

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА
ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

КРУПОДЬОРОВА ТЕТЯНА АНАТОЛІВНА



УДК 604:582.284+582.282.162:577.1:664

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ
МАКРОМІЦЕТІВ ПОРЯДКІВ AGARICALES ТА POLYPORALES ДЛЯ
СТВОРЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ДОБАВОК**

03.00.20 – біотехнологія

Реферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2025

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у відділі рослинних харчових продуктів та біофортифікації Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України»

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор, академік Національної академії наук України
Блюм Ярослав Борисович,
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», директор

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор
Стабніков Віктор Петрович,
Національний університет харчових технологій, завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

доктор біологічних наук, професор
Сибірна Наталія Олександрівна,
Львівський національний університет імені Івана Франка, завідувач кафедри біохімії

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Веденичова Ніна Петрівна,
Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного Національної академії наук України, провідний науковий співробітник відділу фітогормонології

Захист відбудеться 16 квітня 2025 р. об 11.00 на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.254.01 при ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького (Осиповського) 2а; тел. (044) 463 05 32; e-mail: d26.254.01@ukr.net

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» та на офіційному сайті <http://ifbg.or.ua/uk/pidgotovka-kadriv/specializovana-vchena-rada>

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
к.б.н, доцент



Наталія ПАСТУХОВА

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Біотехнологія макроміцетів є перспективною галуззю, що включає культивування грибів у контрольованих умовах, генетичну модифікацію, оптимізацію процесів ферментації та застосування біотехнологічних методів для отримання корисних продуктів, таких як харчові продукти, біологічно активні сполуки, лікувально-профілактичні препарати тощо. Завдяки широкому спектру метаболітів (полісахариди, тритерпеноїди, протеїни, ферменти, фенольні сполуки, глікозиди, лектини, органічні кислоти тощо), що синтезуються генетично обумовленими біосинтетичними шляхами та адаптаційними механізмами макроміцетів, вони розглядаються як перспективні джерела для інноваційних розробок, спрямованих на вирішення актуальних проблем людства. Останнім часом макроміцети стали важливим об'єктом у сучасній біотехнології, в тому числі, біоконверсії, біоремедіації та біодеградації (Hyde et al., 2019; Llanaj et al., 2023; Nicola, 2023), демонструючи широкий спектр застосувань у різних галузях харчової промисловості, сільського господарства, охорони довкілля та здоров'я (Sharma et al., 2024).

У сучасному світі, коли актуальність збереження здоров'я та покращення якості життя стає пріоритетом, біотехнологія відіграє ключову роль у створенні інноваційних продуктів, які сприяють функціонуванню організму людини. Серед них особливе місце займають дієтичні добавки, які мають широкий спектр дії: від стимулювання імунітету до покращення функціонального стану організму. Важливими об'єктами для створення таких добавок є макроміцети (Ishara et al., 2021; Mayirnao et al., 2025). Метаболіти макроміцетів демонструють імуностимулюючі, антиоксидантні, протизапальні, противірусні, антибактеріальні, протипухлинні, адаптогенні властивості, що робить перспективним їх використання за умов підвищених фізичних і психоемоційних навантажень (Dwyer et al., 2018; Sandoval, 2023; Na et al., 2024). Це узгоджується з глобальною тенденцією в галузі охорони здоров'я, спрямованою на превентивні заходи (AbdulRaheem, 2023; Kulkova et al., 2023).

У виробництві дієтичних добавок широко використовуються такі види грибів як *Agaricus bisporus*, *A. blazei*, *Cordyceps militaris*, *Flammulina velutipes*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Phellinus linteus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* (Wasser et al., 2000; Barua et al., 2024). Різноманіття видів і штамів макроміцетів, кожен з яких характеризується унікальним якісним та кількісним складом метаболітів, і, завдяки цьому, відповідним біологічним потенціалом, є ключовим фактором у розробці дієтичних добавок. Таке різноманіття породжує низку проблем, пов'язаних із забезпеченням стабільності складу продуктів на основі грибів з певною біологічною активністю, а також з необхідністю доказової бази щодо ефективності таких добавок. Вирішення цих проблем відкриває широкі перспективи для створення продуктів із різними біологічними властивостями, зокрема імуномодулюючими, антиоксидантними, антимікробними та протизапальними, тощо.

Вибір грибної сировини відіграє ключову роль у виробництві дієтичних добавок на основі макроміцетів. Застосування плодових тіл, зібраних у природних умовах, не гарантує забезпечення необхідних обсягів продукції, та зумовлює нестабільність хімічного складу, обумовлену варіаціями факторів довкілля. Культивування плодових тіл *in vitro* характеризується значною тривалістю процесу та високою вартістю енергетичних ресурсів, що є суттєвими недоліками. Альтернативним підходом є глибинне культивування міцеліальної біомаси, з отриманням як самої біомаси, так і культуральної рідини, яке, забезпечуючи стабільні умови процесу, поєднує відносну економічну доцільність із отриманням контрольованого сталого кількісного та якісного складу грибних продуктів. Впровадження стандартизованих протоколів культивування та валідованих методів контролю якості сировини є необхідною передумовою для виробництва стандартизованих та ефективних дієтичних добавок. Розробка економічно ефективних технологій культивування та переробки макроміцетів, поряд із пошуком нових перспективних видів, є важливим науково-практичним завданням. Це сприятиме розвитку галузей, таких як біотехнологія, харчова промисловість, сільське господарство, охорона довкілля та медицини.

Біохімічний склад макроміцетів характеризується наявністю термолабільних та окислювально-відновних сполук, таких як полісахариди, терпеноїди, фенольні речовини та інші. Їх структура та функціональна активність можуть зазнавати змін під впливом факторів довкілля (температура, вологість, кисень, світло) під час зберігання та технологічної обробки. Тому розробка методів стабілізації біоактивних компонентів, зокрема інкапсулювання або використання стабілізуючих матриць (матеріалів, що забезпечують захист та контрольоване вивільнення біоактивних речовин), є актуальним завданням.

Отже, вирішення зазначених проблем потребує комплексного підходу, що включає розв'язання низки науково-технічних і регуляторних питань. Це передбачає інтеграцію досліджень із практичним застосуванням для максимально ефективного використання біотехнологічного потенціалу макроміцетів. Зокрема, необхідно здійснити ретельний відбір перспективних видів макроміцетів, здатних продукувати значну кількість біомаси з необхідними біохімічними характеристиками, а також впровадити економічно вигідні біотехнологічні рішення для зниження собівартості виробництва. Актуальність цього дослідження обумовлена необхідністю вирішення зазначених питань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано у рамках прикладних науково-дослідних робіт відділу рослинних харчових продуктів та біофортифікації Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (м. Київ). Роботу виконано в межах держбюджетних тем: «Розроблення технології створення функціональних продуктів із харчовою добавкою на основі лікарських грибів» (№ ДР0109U000473, 2009–2011 рр.), «Вивчення противірусної та протипухлинної активності лікарських грибів з метою створення функціональних продуктів харчування» (№ ДР0112U000435, 2012–2014 рр.), «Вивчення антибактеріальної активності макроміцетів» (№ ДР0115U002083, 2015–2017 рр.), «Забезпечення оптимальних умов

культивування макроміцетів для покращення їх фізіологічної активності та підвищення приросту біомаси» (№ ДР0118U003812, 2018–2020 рр.), «Штамспецифічні особливості росту та синтезу метаболітів перспективних видів базидієвих грибів за різних умов культивування» (№ ДР0112U000435, 2021–2023 рр.), «Скринінг базидієвих грибів з високою антиоксидантною активністю, перспективних для підвищення захисних сил організму людини» (№ ДР0124U002425, 2024 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було розроблення біотехнологічних основ отримання міцеліальної біомаси макроміцетів – потенційних продуцентів метаболітів з високою біологічною активністю як основи для створення біологічно активних добавок.

Для досягнення поставленої мети було сформульовано наступні **завдання**:

1. Встановити ростові характеристики представників макроміцетів порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, Russulales та їх видоспецифічні особливості продукції полісахаридів та фенольних сполук.

2. Оцінити біологічну активність (антагоністичну, антибактеріальну, антиоксидантну) міцелію та культуральної рідини досліджуваних макроміцетів.

3. Провести скринінг макроміцетів, здатних до біоконверсії відходів харчової промисловості й олійно-екстракційного виробництва України та виявити нові альтернативні субстрати для культивування макроміцетів.

4. Оцінити перспективність використання відібраного субстрату за його складом та біологічною активністю (антибактеріальною, протівірусною, протипухлинною, ранозагоювальною, сорбційною) міцелію макроміцетів.

5. Визначити закономірності впливу умов культивування на ріст обраних макроміцетів та вміст їхніх метаболітів.

6. З'ясувати особливості біосинтетичної активності комерційних штамів *Pleurotus ostreatus*.

7. Розробити концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі макроміцетів.

Об'єкт дослідження – біологічна активність макроміцетів, представників порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, Russulales за умов вирощування *in vitro*.

Предмет дослідження – особливості культивування, накопичення біомаси та біологічно активних метаболітів макроміцетів, представників порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, Russulales.

Методи дослідження – світлова та сканувальна електронна мікроскопія, молекулярно-біологічні (полімеразна ланцюгова реакція, секвенування), біотехнологічні та мікологічні (культивування макроміцетів та мікроміцетів *in vitro*), мікробіологічні (встановлення антимікробної, протівірусної активностей), біохімічні (екстрагування, вивчення метаболічних змін), хімічні (гравіметрія), фізико-хімічні (потенціометрія, УФ-спектрометрія), медико-біологічні (встановлення протипухлинної, ранозагоювальної активностей) та статистичне оброблення результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне дослідження біосинтетичної активності макроміцетів представників

порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, Russulales та розроблено біотехнологічні основи отримання їх міцеліальної біомаси як джерела біологічно активних метаболітів для створення дієтичних добавок.

Вперше отримано дані щодо росту та вмісту полісахаридів і фенольних сполук у грибів *Auriporia aurea*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*. Вперше встановлено вміст фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*.

Вперше досліджено біологічну активність міцелію та культуральної рідини певних видів макроміцетів. Зокрема, встановлено антибактеріальну активність міцелію та культуральної рідини *Crinipellis schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; антиоксидантну активність міцелію та культуральної рідини *A. aurea*, *P. litschaueri*, *O. obducens*, та міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola*, *L. luscina*; протівірусну активність міцелію *A. aurea*, *Flammulina velutipes*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus eryngii* та *Fomes fomentarius*; протипухлинну активність міцелію *A. aurea* та ранозагоювальну активність міцелію *C. schevczenkovi*.

Вперше встановлено антагоністичну активність міцелію усіх досліджених макроміцетів проти *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii* та штамів *Candida albicans*.

Вперше виявлено інтенсифікацію екзогенного виділення антимікотичних метаболітів у поживне середовище при спільному культивуванні *Lentinula edodes* з *Mucor* sp., *Pleurotus djamor* з *P. kudriavzevii*, *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta*, *Hericium erinaceus* з *C. albicans* та *H. erinaceus* з *P. polonicum*.

Вперше продемонстровано індукцію формування псевдоміцелію у штамів *C. albicans* в умовах сумісного культивування з певними видами макроміцетів.

Вперше встановлено, що спільне культивування *Coprinus comatus* та штамів *C. albicans* 311, 319 призвело до підвищення експресії лакази макроміцетом у поживне середовище.

Вперше виявлено наявність позаклітинних ферментів: амілази – у *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Fomitopsis betulina*, *P. litschaueri*; лакази у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; ліпази – у видів *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; уреазу – у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *H. marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *P. djamor*, *P. litschaueri* та нітратредуктази – у *L. luscina*.

Оцінено 20 видів відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва, як монокомпонентів поживних середовищ для вирощування міцелію 30 видів макроміцетів. Вперше використано в якості основи поживного середовища відходи макаронного (бита вермішель, крихта), борошномельного (ячмінна та пшенична дерть) та олійно-екстракційного (шрот шипшини, гарбуза, льону, розторопші, гірчиці, CO₂-шрот амаранта та ехінацеї, макуха ріпаку та рижю) виробництв. Вперше показано ефективність застосування відходу вуглекислотної екстракції насіння амаранту (CO₂-шроту амаранту) як основи універсального субстрату для отримання

міцелію макроміцетів з цінними біологічними властивостями (антибактеріальною, противірусною, протипухлинною, ранозагоювальною, сорбційною), багатого на полісахариди, незамінні амінокислоти та ненасичені жирні кислоти.

Вперше застосовано стратегію підвищення виходу біомаси комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* шляхом додавання до поживного середовища синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук – похідних піридину та піримідину, відомих як регулятори росту рослин. Серед використаних сполук: N-оксид-2,6-диметилпіридину (Івін), натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Метіур) та калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Каметур) у мілімолярних концентраціях (10^{-6} до 10^{-9} М).

Вперше розроблена концептуальна схема створення дієтичної добавки на основі суміші міцелію *Fomitopsis pinicola*, *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor*, що може слугувати підґрунтям для розробки інноваційних продуктів для підтримки імунітету та покращення загального стану здоров'я.

Визначено нуклеотидні послідовності ITS регіону рибосомальної ДНК *Fomitopsis pinicola*, які депоновано до міжнародної бази даних GenBank під реєстраційним номером PQ 184654. Відкритий доступ до генетичної інформації про культуру сприяє стандартизації інформації про генетичні характеристики грибів, що полегшує їх використання в різних глобальних наукових дослідженнях.

Практичне значення одержаних результатів. Розширено сировинну базу для культивування макроміцетів шляхом ефективного використання відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва, що сприяє створенню економічно вигідних та екологічно сталих технологій. Використання відходів макаронного виробництва та CO_2 -шроту амаранту для культивування макроміцетів захищено патентами на корисну модель України № 63646 та №54524 відповідно. Впровадження додавання CO_2 -шроту амаранту до складу субстратних блоків на підприємстві «Царство грибів» (м. Київ) сприяло інтенсифікації росту міцелію *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* та *Lyophyllum shimeji* (Акт впровадження від 20.07.2024). Це свідчить про потенційну можливість оптимізації технологічних процесів культивування та підвищення продуктивності грибівницьких господарств.

На основі міцеліальної біомаси *Pleurotus ostreatus* розроблено композиції для виробництва томатних соусів (патент на корисну модель України № 101443), грибного соусу (патент на корисну модель України № 101441). Отримано патенти України на корисні моделі, які підтверджують антимікотичну активність *Hohenbuehelia tuxotricha* (патент № 140724) та антибактеріальну активність *Phellinus igniarius* (патент № 121324).

Розроблена концептуальна схема створення дієтичної добавки на основі суміші міцелію макроміцетів, що сприяє раціональному використанню біоресурсів і розвитку нутрицевтичної галузі, створює передумови для стандартизації виробничих процесів, підвищення ефективності дієтичних добавок на основі грибів, відкриваючи перспективи для масштабування виробництва та впровадження новітніх біотехнологій.

Підтверджена видова приналежність *Fomitopsis pinicola* за допомогою молекулярно-генетичних методів полягає у забезпеченні надійності та точності ідентифікації виду, що є критично важливим для збереження біорізноманіття, у біотехнологічних процесах, фармацевтичних розробках та наукових дослідженнях. Цей крок робить внесок у глобальні зусилля щодо дослідження генетичного різноманіття грибів і сприяє міжнародній співпраці в галузі біотехнології та мікології.

Визначено комплекс ключових характеристик для кожного з вивчених макроміцетів з метою їх подальшої паспортизації в складі Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, яка є Національним надбанням України і важливим елементом національної біоресурсної інфраструктури.

Наукові і науково-практичні результати дисертаційної роботи впроваджені в освітній процес та науково-дослідну роботу кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А. С. Макаренка під час викладання навчальних дисциплін «Мікологія», «Мікробіологія з основами вірусології та імунології», «Основи фітотерапії», «Методологія та організація наукових досліджень» здобувачам освіти першого та другого рівнів освіти спеціальності 091 Біологія та біохімія (Довідка про впровадження від 18.02.2025).

Особистий внесок здобувача. Автором проведено науковий пошук та критичний аналіз даних літератури, отримано основні результати експериментальних досліджень. Окремі аспекти експериментальної роботи були виконані за участю фахівців на базі спеціалізованих наукових та освітніх установ, що відобразилось у співавторстві в публікаціях та патентах на корисну модель України.

Дослідження антибактеріальної активності макроміцетів проведені разом з к.б.н. Покас О. В. на базі лабораторії медичної мікробіології з музеєм патогенних для людини мікроорганізмів; противірусної активності – з д.м.н., професором Рибалко С. В. на базі лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій Державної установи «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Левка Васильовича Громашевського Національної академії медичних наук України» (м. Київ, Україна). Дослідження ранозагоювальної активності *Ganoderma lucidum* і *Crinipellis shevczenkovi* проведено разом з к.б.н. Клименко П. П. на базі лабораторії морфології та цитології Державної установи «Інститут геронтології імені Дмитра Федоровича Чеботарьова Національної академії медичних наук України» (м. Київ, Україна); протипухлинної активності міцелію *Trametes versicolor* і *Auriporia aurea* – зі співробітниками кафедри біохімії та біотехнології Навчально-наукового Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (м. Чернівці, Україна) д.б.н., проф. Марченко М. М., к.б.н. Шмараківим І. О., к.б.н. Борщовою В. Л., к.б.н. Кець О. В.; антиоксидантної та антимікробної активностей *Hohenbuehelia tuxotricha* – з доктором філософії (PhD), професором Севендіком М. на кафедрі біології факультету інженерії та природничих наук Університету Османіє Коркут Ата (м. Османіє, Туреччина). Розроблення

грануляту сумішей міцелію грибів проведено разом з к.фарм.н. Буткевич Т. А. на кафедрі аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ, Україна); розроблення композицій соусів на основі *Pleurotus ostreatus* – з д.с-г.н Пешук Л. В., к.т.н. Гащук О. І, к.т.н. Москалюк О. Є, аналіз сорбійної активності – з к.т.н. Костенко Є. Є. з Національного університету харчових технологій (м. Київ, Україна).

При обговоренні результатів у процесі підготовки публікацій та формулювання висновків автор консультувалася з академіком НАН України, д.б.н., професором Я. Б. Блюмом.

Усі наукові узагальнення, положення, результати викладені у дисертації, сформульовано автором особисто. Внесок пошукача у підготовку всіх публікацій, що увійшли до дисертаційної роботи, становить 80 %.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи було оприлюднено на: Міжнародному науковому конгресі (2010 р., Ганновер, Німеччина), Міжнародній науково-практичній конференції «Новітні досягнення біотехнології» (2010 р., Київ, Україна), ХХІХ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Ліки-людині» (2011 р., Харків, Україна), Науково-практичній конференції «Харчування як профілактичний та лікувальний фактор в сучасних умовах» (2012 р., Київ, Україна), ІІІ Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (2012 р., Запоріжжя, Україна), І Міжнародній науково-практичній конференції «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (2013 р., Харків, Україна), Другому Північно-східноєвропейському конгресі з питань продовольства (2013 р., Київ, Україна), Науково-практичній конференції «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології» (2013 р., Харків, Україна), І Міжнародній конференції молодих вчених «Біологія: від молекули до біосфери» (2013 р., Харків, Україна), Другій конференції молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія» (2013 р., Київ, Україна), VІІІ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія ХХІ століття» (2014 р., Київ, Україна), ХІ Українському біохімічному конгресі (2014 р., Київ, Україна), ІV Науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (2014 р., Харків, Україна), ІІІ Міжнародній науково-практичній конференції «Новітні досягнення біотехнології та нанобіотехнології» (2015 р., Київ, Україна), ІІ Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (2015 р., Харків, Україна), Х Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія ХХІ століття» (2015 р., Київ, Україна), ХХХІІІ Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (2016 р., Харків, Україна), Міжнародних наукових конференціях «Сьогодення біологічної науки» (2016, 2019 рр., Суми, Україна), ІІ Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації» (2018 р., Київ, Україна), ІІ та ІІІ Міжнародних наукових конференціях «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх

технологій» (2018, 2024 рр., Полтава, Україна), VII та XII Міжнародних науково-практичних конференціях: «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (2021, 2023 рр., Харків, Україна), Науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека» (2021 р., Київ, Україна), Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти мікробіології, вірусології та біотехнології у воєнний та післявоєнний час» (2023 р., Київ, Україна), 14 Міжнародній конференції з питань сільського господарства, тваринництва та розвитку сільських територій (2024 р., Ізмір, Туреччина).

Публікації. За матеріалами дослідження опубліковано 63 наукові публікації: 24 статті у рецензованих фахових виданнях, серед яких 12 статей індексовано у міжнародній наукометричній базі даних Scopus (сім Q1–Q3, п'ять –Q4), 7 статей представлено у виданнях, що входять до інших міжнародних наукометричних баз даних, 5 статей опубліковано у наукових фахових виданнях України; 1 розділ у монографії; 6 патентів України на корисну модель; 32 тези доповідей на міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференціях, симпозіумах і конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Структура дисертаційної роботи є типовою і включає вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, узагальнення, висновки, додатків та список використаних літературних джерел, який нараховує 685 найменування. Дисертація викладена на 523 сторінках, з них основна частина займає 367 сторінок, робота містить 88 рисунків та 54 таблиці.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У розділі «Огляд літератури» представлено стислий аналітичний огляд наукових джерел, що розкривають потенціал макроміцетів як основи для створення сучасних біотехнологічних продуктів. Проаналізовано загальні характеристики макроміцетів та їх здатність продукувати цінні біологічно активні речовини в міцелії та в культуральну рідину. Розглянуто сучасні технологічні аспекти культивування макроміцетів у лабораторних та промислових умовах, з акцентом на вплив факторів культивування на біосинтез. Огляд також включає аналіз світового ринку продуктів на основі макроміцетів та оцінку потенціалу розвитку цього ринку в Україні, що демонструє їх зростаючу комерційну цінність. На основі проведеного аналізу літературних даних обґрунтовано актуальність запропонованого дослідження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для проведення досліджень було відібрано 34 штами їстівних та лікарських грибів, як відомих з літературних джерел продуцентів біологічно активних речовин, так і малодосліджених видів. Систематично відібрані макроміцети належать до 3 видів відділу Ascomycota, порядків Нурocreales та Pezizales, та 27 видів відділу Basidiomycota, порядків Agaricales, Hymenochaetales, Polyporales та Russulales (табл. 1). Досліджувані штами отримано з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Систематичне положення досліджених макроміцетів

Порядок	Родина	Вид, штам
Відділ Ascomycota		
Нуроcreales	Cordycipitaceae	<i>Cordyceps militaris</i> (L.) Fr., 207
	Ophiocordycipitaceae	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) Sacc., 1928
Pezizales	Morchellaceae	<i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers., 1853
Відділ Basidiomycota		
Agaricales	Agaricaceae	<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers., 137
	Lyophyllaceae	<i>Hypsizygus marmoreus</i> (Peck) H.E. Bigelow, 2006
		<i>Lyophyllum shimeji</i> (Kawam.) Hongo, 1662
	Marasmiaceae	<i>Crinipellis schevczenkovi</i> Bukhalo, 31
	Omphalotaceae	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler, 355
	Physalacriaceae	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.) Sing., 1878
	Pleurotaceae	<i>Hohenbuehelia myxotricha</i> (Lév.) Singer, 1599
		<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 455
		<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quél., 2015
		<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm., 551, 1685, 2460, 2461, 2462
	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum commune</i> Fr., 1768
Tricholomataceae	<i>Lepista luscina</i> (Fr.) Singer, 64	
Tubariaceae	<i>Cyclocybe aegerita</i> (V. Brig.) Vizzini, 1853	
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Inonotus obliquus</i> (Fr.) Pilát., 1877
		<i>Phellinus igniarius</i> (L.) Quél., 29
	Oxyporaceae	<i>Oxyporus obducens</i> (Pers.) Donk
Polyporales	Cerrenaceae	<i>Pseudospongipellis litschaueri</i> (Lohwag) Y.C. Dai & Chao G. Wang, 5312
	Fomitopsidaceae	<i>Auriporia aurea</i> (Peck) Ryvarden, 5048
		<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr., 355
		<i>Fomitopsis betulina</i> (Bull.) P. Karst., 327
		<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst., 1523
		<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray, 976
	Ganodermataceae	<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat., 1701
		<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst., 1900
Laetiporaceae	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill, 352	
Polyporaceae	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd, 353	
Russulales	Hericiaceae	<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers., 970

Зберігання чистих культур здійснювали на скошеному пивному агаризованому середовищі за температури 4 °С. Для культивування грибів використовували глюкозо-пептон-дріжджове середовище (ГПД, склад (г/л): глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25 та дистильована вода – 1 л), що слугувало базовим та контрольним, а також комерційні агаризовані середовища: картопляно-декстрозний агар (КДА, Difco, США), агар Сабуро (HiMedia Pvt. Limited, Мумбаї, Індія), сусло-агар (СА, Merk, Німеччина) та мальтозний екстракт агар (МЕА, Thermo Fisher Scientific, США) та зазначені рідкі середовища (без агару). Інокуляцію здійснювали трьома дисками міцелію діаметром 8 мм (для глибинного культивування без перемішування) або стерильним гомогенізованим міцелієм у кількості 5–10 % від об'єму середовища (для глибинного культивування з перемішуванням). Міцелій для цього етапу попередньо культивували на агаризованих середовищах КДА або ГПДА протягом 7–10 діб, залежно від виду гриба. Культивування проводили при температурі 26 ± 2 °С. Тривалість культивування 14 діб (за винятком дослідження росту у динаміці).

Веgetативний міцелій досліджували за допомогою світлової (мікроскоп Zeiss Primo Star, Німеччина) та сканувальної електронної (мікроскоп Jeon JSM-6060 LA, Японія) мікроскопії. Для сканувальної електронної мікроскопії зразки фіксували парами тетроксиду осмію та напилювали золотом згідно з модифікованою методикою Quattlebaum & Carner (1980).

Виділення загальної ДНК з міцелію *Fomitopsis betulina* здійснювали з використанням модифікованого протоколу Microprep Isolation for Plants (Pluzhnyk et al., 2025), що включав екстракцію буфером з подальшим осадженням ізопропанолом. Ампліфікацію ITS регіону рибосомальної ДНК проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з праймерами ITS1/ITS4, а отримані амплікони секвенували. Нуклеотидні послідовності аналізували за допомогою інструменту BLAST на платформі NCBI.

Твердофазне культивування на агаризованих середовищах використовували для отримання посівного матеріалу та визначення радіальної швидкості росту, ферментативної та антагоністичної активностей.

Для оцінки росту грибів на твердих середовищах визначали радіальну та середню швидкості росту колоній, використовуючи відповідні математичні формули, згідно з методикою, описаною Weis et al. (1999).

Визначення екзоклітинної ферментативної активності грибів здійснювали за допомогою якісних кольорових реакцій на ГПДА середовищі з використанням відповідних реактивів, згідно з методикою Molitoris (1986). Про наявність лакази свідчило червоно-коричневе або фіолетове забарвлення з α -нафтолом, уреазі – рожеве забарвлення з сечовиною, нітрат-редуктази – яскраво-рожеве забарвлення з α -нафтолом, сульфаніловою та оцтовою кислотами, амілази – знебарвлення розчину Люголя, ліпази – білий осад з Tween 80 та CaCl_2 , протеази – поява прозорих зон навколо міцеліальної колонії на желатині. Визначення активності лакази проводили спектрофотометрично при 420 нм з використанням 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонової кислоти) (ABTS) як субстрату (Liu et al., 2007). Активність лакази виражали в одиницях активності на мілілітр

ферментного розчину (Од/мл).

Антагоністичну активність грибів досліджували методом подвійних культур на КДА, шляхом спільного культивування з мікроміцетами (*Aspergillus niger* Tiegh., IFBG 134, *Penicillium polonicum* K.W. Zaleski, IFBG 138, *Mucor* sp. Fresen., IFBG 139, *Pichia kudriavzevii* Boidin, Pignal & Besson, 301, *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, 311, 315, 319, 17/138, *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C.Hallett, *Fusarium poae* (Peck) Wollenw.) при температурі 26 ± 1 °C протягом 30 діб. Характер взаємодії колоній оцінювали відповідно до шкали реакцій антагонізму, запропонованої Badalyan et al. (2002, 2004), з розрахунком індексу антагонізму (AI) та вимірювали діаметри колоній для встановлення відсотку інгібування росту мікроміцетів.

Глибинне культивування застосовували для дослідження продукування міцеліальної біомаси, полісахаридів, фенольних сполук, біоконверсії субстратів, впливу умов культивування та отримання міцеліальної біомаси та культуральної рідини для аналізу біологічної активності (антиоксидантної, антибактеріальної, антимікотичну, протівірусної, протипухлинної, ранозагоювальної, сорбційної). Культивування здійснювали при 26 ± 2 °C в статичних (без перемішування, 14 діб) умовах. Окремі експерименти з *Fomitopsis pinicola*, *F. betulina* та *Pleurotus eryngii* також проводили в динамічних умовах (120 об/хв). Після інкубації визначали суху вагу міцелію та біологічну активність.

На рідкому ГПД середовищі ефективність культивування оцінювали за такими показниками, як концентрація біомаси, продуктивність за біомасою, полісахаридами, фенольними сполуками, розраховуючи ці показники за формулами, запропонованими Nayak et al. (2013).

Вміст ендopolісахаридів у міцеліальній біомасі визначали фенол-сірчаноокислим методом після екстракції лугом (Mukchaylova et al., 2023), а екзopolісахаридів у культуральній рідині – ваговим методом після осадження етанолом (Narmuratova et al., 2023). Кількість полісахаридів оцінювали фенол-сірчаноокислим методом (Dubois et al., 1956) спектрофотометрично при 490 нм, використовуючи глюкозу як стандарт.

Загальний вміст фенольних сполук визначали спектрофотометрично за допомогою реактиву Фоліна-Чокальтеу (Reis et al., 2012b), використовуючи галову кислоту як стандартний калібратор. Оптичну густину вимірювали при 765 нм, а результати виражали в міліграмах еквівалентів галової кислоти (ЕКГ) на грам сухої маси зразка.

Для оцінки антибактеріальної активності грибів застосовували метод дифузії в агар, що передбачав нанесення міцеліальної біомаси та культуральної рідини на диски, розміщені на агаризованому м'ясо-пептонному агарі (МПА) попередньо засіяними тест бактеріями *Bacillus subtilis* Ehrenberg, Cohn ATCC 6633, *Escherichia coli* Migula, Castellani & Chalmers ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* Rosenbach ATCC 65388. Для видів *Fomitopsis betulina* та *Hohenbuehelia tuxotricha* додатково використовували метод серійних розведень з метою визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК). Використовували еталонні бактерії *A. baumannii* Bouvet Grimont ATCC 19606, *E. coli* ATCC 25922, *Enterococcus*

faecalis Schleifer & Kilpper-Bälz ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* Schroeter, Migula ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, ATCC 29213, ATCC 43300, клінічні ізоляти *P. aeruginosa* 99/3066 MBL, 99/3066 MBL, *E. coli* 116/3196 KPC, *S. haemolyticus* Schleifer & Kloos 22/824 MRSA, *S. aureus* 134/3569 MRCNS, *Klebsiella pneumoniae* Schroeter, Trevisan 6/509 ESB, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* 50/1496 MBL, *Acinetobacter baumannii* 88/2995 MBL та гриби *Candida albicans* Berkhout ATCC 10231, *Nakaseomyces glabratus* Sugita & Takashima (*C. glabrata*) ATCC 90030 і *Pichia kudriavzevii* ATCC 34135. Ефективність досліджуваних зразків оцінювали порівняно з референтними комерційними антимікробними препаратами.

Антиоксидантну активність екстрактів грибів визначали за допомогою реакції з 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом (DPPH), вимірюючи зміну абсорбції при 517 нм (Liu et al., 2007). Загальний оксидантний (TOS) та антиоксидантний (TAS) статуси етанольного екстракту міцелію *Hohenbuehelia myxotricha* оцінювали за допомогою комерційних наборів, використовуючи тролокс та перекис водню як стандарти. Індекс оксидного стресу (OSI) розраховували як співвідношення TOS до TAS (Erel, 2004, 2005).

Для вивчення впливу періоду інкубації на ріст міцеліальної біомаси та прояв відповідної біологічної активності, дослідження проводили на 7, 14, 21, 28 та 35 добу при культивуванні на ГПД середовищі (26 ± 2 °C, без перемішування) або на 3, 5, 7, 9 та 11 добу (26 ± 2 °C, 120 об/хв).

Для оцінки впливу температури на ріст міцеліальної біомаси, інокульовані міцеліальними дисками колби інкубували при 24, 26, 28 та 30 °C протягом 14 днів.

Для дослідження впливу рН середовища на ріст міцелію та його антибактеріальну чи антиоксидантну активність, культури інкубували протягом 14 днів при 26 ± 1 °C на середовищах з рН від 2,5 до 7,0, коригуючи рН за допомогою 1М HCl або 1М NaOH.

Для дослідження впливу джерел вуглецю та азоту на ріст грибів, у глюкозо-аспарагіновому поживному середовищі (ГА : глюкоза – 10 г/л, аспарагін – 0,4 г/л, K_2HPO_4 – 1,0 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г/л, дистильована вода – 1 л) глюкозу замінювали еквівалентними за вмістом вуглецю джерелами: манітом, арабінозою, ксилозою, фруктозою, галактозою, декстрозою, лактозою, мальтозою, сахарозою, целюлозою або розчинним крохмалем. Аспарагін, у свою чергу, замінювали еквівалентними за вмістом азоту джерелами: нітратом натрію, нітратом амонію, сульфатом амонію, сечовиною, L-аспарагіном або пептоном. Кількість чистого вуглецю чи азоту на літр середовища визначали, виходячи з молекулярної маси речовин та їх відсоткового вмісту в молекулі.

Дослідження впливу синтетичних гетероциклічних сполук: N-оксид-2,6-диметилпіридин (Івін), натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин (Methur), калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Kamethur) на ріст *Pleurotus ostreatus* проводили на ГПД середовищі, використовуючи концентрації від 10^{-6} до 10^{-9} М. Інокульовані міцеліальними дисками середовища інкубували при 25 °C, а вплив сполук оцінювали шляхом вимірювання концентрації міцелію на 7, 14 та 21 добу культивування.

Для дослідження впливу ультрафіолетового (УФ) опромінення на ріст та антибактеріальну активність *Fomitopsis betulina* культури на чашках Петрі опромінювали УФ-світлом ($\lambda = 254$ нм, відстань до об'єкту опромінення – 0,30 м) протягом 5–60 хвилин на 3-тю та 10-ту добу культивування. Дозу УФ-опромінення розраховували на основі потужності ламп, площі опромінюваної поверхні та часу опромінення. Після 12 діб культури пересівали в рідке ГПД середовище та культивували 14 діб для подальшого аналізу.

Для дослідження впливу натуральних поживних середовищ на ріст міцеліальної маси 30 видів грибів, як монооснову рідких поживних середовищ використовували доступні у вільному продажу відходи олійно-екстракційного та харчового виробництва: шрот плодів шипшини, насіння гарбуза, розторопші, льону, зародків пшениці, вівса, амаранту, виноградних кісточок, макуху сої, ріпаку, соняшника, рижю, гірчиці, CO₂-шрот амаранту й ехінацеї, крихту та биту вермішель, какаовела, дерть ячмінну та пшеничну, пшеничні висівки. Суміші відходів використовували як основу поживних середовищ у рівних частинах (співвідношення 1:1). Ефективність використання альтернативних субстратів для культивування грибів оцінювали у порівнянні з ростом на ГПД середовищі та розраховували ефективність біоконверсії за формулою Chang et al. (1984), враховуючи продуктивність біомаси.

Для визначення загального складу зразки субстрату або міцеліальної біомаси грибів висушували до постійної ваги при 105 ± 5 °C, розраховуючи вологість за втратою маси. Зольність визначали спалюванням зразків у муфельній печі при 550 °C, а вміст вуглецю – за перерахунком зольності.

Вміст хімічних елементів визначали методом мас-спектрометрії (Thermo Finnigan Element-2) після озолення зразків при 400 °C та розчинення золи в МХ-печі ETHOS (MILESTONE). Зольність визначали гравіметрично. Як внутрішній стандарт використовували ¹¹⁵In, як зовнішні – СГД-1А, СГД-2 та СЗХ-3.

Вітаміни В₁, В₂, В₁₂, А, С та каротиноїди аналізували флуориметрично, мікробіологічно, колориметрично та титриметрично відповідно, використовуючи стандартні методики.

Загальний азот визначали методом К'ельдаля. Вміст сирого протеїну розраховували шляхом множення вмісту азоту на відповідні коефіцієнти: 4,38 для грибів та 6,25 для субстратів. Гідролізовані амінокислоти аналізували після кислотного гідролізу за допомогою автоматичного амінокислотного аналізатора з постколонковою дериватизацією нінгідрином.

Вміст сирого жиру визначали методом екстракції петролейним ефіром в апараті Сокслета з подальшим гравіметричним аналізом. Жирнокислотний склад ліпідів встановлювали методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот з використанням хроматографа HRGC 5300 Mega та ідентифікацією за допомогою стандартів.

Міцелій відібраних макроміцетів, культивованих на CO₂-шроті амаранту (26 ± 2 °C, 14 діб), був досліджений на наявність антибактеріальної, противірусної, протипухлинної, ранозагоювальної та сорбційної активностей.

Водні екстракти 10 видів макроміцетів використовувалися для оцінки антивірусної активності. Токсичність та протигрипозну активність екстрактів

визначали на культурі клітин MDCK, оцінюючи цитопатичну дію (ЦПД) та мінімальну активну концентрацію (МАК). Протигерпетичну активність досліджували на культурі клітин RK-13, оцінюючи інфекційний титр вірусу. Ефективність екстрактів оцінювали за хіміотерапевтичним індексом (ХТІ).

Для оцінки протипухлинної активності водних екстрактів та суспензій міцелію *Trametes versicolor* та *Auriporia aurea* використовували моделі карциноми легені Льюїса (миші лінії C57BL6/J) та карциноми Герена (безпородні щури). Тваринам з імплантованими пухлинами перорально вводили екстракти або суспензії, оцінюючи динаміку об'єму пухлин та середню тривалість життя, згідно з методикою, описаною Shmarakov & Katan (2011).

Для оцінки ранозагоювального ефекту водних екстрактів міцелію *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi* на мишах-альбіносах лінії FVB створювали модель висіченої рани (Sharifi-Rad et al., 2020). Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, а довжину рани оцінювали за допомогою програми "Image J".

Усі експерименти з тваринами проводилися з дотриманням Національних етичних принципів (Закон України № 3447-IV), Європейської конвенції (Страсбург, 1986) та норм біоетики, прийнятих установами НАН та НАМН України.

Методика дослідження сорбційної здатності міцелію *Pleurotus ostreatus* включала інкубацію подрібненої міцеліальної біомаси з розчинами солей важких металів (Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+}) з подальшим фільтруванням. Концентрацію металів у фільтраті визначали спектрофотометрично, використовуючи металохромні індикатори сульфозо III (для Pb^{2+}) та ксиленоловий помаранчевий (для Cd^{2+} та Hg^{2+}), згідно з методикою, описаною Костенком та Бутенком (2012). Кількість сорбованих металів розраховували як різницю між початковою та кінцевою концентраціями.

Фармако-технологічні властивості гранульованої суміші міцелію грибів визначали згідно з методиками Державної фармакопеї України (ДФУ, 2015). Зразки мас для інкапсулювання отримували методом вологого гранулювання з використанням загальноприйнятих допоміжних речовин. Наповнення капсул здійснювали методом вдавлювання за допомогою ручного капсулятора.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету Microsoft Excel, використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) для порівняння середніх значень між групами. Для множинних порівнянь застосовували LSD-критерій Фішера, а для оцінки зв'язку між змінними розраховували коефіцієнт кореляції Пірсона (r). Статистичну значущість відмінностей визначали на рівні $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Фізіолого-біохімічні особливості росту макроміцетів та накопичення метаболітів. Визначення швидкості росту міцелію та продуктивності біомаси є ключовим для оптимізації культивування макроміцетів. Ці параметри дозволяють порівняти види та встановити оптимальні умови для максимальної продуктивності. Радіальна швидкість росту коливалася від $3,3 \pm 0,4$ до $18,4 \pm 0,9$ мм/добу, концентрація

біомаси – від $3,2 \pm 0,1$ до $15,5 \pm 0,3$ г/л. Більшість видів характеризувалися середньою швидкістю росту (4–8 мм/добу) та середньою продуктивністю (5–10 г/л). Третину (36,7 %) склали високопродуктивні види: *Auriporia aurea*, *Cordyceps militaris*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune*. Найвищу продуктивність біомаси спостерігали у *Ophiocordyceps sinensis* (1110 ± 37 мг·л⁻¹·добу⁻¹), *P. djamor* (1090 ± 14 мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Cordyceps militaris* (1080 ± 90 мг·л⁻¹·добу⁻¹).

Аналіз біологічно активних сполук, зокрема полісахаридів та фенольних сполук, у макроміцетах є важливим аспектом їх дослідження, оскільки ці сполуки відіграють ключову роль у фізіологічних процесах та визначають потенціал їх використання. Вміст ендополісахаридів у міцелії коливався від $1,56 \pm 0,10$ % до $10,32 \pm 0,35$ %, тоді як концентрація екзополісахаридів у культуральній рідині варіювала від $0,12 \pm 0,03$ до $2,24 \pm 0,30$ г/л (рис. 1).

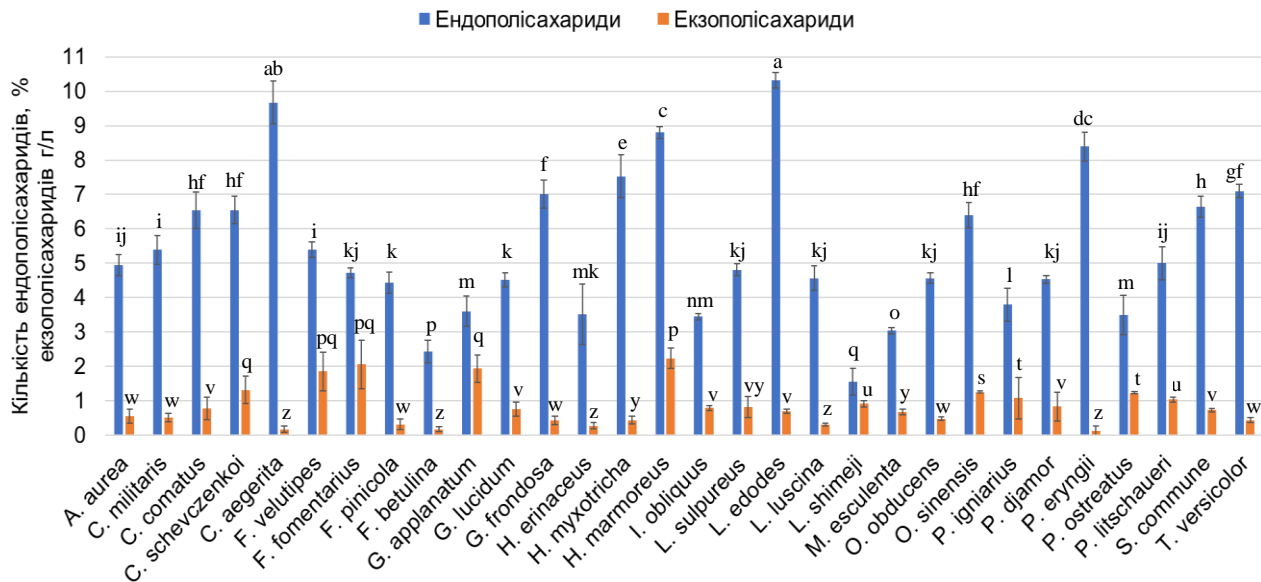


Рис. 1. Загальний вміст полісахаридів у міцеліальній біомасі макроміцетів та культуральній рідині

Примітка (тут і надалі): значення, позначені однаковими літерами, не мають статистично значущих відмінностей за критерієм Фішера LSD ($p \leq 0,05$)

Максимальні концентрації полісахаридів спостерігалися у ксилотрофних видів, таких як *Cyclocybe aegerita*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum* та *Lentinula edodes*. Найвищу продуктивність ендополісахаридів було зафіксовано у *Pleurotus eryngii* ($65,92 \pm 0,64$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Cyclocybe aegerita* ($60,09 \pm 0,64$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Cordyceps militaris* ($58,13 \pm 0,47$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Високий рівень продуктивності екзополісахаридів продемонстрував *Hypsizyugus marmoreus* ($160,00 \pm 0,30$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), а також значні кількості були виявлені у *G. applanatum* ($138,57 \pm 0,40$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Flammulina velutipes* ($132,86 \pm 0,56$ мг·л⁻¹·добу⁻¹).

Загальний вміст фенольних сполук варіював від $0,35 \pm 0,10$ до $34,55 \pm 0,80$ мг ЕГК/г, залежно від виду гриба та типу зразка: міцелій або культуральна рідина (рис. 2).

У більшості досліджених видів грибів (66,7 %) цей показник був вищим у культуральній рідині порівняно з міцелієм. Максимальний вміст фенольних сполук було встановлено в міцелії та культуральній рідині нагрунтового макроміцета *Morchella esculenta*. Значний вміст їх також спостерігався у ксилотрофних видів: у міцелії *Lentinula edodes* та *Fomitopsis pinicola*, а також у культуральній рідині *Hericium erinaceus*. Найвищий показник продуктивності фенольних сполук встановлено у міцелії *M. esculenta* ($1,82 \pm 0,70 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$), *L. edodes* ($1,43 \pm 0,30 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$) та *F. pinicola* ($1,42 \pm 0,60 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$).

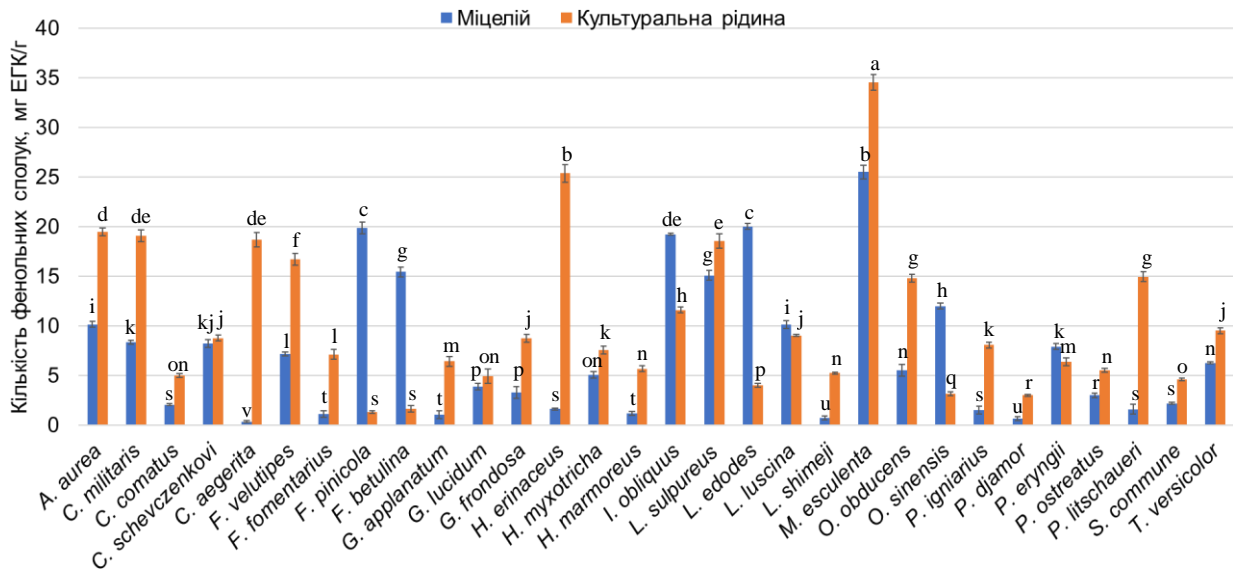


Рис. 2. Загальний вміст фенольних сполук у міцеліальній біомасі макроміцетів та у культуральній рідині

Вперше встановлено біосинтетичну здатність видів *Auriporia aurea*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri* до росту *in vitro*, продукування міцеліальної біомаси, полісахаридів і фенольних сполук. Для видів *Cyclocybe aegerita* та *Lyophyllum shimeiji* вперше продемонстровано здатність до синтезу фенольних сполук, а для міцелію *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina* – вперше визначено їх наявність.

Встановлено наявність ферментів, що каталізують ключові метаболічні реакції, включаючи: гідроліз вуглеводів (амілази – 30 видів), ліпідів (ліпази – 21 вид), азотних сполук (уреази – 20 видів, протеази – 6 видів, нітратредуктази – 2 види) та окисно-відновні процеси (лакази – 20 видів). Вперше виявлено наявність амілази – у *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeiji*, *Fomitopsis betulina*, *Pseudospongipellis litschaueri*; лакази – у *Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeiji*, *Oxyporus obducens*, *P. litschaueri*; ліпази – у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeiji*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; уреази – у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *H. marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeiji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri*; нітратредуктази – у *L. luscina*. З огляду на різноманітність виявлених ферментів, ґрунтовий сапротроф *L. luscina* є перспективним об'єктом для подальших досліджень.

Біологічна активність макроміцетів. Дослідження біологічної активності макроміцетів, зокрема антагоністичної, антибактеріальної, антиоксидантної, є надзвичайно важливим для визначення їхнього відповідного потенціалу та розширення спектру застосування.

Сумісне культивування грибів на твердому середовищі в обмеженому просторі є ефективним методом для вивчення антагоністичних взаємодій, оскільки дозволяє візуально оцінити динаміку росту колоній, реакції взаємодій, фенотипічні зміни в морфології колоній та індукцію метаболізму. При сумісному культивуванні 30 видів досліджених макроміцетів з патогенними мікроміцетами було встановлено різні реакції взаємодії: взаємне інгібування росту колоній при контакті (тип А) та на відстані (тип В), безперешкодний ріст без затримки (тип С), а також часткове та повне відновлення росту після взаємного інгібування при контакті (підтипи С_{А1}, С_{А2}) (рис. 3). Загалом, спостерігається тенденція до переважання росту колоній макроміцетів на колонії мікроміцетів, що підтверджується високою частотою реакцій взаємодії типів С, С_{А1} та С_{А2}, які сукупно складають 64 %. Вперше встановлено методом подвійних культур здатність досліджених макроміцетів пригнічувати ріст *Mucor sp.*, *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii* та штамів *Candida albicans*.

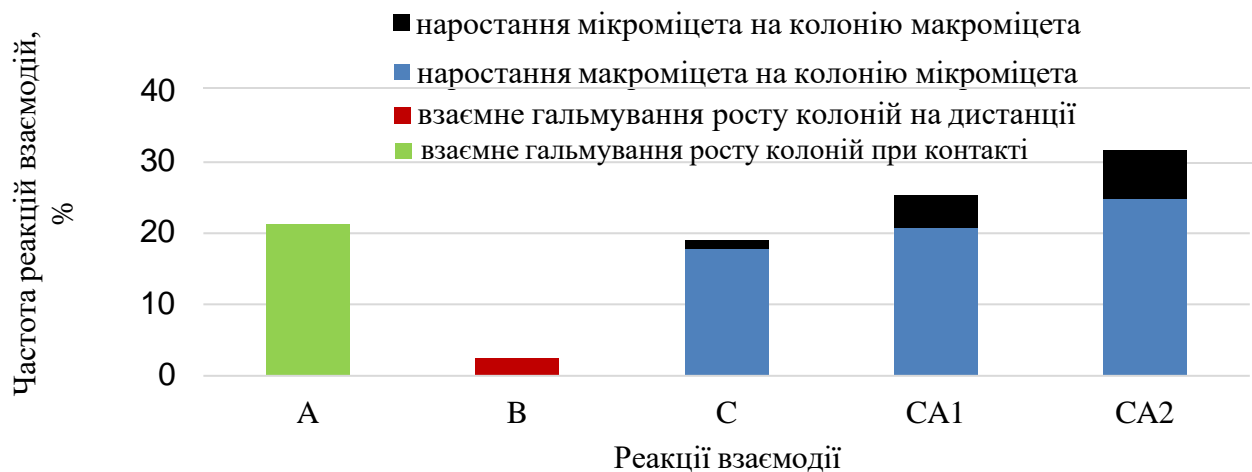


Рис. 3. Розподіл реакцій взаємодії між колоніями досліджених видів грибів

Явище антагонізму характеризується змінами морфологічних, фізіологічних і біохімічних параметрів організмів, що перебувають у спільному культивуванні. Ці зміни можуть проявлятися як ізольовано, так і комплексно, впливаючи на життєздатність та метаболічну активність обох культур грибів. Вважається, що ці морфологічні зміни можуть бути опосередковані підвищеною регуляцією генів, залучених до процесів антагонізму (Iakovlev et al., 2004). Найбільш виражені зміни спостерігалися при спільному культивуванні макроміцетів з представниками родини Saccharomycetaceae. Зокрема, при контакті колоній *Grifola frondosa* з *P. kudriavzevii* спостерігалось формування міцеліального валика (рис. 4. А), що, ймовірно, свідчить про активний захист або обмеження поширення конкурента. Взаємодія на межі контакту між колоніями *F. betulina* призвела до утворення локального повітряного міцелію (рис. 4 В), що

може бути інтерпретовано як реакція на стресові умови або спроба конкурентного витіснення. Крім того, при сумісному культивуванні *Ganoderma applanatum* з *P. kudriavzevii* спостерігалось формування центральної зони на межі їх контакту (рис. 4 С). Це явище може бути інтерпретоване як наслідок взаємного інгібування росту або як взаємодія між видами, опосередкована виділенням хімічних метаболітів. Епізодично спостерігалось утворення метаболітів у вигляді ексудату на колоніях досліджуваних макроміцетів (рис. 4 D).

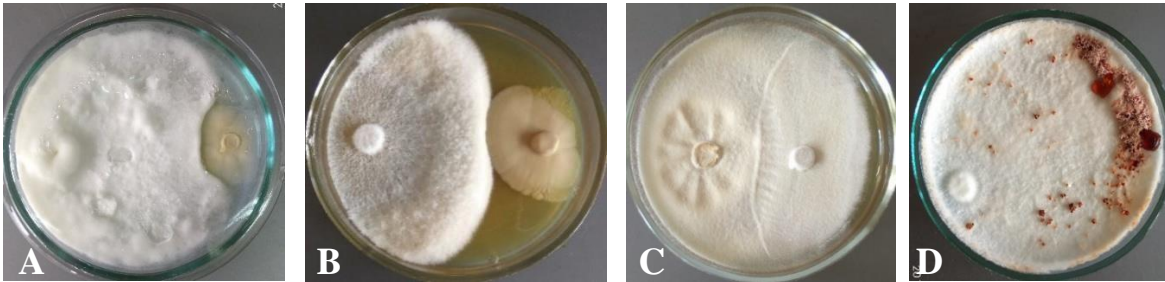


Рис. 4. Зміни морфології колоній грибів: формування міцеліального валику *Grifola frondosa* при контакті з *Pichia kudriavzevii* 301 (A); утворення локального повітряного міцелію *Fomitopsis betulina* при контакті з *Candida albicans* 319 (B); наявність центральної борозни при культивуванні *Ganoderma applanatum* та *P. kudriavzevii* 301 (C); наявність коричневого кольору крапель ексудату при культивуванні *Fomes fomentarius* з *C. albicans* 17/138 (D)

Вперше продемонстровано, що сумісне культивування *Coprinus comatus* зі штамми *C. albicans* виявилось ефективним для активації лакази у *C. comatus*, яка забезпечує захист гриба від окислювального стресу та може слугувати перспективним біотехнологічним підходом для підвищення продуктивності ферменту. Рівень лакази *C. comatus* збільшився в 3,3 рази ($48,0 \pm 5,2$ Од/мл у монокультурі *C. comatus* та $153,6 \pm 10,1$ Од/мл при сумісному культивуванні *C. comatus* і *C. albicans* 319). Імовірно, метаболіти, що виділяє *C. albicans*, індукують активацію лаказної активності *C. comatus*, яка, своєю чергою, спричиняє окислення поліфенолів і синтез коричневих пігментів у гіфах (рис. 5). Це може бути результатом активації загальних клітинних механізмів стресостійкості.

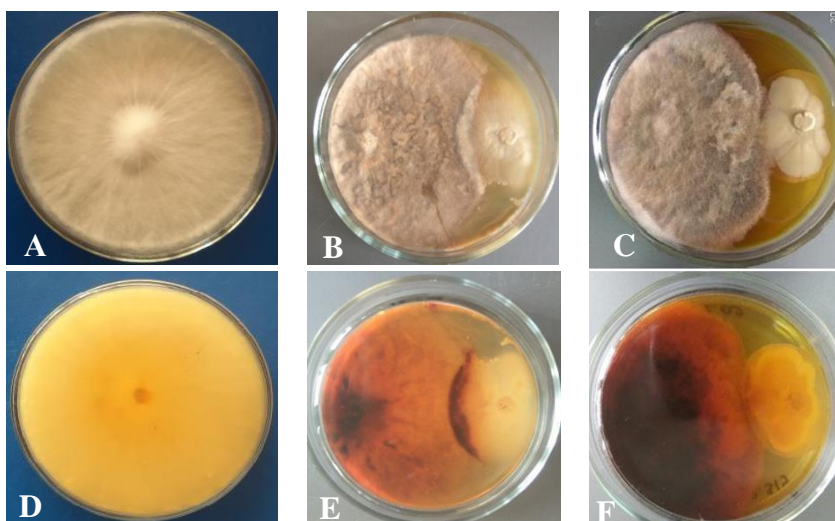


Рис. 5. Зміни морфології колоній при спільному культивуванні *Coprinus comatus* і *Candida albicans* 311 (B, E) та 319 (C, F). A, D – монокультура *C. comatus*; D, E, F – реверзум колоній

Вперше продемонстровано індукцію формування псевдоміцелію у штамів *C. albicans* в умовах сумісного культивування з певними видами макроміцетів. Даний фенотиповий поліморфізм спостерігався у клінічних ізолятів: *C. albicans* 311 при сумісному культивуванні з 17 видами макроміцетів; *C. albicans* 315 – лише з *Morchella esculenta*; *C. albicans* 319 – з 12 видами макроміцетів. Відомо, що гіфи представників роду *Candida* spp. відіграють ключову роль в інвазії субстрату, забезпечуючи колонізацію, трофічне забезпечення та поширення патогену у сприятливих умовах. Однак, у контексті антагоністичної взаємодії з макроміцетами, утворення гіф може розглядатися як адаптивна реакція на стресові умови, індуковані метаболітами антагоністів. Зокрема, значні зміни рН середовища, спричинені синтезом органічних кислот або інших біоактивних сполук, можуть стимулювати морфологічні зміни у *Candida* spp., ініціюючи утворення гіф як механізм виживання. Це припущення потребує подальших експериментальних досліджень, спрямованих на з'ясування молекулярних механізмів цієї адаптації та оцінку ролі різноманітних метаболітів макроміцетів у модифікації морфології умовно-патогенних грибів *Candida* spp.

Вперше продемонстровано, що сумісне культивування *Lentinula edodes* з *Mucor* sp.; *Pleurotus djamor* з *Pichia kudriavzevii*; *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta*, *Hericium erinaceus* з *C. albicans*; *H. erinaceus* з *P. polonicum* індукує інтенсифікацію секреції антимікотичних метаболітів у культуральне середовище, що підтверджується формуванням зони інгібування на відстані (тип В).

Встановлено, що антагоністична активність макроміцетів зменшувалася в наступній послідовності: *Candida albicans* < *Pichia kudriavzevii* < *Penicillium polonicum* < *Aspergillus niger* < *Mucor* sp. Результати засвідчили домінування одностороннього антагонізму *Mucor* sp., що інгібував ріст або спричиняв загибель макроміцетів у 80 % випадків (реакції С, С_{A1}, С_{A2}). Це підкреслює високу конкурентоспроможність *Mucor* sp. та необхідність розробки ефективних агентів біоконтролю. Максимальний індекс інгібування росту *Mucor* sp. (57 %) спостерігався при його сумісному культивуванні з *Hohenbuehelia tuxotricha*. Ксилотрофні види *Ganoderma lucidum* та *Trametes versicolor* були найбільш активними проти *A. niger* і *P. polonicum*.

Індекс антагоністичної активності (ІА) досліджених макроміцетів варіював у діапазоні від 5,0 до 31,5 залежно від виду гриба. Встановлено види з найвищою антагоністичною активністю: *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*. Сумісне культивування комерційних штамів *P. ostreatus* з *A. niger*, *C. albicans*, *Fusarium poae*, *Microdochium nivale* демонструвало єдиний вид реакції (підтип взаємодії С_{A2}) і виявили виражену антагоністичну активність (АІ = 22,5).

Результати дослідження продемонстрували, що 83,3 % (25 видів) макроміцетів мали ІА \geq 15, що, згідно з критеріями Badalyan et al. (2002), свідчить про їхню високу антагоністичну здатність. Це відкриває перспективи для біотехнологічного застосування макроміцетів, зокрема у розробці біопрепаратів для захисту рослин від фітопатогенів, створенні біофунгіцидів, а також у медичній промисловості для боротьби з патогенними мікроорганізмами.

Дослідження антибактеріальної активності є надзвичайно актуальним у зв'язку зі зростанням резистентності патогенних мікроорганізмів до існуючих

антибіотиків. У двадцяти досліджуваних видів макроміцетів (67 % від загальної кількості) було виявлено антибактеріальну активність міцелію та/або культуральної рідини проти *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 65388. Антибактеріальна активність видів *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri* встановлена вперше в межах цього дослідження. Розмір зони інгібування росту тестових бактерій коливався від $9,7 \pm 0,3$ мм у діаметрі до повного інгібування росту, що вказує на варіативність рівня антибактеріальної дії різних видів макроміцетів. Порівняльний аналіз антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини досліджуваних грибів показав, що культуральна рідина демонструвала вищу активність. Найвищу активність проти *B. subtilis* виявлено в культуральній рідині *Fomitopsis betulina* та *Lentinula edodes*, проти *S. aureus* – в культуральній рідині *F. betulina*, і проти *E. coli* – в культуральній рідині та міцеліальних екстрактах *Phellinus igniarius*. Антибактеріальна активність відібраних видів грибів *F. pinicola*, *L. edodes*, *P. igniarius* була не лише співмірною з ефективністю окремих комерційних антибіотиків, але й у деяких випадках перевищувала її. Крім того, ця активність значно перевищувала ефект від застосування ефірних олій *Salvia* та *Eucalyptus*, що підкреслює високий антибактеріальний потенціал цих видів макроміцетів.

Для подальших досліджень антибактеріальної активності було відібрано культуральну рідину *F. betulina*. Методом серійних розведень визначено ефективність висушеної та концентрованої нативної культуральної рідини *F. betulina* за показниками мінімальних бактерицидних концентрацій (МБЦК): від > 2 до 18,75 мг/л проти еталонних штамів *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 (табл. 2) та від 7,8 до 48,42 мг/л проти полірезистентних клінічних ізолятів *S. aureus* MRSA, *Staphylococcus haemolyticus* MRCNS, *P. aeruginosa* MBL, *E. coli* KPC, *Klebsiella pneumoniae* ESBL, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* MBL (табл. 3).

Таблиця 2

Мінімальна бактерицидна концентрація культуральної рідини

Fomitopsis betulina, мг/мл

Зразки культуральної рідини <i>F. betulina</i>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Нативна культуральна рідина	18,75	18,75	18,75
Нативна концентрована культуральна рідина	12,10	12,10	6,05
Ліофілізована культуральна рідина, розчинена у ДМСО	7,8	7,8	7,8
Висушена культуральна рідина, розчинена у ДМСО	$> 2,0$	15,6	7,8
Концентрована висушена культуральна рідина, розчинена у ДМСО	$> 2,0$	15,6	3,9
Негативний контроль (ДМСО)	275,0	275,0	275,0

Примітка: ДМСО – диметилсульфоксид

**Мінімальна бактерицидна концентрація культуральної рідини
Fomitopsis betulina, мг/мл**

Тест-культури	Нативна концентрована культуральна рідина	Висушена концентрована культуральна рідина
<i>S. aureus</i> 22/824 MRSA	24,21	15,6
<i>S. haemoliticus</i> 134/ 3569 MRCNS	24,21	15,6
<i>P. aeruginosa</i> 99/3066 MBL	12,10	7,8
<i>P. aeruginosa</i> 125/3343 MBL	12,10	7,8
<i>E. coli</i> 116/3196 KPC	48,42	7,8
<i>K. pneumoniae</i> 6/509 ESBL, AmpC, KPC	24,21	15,6
<i>A. baumannii</i> 50/1496 MBL	12,10	15,6
<i>A. baumannii</i> 88/2995 MBL	12,10	7,8

Визначені мінімальні інгібуючі концентрації відповідають допустимим нормативам для антибіотичних препаратів, що підкреслює потенціал досліджуваного гриба у створенні нових природних антибактеріальних засобів. Подальші дослідження мають бути спрямовані на виділення, ідентифікацію та структурний аналіз активних метаболітів, а також на з'ясування їхнього механізму дії. Це відкриває перспективи для розробки інноваційних фармацевтичних препаратів, призначених для лікування бактеріальних інфекцій, зокрема спричинених резистентними штамми патогенів.

Дослідження антиоксидантної активності є актуальним з огляду на поширеність захворювань, пов'язаних з оксидативним стресом. Надмірне утворення активних форм кисню, що лежить в основі цього процесу, є ключовим патогенетичним фактором розвитку серцево-судинних, нейродегенеративних, онкологічних захворювань та старіння (Jomova et al., 2023). Оцінено потенціал етилацетатних екстрактів досліджених макроміцетів щодо знешкодження вільного радикалу DPPH.

Вперше встановлено антиоксидантну активність *Auriporia aurea*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Oxyporus obducens*. У літературі також відсутні дані щодо антиоксидантної активності міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola*, *Lepista luscina*, незважаючи на дослідження антиоксидантних властивостей їхніх плодових тіл. Отримані результати свідчать про те, що міцелій та культуральна рідина досліджених видів грибів є потенційними джерелами природних антиоксидантів. Інгібування вільних радикалів становило 11,7–87,9 % для міцелію та 4,3–69,3 % для культуральної рідини, залежно від досліджуваних видів грибів (рис. 6). Загалом, у половини видів грибів (50 %) міцелій продемонстрував вищу антиоксидантну активність порівняно з культуральною рідиною, що вказує на потенційну роль внутрішньоклітинних компонентів у нейтралізації вільних радикалів. Серед досліджених видів міцелій *Lentinula edodes edodes* та *Fomitopsis pinicola* продемонстрували найвищий

потенціал поглинання вільних радикалів (до 90 %), що робить їх першочерговими кандидатами для подальшого вивчення як природних джерел антиоксидантів.

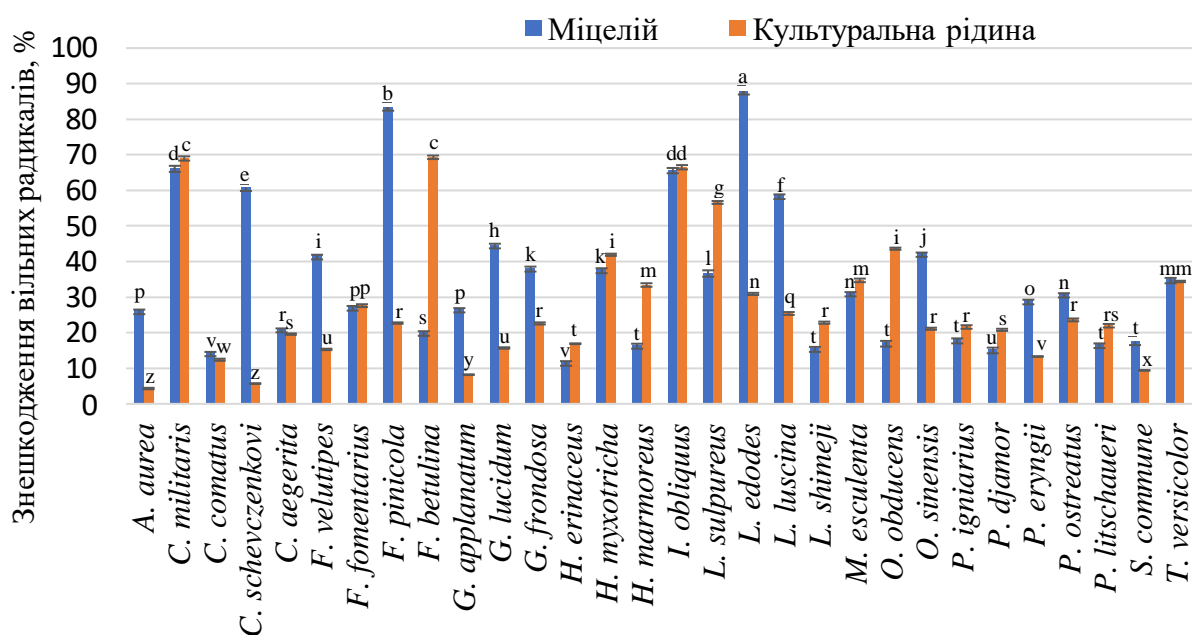


Рис. 6. Антиоксидантна активність етилацетатних екстрактів міцеліальної біомаси макроміцетів та культуральної рідини

Для розуміння впливу фенольних сполук на антиоксидантну активність був використаний кореляційний тест Пірсона. Відповідно до шкали Evans (1996), вміст фенольних сполук достовірно сильно корелював ($r = 0,661$) з інактивацією DPPH у міцелії грибів, проте було встановлено дуже слабку кореляцію у культуральній рідині ($r = 0,119$). Також встановлено наявність слабкої кореляції ($r = 0,141$) між антиоксидантною активністю і вмістом ендopolісахаридів. Отже, результати підкреслюють провідну роль фенольних сполук у забезпеченні антиоксидантної активності грибів, тоді як вплив ендopolісахаридів є менш значущим і, як у випадку екзopolісахаридів, навіть негативним.

Дослідження внутрішньо- та позаклітинних метаболітів макроміцетів необхідне для визначення їх загального антиоксидантного потенціалу. Отримані дані створюють основу для майбутніх розробок та застосування макроміцетів унутрицевтиці, що підтверджує значення макроміцетів як джерела біологічно активних сполук.

Біоконверсія макроміцетами відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва. З метою раціонального використання природних ресурсів, сучасні біотехнології зосереджуються на біоконверсії різних відходів, таких як сільськогосподарські відходи, харчові та промислові відходи. Макроміцети, зокрема базидієві гриби, завдяки потужному ферментному апарату, є перспективними об'єктами для біоконверсії відходів, що зумовлює актуальність пошуку нових субстратів та скринінгу видів для їх біотрансформації.

Встановлено здатність досліджених макроміцетів до біоконверсії відходів харчової промисловості (крихта та бита вермішель, какао-вела, дерть ячмінна та

пшенична, пшеничні висівки) та олійно-екстракційного виробництва (шрот плодів шипшини, насіння гарбуза, розторопші, льону, сої, гірчиці, CO₂-шрот ехінацеї та амаранту, зародків пшениці, вівса, макуха насіння ріпаку, рижю, соняшника) (рис. 7 А). Визначено альтернативні субстрати для культивування кожного з досліджених видів макроміцетів (рис. 7 В). Найбільша кількість (≥ 17) досліджених відходів є альтернативними для культивування ксилотрофів *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, наґрунтових видів *Crinipellis schevchenkovi* та *Lepista luscina* відповідно.

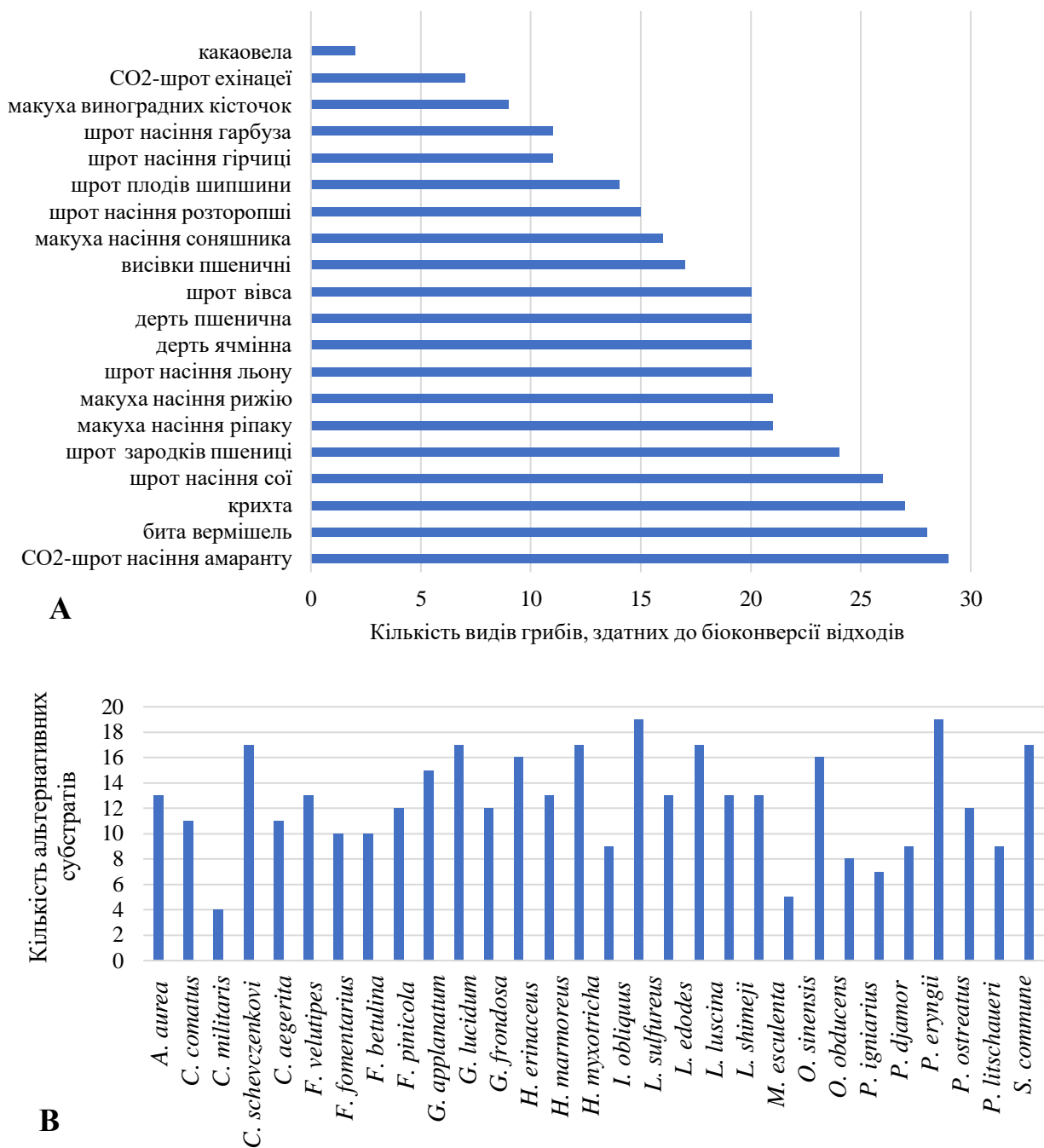


Рис. 7. Потенціал макроміцетів до біоконверсії відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва

Найкращі результати синтезу біомаси спостерігалися на відходах, багатих на крохмаль, що може бути обумовлено легким доступом до вуглеводів, необхідних для росту грибів. Отримані результати узгоджуються з нашими попередніми результатами, що всі досліджені макроміцети продукують фермент амілазу, яка гідролізує крохмаль до простих цукрів.

Виявлено значний вплив рідких поживних середовищ на основі відходів на ріст міцелію комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* (рис. 8). Серед однокомпонентних субстратів, шрот зародків пшениці продемонстрував найкращі показники росту для всіх досліджуваних штамів *P. ostreatus*. Інші монособстрати не виявили значного позитивного впливу на ріст усіх штамів, проте їхнє комбінування з іншими субстратами збільшило врожай міцелію у 2,2–2,9 рази порівняно з контрольним середовищем.

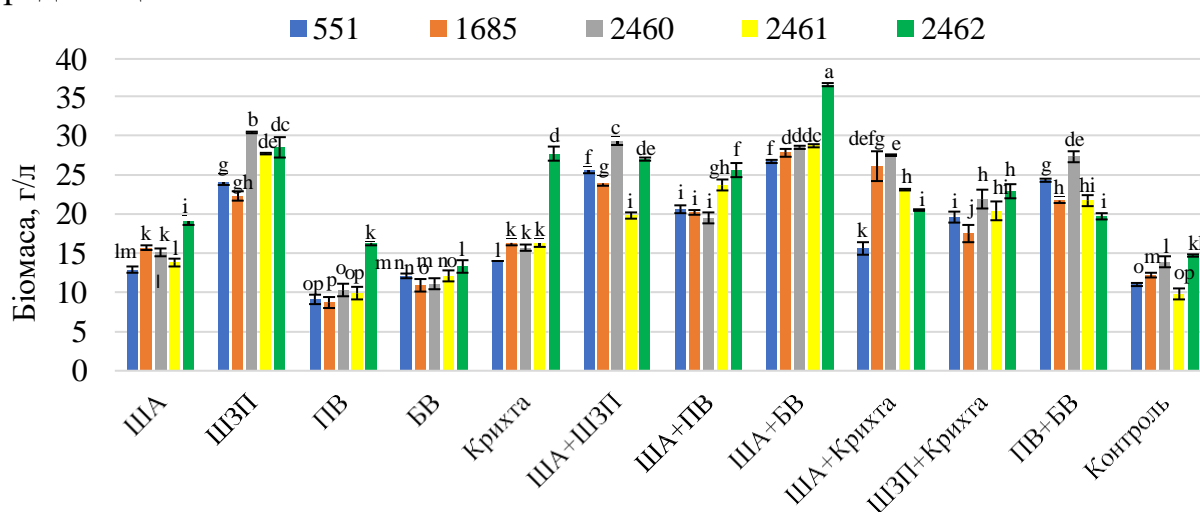


Рис. 8. Вплив рідких середовищ на основі відходів на накопичення міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus* 551, 1685, 2460, 2461, 2462. Середовища: ША – CO₂-шрот амаранту; ШЗП – шрот зародків пшениці; ПВ – пшеничні висівки; БВ – бита вермішель; Крихта – відходи макаронного виробництва; Контроль – ГПД середовище

Харчові відходи та побічні продукти олійної екстракції виявилися перспективними субстратами для культивування макроміцетів, що свідчить про їхній значний потенціал у біоконверсії відходів. Встановлено, що відходи вуглекислотної екстракції амаранту (CO₂-шрот) характеризуються високою універсальністю, оскільки здатні засвоюватися різними видами макроміцетів. Це підкреслює їх перспективність як універсального субстрату для біотехнологічних процесів, спрямованих на отримання грибної біомаси. Вивчення малодосліджених відходів розширює спектр сировини для культивування макроміцетів. Отримані результати відкривають нові перспективи для біотехнологічної утилізації відходів, що відповідає принципам безвідходної економіки та сприяє збереженню природних ресурсів.

CO₂-шрот амаранту як перспективна основа поживного середовища для культивування макроміцетів. Технологічний процес вуглекислотної екстракції насіння амаранту забезпечує збереження цінних компонентів у побічному продукті – CO₂-шроті, зокрема високого вмісту білків, включаючи незамінні амінокислоти, а також мікро- та макроелементів (загалом 15) і вітамінів (B₁, B₁₂, C), що створюють оптимальні умови для розвитку міцелію грибів *in vitro*. Для

подальших досліджень були відібрані гриби *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune*, які демонстрували активний ріст на CO₂-шроті амаранту. Ці види відомі своїми лікувальними властивостями та часто входять до складу дієтичних добавок. Максимальні значення вмісту сирого протеїну зафіксовано у міцеліальній біомасі *P. ostreatus* ($48,4 \pm 0,3$ %) та у культуральній рідині *S. commune* ($29,1 \pm 0,1$ %). Аналіз амінокислотного складу білків досліджених видів показав у біомасі та культуральній рідині присутність 17 амінокислот, включаючи важливі незамінні амінокислоти: лізин, гістидин, треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, метіонін. Серед досліджених видів, найменший вміст сирого жиру зафіксовано у ліофілізованій культуральній рідині *O. sinensis* ($3,8 \pm 0,1$ г/100 г) та міцелії *P. ostreatus* ($5,1 \pm 0,1$ г/100 г). У міцелії *O. sinensis*, *P. ostreatus* та *S. commune* було ідентифіковано 10 жирних кислот, тоді як у культуральних рідинах цих грибів – 12 жирних кислот. У міцелії та культуральній рідині досліджуваних грибів виявлено два класи поліненасичених жирних кислот – омега-6 й омега-3. Встановлено значний вміст лінолевої кислоти, концентрація якої варіювала від 52,26 до 67,41 % у міцелії та від 42,43 до 61,09 % у культуральній рідині грибів. Вміст мононенасиченої олеїнової кислоти становив від 24,15 до 47 % до суми жирних кислот у міцелії та від 16,32 до 32,54 % до суми жирних кислот у ліофілізованій культуральній рідині. Найвищий рівень ненасичених жирних кислот зафіксовано у міцелії та культуральній рідині *P. ostreatus*.

Pleurotus ostreatus відомий не лише своїми поживними властивостями, але й унікальною здатністю до сорбції іонів важких металів. Результати дослідження продемонстрували статистично значущі відмінності у загальному рівні накопичення іонів Pb²⁺, Cd²⁺ та Hg²⁺ у біомасі *P. ostreatus*, вирощеній на різних субстратах. Сорбція важких металів біомасою гриба зростала в порядку Hg²⁺ < Pb²⁺ < Cd²⁺. Найвища здатність до зв'язування іонів Cd²⁺ ($71,0 \pm 0,5$ мг/г) встановлена у біомасі *P. ostreatus*, вирощеної на CO₂-шроті амаранту, тоді як найбільш ефективно зв'язування іонів Pb²⁺ ($40,0 \pm 0,3$ мг/г) і Hg²⁺ ($35,5 \pm 0,1$ мг/г) спостерігається у біомасі, культивованої на шроті зародків пшениці.

Антибактеріальну активність екстрактів міцелію та/або культуральної рідини макроміцетів, вирощених на CO₂-шроті, виявлено у 20 досліджених видів макроміцетів, що становить 67 % від їх загальної кількості. Заміна контрольного середовища культивування (ГПД) на відходи вуглекислотної екстракції насіння амаранту сприяла посиленню антибактеріальної активності у 23,3 % досліджених видів. Крім того, було встановлено підвищення середнього рівня антибактеріальної активності, яке виражалось у формуванні зон інгібування росту бактерій діаметром від 10 до 20 мм для всіх трьох тестових штамів.

На основі аналізу літературних джерел, патентних досліджень та скринінгу накопичення біомаси досліджуваних макроміцетів, для вивчення антивірусної активності було відібрано 10 видів макроміцетів, культивованих на CO₂-шроті. Встановлено, що екстракти міцелію дев'яти видів грибів проявляють протигрипозну активність, а чотири з них – виражену протигерпетичну активність (табл. 4). Вперше виявлено протигрипозну активність для видів *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius* та *Lyophyllum shimeji*. Крім того, вперше

встановлено протигерпетичну активність проти вірусу герпесу 2-го типу для *A. aurea* та *F. fomentarius*.

Таблиця 4

Антивірусна активність екстрактів міцелію грибів

Макроміцети	Вірус грипу (H1N1) штам А/FM/1/47 (клітини МДСК)			Вірус герпесу 2-го типу (клітини RK-13)		
	МТС (мг/мл)	EC ₅₀ (мг/мл)	ХТІ (МТС/EC ₅₀)	МТС (мг/мл)	EC ₅₀ (мг/мл)	ХТІ (МТС/EC ₅₀)
<i>A. aurea</i>	25	0,62	40,32	25	0,155	161,29
<i>F. velutipes</i>	25	1,25	20,00	25	0	0
<i>F. fomentarius</i>	25	0,62	40,32	25	0,62	40,32
<i>G. lucidum</i>	0,2	0,077	80,50	6,2	0	0
<i>L. edodes</i>	1,55	0,077	20,12	1,55	0	0
<i>L. shimeji</i>	3,1	0,62	5,0	3,1	0	0
<i>P. eryngii</i>	1,55	50	0	1,55	0	0
<i>P. ostreatus</i>	12,5	2,5	6,0	12,5	0,155	80,64
<i>S. commune</i>	12,5	0,62	20,16	12,5	0	0
<i>T. versicolor</i>	25	0,077	324,67	25	0,077	324,67

Примітка: EC₅₀ – напівмаксимальна ефективна концентрація; МТС – максимально переносима концентрація; ХТІ – хімотерапевтичний індекс

Встановлено, що ефективні дози міцелію *P. ostreatus* та *A. aurea* для нейтралізації вірусу простого герпесу типу 2 (ВПГ-2) значно нижчі, ніж для пригнічення вірусу грипу А, що свідчить про їхню вищу противірусну активність щодо ВПГ-2. Зокрема, протигерпетична активність *P. ostreatus* перевищувала активність проти вірусу грипу в 13 разів, а *A. aurea* – у чотири рази. Водночас терапевтичні індекси *F. fomentarius* та *T. versicolor* залишалися стабільними для обох вірусів, що може вказувати на універсальний механізм їхньої противірусної дії. Високий терапевтичний індекс (324,67) та значна цитотоксична доза (25,0 мг/мл) екстракту міцелію *T. versicolor* свідчать про високий противірусний потенціал та безпечність гриба для біотехнологічних застосувань.

Враховуючи кореляцію між противірусною та протипухлинною активністю базидієвих грибів (Lindequist et al., 2005), для подальших досліджень *in vivo* протипухлинної активності були відібрані *Auriporia aurea* та *Trametes versicolor*, які продемонстрували найвищу противірусну активність.

Введення водних екстрактів та суспензій міцелію грибів тваринам з карциномою Герена спричинило зменшення приросту пухлини в період її активного росту (7–16 доба). Вперше виявлено наявність протипухлинного ефекту у виду *A. aurea*. Найбільше зниження розмірів пухлини спостерігалось при введенні екстракту *T. versicolor* (на 65 %), а також суспензій *T. versicolor* (36 %) та *A. aurea* (20 %) (рис. 9). Однак, тривале введення суспензії міцелію *T. versicolor* (група П+С1) спровокувало збільшення розмірів первинної пухлини порівняно з контрольною групою, а введення водного екстракту і суспензії

міцелію *A. aurea* (групи П+Е1, П+Е2) призвело до передчасної загибелі тварин. Зокрема, рівень летальності у цих групах сягав 33 % та 50 % відповідно вже на 19-ту добу експерименту, а до 22-ї доби становив 100 %. Отримані результати можуть бути інтерпретовані або як наслідок надмірної стимуляції імунної системи під впливом глюканів грибів або як потенційний токсичний чи імуносупресивний ефект тривалого введення зазначених препаратів, що потребує подальшого дослідження.

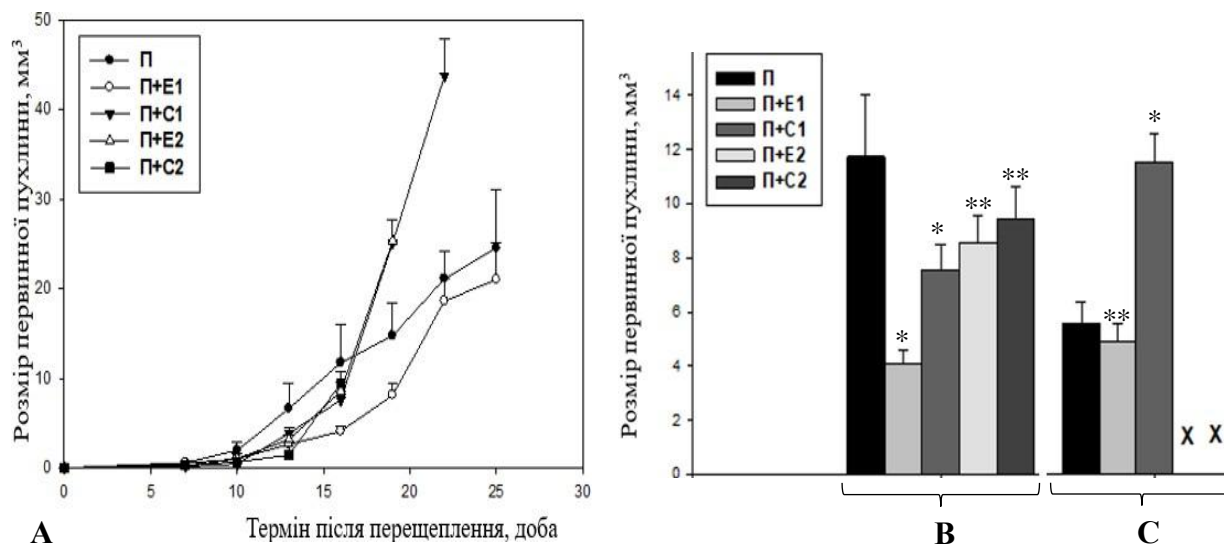


Рис. 9. Темпи росту (А) та розміри первинної пухлини карциноми Герена у період активного росту, 16-а доба (В) та на термінальних етапах її росту, 22 доба (С); П – контрольна група тварин, П+Е1 і П+С1 тварини, які отримували екстракт і суспензію міцелію *T. versicolor* відповідно, П+Е2 і П+С2 тварини, які отримували екстракт і суспензію міцелію *A. aurea* відповідно; х – передчасна загибель тварин; * – $p < 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою

Введення водного екстракту *T. versicolor* на моделі карциноми Льюїса призвело до зменшення розмірів первинної пухлини на 30 % (починаючи з 10 доби після перещеплення карциноми Льюїса (3 доба після початку введення препарату) і до кінця експерименту). Разом з цим, до 20 % особин-пухлиноносіїв у групі, яка отримувала водний екстракт міцелію *T. versicolor*, залишалися живими навіть після 26-ї доби експерименту, тоді як у контрольній групі рівень летальності становив 100 %. Цей результат свідчить про потенційний захисний ефект водного екстракту міцелію *T. versicolor*, який, можливо, уповільнює прогресування пухлинного процесу або підтримує загальний стан організму.

Висока агресивність пухлинної моделі підтверджувалася 100 % частотою метастазування в обох групах. Проте, в дослідній групі спостерігалася зниження кількості та розмірів метастазів на 45 % та 40 % відповідно. Водночас, у дослідній групі переважали поодинокі метастази, що може свідчити про уповільнення їх розвитку або обмеження інвазивності пухлинних клітин під впливом водного екстракту міцелію *T. versicolor*. Проте у період активного росту пухлини (18-та доба після перещеплення, 10-та доба після початку введення

препарату) середній розмір та маса первинної пухлини карциноми зменшувалися не суттєво, на 24 і 20% відповідно, порівняно з контрольною групою, що не дозволяє констатувати виражений протипухлинний ефект препарату. Ці результати демонструють потенційний антиметастатичний ефект препарату. Водночас, введення досліджуваного препарату викликало появу lag-періоду в темпах росту карциноми Льюїса та зменшення вираженості її ростових показників, що вказує на необхідність оптимізації режимів введення препарату.

Для вивчення ранозагоювальної активності був обраний *Ganoderma lucidum*, з огляду на його підтверджені терапевтичні властивості, зокрема ранозагоювальні, та малодосліджений *Crinipellis schevczenkovi*, що має потенціал для наукових досліджень. Застосування водних екстрактів міцелію *G. lucidum* та *C. schevczenkovi*, вирощених на CO₂-шроті амаранту, на моделі висіченої рани спричинило запальну реакцію, що характеризувалася значною інфільтрацією нейтрофілами та лімфоцитами. На третю добу спостерігалася епітелізація з лімфоцитарною інфільтрацією та ексудацією, формування струпа, що свідчить про активацію клітинного імунітету. Попри загоєння, грануляційна тканина залишалася пухкою та набряклою, з ознаками ангиогенезу та клітинної проліферації, а регенеративний валик був слабо виражений. На п'яту добу виявлено епітелізацію з ознаками ороговіння, що сприяло повному закриттю ран у дослідних групах на шосту добу, тоді як у контрольній групі – на восьму.

Оптимізація умов культивування макроміцетів з метою підвищення їх біосинтетичної активності. Підвищення біосинтетичної активності макроміцетів через оптимізацію культивування є ключовим для ефективного виробництва продукції на основі грибів. За результатами попередніх скринінгових досліджень відібрано *Lentinula edodes* та *Fomitopsis betulina*, які продемонстрували найвищу антибактеріальну активність. Для них встановлено оптимальні параметри для накопичення біомаси та набуття антибактеріальної активності (табл. 5). Наші результати підтверджують, що ці умови суттєво відрізняються між видами, що підкреслює необхідність детального дослідження кожного виду та штаму для ефективного вирощування.

Антибактеріальна активність *F. betulina* та *L. edodes* також суттєво залежала від складу поживного середовища. Зокрема, *F. betulina* мав кращу активність при культивуванні на середовищі з макухою сої та шротом зародків пшениці, тоді як *L. edodes* – на середовищі з макухою ріпаку. *F. betulina* був обраний для подальших досліджень завдяки вищій антибактеріальній активності. Глибинне культивування *F. betulina* показало максимальну біомасу на 15-ту добу, а пікову антибактеріальну активність – на 13-ту. Однак, з огляду на незначну різницю в часі культивування та вищі ризики контамінації при глибинному методі, статичне культивування визнано більш економічно доцільним для цього виду гриба. Досягнення оптимальних умов культивування, що забезпечить баланс між сприятливими умовами для росту та ефективним синтезом метаболітів, дозволить максимально реалізувати біотехнологічний потенціал макроміцетів для виробництва цінних біоактивних сполук.

Вплив умов культивування на ріст та антибактеріальну активність *Lentinula edodes* і *Fomitopsis betulina*

<i>L. edodes</i>			Параметр	<i>F. betulina</i>		
Антибактеріальна активність, мм		Біомаса, г/л		Біомаса, г/л	Антибактеріальна активність, мм	
Культуральна рідина	Міцелій				Міцелій	Культуральна рідина
14–35 доба (повне інгібування росту <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i>)	35 доба (повне інгібування росту <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i>)	14 доба (6,0 г/л)	Метод культивування (статичне культивування) (7, 4, 21, 28, 35 доба)	14 доба (8,1 г/л)	28 доба (13,0 мм – <i>E. coli</i> , 12,5 мм – <i>B. subtilis</i> , 15,2 мм – <i>S. aureus</i>)	14 доба (повне інгібування росту <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i>)
5,5–6,5 (13,0-13,5 мм – <i>E. coli</i>) 5,5–6,5 (14,0-15,2 мм – <i>B. subtilis</i>) 5,5 (18,5 мм – <i>S. aureus</i>)	–	3,5 (9,9 г/л)	pH 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5	3,5-4,0 (10,5-10,8 г/л)	–	5,5–6,5 (повне інгібування росту <i>E. coli</i>) 5,5 і 6,0 (18,3 та 14,2 мм – <i>B. subtilis</i>) 5,5–6,5 (від 20,7 мм до повного інгібування росту <i>S. aureus</i>)
целюлоза (повне інгібування росту <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i>)	целюлоза (15,5 мм – <i>E. coli</i>), (19,0 мм – <i>B. subtilis</i>)	глюкоза, (1,1 г/л) целюлоза (0,9 г/л)	Джерело вуглецю (арабіноза, фруктоза, глюкоза, галактоза, мальтоза, лактоза, сахароза, крохмаль, целюлоза)	целюлоза, (1,7 г/л)	мальтоза (15,5 мм – <i>E. coli</i>), арабіноза (11,0 мм – <i>B. subtilis</i>) галактоза (14,4 мм – <i>S. aureus</i>)	галактоза (15,0 мм – <i>E. coli</i> , 11,8 мм – <i>S. aureus</i> , повне інгібування росту <i>B. subtilis</i>)
целюлоза 10 г/л (повне інгібування росту <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i>)	целюлоза 10 г/л (14,0 мм – <i>E. coli</i>), (18,5 мм – <i>B. subtilis</i>)	целюлоза 25 г/л (2,7 г/л)	концентрація джерела вуглецю (10, 15, 25 г/л)	галактоза 10-25 г/л (0,8-1,0 г/л)	галактоза 10 г/л (13,8 мм – <i>S. aureus</i>)	галактоза 10 г/л (15,1 мм – <i>E. coli</i> , 12,4 мм – <i>S. aureus</i> повне інгібування росту <i>B. subtilis</i>)
аспарагін, нітрат і сульфат амонію (повне інгібування росту <i>E. coli</i>), всі тест-джерела (повне інгібування росту <i>B. subtilis</i>)	–	аспарагін (1,5 г/л)	Джерело азоту (аспарагін, пептон, сечовина, нітрат амонію, сульфат амонію, нітрат натрію)	аспарагін (1,5 г/л)	–	аспарагін, нітрат і сульфат амонію (повне інгібування росту <i>E. coli</i>), всі тест-джерела (повне інгібування росту <i>B. subtilis</i>)
пептон, нітрат амонію (10,0-10,7 мм – <i>S. aureus</i>)	–	–	концентрація джерела азоту (0,0625, 0,125, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0 г/л)	–	–	пептон, нітрат амонію (10,0-10,7 мм – <i>S. aureus</i>)
нітрат амонію 0,125-1,0 г/л (повне інгібування росту <i>E. coli</i>), нітрат амонію 0,5-1,0 г/л (повне інгібування росту <i>B. subtilis</i> і <i>S. aureus</i>)	–	нітрат амонію (1,0 г/л)	–	нітрат амонію (1,0 г/л)	–	нітрат амонію 0,125-1,0 г/л (повне інгібування росту <i>E. coli</i>), нітрат амонію 0,5-1,0 г/л (повне інгібування росту <i>B. subtilis</i> і <i>S. aureus</i>)

Примітка: у таблиці наведено досліджені параметри та встановлені оптимальні умови, сприятливі для росту грибів і набуття ними антибактеріальної активності

Результати дослідження продемонстрували, що ультрафіолетове (УФ) опромінення не спричинило змін у морфологічних характеристиках *F. betulina*, підтверджуючи його стійкість. Оптимальним для стимуляції росту міцелію та біосинтезу *F. betulina* виявилось 15-хвилинне УФ-опромінення ($0,85 \text{ кДж/см}^2$), незалежно від стадії росту культури. Антибактеріальна активність культуральної рідини *F. betulina* варіювала залежно від часу опромінення та виду бактерій: максимальна активність проти *E. coli* спостерігалася при 15 хвилинах опромінення, тоді як проти *B. subtilis* та *S. aureus* активність знижувалася зі збільшенням часу опромінення. Ці дані вказують на можливість використання УФ-опромінення для збільшення біосинтезу та антибактеріальної активності *F. betulina* в біотехнологічних процесах.

За результатами скринінгу на попередніх етапах були відібрані *F. pinicola* та *L. edodes* як ксилотрофні види з найвищою здатністю міцелію до знешкодження вільних радикалів. Виявлено значний вплив поживного середовища та екстрагенту на біомасу *F. pinicola* та *L. edodes*, антиоксидантну активність та вміст фенольних сполук. Обидва види грибів демонстрували вищу біомасу на ГПД порівняно з середовищем Сабуро, причому *F. pinicola* продукував значно більшу біомасу ($8,5 \pm 0,2$ на ГПД проти $6,7 \pm 0,3$ г/л на Сабуро). На середовищі ГПД обидва види грибів демонстрували високу антиоксидантну активність при екстракції етилацетатом, метанолом та водою (80–90% знешкодження вільних радикалів), тоді як на середовищі Сабуро висока активність спостерігалася лише при екстракції метанолом ($90,72 \pm 0,5$ % для *F. pinicola*). Аналогічно, вміст фенольних сполук був вищим на середовищі ГПД при екстракції метанолом та водою (35–40 мг ЕГК/г), а на середовищі Сабуро – лише при екстракції метанолом ($38,53 \pm 0,1$ мг ЕГК/г) для *F. pinicola*. *F. pinicola* демонстрував вищий вміст фенольних сполук при екстракції метанолом на середовищі Сабуро, тоді як *L. edodes* мав дещо вищий їх вміст – на середовищі ГПД. Кореляційний аналіз Пірсона виявив дуже сильний ($r = 0,892$) та сильний ($r = 0,714$) кореляційний зв'язок між вмістом фенольних сполук та антиоксидантною активністю у міцелії *F. pinicola* та *L. edodes*, відповідно. Результати дослідження підкреслили вирішальну роль поживного середовища та екстрагенту у набутті антиоксидантних властивостей та ефективності вилучення розчинниками біологічно активних метаболітів макроміцетів. *Fomitopsis pinicola* демонстрував вищу здатність до синтезу біомаси на обох досліджених середовищах порівняно з *L. edodes*, що робить його перспективним об'єктом для подальших досліджень.

Визначені нуклеотидні послідовності ITS-регіону рибосомальної ДНК *F. pinicola* та депоновані до міжнародної бази даних GenBank під номером PQ 184654. Було оцінено вплив умов культивування на ріст *F. pinicola* (табл. 6) та встановлено можливість збільшення антиоксидантної активності та загального вмісту фенольних сполук за рахунок умов культивування (табл. 7). Кореляційний аналіз Пірсона виявив позитивні зв'язки між біомасою, вмістом фенольних сполук та антиоксидантною активністю *F. pinicola*. Зокрема, спостерігалася дуже сильна кореляція ($r = 0,800$ – $0,953$) між фенольними сполуками та антиоксидантною активністю за різних умов культивування, що підтверджує ключову роль фенольних сполук у антиоксидантній активності. Сильна кореляція між біомасою та вмістом фенольних сполук спостерігалася при зміні певних умов (температура та метод культивування).

Вплив умов культивування на ріст, антиоксидантну активність та вміст фенольних сполук

Fomitopsis pinicola

Параметр	Біомаса, г/л	Антиоксидантна активність, %	Вміст фенольних сполук, мг ЕКГ/г
Температура інкубування (20, 25, 30 °С)	25 °С (8,5 г/л)	30 °С (78,17 %)	25 °С (8,5 мг ЕКГ/г)
Статичне культивування (7, 4, 21, 28, 35 доба)	35 доба (16,02 г/л)	28 доба (93,60%)	28 доба (15,88 мг ЕКГ/г)
Культивування на орбітальному шейкері (3, 5, 7, 9, 11 доба)	7 доба (8,2 г/л)	7 доба (93,06 %)	5 і 7 доба (21,44 мг ЕКГ/г)
рН 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5	2,5 (10,4 г/л)	2,5–5,0 (>92,0 %)	2,5–3,5 (>30 мг ЕКГ/г)
Джерело вуглецю (маніт, арабіноза, ксилоза, фруктоза, декстроза, глюкоза, галактоза, мальтоза, лактоза, сахароза, крохмаль, целюлоза)	Галактоза (4,0 г/л)	Ксилоза, фруктоза (>89,0 %)	Ксилоза (16,55 мг ЕКГ/г)
Джерело азоту (аспарагін, дріжджовий екстракт, пептон, сечовина, нітрат амонію, сульфат амонію, нітрат натрію, нітрат калію, нітрит натрію)	Дріжджовий екстракт (7,8 г/л)	Пептон (90,42 %)	Пептон (17,41 мг ЕКГ/г)

Вплив ключових умов культивування *Fomitopsis pinicola* на антиоксидантну активність та вміст фенольних сполук

Умови культивування (30 °С, ксилоза, рН 3,5)	Антиоксидантна активність, %	Вміст фенольних сполук, мг ЕКГ/г
7 діб культивування на орбітальному шейкері	93,13 ± 0,40	48,30 ± 0,67
28 діб статичного культивування	92,00 ± 0,21	37,00 ± 0,59

Відомості про позаклітинні ферменти, здатність до культивування на альтернативних субстратах та антибактеріальну активність міцелію малодослідженого виду *Hohenbuehelia myxotricha*, встановлені нами, є фрагментарними. Крім того, його морфологічні особливості, параметри росту, терапевтична активність та умови культивування залишаються недостатньо вивченими. Це стало підґрунтям для проведення серії експериментів, спрямованих на вивчення особливостей його росту.

Вперше детально охарактеризовано культурально-морфологічні особливості вегетативного міцелію *H. myxotricha*. Склад поживного середовища впливає на морфологічні характеристики, щільність колоній та швидкість радіального росту, яка варіювала від $8,8 \pm 0,4$ до $18,2 \pm 0,5$ мм/доба, з максимумом на СА середовищі. Оптимальними умовами для максимального синтезу біомаси (11,6 г/л) встановлено температура 25 °С, рН 4,5 на ГПД середовищі, глюкоза у концентрації 30–35 г/л та дріжджовий екстракт у концентрації 2,0 г/л на ГА середовищі.

Період інкубації суттєво впливав на антимікотичну активність *H. myxotricha*: максимальна активність проти *A. niger* спостерігалася на 14-ту добу, а проти *P. kudriavzevii* та штамів *C. albicans* (315, 319, 17/138) – на 21-шу (рис. 10). Стабільне пригнічення росту *C. albicans* 311 (95 %) незалежно від тривалості культивування може бути зумовлене раннім синтезом критичної концентрації антимікотичних сполук, їх стійкістю, підвищеною чутливістю штаму, або балансом між синтезом та деградацією активних речовин.

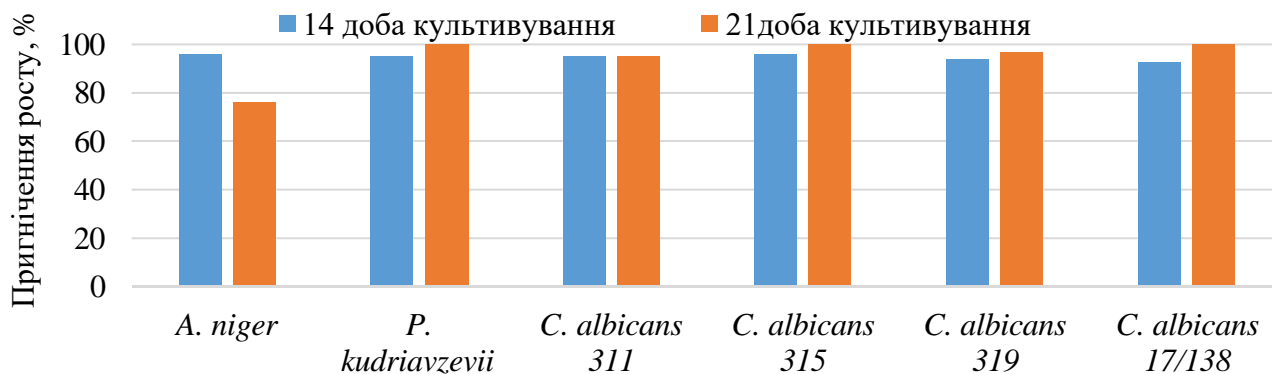


Рис. 10. Вплив тривалості культивування на антимікотичну активність *Hohenbuehelia myxotricha*

Джерела вуглецю та азоту суттєво впливали на продукцію антимікотичних метаболітів, з варіабельністю активності від 2 до 100 % інгібування (рис. 11), що пов'язано з їх біодоступністю, рівнем азоту, співвідношенням С:N, типом азотовмісних сполук, індукцією метаболічних шляхів та осмотичним ефектом. Етанольний екстракт міцелію *H. myxotricha*, отриманий з культур, вирощених на середовищах Сабуро та ГПД, проявляв антимікробну активність проти широкого спектру патогенних мікроорганізмів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також гриби (табл. 8). Вперше встановлено антимікробну дію *H. myxotricha* проти *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* та *Nakaseomyces glabrata*.

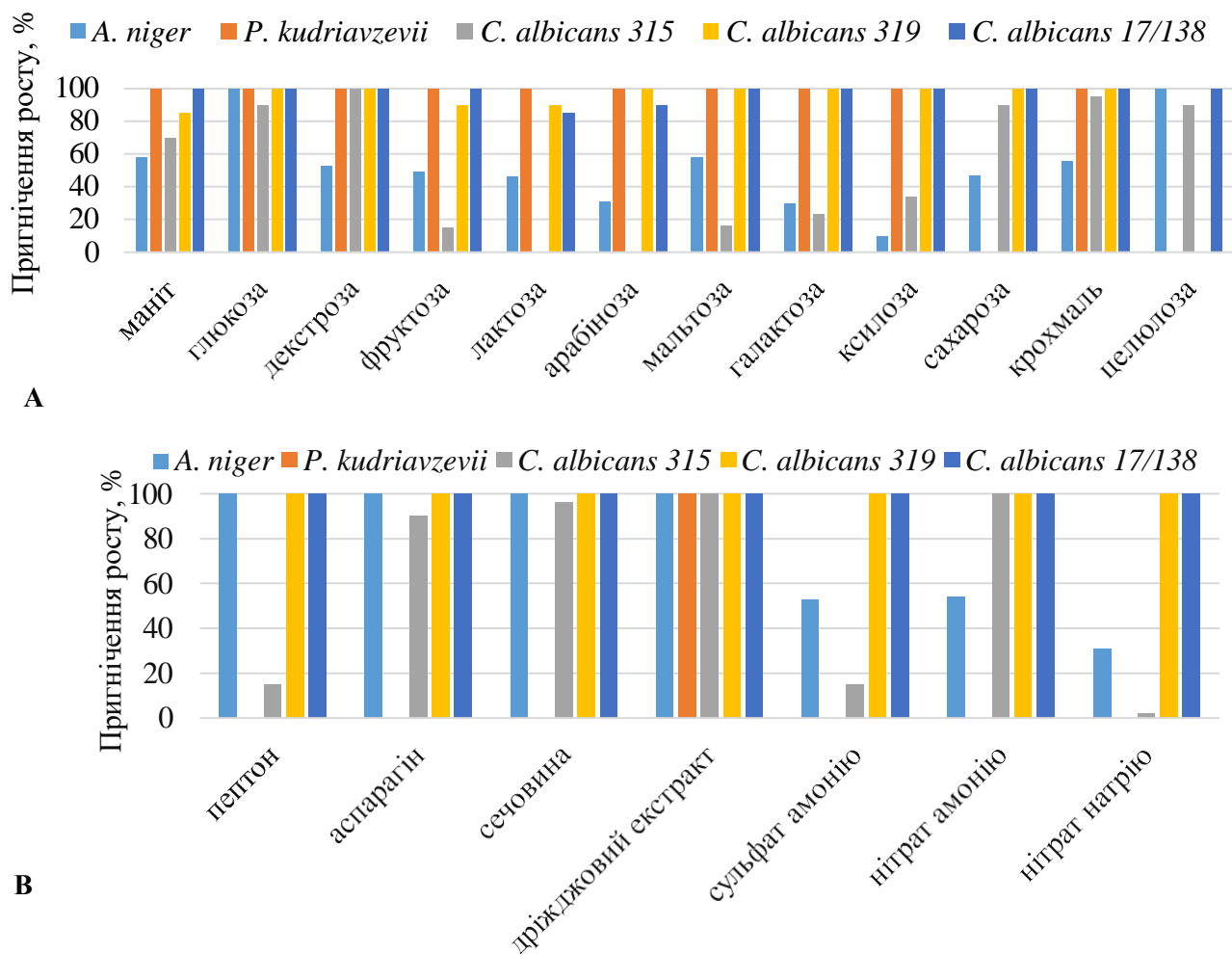


Рис. 11. Вплив джерел вуглецю (А) та азоту (В) на антимікотичну активність *Hohenbuehelia myxotricha*

Таблиця 8

Мінімальна інгібуюча концентрація комерційних антибіотиків та етанольного екстракту міцелію *Hohenbuehelia myxotricha*, вирощеного на різних поживних середовищах, мкг/мл

Зразки	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Міцелій на Сабуро	50	50	100	200	200	100	25	25	25
Міцелій на ГПД	50	50	100	100	200	100	50	25	50
Ампіцилін	1,56	3,12	1,56	3,12	3,12	-	-	-	-
Аміксацин	-	-	-	1,56	3,12	-	-	-	-
Ципрофлоксацин	1,56	3,12	1,56	1,56	3,12	-	-	-	-
Флуканозол	-	-	-	-	-	-	3,12	3,12	-
Амфотерецин В	-	-	-	-	-	-	3,12	3,12	3,12

Примітка: А – *Staphylococcus aureus*, В – *S. aureus* MRSA, С – *Enterococcus faecalis*, D – *Escherichia coli*, E – *Pseudomonas aeruginosa*, F – *Acinetobacter baumannii*, G – *Candida albicans*, H – *Nakaseomyces glabrata*, I – *Pichia kudriavzevii*

Склад поживного середовища впливав і на антиоксидантну активність *H. myxotricha*. Міцелій, вирощений на середовищі Сабуро, демонстрував вищий

рівень загальної антиоксидантної здатності (TAS $5,416 \pm 0,150$ ммоль/л), тоді як міцелій з середовища ГПД характеризувався вищими показниками загального оксидантного статусу (TOS $2,623 \pm 0,157$ мкмоль/л) та індексу оксидативного стресу (OSI $0,058 \pm 0,004$). Результати дослідження демонструють високу екологічну пластичність *H. myxotricha*, що проявляється у здатності ефективно рости та проявляти біологічну активність за різних умов культивування.

Враховуючі, що *P. ostreatus* є одним з лідерів світового грибного виробництва, демонструє високу харчову цінність і здатність до інтенсивного росту, встановлення штамспецифічних особливостей його росту є перспективним напрямом для оптимізації його культивування та підвищення продуктивності.

Виявлено відмінності в антиоксидантній активності та вмісту фенольних сполук залежно від штаму *P. ostreatus* та типу екстракту (рис. 12). Максимальна концентрація фенольних сполук спостерігалася в етилацетатному екстракті міцелію штаму 2461. Однак штам 1685 демонстрував найвищу антиоксидантну активність, попри дещо нижчий вміст фенольних сполук, з незначними варіаціями залежно від використаного розчинника.

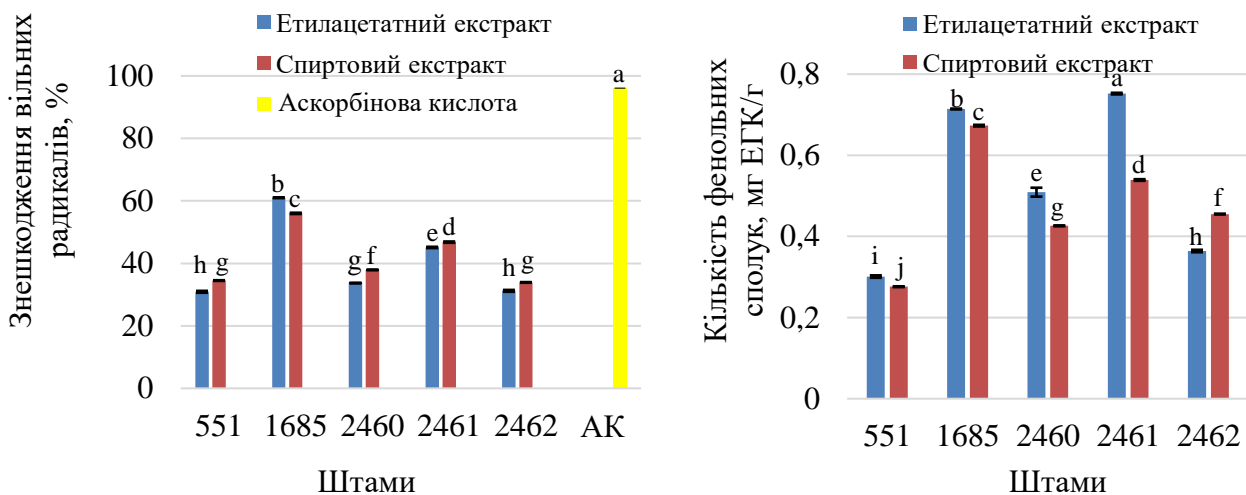


Рис. 12. Антиоксидантна активність (А) та вміст фенольних сполук (В) штамів *Pleurotus ostreatus*

Вперше встановлено, що гетероциклічні синтетичні регулятори росту рослин, а саме Метіур, Каметур та Івіна, впливали на врожайність біомаси комерційних штамів *P. ostreatus*, причому характер впливу (позитивний, негативний або нейтральний) залежав від штаму гриба, тривалості культивування та концентрації відповідної хімічної сполуки (табл. 9). За ступенем позитивного впливу на ріст міцелію, зазначені сполуки були розташовані в такому порядку: Каметур > Івін > Метіур. Хімічна схожість між Метіуром і Каметуrom зумовила однаковий ріст-регулюючий ефект у всіх використаних концентраціях на 7-й день експерименту для штамів 551, 1685 і 2462, на 14-й день експерименту для штамів 551, 2460, 2461 і на 21-й день експерименту лише для штаму 1685. Серед вивчених штамів *P. ostreatus*, найбільш чутливими до позитивної дії синтетичних стимуляторів виявилися штами 551 та 1685.

Отримані результати свідчать про штамоспецифічність впливу таких регуляторів та підкреслюють важливість індивідуального підходу при оптимізації умов культивування комерційних штамів.

Таблиця 9

Вплив синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук на ріст штамів *Pleurotus ostreatus*

Синтетичні низькомолекулярні гетероциклічні сполуки	Тривалість культивування (доба) та накопичення біомаси (г/л) штамів 551, 1685, 2460, 2461, 2462		
	7 доба	14 доба	21 доба
Натрієва сіль 6 метил-2-меркаптон-4 гідроксипіримідин (Метіур)	↑1685* ↔2461 (10 ^{-8,-9}), ↑(10 ^{-6,-7}) ↔551*, 2462* ↓2460 (10 ^{-7,-8,-9}), ↑(10 ⁻⁶)	↑551*, 1685* ↓2460*, 2461*, 2462*	↑551*, 1685* ↔2460 (10 ^{-8,-9}), ↓(10 ^{-6,-7}) ↔2462 (10 ^{-6,-7}), ↑(10 ^{-8,-9}) ↓2461*
	від 3,7 ± 0,4 до 8,8 ± 0,1 г/л	від 3,1 ± 0,1 до 14,1 ± 0,6 г/л	від 7,7 ± 0,2 до 15,9 ± 0,3 г/л
Калієва сіль 6 метил-2-меркаптон-4 гідроксипіримідин (Каметур)	↑1685*, 2461* ↔551*, 2460 (10 ^{-6,-7,-9}), ↑(10 ⁻⁸)	↑551* ↔1685* ↓2460*, 2461*, 2462*	↑1685* ↔2460*, 2462* ↔2461 (10 ^{-6,-8,-9}), ↑(10 ⁻⁷) ↔551 (10 ^{-6,-7,-9}), ↑(10 ⁻⁸)
	від 4,7 ± 0,5 до 6,8 ± 0,0 г/л	від 6,9 ± 0,3 до 14,8 ± 0,9 г/л	від 10,7 ± 0,5 до 16,8 ± 1,1 г/л
2,6-диметилпіридин-N-оксид (Івін)	↑2460*, 2461* ↔551, 1685, 2462	↑551* ↔1685*, 2462* ↓2460*, 2461*	↑551*, 1685* ↔2460*, 2462* ↓2461 (10 ^{-6,-7}), ↑(10 ^{-8,-9})
	від 4,2 ± 0,7 до 6,6 ± 0,2 г/л	від 3,3 ± 0,3 до 15,3 ± 0,3 г/л	від 8,9 ± 0,6 до 15,8 ± 0,1 г/л

Примітка: ↑ – ріст-стимулюючий ефект, ↔ – нейтральний ефект, ↓ – ріст-інгібуючий ефект; 10^{-6,-7,-8,-9} – мілімолярні концентрації (10⁻⁶ до 10⁻⁹ М) сполук; * – ефект, виявлений за всіх концентрацій сполук

З огляду на зростаючий попит на *Pleurotus eryngii* у харчовій промисловості, який зумовлений його високою харчовою цінністю та лікувальними властивостями, а також обмеженість відомостей щодо його фізіологічних особливостей, дослідження та оптимізація методів культивування цього гриба є актуальними. Вивчення впливу агаризованих поживних середовищ на *P. eryngii* виявили значні варіації швидкості росту міцелію та морфологічних характеристик колоній. Максимальна швидкість росту (12,6 ± 0,6 мм/добу) спостерігалась на агарі Чапека, проте тендітна павутиноподібна структура міцелію ускладнювала роботу з ним. ГПДА та КДА середовища забезпечували порівняно високі швидкості росту (8,3 ± 0,1 та 7,9 ± 0,4 мм/добу відповідно) з більш зручною для роботи структурою колоній.

Встановлено оптимальні умови культивування *P. eryngii*. Максимальна біомаса (3,5 ± 0,6 г/л) отримано за температури інкубації 20 °С. Оптимальний рівень рН для росту становив 5,5, що забезпечило накопичення 4,1 ± 0,4 г/л біомаси на ГПД середовищі. Серед досліджених джерел вуглецю та азоту найкращий ріст *P. eryngii* спостерігався при використанні арабінози в концентрації 20 г/л та аспарагіну в концентрації 0,8–1,0 г/л на ГА середовищі.

Дослідження динаміки накопичення біомаси *P. eryngii* при глибинному культивуванні на середовищах з CO₂-шротом амаранту та ГПД показало відповідність загальним закономірностям розвитку грибів. Максимальна біомаса ($15,3 \pm 0,2$ г/л на ГПД та $14,5 \pm 0,8$ г/л на середовищі з амарантом) була досягнута на 8-му та 10-ту добу культивування відповідно. Хоча різниця в кількості біомаси була незначною, середовище з CO₂-шротом амаранту сприяло кращому синтезу екзополісахаридів, що підкреслює його перспективність для отримання міцеліальної біомаси та біологічно активних сполук.

Розроблення та фармако-технологічні випробування гранульованої суміші міцелію *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* і *Fomitopsis pinicola*. Враховуючи, що препарати на основі ректифікованих екстрактів або біомаси міцелію чи плодкових тіл лікарських грибів класифікуються як окрема група дієтичних добавок, виробництво яких регламентується вимогами належної виробничої практики, дослідження фармако-технологічних характеристик міцелію *P. ostreatus*, *T. versicolor* та *F. pinicola* є необхідним етапом для технологічної розробки відповідних препаратів.

З метою оптимізації складу дієтичної добавки було визначено вміст фенольних сполук, антиоксидантну активність та фармако-технологічні параметри дослідженого грануляту. Отримані результати дозволили розробити композицію, що включала 80 % міцеліальної суміші *T. versicolor*, *P. ostreatus*, *F. pinicola* (2:0,5:0,5), 5 % лактози моногідрату, 10 % суміші маніту та мікрокристалічної целюлози (2:1), 1% кроскармелози натрію та 4 % карбоксиметилцелюлози (0,7 %-ий розчин). Ця композиція забезпечила отримання грануляту із вмістом фенольних сполук $29,83 \pm 0,49$ мг ЕГК/г та вираженою антиоксидантною дією, що проявлялася у нейтралізації $86,53 \pm 0,62$ % вільних радикалів DPPH. Це свідчить про високу антиоксидантну активність і перспективність використання цих грибів у профілактиці вікових змін та підтримці здоров'я, що узгоджується з глобальною тенденцією в галузі охорони здоров'я, спрямованою на превентивні заходи.

На основі комплексного аналізу росту представників макроміцетів порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, Russulales в умовах *in vitro*, підтверджено їхній потенціал як джерела біологічно активних метаболітів. Виявлено, що найбільш перспективними продуцентами є представники порядків Agaricales і Polyporales. Різноманітність фізіолого-біохімічних особливостей макроміцетів зумовлює необхідність індивідуального підходу до встановлення оптимальних умов їх культивування. Оптимізація умов культивування суттєво підвищує біосинтетичну активність макроміцетів, збільшуючи продукцію міцеліальної біомаси та метаболітів, що є передумовою для ефективного виробництва продукції на основі грибів. За результатами проведених досліджень запропонована концептуальна схема розроблення дієтичних добавок на основі макроміцетів (рис. 13). Вона включає: оцінку біосинтетичного потенціалу міцелію та культуральної рідини; дослідження впливу умов культивування (температури, рН, джерел живлення, зокрема скринінг відходів харчової та олійно-екстракційної промисловості як поживних середовищ, аерації) на ріст міцелію та синтез біологічно активних метаболітів; аналіз використання допоміжних компонентів для створення дієтичних добавок.

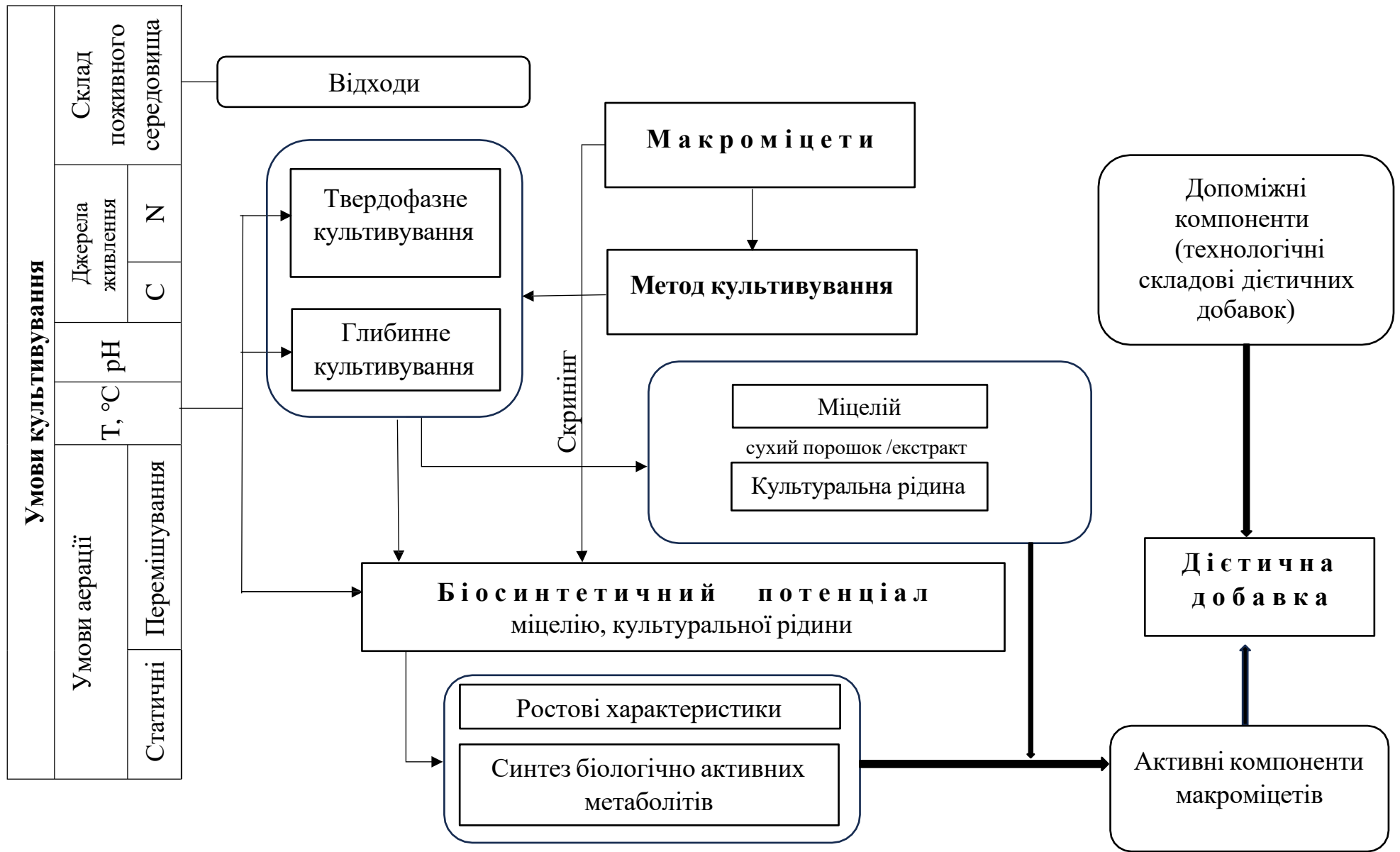


Рис. 13. Концептуальна схема розроблення дієтичної добавки на основі макроміцетів

ВИСНОВКИ

На основі комплексної оцінки біосинтетичної активності макроміцетів представників порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales та Russulales встановлено фізіолого-біохімічні особливості їх росту, продукції полісахаридів, фенольних сполук та оцінено біоконверсійний потенціал цих макроміцетів. Визначено оптимальні умови культивування перспективних видів для підвищення продукції їх міцеліальної біомаси та накопичення цінних метаболітів. Науково обґрунтовано біотехнологічні основи отримання міцеліальної біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales як джерела метаболітів з високою біологічною активністю.

1. Більшість досліджених макроміцетів характеризуються середньою швидкістю росту (від 4 до 8 мм/добу), третина з них відзначається високою продуктивністю за накопиченням біомаси (понад 10 г/л). Встановлено видоспецифічні особливості продукції ендopolісахаридів (від 1,56 до 10,32 %) та екзopolісахаридів (від 0,12 до 2,24 г/л), фенольних сполук (від 0,35 мг до 34,55 мг ЕГК/г), вміст яких значно варіює у міцелії та культуральній рідині. Максимальну концентрацію полісахаридів встановлено у ксилотрофних видів *Cyclocybe aegerita*, *Hypsizygus marmoreus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum* та *Lentinula edodes*. Високий вміст фенольних сполук виявлено у наґрунтового виду *Morchella esculenta* та ксилотрофів *L. edodes* і *Fomitopsis pinicola*.

2. На основі оцінки антагоністичного індексу (≥ 15) встановлено високу здатність більшості макроміцетів (83,3 % видів) пригнічувати ріст патогенних мікроміцетів *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Mucor* sp., *Pichia kudriavzevii* та *Penicillium polonicum* при спільному культивуванні. Визначено види макроміцетів (*Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*), які є перспективними для використання у біоконтролі та боротьбі з зазначеними патогенами. Вперше показано, що спільне культивування *Coprinus comatus* зі штамми *C. albicans* збільшувало кількість лакази у 3,3 рази. Вперше продемонстровано індукцію формування псевдоміцелію у штамів *C. albicans* в умовах спільного культивування з певними видами макроміцетів.

3. Встановлено антибактеріальну активність міцелію та культуральної рідини макроміцетів за зонами затримки росту *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (від 9,7 мм до повного пригнічення). Ксилотрофні види макроміцетів продемонстрували повне пригнічення росту *B. subtilis* (культуральні рідини *Fomitopsis betulina* та *Lentinula edodes*), *S. aureus* (культуральна рідина *F. betulina*) та *E. coli* (культуральна рідина і міцелій *Phellinus igniarius*).

4. Проведено аналіз антибактеріальної активності культуральної рідини *Fomitopsis betulina*. Ефективність висушеної та концентрованої нативної культуральної рідини цього виду визначено за показниками мінімальних бактерицидних концентрацій (МБцК) від > 2 до 18,75 мг/л проти еталонних штамів *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 та МБцК від 7,8 до 48,42 мг/л проти полірезистентних клінічних ізолятів, таких як

S. aureus MRSA, *S. haemolyticus* MRCNS, *Pseudomonas aeruginosa* MBL, *E. coli* KPC, *Klebsiella pneumoniae* ESBL, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* MBL.

5. З'ясовано антиоксидантний потенціал міцелію та культуральної рідини макроміцетів за їх здатністю знешкоджувати вільний радикал 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил (DPPH) у межах від 4,3 до 87,94 %. Коефіцієнти кореляції Пірсона свідчать про провідну роль фенольних сполук ($r = 0,66$) екстрактів міцелію макроміцетів у знешкодженні DPPH, тоді як вплив ендополісахаридів є слабким ($r = 0,14$), а у випадку екзополісахаридів встановлена навіть негативна кореляція ($r = -0,21$). Найвищий антиоксидантний потенціал (≥ 80 % знешкодження DPPH) продемонстрували ксилотрофи *Lentinula edodes* та *Fomitopsis pinicola*.

6. Встановлено здатність досліджених макроміцетів до біоконверсії відходів харчової промисловості (крихта та бита вермішель, какао-вела, ячмінна та пшенична дерть, пшеничні висівки) та олійно-екстракційного виробництва (шрот плодів шипшини, насіння гарбуза, розторопші, льону, зародків пшениці, вівса, сої, гірчиці, ехінацеї, амаранту, макухи насіння ріпаку, рижю, соняшника та виноградних вичавок). Визначено альтернативні субстрати для культивування кожного з досліджених видів макроміцетів. Найбільша кількість досліджених відходів (≥ 17) виявилася придатною для культивування ксилотрофів *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, наґрунтових сапротрофів *Crinipellis schevchenkovi* та *Lepista luscina* відповідно.

7. Перспективність використання відходу вуглекислотної екстракції амаранту (CO₂-шрот амаранту) як універсального субстрату для культивування макроміцетів підтверджено дослідженнями показників накопичення їх біомаси та якісним і кількісним аналізом загального складу субстрату. Отримано міцеліальну біомасу відібраних макроміцетів з антибактеріальною (9 видів), противірусною (9 видів проти вірусу грипу (H1N1) та 4 види проти вірусу герпесу 2-го типу), протипухлинною (*Trametes versicolor*), ранозагоювальною (*Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*) та сорбційною (*Pleurotus ostreatus*) активностями.

8. Проаналізовано вплив умов культивування (температури, рН середовища, джерел вуглецю та азоту, тривалості культивування, УФ-опромінення) на ріст відібраних макроміцетів *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii* і встановлено оптимальні параметри для синтезу їх міцеліальної біомаси та біологічно активних метаболітів, зокрема, з антимікробними та антиоксидантними властивостями.

9. Встановлено штамоспецифічні особливості синтезу міцеліальної біомаси та фенольних сполук, а також прояву антибактеріальної та антиоксидантної активностей досліджених комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* на відміну від їх антагоністичної активності. Вперше продемонстровано можливість застосування низькомолекулярних гетероциклічних сполук (похідні піридину та піримідину), відомих як регулятори росту рослин, такі як N-оксид-2,6-диметилпіридин (Івін), натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Метіур), калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Каметур) для

посилення синтезу біомаси штамів *P. ostreatus*. Водночас їх вплив може бути не лише стимулюючим, а й ріст-інгібуючим або нейтральним залежно від концентрації регуляторів росту, тривалості культивування та біологічних особливостей штамів.

10. Запропоновано концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі макроміцетів. Розроблено склад дієтичної добавки на основі суміші міцелію ксилотрофних видів *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis pinicola*, який дозволяє знешкоджувати вільний радикал DPPH на 86,53 %.

11. Отримані результати можуть бути використанні для біоконверсії відходів харчової промисловості макроміцетами з впровадженням раціональних моделей споживання і виробництва, розробленням інноваційної продукції на основі макроміцетів, спрямованої на поліпшення структури харчування та здоров'я населення.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз:

1. **Krupodorova, T., Butkevych, T., Barshteyn, V., Sevindik, M., Popovych, V., & Polova, Z.** (2024). Effect of the composition of a biologically active dietary supplement with macrofungi mycelia on its antioxidant activity. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 15(4), 932–938. <https://doi.org/10.15421/0224136> (Scopus, **Q4**). (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
2. **Krupodorova, T., Barshteyn, V., Dzhagan, V., Pluzhnyk A., Zaichenko T., Blume Y.** (2024). Enhancement of antioxidant activity and total phenolic content of *Fomitopsis pinicola* mycelium extract. *Fungal Biology and Biotechnology*, 11(18). <https://doi.org/10.1186/s40694-024-00187-0> (Scopus, **Q1**). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
3. **Krupodorova, T., Barshteyn, V., Tsygankova, V., Sevindik, M., & Blume, Y.** (2024). Strain-specific features of *Pleurotus ostreatus* growth *in vitro* and some of its biological activities. *BMC Biotechnology*, 24(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00834-9> (Scopus, **Q2**). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
4. **Krupodorova, T., Barshteyn, V., Kizitska, T., Ratushnyak, V., & Blume, Y.** (2023). Antagonistic activity of selected macromycetes against two harmful micromycetes. *Czech Mycology*. 75(1), 85–100. <https://doi.org/10.33585/cmy.75106> (Scopus, **Q3**). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
5. **Krupodorova, T., Barshteyn, V., Al-Maali, G., & Sevindik, M.** (2022). The requirements for vegetative growth of *Hohenbuehelia myxotricha* and its antimycotic

- activity. *Polish Journal of Natural Sciences*, 37(1), 75–92. <https://doi.org/10.31648/pjns.7525> (Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
6. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., & Sevindik, M. (2022). Antioxidant and antimicrobial potentials of mycelia extracts of *Hohenbuehelia myxotricha* grown in different liquid media. *BioTechnologia*, 103(1), 19–28. <https://doi.org/10.5114/bta.2022.113912> (Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі та узагальненні результатів, написання статті).
7. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., & Sekan A. (2021). Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *CREAM (Current Research in Environmental & Applied Mycology)*, 11(1), 494–531. <https://doi.org/10.5943/cream/11/1/34> (Scopus, Q3). (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, дизайн матеріалів, аналіз та узагальнення даних, написання статті).
8. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., & Pokas, O. (2021). Antagonistic effectiveness of macromycetes against *Candida albicans* strains and *Issatchenkia orientalis*. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 60(1), e760. <https://doi.org/10.36547/nbc.760> (Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
9. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., Kizitska, T., & Pokas, E. (2019). Effect of cultivation conditions on mycelial growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* (Berk.) Singer and *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai. *Czech Mycology*, 71(2), 167–186. <https://doi.org/10.33585/cmy.71204> (Scopus, Q3). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
10. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., & Pokas, E. (2019). Antibacterial activity of *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han and Y.C. Dai cultural liquid. *EUREKA: Life Sciences*, 6, 10–16. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2019.001066> (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
11. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., Kizitska, T., Kvasko, H., Andriiash, H., & Tigonova O. (2018). Effect of ultraviolet C irradiation on growth and antibacterial activity of *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han and Y.C. Dai. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 1–6. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.4.3.0073> (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

12. **Krupodorova, T.,** Barshteyn, V., Zabeida, E., & Pokas, E. (2016). Antibacterial activity of macromycetes mycelia and culture liquid. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 44(3), 246–253. <https://doi.org/10.4014/mbl.1603.03003> (Scopus, **Q4**), (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
13. **Krupodorova, T.,** Shmarakov, I., Barshteyn, V., Borschovetska, V., Ketsa, O., & Marchenko, M. (2016). Anticancer potential of *Trametes versicolor* (L.) Lloyd and *Auriporia aurea* (Peck) Ryvarden mycelia in rat Guerin's carcinoma. *Adv. Biomedicine and Pharmacy*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.19046/abp.v03i01.01> (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
14. Barshteyn, V., & **Krupodorova, T.** (2016). Utilization of agro-industrial waste by higher mushrooms: modern view and trends. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5, 563–577. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.6.563-577> (Особистий внесок здобувача 50 %: дизайн матеріалів, аналіз та узагальнення даних, написання статті).
15. **Krupodorova, T.,** & Barshteyn, V. (2015). Alternative substrates for higher mushrooms mycelia cultivation. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 4(3), 339–347. (Особистий внесок здобувача 90 %: ідея роботи, планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
16. **Krupodorova, T.,** Klymenko, P., Barshteyn, V., Leonov, Y., Shytikov, D., & Orlova, T. (2015). Effects of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. and *Crinipellis schevczenkovi* Buchalo aqueous extracts on skin wound healing. *The Journal of Phytopharmacology*, 4(4), 197–201. <https://doi.org/10.31254/phyto.2015.4401> (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, планування постановки експеримента, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
17. **Krupodorova, T.,** Rybalko, S., & Barshteyn, V. (2014). Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A (serotype H1N1) and herpes simplex virus type 2 in cell culture. *Virologica Sinica*, 29(5), 284–290. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3486-y> (Scopus, **Q3**). (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
18. **Krupodorova, T.,** Barshteyn, V., & Ivanova, T. (2014). Screening of extracellular enzymatic activity of macrofungi. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(4), 315–318. (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
19. **Krupodorova, T.,** Barshteyn, V., Bisko, N., & Ivanova, T. (2012). Some macronutrient content in mycelia and culture broth of medicinal mushrooms cultivated on amaranth flour. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(3), 285–293.

<https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i3.50> (Scopus, Q3). (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Круподьорова, Т., & Барштейн, В.** (2019). Антагоністична активність макроміцетів проти *Mucor* sp. IFBG 139. *Мікробіологія і біотехнологія*, 2(46), 65–75. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2\(46\).166485](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2(46).166485) (Особистий внесок здобувача 90 %: ідея роботи, планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
2. Барштейн, В., & **Круподьорова, Т.** (2015). Якісний і кількісний склад вуглекислотного екстракту амаранту та відходу екстракції – шроту. *Наукові доповіді НУБіП України*, 8(57). (Особистий внесок здобувача 50 %: участь у плануванні і проведенні експериментальних досліджень, аналізі літературних джерел, написанні статті).
3. **Круподьорова, Т.,** Барштейн, В., Пешук, Л., Гащук, О., & Костенко, Є. (2014). Культивування *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. на рослинних відходах. *Biotechnologia Acta*, 7(4), 92–99. <https://doi.org/10.15407/biotech7.04.092> (Особистий внесок здобувача 70 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
4. **Круподьорова, Т., & Барштейн, В.** (2012). Альтернативні субстрати для культивування лікарських та їстівних грибів. *Мікробіологія і біотехнологія*, 1(17), 47–56. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2012.1\(17\).93369](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2012.1(17).93369) (Особистий внесок здобувача 90 %: ідея роботи, планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).
5. **Круподьорова, Т.,** Барштейн, В., Бісько, Н., & Іванова, Т. (2011). *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. (Ascomycetes): склад міцеліальної маси та культуральної рідини. *Мікробіологія і біотехнологія*, 3(15), 78–87. (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування постановки експерименту, участь у проведенні експериментальних досліджень, самостійний аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

Окремий розділ у монографії:

1. **Krupodorova, T., & Barshteyn, V.** (2020). The Effect of cultivation conditions on growth and therapeutic activity of *Pleurotus eryngii*. In Z. Litwinczuk (Ed.), *Actual Problems of Natural Sciences: modern scientific discussions: Collective monograph*, (pp. 331–350). Riga: Izdevnieciba “Baltija Publishing”. (Особистий внесок здобувача 80 %: ідея роботи, планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання розділу).

Патенти на корисну модель:

1. **Круподьорова, Т., & Барштейн, В.** Патент на корисну модель 140724. Київ: Державне патентне відомство України. (50 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу).

2. Барштейн, В., **Круподьорова, Т.**, Забейда О., & Зайченко Т. Патент на корисну модель 121324. Київ: Державне патентне відомство України. (30 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)
3. Москалюк О., Пешук Л., Гащук О., **Круподьорова Т.**, & Липка Х. Патент на корисну модель 101443. Київ: Державне патентне відомство України. (20 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)
4. Москалюк О., Пешук Л., Гащук О., **Круподьорова Т.**, & Липка Х. Патент на корисну модель 101441. Київ: Державне патентне відомство України. (20 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)
5. **Круподьорова, Т.**, & Барштейн, В. Патент на корисну модель 63646. Київ: Державне патентне відомство України. (50 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)
6. Барштейн В., **Круподьорова Т.**, Бісько Н., Іванова Т., & Трояновський-Зеленчук С. Патент на корисну модель 54524. Київ: Державне патентне відомство України. (30 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)

Публікації, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Krupodorova, T.**, Barsteyn, V., Zaichenko, T., Gafforov, Y., Rašeta, M. (2024). *Antioxidant potential of macromycetes*. Матеріали XII Міжнародної науково-практичної конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій». Полтава: ПП «Астроя».
2. Буткевич, Т.А., **Круподьорова, Т. А.**, Полова, Ж М. (2024). *Вивчення фармако-технологічних властивостей мас для інкапсулювання із міцелієм *Trametes versicolor*, *Fomitopsis pinicola* та *Pleurotus ostreatus**. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології». Харків: НФаУ.
3. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В., Буткевич, Т., Кізіцька, Т., Бахлуков, Д. (2024). *Сучасні аспекти використання вищих грибів в дієтичних добавках*. Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині». Харків: НФаУ.
4. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., Tsygankova, V., Sevindik, M. (2024). *Pleurotus osreatus growth in vitro and its biological activities*. Proceedings Book of the ISPEC 14. International Conference on Agriculture, Animal Science & Rural Development. Izmir: IKSAD Publishing House.
5. **Krupodorova, T.**, Kizitska, T., Sevindik, M., Barshteyn, V. (2023). *Competition between selected macromycetes and some harmful microorganisms*. «Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in war and post-war period». Київ: D.K. Zabolotny institute of microbiology and virology of the National academy of sciences of Ukraine.
6. **Krupodorova, T.**, Barshteyn, V., Sevindik, M., Blume, Ya. (2023). *Hohenbuehelia myxotricha enzymatic activity and therapeutic potential*. Materials of

- the III International Scientific and Practical Internet Conference «Problems and achievements of modern biotechnology». Kharkiv: НФаУ.
7. **Krupodorova, T.**, Kizitska, T., Pokas, O., Barshteyn, V. (2021). *Antimycotic activity of macromycetes*, Materials of the Scientific and Practical Conference, with international participation, devoted to the annual «Reading» of the memory of academician L.V. Gromashevsky «Infectious diseases of modern times: etiology, epidemiology, diagnosis, treatment, prevention, biological safety». Kyiv: Publisher Zaslavsky O.
 8. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В., Ратушняк, В., Покас, О. (2021). *Індуція лаказної активності при сумісному культивуванні грибів*. Матеріали I Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції: «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології». Харків: НФаУ.
 9. **Круподьорова, Т. А.**, Барштейн, В. Ю., Кваско, А.Ю., Сабибін, О.В. (2020). *Вплив живильного середовища та способу культивування на антибактеріальну активність *Fomitopsis betulina**. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції: «Ліки – Людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». Харків: НФаУ.
 10. **Круподьорова, Т. А.**, Барштейн, В.Ю. (2020). *Мицелій та культуральна рідина макроміцетів як основа створення харчових продуктів спеціального призначення*. Збірник матеріалів VIII міжнародної науково-практичної конференції «Хімія, біо- і нанотехнології, екологія та економіка в харчовій і косметичній промисловості». Харків: НТУ «ХПИ».
 11. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В., Покас, О. (2019). *Антифунгальна активність деяких базидієвих грибів*, Матеріали III Міжнародна наукова конференція з дистанційною участю «Сьогодні біологічної науки». Суми: ФОП Цьома С.
 12. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В. (2019). *Біоконверсія відходів олійно-жирової промисловості вищими грибами*, Матеріали сьомої Міжнародної науково-практичної конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій». Полтава: РВВ ПДАА.
 13. Barshteyn, V., Kizitska, T., Pokas, E., **Krupodorova, T.** (2018). *Antibiotic potential of *Fomitopsis betulina* culture liquid*. Abstracts of 1st International Congress «Rational Use of Antibiotics». Kyiv: Ministry of Health of Ukraine
 14. **Круподьорова, Т.**, Кізіцька, Т., Кваско, Г., Барштейн, В. (2018). *Антифунгальна активність макроміцетів проти *Aspergillus niger**. Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації». Київ: НУХТ.
 15. **Круподьорова, Т.**, Кізіцька, Т., Бейко, Н., Барштейн, В. (2018). *Антифунгальна активність макроміцетів проти *Penicillium spp.* та *Rhizopus spp.** Матеріали II Міжнародної наукової конференції «Сьогодні біологічної науки». Суми: ФЦП Цьома С.
 16. Зайченко, Т.О., Круподьорова, Т.А., Забейда, О. Ф. (2017). *Дослідження антибіотикочутливості тест-бактерій*. Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття». Київ: «Політехніка».

17. **Круподьорова, Т.,** Барштейн, В., Забейда, О., Покас, О. (2016). *Антибактеріальна активність макроміцетів*, Матеріали ХХХІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». Харків: НФаУ.
18. Сніхівська, М., Зайченко, Т., **Круподьорова, Т.** (2016). *Дослідження антибіотичних властивостей грибів*. Матеріали Х Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія ХХІ століття» присвяченої 135-й річниці від дня народження Олександра Флемінга. Київ: НТУУ «КПІ».
19. **Круподьорова, Т.,** Барштейн, В., Забейда, О., Покас, О. (2015). *Скринінг макроміцетів на антибактеріальну активність*. Матеріали ІІ Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії». Харків: НФаУ.
20. **Круподьорова, Т.,** Шмараков, І., Барштейн, В., Борщовецька, В., Кетца, О., Марченко М. (2015). *Противухлинна активність водного екстракту міцелію *Trametes versicolor* (L.) Lloyd*. Тези доповідей ІІІ Міжнародної науково-практичної конференції «Новітні досягнення біотехнології та нанобіотехнології». Київ: «Мегапринт».
21. **Krupodorova, T.,** Rybalko, S., Barshteyn, V. (2014). *Antiherpetic activity of Basidiomycetes mycelia in cell culture*. Матеріали ІV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології». Харків: НФаУ.
22. **Круподерова, Т.,** Барштейн, В.Ю. (2014). Біоконверсія відходів агропромислового комплексу вищими грибами та шляхи використання її продуктів. Матеріали ХІ Українського біохімічного конгресу. *Ukrainian Biochemical Journal*. 86(5), (Suplement 2), 198-199.
23. **Круподерова, Т.,** Барштейн, В. (2014). *Ріст вищих грибів на відходах борошномельного виробництва*, Тези доповідей VІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200-й річниці з дня народження Т.Г. Шевченка «Біотехнологія ХХІ століття». Київ: НТУУ «КПІ».
24. Пещук, Л., Костенко, Е., **Круподьорова, Т.,** Гащук, О. (2013). *Дослідження сорбційної активності важких металів вищим базидіальним грибом *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm*, Друга конференція молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія». Київ: ТОВ «Інтертехнодрок».
25. **Krupodorova, T.,** Ivanova, T. (2013). *Growth of *Pleurotus eryngii* (Dc.) Quélet on liquid medium*, International Conference of Young Scientists «Biology: from Molecule to Biosphere». Kharkiv: ФОП Шаповалова Т.
26. **Круподьорова, Т. А.,** Іванова, Т. С, Мегалінська Г. П. (2013). Скринінг макроміцетів на наявність ферментів, Тези доповідей VІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115-й річниці заснування НТУУ «КПІ» «Біотехнологія ХХІ століття». Київ: НТУУ «КПІ».
27. Peshuk, L., Naschuk, O., **Krupodorova, T.** (2013). *Creation of functional meat products with the use of biomass of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., cultivated by meal*. The Second North and East European Congress on Food (NEEFood-2013): Book of Abstracts. Kyiv: NUFT.

28. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В., Пешук, Л., Гащук, О. (2013). *Біомаса Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kuntt., культивована на широтах циліючих рослин у функціональних м'ясних продуктах*. Мат. I Міжн. наук.-практ. конф. «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань». Харків: «ЕСЕН».
29. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В. (2012). *Вміст мінеральних речовин у лікарських грибах*, Зб. Мат III міжн. наук.-практ. конф., присв. 25-річчю біол. фак. «Сучасні проблеми біології, екології та хімії». Запоріжжя: Сору Арт.
30. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В. (2012). *Лікарські гриби – перспективні об'єкти для створення функціональних продуктів*. Мат. наук. практ. конф. «Харчування як профілактичний та лікувальний фактор в сучасних умовах». Київ: «Товариство Знання України».
31. **Круподьорова, Т.**, Барштейн, В. (2010). *Утилізація відходів харчової промисловості макроміцетами*. Міжнар. Науково-практична конф. «Новітні досягнення біотехнології». Київ: «Мегапринт».
32. Barshteyn, V., **Krupodorova, T.**, Bisko, N., Ivanova, T. (2010). *Investigation of free amino acids, fatty acids concentrations in some medicinal mushrooms*. Internationaler congresse fachmesse. Hannover: Europäische Wissenschaftliche Gesellschaft.

АНОТАЦІЯ

Круподьорова Т.А. Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2025.

Дисертаційна робота присвячена комплексному дослідженню біотехнологічних аспектів культивування 34 штамів макроміцетів (порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hymenocerales, Pezizales, Polyporales та Russulales) та оцінці їхньої біологічної активності. Проаналізовано вміст фенольних сполук, полісахаридів і ферментів, та досліджено антиоксидантну, антибактеріальну та антагоністичну активність досліджених макроміцетів. Встановлено оптимальні параметри для синтезу міцеліальної біомаси перспективних видів та біологічно активних метаболітів, зокрема сполук з антимікробними та антиоксидантними властивостями.

Оцінено біоконверсійний потенціал макроміцетів на 20 видах відходів харчової та олійно-екстракційної промисловості, що дозволило встановити нові альтернативні середовища для культивування кожного з досліджених макроміцетів. Визначено перспективність використання відходу вуглекислотної екстракції насіння амаранту (CO₂-шроту амаранту) як універсального субстрату для отримання міцеліальної біомаси з широким спектром біологічних активностей, включаючи противірусну, протипухлинну, ранозагоювальну та сорбційну. Встановлено штамоспецифічні особливості росту та накопичення біологічно активних метаболітів у *Pleurotus ostreatus*.

Розроблено концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі макроміцетів. Запропоновано склад добавки з міцелієм *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* і *Fomitopsis pinicola*, що має виражену антиоксидантну активність. Отримані результати формують науково-обґрунтовану базу для біотехнологічного застосування макроміцетів у харчовій промисловості та виробництві нутрицевтиків.

Ключові слова: лікарські гриби, макроміцети, міцелій, культуральна рідина, ріст, полісахариди, фенольні сполуки, ферменти, біоконверсія, відходи, умови культивування, біологічна активність, природні, дієтичні добавки

ABSTRACT

Krupodorova T.A. Biotechnological foundations for obtaining biomass of macromycetes from the orders Agaricales and Polyporales to create biologically active supplements. – Manuscript.

The thesis for the degree of Doctor of Biological Sciences in Biotechnology – 03.00.20 – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2025.

This thesis is devoted to a comprehensive study of the biotechnological aspects of cultivating 34 strains of macromycetes belonging to the orders Agaricales, Hymenochaetales, Hypocreales, Pezizales, Polyporales, and Russulales, as well as the assessment of their biological activity. The content of phenolic compounds, polysaccharides, and enzymes was analyzed, and the antioxidant, antibacterial, and antagonistic activities of the studied macromycetes were investigated. Optimal conditions for synthesizing mycelial biomass from promising species and biologically active metabolites, including antimicrobial and antioxidant compounds, were determined.

The bioconversion potential of macromycetes was assessed using 20 types of waste from the food and oil extraction industries, leading to the identification of novel alternative cultivation media for each studied macromycetes. The potential of amaranth CO₂-meal, a waste product of carbon dioxide extraction from amaranth seeds, as a universal substrate for producing mycelial biomass with diverse biological activities, including antiviral, antitumor, wound-healing, and sorption properties, has been determined. Additionally, strain-specific growth characteristics and the accumulation of biologically active metabolites in *Pleurotus ostreatus* were analyzed.

A conceptual framework for developing dietary supplements based on macromycetes has been established. A supplement formulation containing the mycelium of *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, and *Fomitopsis pinicola*, which has a pronounced antioxidant activity, has been proposed. The findings provide a scientifically grounded basis for the biotechnological application of macromycetes and their integration into the food industry and nutraceutical production.

Key words: medicinal mushrooms, macromycetes, mycelium, culture liquid, growth, polysaccharides, phenolic compounds, enzymes, bioconversion, waste, cultivation conditions, biological activity, natural, dietary supplements