Maksimov VN (2006) Optimization of the composition of the culture medium for the cultivation submerged Ganoderma lucidum (Curt. : Fr.) P. Karst. Microbiology [Optimizacija sostava pitatel'noj sredy dlja pogruzhennogo kul'tivirovanija Ganoderma lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst. Mikrobiologija] 75(2) 186-192. (In Russian)
- 11 Avtonomova AB, Belickij IV, Isakova EB et. al. (2006) Water-soluble polysaccharides of mycelium Gano-derma lucidum: Biotechnology preparation and anticancer properties. Advances Medical Mycology [Vodorastvorimye polisaharidy micelija Gano-derma lucidum: biotehnologii poluchenija i protivopuholevyje svojstva. Uspehi medicinskoj mikologii] VII:217-219. (In Russian)
- 12 Krasnopol'skaja LM (2008) Class Basidiomycetes Mushrooms – sources of drugs . Modern problems of mycology, plant pathology and algology: a collection of articles [Griby klassa Basidiomycetes — istochniki lekarstvennyh veshhestv. Sovremennye problemy mikologii, al'gologii i fitopatologii: sbornik statej] MSU ID «Muravej», Moscow, Russia. 230 – 232. (In Russian)
- 13 Sidorenko ML (2007) Biotechnology Polypore drug. Mat. II International. scientific and tech. Conf. young, uch. “Actual problems of the technology of living systems” [Biotehnologija trutovika lekarstvennogo. Mat. II Mezhdunar. nauchno-tehnich. konf. molod, uch. «Aktual'nye problemy tehnologii zhivyh sistem»] Vladivostok, Russia. 73-76. (In Russian)
- 14 Fisher M, Yang LX (2002) Anticancer effects and mechanisms of polysaccharide-K (PSK): implications of cancer immunotherapy. Anticancer Res. 22:1737–1754. (In English)
- 15 Yang QY (1997) Yun Zhi polysaccharopeptide (PSP) and the general aspects of its research. Fung Science. 12:1–8. (In English)
- 16 Zaidman BZ, Yassin M, Mahajna J, Wasser SP (2005) Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics. Appl Microbiol Biotechnol. 67(4):453-468. (In English)
- 17 Chang ST (1999) Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21<sup>st</sup> century: nongreen revolution. Int. J. Med. Mushr. 1:1-7. (In English)
- 18 Shiao MS (2012) Natural products of the medicinal fungus Ganoderma lucidum: occurrence, biological activities, and pharmacological functions. Chem. Rec. 3(3):172-180. (In English)
- 19 Deng Pan et al. (2012) Structure characterization of a novel neutral polysaccharide isolated from *G. lucidum* fruiting bodies. Food Chemistry, 135(3):1097–1103. (In English)
- 20 Buhalo AS, Solomko JEF, Parhomenko LP et. al. (1978) Experience deep cultivation Pleurotus ostrestus (Fr.) Kumm. on complex media. Production of higher edible mushrooms of the USSR. [Opyt glubinnogo vyrashhivaniija Pleurotus ostrestus (Fr.) Kumm. na kompleksnyh sredah. Proizvodstvo vysshih sedobnyh gribov SSSR] Nauk. Dumka, Kiev. 29-32. (In Russian)
- 21 Egorov NS (1976) Workshop on microbiology [Praktikum po microbiology] MSU, Moscow, Russia. 276. (In Russian)