

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КРУПОДЬОРОВА ТЕТЯНА АНАТОЛІВНА

УДК 604:582.284+582.282.162:577.1:664

ДИСЕРТАЦІЯ

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

03.00.20 – біотехнологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



_____ Т.А. Круподьорова

Науковий консультант: Блюм Ярослав Борисович, доктор біологічних наук,
професор, академік НАН України

Київ – 2025

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 біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 «Біотехнологія». – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2025.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню біотехнологічних основ отримання біомаси макроміцетів (загалом 34 штами), які систематично належать до трьох видів відділу Ascomycota (порядки Нурocreales та Pezizales) та 27 видів відділу Basidiomycota (порядки Agaricales, Hymenochaetales, Polyporales та Russulales), а також вивченню їхньої біологічної активності. У дослідженні охоплено різноманіття систематичних і екологічних груп макроміцетів, зокрема едафотрофічні (сапротрофи ґрунтового й підстилкового середовищ), ентомопатогенні та ксилотрофи (дереворуйнівні) види.

Робота висвітлює закономірності впливу умов культивування на біосинтетичні процеси та встановлює оптимальні параметри для підвищення ефективності біомасоутворення й синтезу біологічно активних метаболітів перспективних макроміцетів. Науково обґрунтовано основи створення дієтичних добавок з високою біологічною цінністю на основі біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales.

Визначено біотехнологічні показники росту 30 макроміцетів за умов твердофазного та глибинного культивування на стандартному глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі. Показано, що більшість досліджених макроміцетів характеризуються помірною швидкістю росту (радіальна швидкість росту в межах 4–8 мм/добу). Єдиним повільноростучим видом виявлено *Lepista luscina*.

За ефективністю перетворення поживних речовин у біомасу 46,7 % видів класифіковано як середньопродуктивні макроміцети (врожай біомаси 5–10 г/л), а 36,7 % є високопродуктивними. Серед останніх виокремлено ксилотрофи (*Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*), наґрунтовий сапротроф (*Lyophyllum shimeji*), а також ентомофільні види (*Cordyceps militaris*, *Ophiocordyceps sinensis*). Лише 16,6 % видів мали низький рівень біомасоутворення, включно з ксилофільними грибами (*Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Inonotus obliquus*, *Laetiporus sulphureus*) та сапротрофом *Lepista luscina*. Вперше визначено радіальну швидкість росту та концентрацію біомаси для *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*.

Досліджені макроміцети продукували вторинні метаболіти, зокрема полісахариди, фенольні сполуки. Вміст ендopolісахаридів коливався від $1,56 \pm 0,10$ % до $10,32 \pm 0,35$ %, причому домінуючими полісахаридами були ендopolісахариди. Максимальний їх рівень зафіксовано у *Lentinula edodes* ($10,32 \pm 0,35$ %), *Cyclocybe aegerita* ($9,67 \pm 0,62$ %) та *Hypsizygus marmoreus* ($8,80 \pm 0,18$ %). Щодо екзopolісахаридів, високі рівні виявлено у *H. marmoreus* ($2,24 \pm 0,30$ г/л), *Fomes fomentarius* ($2,06 \pm 0,70$ г/л) та *Ganoderma applanatum* ($1,94 \pm 0,40$ г/л).

Вміст фенольних сполук макроміцетів варіював від $0,35 \pm 0,10$ мг ЕГК/г до $34,55 \pm 0,80$ мг ЕГК/г залежно від виду макроміцета, міцелію чи культуральної рідини. У 66,7 % видів вміст фенольних сполук був вищим у культуральній рідині порівняно з міцелієм. Найвищі показники зафіксовано у наґрунтового виду *Morchella esculenta* ($34,55 \pm 0,80$ мг ЕГК/г у культуральній рідині та $25,53 \pm 0,70$ мг ЕГК/г у міцелії). Значний вміст фенольних сполук також виявлено у міцелії ксилотрофів *Fomitopsis pinicola* ($19,88 \pm 0,60$ мг ЕГК/г) та *Lentinula edodes* ($20,02 \pm 0,30$ мг ЕГК/г), а також у культуральній рідині *Hericium erinaceus* ($25,39 \pm 0,99$ мг ЕГК/г). Вперше визначено вміст фенольних сполук у *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*, а також у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*.

Антагоністична активність досліджених макроміцетів свідчить про їх високу здатність пригнічувати ріст грибів *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii* та *Candida albicans* при спільному культивуванні. Встановлено, що більшість макроміцетів (83,3 % видів) мають антагоністичний індекс ≥ 15 , що підтверджує їхню ефективність у пригніченні росту патогенних грибів. Створення біопрепаратів на основі антагоністичної активності макроміцетів є перспективним методом контролю рослинних патогенів, сприяючи сталому розвитку сільського господарства та формуванню екологічно орієнтованих виробничих систем. Вперше встановлено, що спільне вирощування *Coprinus comatus* із штамами *C. albicans* сприяє експресії лакази у поживне середовище. Лаказа забезпечує захист грибів від окислювального стресу, що може бути перспективним підходом для підвищення продуктивності цього ферменту у біотехнологічних процесах.

Антибактеріальну активність досліджених видів макроміцетів проти *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* оцінено методом дифузії в агар. Ефективність антибіотичної дії як нативного міцелію, так і культуральної рідини підтверджено у порівнянні з комерційними антибіотиками та натуральними ефірними оліями. Вперше антибактеріальну активність виявлено у чотирьох базидієвих грибів: *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Культуральна рідина грибів продемонструвала вищу антибактеріальну активність порівняно з міцелієм, причому її ефективність залежала від виду гриба та умов культивування, що підкреслює необхідність встановлення оптимальних параметрів росту для підвищення біосинтетичної активності.

Ксилотрофні гриби *Lentinula edodes* і *Fomitopsis betulina* виявили найвищу антибактеріальну активність серед досліджених видів. Концентрування та висушування культуральної рідини *F. betulina* значно посилювали її антибактеріальні властивості. Її мінімальна бактеріостатична концентрація (МБЦК) проти еталонних бактерій варіювала від 2,0 до 18,75 мг/мл для *S. aureus* ATCC 25923, 3,9–18,75 мг/мл для *P. aeruginosa* ATCC 27853 і 12,10–18,75 мг/мл

для *E. coli* ATCC 25922. Також ефективність виявлено щодо полірезистентних клінічних ізолятів, де МБЦК становила 15,6 мг/мл для грампозитивних бактерій та 7,8–15,6 мг/мл для грамнегативних. Умовно активність висушеної культуральної рідини *F. betulina* знижувалася в такій послідовності: *Pseudomonas aeruginosa* 99/3066 MBL = *P. aeruginosa* 125/3343 MBL = *Escherichia coli* 116/3196 KPC = *Acinetobacter baumannii* 88/2995 MBL > *A. baumannii* 50/1496 MBL = *Klebsiella pneumoniae* 6/509 ESBL = *Staphylococcus aureus* 22/824 MRSA = *S. haemolyticus* 134/3569 MRCNS. Висока активність культуральної рідини *F. betulina* проти еталонних та резистентних штамів підтверджує її перспективність як природної сировини з широким спектром антибактеріальної дії.

Оцінено антиоксидантну активність досліджених видів макроміцетів методом знешкодження вільного радикалу DPPH (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил радикал). Рівень інгібування DPPH значно варіював залежно від виду гриба, а також від міцелію або культуральної рідини і становив від $4,3 \pm 0,2$ % до $87,94 \pm 0,8$ %. У 50 % видів міцелій продемонстрував вищу антиоксидантну активність порівняно з культуральною рідиною. Найвищий рівень інгібування вільних радикалів зафіксовано для міцелію ксилотрофів *Lentinula edodes* ($87,94 \pm 0,8$ %) та *Fomitopsis pinicola* ($83,39 \pm 0,7$ %). Вперше виявлено антиоксидантну активність у таких видів, як *Auriporia aurea*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Також вперше отримано дані про антиоксидантну активність міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*, що доповнює відомості про антиоксидантні властивості їх плодових тіл.

Дослідження ферментативної активності макроміцетів показало, що всі вони мають амілазу. Лаказна активність визначена у 21 виді, ліпазна – у 26, уреазна – у 20, протеазна – у 6, а нітратредуктазна – лише у 2 видів. Вперше виявлено позаклітинну ферментативну активність у таких видів: *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Fomitopsis betulina*, *Pseudospongipellis litschaueri* (амілаза); *Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Oxyporus obducens*, *P. litschaueri*

(лаказа); *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens* і *P. litschaueri* (ліпаза); *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *H. marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri* (уреаза); та *L. luscina* (нітратредуктаза). Найвищий вміст ферментів встановлено у *L. luscina*, що підкреслює її потенціал для біотехнологічних застосувань.

Оцінено потенціал 20 видів відходів харчової промисловості (крихта та бита вермішель, порошок з какао шкарлупи, дерть ячмінна та пшенична, пшеничні висівки) та олійно-екстракційного виробництва України як монокомпонентів поживних середовищ для вирощування міцелію 30 видів макроміцетів, а також визначено альтернативні субстрати для культивування кожного з досліджених видів. Серед досліджених відходів використано маловивчені, зокрема шрот та макуха рослинного походження, що сприяє поглибленню знань про їхню придатність для вирощування грибів.

До групи грибів, здатних ефективно розкладати органічні відходи, належать *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Lepista luscina*, *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor*. Найсприятливішими субстратами для росту більшості видів (окрім *Fomitopsis pinicola* та *Grifola frondosa*) виявилися відходи з високим вмістом крохмалю, зокрема крихта, бита вермішель та відход вуглекислотної екстракції амаранту (CO₂-шрот амаранту).

Досліджено якісний і кількісний склад найбільш перспективних субстратів, таких як CO₂-шрот амаранту, крупка та бита вермішель. Отримані результати підтверджують високий потенціал макроміцетів у конверсії харчових відходів, як у вигляді монособстратів, так і в їх комбінаціях, для отримання цінного міцелію. Біоконверсія відходів борошномельного, макаронного та олійно-екстракційного виробництв за допомогою макроміцетів сприятиме впровадженню раціональних моделей споживання і виробництва.

Доведено перспективність використання CO₂-шроту амаранту як універсального субстрату для культивування макроміцетів з цінними біологічними властивостями, що робить його перспективним компонентом у

біотехнологічних процесах. Встановлено, що його застосування у якості монооснови поживного середовища сприяє підвищенню антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини грибів.

Встановлена цінність біомаси *Pleurotus ostreatus* 551 за умов культивування на CO₂-шроті амаранту, як джерела цінних незамінних амінокислот, ненасичених жирних кислот та ендopolісахаридів, що робить її перспективною для використання у розробці дієтичних добавок. 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 (1 вид), ранозагоювальною (2 види) та сорбційною (1 вид) активностями. Виявлено високі значення терапевтичного індексу водних екстрактів міцелію *Ganoderma lucidum* і *Trametes versicolor* на рівні 80,5 та 324,67, відповідно, проти вірусу грипу типу А (H1N1), і міцелію *Auriporia aurea* (161,29) та *T. versicolor* (324,67) – проти вірусу простого герпесу типу 2. Для видів *A. aurea*, *Flammulina velutipes*, *Lyophyllum shimeji* та *Pleurotus eryngii* вперше встановлено протигрипозну активність, а для *A. aurea* і *Fomes fomentarius* – протигерпетичну активність. Введення водного екстракту міцелію *T. versicolor* зменшувало кількість легеневих метастазів на 45 % у тварин з карциномою Льюїса і на 65 % гальмувало ріст пухлини Герена у період активного росту. Наявність протипухлинної активності у міцелії *A. aurea* продемонстрована вперше. Водні екстракти міцелію *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi* сприяли прискоренню загоєння рани шляхом формування ороговіваючого плоского епітелію на моделі висічної рани. Крім того, вперше виявлено ранозагоювальну активність міцелію *C. schevczenkovi*. Результати дослідження сорбційної здатності біомаси *P. ostreatus* 551, вирощеної на шроті зародків пшениці, CO₂-шроті амаранту та макусі ріпаку, свідчать про її цінні властивості у якості ентеросорбента, здатного сприяти сорбції важких металів, зокрема Pb²⁺, Cd²⁺ та Hg²⁺.

Дослідження впливу фізико-хімічних умов культивування на ріст макроміцетів *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula*

edodes та *Pleurotus eryngii* виявило суттєві відмінності в оптимальних параметрах для продукції міцеліальної біомаси та біологічно активних метаболітів із антимікробними та антиоксидантними властивостями. Встановлено, що температура, рН середовища, джерела вуглеводного й азотного живлення є ключовими факторами, які визначають інтенсивність росту міцелію та рівень біологічної активності грибів. Це підкреслює важливість ретельного контролю параметрів культивування для отримання бажаних метаболітів із високою біологічною активністю. Такий підхід є критично важливим для біотехнологічних застосувань, що вимагають стабільного виробництва біологічно активних метаболітів.

Досліджено ріст міцелію п'яти комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* на різних твердих і рідких живильних середовищах, виявлено штамоспецифічні особливості антибактеріальної, антиоксидантної активності культур, а також вмісту фенольних сполук. Вперше було використано стратегію збільшення виробництва міцелію *P. ostreatus* за рахунок додавання низькомолекулярних гетероциклічних сполук (похідні піридину та піримідину), відомих як регулятори росту рослин: N-оксид-2,6-диметилпіридин (Івін), натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Метіур), калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Каметур). Встановлено ріст-стимулюючий вплив, ріст-інгібуючий або нейтральний залежно від концентрації регуляторів росту, тривалості культивування та штамів.

Запропонована концептуальна схема створення дієтичних добавок на основі макроміцетів. Визначення фармако-технологічних параметрів гранульованих сумішей створених на основі міцелію *Fomitopsis pinicola*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* дозволило розробити дієтичну добавку. Підібрано склад дієтичної добавки на основі 80 % суміші міцелію, 5 % моногідрату лактози, 10 % суміші маніту та мікрокристалічної целюлози у співвідношенні 2:1, 1 % кроскармелози натрію та 4 % карбоксиметилцелюлози 0,7 %-го розчину з високою здатністю знешкоджувати вільні радикали DPPH на $86,53 \pm 0,62$ %.

Таким чином, отримані результати створюють науково-обґрунтоване підґрунтя для отримання біомаси макроміцетів, перспективної для застосування та інтеграції в різні галузі промисловості, що узгоджується з ключовими цілями сталого розвитку України до 2030 року. Запропоновані рішення сприятимуть покращенню структури харчування населення, підтримці оптимального рівня здоров'я, ефективній біоконверсії макроміцетами відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва, впровадженню раціональних моделей споживання й виробництва, а також біоконтролю рослинних патогенів спрямованого на підтримку сталого розвитку сільського господарства та формуванню екологічно орієнтованих виробничих систем.

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

SUMMARY

Krupodorova T.A. Biotechnological foundations for obtaining biomass of macromycetes from the orders Agaricales and Polyporales to create biologically active supplements. – Qualifying scientific work, 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 dissertation focuses on the biotechnological foundations of obtaining biomass from macromycetes (34 strains in total), which belong to three species of the Ascomycota (orders Hypocreales and Pezizales) and 27 species of the Basidiomycota (orders Agaricales, Hymenochaetales, Polyporales, and Russulales). It also explores their biological activity. The study encompasses various systematic and ecological groups of macromycetes, including edaphophilic species (soil and litter saprotrophs), entomopathogenic species, and xylotrophic (wood-decaying) species.

The work highlights the regularities of the influence of cultivation conditions on biosynthetic processes and establishes optimal parameters for increasing the efficiency of biomass formation and synthesis of biologically active metabolites of promising macromycetes. The basis for the creation of dietary supplements with high biological value based on the biomass of macromycetes of the orders Agaricales and Polyporales is scientifically substantiated.

The biotechnological growth parameters of 30 macromycetes were determined under solid-phase and submerged cultivation on a standard synthetic glucose-peptone-yeast medium. Most of the studied macromycetes exhibited a moderate growth rate, with a radial growth rate ranging from 4 to 8 mm/day. *Lepista luscina* was the only species found to grow slowly.

According to the efficiency of nutrient conversion into biomass, 46.7 % of the species are classified as moderate biomass producers (5–10 g/l), and 36.7 % as efficient producers. Among the latter, xylotrophs (*Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*), a soil saprotroph (*Lyophyllum shimeji*), and entomophilic species (*Cordyceps militaris*, *Ophiocordyceps sinensis*) were identified. Only 16.6 % of the species had low biomass production, including xylophilic fungi (*Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Inonotus obliquus*, *Laetiporus sulphureus*) and the saprotroph *Lepista luscina*. The radial growth rate and biomass concentration were determined for the first time for *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*.

The studied macromycetes showed the ability to synthesise a variety of secondary metabolites, including polysaccharides, phenolic compounds. The content of endopolysaccharides ranged from 1.56 ± 0.10 % to 10.32 ± 0.35 %, with endopolysaccharides being the dominant polysaccharides. Their maximum level was recorded in *Lentinula edodes* (10.32 ± 0.35 %), *Cyclocybe aegerita* (9.67 ± 0.62 %) and *Hypsizygus marmoreus* (8.80 ± 0.18 %). As for exopolysaccharides, high levels were found in *H. marmoreus* (2.24 ± 0.30 g/l), *Fomes fomentarius* (2.06 ± 0.70 g/l) and *Ganoderma applanatum* (1.94 ± 0.40 g/l).

The content of phenolic compounds in macromycetes samples varied from 0.35 ± 0.10 mg EGA/g to 34.55 ± 0.80 mg EGA/g, depending on the species and type of material (mycelium or culture liquid). In 66.7% of the species, the content of phenolic compounds was higher in the culture liquid compared to the mycelium. The highest values were recorded for fungus *Morchella esculenta* (34.55 ± 0.80 mg EGA/g in the culture liquid and 25.53 ± 0.70 mg EGA/g in the mycelium). A significant content of phenolic compounds was also found in the mycelium of *Fomitopsis pinicola* (19.88 ± 0.60 mg EGA/g) and *Lentinula edodes* (20.02 ± 0.30 mg EGA/g), as well as in the culture liquid of *Hericiium erinaceus* (25.39 ± 0.99 mg EGA/g). For the first time, the content of phenolic compounds in *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*, as well as in the mycelium of *Fomitopsis pinicola* and *Lepista luscina* was determined, supplementing the data on the fruiting bodies of these fungi.

The antagonistic activity of the studied macromycetes indicates their high ability to inhibit the growth of *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii* and *Candida albicans* when co-cultured. The majority of macromycetes (83.3 % of species) were found to have an antagonistic index ≥ 15 , confirming their effectiveness in inhibiting the growth of pathogenic fungi. The creation of biological products based on the antagonistic activity of macromycetes has the potential for effective control of plant pathogens, contributing to the sustainable development of agriculture and the formation of environmentally friendly production systems. For the first time, it was found that co-cultivation of *Coprinus comatus* with *C. albicans* strains promotes laccase expression in the agar culture medium. Laccase protects fungi from oxidative stress, which may be a promising approach to increase the productivity of this enzyme in biotechnological processes.

The antibacterial activity of the studied macromycetes against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was evaluated by the agar diffusion method. The effectiveness of both the native mycelium and the culture fluid was confirmed by comparison with commercial antibiotics and natural essential oils. For the first time, antibacterial activity was found in four basidiomycetes:

Crinipellis schevczenkovi, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* and *Pseudospongipellis litschaueri*. The culture fluid of the fungi showed higher antibacterial activity compared to the mycelium, and its effectiveness depended on the fungal species and cultivation conditions, which underlines the importance of establishing optimal growth parameters to increase biosynthetic activity.

Xylotrophic fungi *Lentinula edodes* and *Fomitopsis betulina* showed the highest antibacterial activity among the studied species. Concentration and drying of the culture liquid of *F. betulina* significantly enhanced its antibacterial properties. Its minimum bacteriostatic concentration (MBC) against the reference bacteria ranged from 2.0 to 18.75 mg/ml for *S. aureus* ATCC 25923, 3.9–18.75 mg/ml for *P. aeruginosa* ATCC 27853, and 12.10–18.75 mg/ml for *E. coli* ATCC 25922. Particular efficacy was found against multidrug-resistant clinical isolates, where the MIC was 15.6 mg/ml for gram-positive bacteria and 7.8–15.6 mg/ml for gram-negative bacteria. The highest efficiency in the inhibition of multidrug-resistant strains was shown by the dried culture liquid of *F. betulina*, where the conditional efficiency decreased in order: *P. aeruginosa* 99/3066 MBL = *P. aeruginosa* 125/3343 MBL = *E. coli* 116/3196 KPC = *Acinetobacter baumannii* 88/2995 MBL > *A. baumannii* 50/1496 MBL = *Klebsiella pneumoniae* 6/509 ESBL = *Staphylococcus aureus* 22/824 MRSA = *S. haemolyticus* 134/3569 MRCNS. The high activity of *F. betulina* culture fluid against reference and resistant strains confirms its prospects as a natural raw material with a wide range of antibacterial effects.

The antioxidant activity of studied macromycetes was evaluated by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) free radical scavenging method. The level of DPPH inhibition by the extracts varied significantly depending on the fungal species and the type of sample (mycelium or culture fluid) and ranged from 4.3 ± 0.2 % to 87.94 ± 0.8 %. In 50 % of the species, mycelium showed higher antioxidant activity compared to the culture fluid. The highest level of free radical inhibition was recorded for the mycelium of *Lentinula edodes* (87.94 ± 0.8 %) and *Fomitopsis pinicola* (83.39 ± 0.7 %). The antioxidant activity of such species as *Auriporia aurea*, *Oxyporus obducens* and *Pseudospongipellis litschaueri* was detected for the first time. Also, for

the first time, data on the antioxidant activity of the mycelium of *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola* and *Lepista luscina* were obtained, which complements the previously known information on the antioxidant properties of their fruiting bodies.

The study of the enzymatic activity of studied macromycetes showed that all of them have amylase activity. Laccase activity was detected in 21 species, lipase activity in 26, urease activity in 20, protease activity in 6, and nitratereductase activity in only 2 species. For the first time, extracellular enzymatic activity was detected in the following species: *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Fomitopsis betulina*, *Pseudospongipellis litschaueri* (amylase); *Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri* (laccase); *A. aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens* and *P. litschaueri* (lipase); *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri* (urease); and *L. luscina* (nitratereductase). The highest enzyme content was found in *L. luscina*, which emphasises its potential for biotechnological applications.

The potential of 20 types of food waste as monocomponents of nutrient media for growing mycelium of 30 species of macromycetes was assessed, and alternative substrates for cultivation of each of the studied species were identified. Among the studied wastes, the little-studied ones were taken into account, in particular, plant meals and cake, which expands the knowledge about their suitability for growing mushrooms.

The group of fungi that efficiently process organic waste includes *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Lepista luscina*, *Pleurotus ostreatus*, and *Trametes versicolor*. The most favourable substrates for the growth of most species (except *Fomitopsis pinicola* and *Grifola frondosa*) were wastes with a high starch content, such as crumbs, broken vermicelli and waste from carbon dioxide extraction from amaranth (CO₂-amaranth flour).

The qualitative and quantitative composition of the most promising substrates, such as CO₂-amaranth flour, cereal and broken vermicelli, was investigated. The

obtained results confirm the high potential of macromycetes in the conversion of food waste, both in the form of mono-substrates and in their combinations, to produce valuable mycelium. The bioconversion of waste from flour milling, pasta and oil extraction industries using macromycetes will contribute to the implementation of rational consumption and production models.

The prospects of using CO₂-amaranth flour as a universal substrate for the cultivation of macromycetes with valuable biological properties have been proved, which makes it a promising component in biotechnological processes. It has been established that its use as a monobase of the culture medium contributes to the increase of antibacterial activity of mycelium and culture liquid of fungi.

The value of *Pleurotus ostreatus* 551 biomass under CO₂-amaranth meal cultivation conditions as a source of valuable essential amino acids, unsaturated fatty acids and endopolysaccharides was established, making it promising for use in the development of dietary supplements. The mycelial biomass of selected macromycetes with antibacterial (9 species), antiviral (9 species against influenza virus (H1N1) and 4 species against herpes virus type 2), antitumour (1 species), wound healing (2 species) and sorption (1 species) activities was obtained. The high values of the chemotherapeutic index of aqueous extracts of *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor* mycelium at 80.5 and 324.67, respectively, against influenza A virus (serotype H1N1), and mycelium of *Auriporia aurea* (161.29) and *T. versicolor* (324.67) against herpes simplex virus type 2 were found. For the first time, antiinfluenza activity was established for *A. aurea*, *Flammulina velutipes*, *Lyophyllum shimeji* and *Pleurotus eryngii*, and for *A. aurea* and *Fomes fomentarius* – antiherpetic activity. The administration of aqueous extract of *T. versicolor* mycelium reduced the number of pulmonary metastases by 45 % in animals with Lewis carcinoma and inhibited the growth of Guérin's tumour during the period of active growth by 65 %. The presence of antitumour activity in *A. aurea* was demonstrated for the first time. Aqueous extracts of the mycelium of *Ganoderma lucidum* and *Crinipellis schevczenkovi* accelerated wound healing by forming a cornified squamous epithelium in an excision wound model. In addition, the wound healing activity of

C. schevczenkovi mycelium was revealed for the first time. The results of the study of the sorption capacity of *P. ostreatus* 551 biomass grown on wheat germ meal, CO₂-amaranth flour and rapeseed cake indicate its valuable properties as an enterosorbent capable of promoting the removal of heavy metals, in particular Pb²⁺, Cd²⁺ and Hg²⁺, from the human body.

The study of the influence of physicochemical cultivation conditions on the growth of macrofungi *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista edodes* and *Pleurotus eryngii* revealed significant differences in the optimal parameters for the mycelial biomass and biologically active metabolites production with antimicrobial and antioxidant properties. It was found that temperature, pH of the medium, as well as sources of carbohydrate and nitrogen nutrition are key factors that determine the intensity of mycelial growth and the level of biological activity of fungi. This underscores the importance of precise control of cultivation parameters to produce specific metabolites with high biological activity. This approach is critical for biotechnological applications that require stable production of biologically active metabolites.

The growth of mycelium of five commercial strains of *Pleurotus ostreatus* on different solid and liquid media was studied, and strain-specific features of antibacterial, antiradical activity of cultures, as well as the content of phenolic compounds were revealed. For the first time, the strategy of increasing the production of *P. ostreatus* mycelium production by adding low-molecular-weight heterocyclic compounds (pyridine and pyrimidine derivatives) known as plant growth regulators, such as N-oxide-2,6-dimethylpyridine (Ivin), sodium salt of 6-methyl-2-mercapto-4-hydroxypyrimidine (Methyrur), potassium salt of 6-methyl-2-mercapto-4-hydroxypyrimidine (Kamethur). Growth-stimulating, growth-inhibiting or neutral effects were found, depending on the concentration of growth regulators, cultivation time and strains.

A conceptual scheme for the creation of dietary supplements based on macromycetes is proposed. Establishing the pharmacological and technological parameters of the created granular mixtures based on the mycelium of *Fomitopsis*

pinicola, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* allowed us to develop a conceptual model for the creation of dietary supplements. The composition of a dietary supplement based on 80 % of a mixture of mycelium, 5 % of lactose monohydrate, 10 % of a mixture of mannitol and microcrystalline cellulose in a 2:1 ratio, 1 % of sodium croscarmellose and 0.7 % of carboxymethyl cellulose solution at a concentration of 4 % with a high ability to scavenge DPPH free radicals by 86.53 ± 0.62 % was selected.

Thus, the results obtained create a scientifically sound basis for the production of macro mycetes biomass, which is promising for use and further integration into various industries, which is in line with the key goals of Ukraine's sustainable development until 2030. The proposed solutions will contribute to improving the nutritional structure of the population, maintaining its health at an optimal level, bioconversion of food waste by macro-mycetes through the introduction of rational consumption and production models, as well as biocontrol of plant pathogens to support sustainable agricultural development and the formation of environmentally friendly production systems.

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

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових виданнях, індексованих у базах даних **Web of Science**,
Scopus, **Google Scholar** або **Index Copernicus**

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) Ryvardeen 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, включених до переліку наукових фахових видань 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., Гашук, 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. **Kruporodova, 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 «Астрая».
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-warperiod». 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).** *Індукція 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 «Сьогодення 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 «Сьогодення 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 XXXIII 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 X Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI 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 II 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 III 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 IV 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 XI 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 VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200-й річниці з дня народження Т.Г. Шевченка «Біотехнологія XXI століття». Київ: НТУУ «КПІ».
 24. Пешук, 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 «Інтертехнодрук».
 25. **Krupodorova, T.**, Ivanova, T. (2013). *Growth of Pleurotus eryngii (Dc.) Quéł 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 VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115-й річниці заснування НТУУ «КПІ» «Біотехнологія XXI століття». Київ: НТУУ «КПІ».
 27. Peshuk, L., Haschuk, 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 Abstacts. Kyiv: NUFT.

28. **Круподьорова, Т.,** Барштейн, В., Пешук, Л., Гащук, О. (2013). *Біомаса Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kunt., культивована на шротах 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 Art.
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.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	33
ВСТУП.....	34
РОЗДІЛ 1 МІЦЕЛІЙ ТА КУЛЬТУРАЛЬНА РІДИНА МАКРОМІЦЕТІВ ЯК ОСНОВА СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОДУКТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	46
1. 1. Загальна характеристика макроміцетів.....	46
1. 2. Біологічно активні сполуки макроміцетів.....	49
1.2.1. Основні групи біологічно активних речовин міцелію та культуральної рідини.....	49
1.2.2. Біологічна активність міцелію та культуральної рідини.....	55
1.3. Технологічні аспекти культивування макроміцетів.....	72
1.3.1. Сучасні підходи до культивування макроміцетів у лабораторних та промислових умовах.....	73
1.3.2. Вплив умов культивування на біосинтетичну активність макроміцетів.....	76
1.4. Світовий ринок продукції на основі макроміцетів.....	85
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	92
2.1. Види та штами макроміцетів.....	92
2.2. Культивування грибів.....	95
2.2.1. Методи культивування макроміцетів.....	95
2.2.2. Склад субстратів та поживних середовищ для зберігання і культивування макроміцетів.....	96
2.2.3. Вплив умов культивування на ріст та біосинтетичну активність макроміцетів.....	99
2.3. Мікроскопічні дослідження міцелію.....	103
2.4. Молекулярно-генетичний аналіз міцелію.....	104
2.5. Методи визначення параметрів біосинтетичної активності макроміцетів.....	105

2.5.1. Визначення показників росту вегетативного міцелію макроміцетів.....	105
2.5.2. Визначення вмісту полісахаридів.....	107
2.5.3. Визначення вмісту загальних фенольних сполук.....	108
2.5.4. Визначення вмісту екзоферментів.....	108
2.5.5. Визначення вмісту протеїну та амінокислот.....	109
2.5.6. Визначення вмісту жиру та жирнокислотного складу ліпідів.....	109
2.5.7. Визначення антагоністичної активності.....	110
2.5.8. Визначення антибактеріальної активності.....	113
2.5.9. Визначення антиоксидантної активності.....	116
2.5.10. Визначення протівірусної активності.....	118
2.5.11. Визначення протипухлинної активності.....	120
2.5.12. Визначення ранозагоювальної активності.....	123
2.5.13. Визначення сорбційної активності.....	125
2.6. Визначення фармако-технологічних властивостей гранульованої суміші міцелію <i>Trametes versicolor</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> та <i>Fomitopsis pinicola</i>	126
2.7. Статистична обробка результатів.....	127

РОЗДІЛ 3 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ

МАКРОМІЦЕТІВ ТА НАКОПИЧЕННЯ МЕТАБОЛІТІВ	128
3.1. Швидкість росту та синтез біомаси макроміцетів.....	130
3.2. Вміст ендopolісахаридів у міцелії макроміцетів та екзopolісахаридів у культуральній рідині.....	136
3.3. Вміст фенольних сполук у міцелії макроміцетів і культуральній рідині.....	144
3.4. Вміст екзоферментів макроміцетів.....	150

РОЗДІЛ 4 БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ МАКРОМІЦЕТІВ.....160

4.1. Антагоністична активність макроміцетів в умовах

спільного культивування з мікроміцетами.....	161
4.1.1. Реакції взаємодії грибів.....	162
4.1.2. Особливості росту макроміцетів і <i>Saccharomycetaceae</i>	167
4.1.3. Особливості росту макроміцетів з пліснявими мікроміцетами <i>Aspergillus niger</i> і <i>Penicillium polonicum</i>	177
4.1.4. Особливості росту макроміцетів і <i>Mucor</i> sp.....	183
4.1.5. Антагоністична активність штамів <i>Pleurotus ostreatus</i>	188
4.2. Антибактеріальна активність макроміцетів.....	192
4.3. Антиоксидантна активність макроміцетів.....	208

РОЗДІЛ 5 БІОКОНВЕРСІЯ МАКРОМІЦЕТАМИ ВІДХОДІВ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ОЛІЙНОЕКСТРАКЦІЙНОГО ВИРОБНИЦТВА.....	220
5.1. Ріст макроміцетів на відходах макаронного виробництва.....	220
5.2. Ріст макроміцетів на відходах борошномельного виробництва та кондитерської промисловості.....	224
5.3. Ріст макроміцетів на відходах олійно-екстракційного виробництва.....	227
5.4. Штамоспецифічні особливості біоконверсії відходів харчової промисловості <i>Pleurotus ostreatus</i>	238
РОЗДІЛ 6 СО₂-ШРОТ АМАРАНТУ ЯК ПЕРСПЕКТИВНА ОСНОВА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МАКРОМІЦЕТІВ.....	246
6.1. Склад СО ₂ -шроту амаранту.....	247
6.2. Аналіз хімічного складу відібраних видів їстівних та лікарських грибів, культивованих на СО ₂ -шроті амаранту	250
6.3. Біосинтетична та сорбційна активність <i>Pleurotus ostreatus</i> , культивованого на харчових відходах.....	260
6.4. Вплив культивування на СО ₂ -шроті амаранту на антибактеріальну активність макроміцетів.....	265

6.5. Протівірусна активність міцелію 10 видів макроміцетів.....	270
6.6. Протипухлинна активність міцелію <i>Auriporia aurea</i> та <i>Trametes versicolor</i>	278
6.7. Ранозагоювальна активність міцелію <i>Crinipellis schevczenkovi</i> та <i>Ganoderma lucidum</i>	290
РОЗДІЛ 7 ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ МАКРОМІЦЕТІВ З МЕТОЮ ПІДВИЩЕННЯ ЇХ БІОСИНТЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ.....	299
7.1. Встановлення живильних потреб <i>Lentinula edodes</i> та <i>Fomitopsis betulina</i> оптимальних для росту та набуття антибактеріальної активності.....	299
7.2. Ріст, антиоксидантна активність та вміст фенольних сполук у міцелії <i>Fomitopsis pinicola</i> та <i>Lentinula edodes</i> в залежності від поживного середовища та екстрагенту.....	319
7.3. Визначення живильних потреб <i>Fomitopsis pinicola</i> оптимальних для росту, вмісту фенольних сполук та набуття антиоксидантної активності міцелію.....	327
7.4. Встановлення живильних потреб <i>Hohenbuehelia myxotricha</i> для росту, набуття антимікробної та антиоксидантної активностей.....	339
7.5. Вплив гетероциклічних стимуляторів росту на ріст комерційних штамів <i>Pleurotus ostreatus</i> та штамоспецифічні особливості біологічної активності культур.....	356
7.6. Особливості росту <i>Pleurotus eryngii</i> в культурі за різних умов культивування.....	366
РОЗДІЛ 8 РОЗРОБЛЕННЯ ТА ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГІЧНІ ВИПРОБУВАННЯ ГРАНУЛЬОВАНОЇ СУМІШІ МІЦЕЛІЮ <i>TRAMETES VERSICOLOR</i>, <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> ТА <i>FOMITOPSIS PINICOLA</i>.....	376
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	391

ВИСНОВКИ.....	417
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	421
ДОДАТКИ.....	507

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК	–	активні форми кисню
АОА	–	антиоксидантна активність
ГА	–	глюкозо-аспарагінове середовище
ГПД	–	глюкозо-пептон-дріжджове середовище
ГПДА	–	глюкозо-пептон-дріжджове агаризоване середовище
FDA	–	Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США
ДМСО	–	диметилсульфоксид
DRPH	–	2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил
ДФУ	–	Державної фармакопея України
ЕГК	–	еквівалент галової кислоти
EtOH	–	етанольний екстракт
EtOAc	–	етилацетатний екстракт
КД	–	картопляно-декстрозне середовище
КР	–	культуральна рідина
КДА	–	картопляно-декстрозне агаризоване середовище
МАК	–	мінімально активна концентрація
МЕ	–	мальт-екстракт середовище
МЕА	–	мальт-екстракт агаризоване середовище
МЕОН	–	метанольний екстракт
МІК	–	мінімально інгібуюча концентрація
МБцК	–	мінімально бактерицидна концентрація
МПК	–	максимально переносима концентрація
MRSA	–	метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i>
H ₂ O	–	водний екстракт
СА	–	сусло пивне агаризоване середовище
СМФ	–	система мононуклеарних фагоцитів
TAS	–	загальний антиоксидантний статус
TOS	–	загальний оксидантний статус
OSI	–	індекс окисного стресу
XTI	–	хіміотерапевтичний індексу
ЦПД	–	цитопатогенна дія
ЧА	–	Чапека агар

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Макроміцети посідають чільне місце в глобальному виробництві їстівних і лікарських грибів. Біотехнологія макроміцетів є перспективною галуззю, що охоплює дослідження та виробництво грибних продуктів з використанням принципів технології ферментації, біології грибів і біопроектів (Asemota et al., 2015). Завдяки різноманітним метаболітам (полісахаридам, тритерпеноїдам, протеїнам, ферментам, фенольним сполукам, глікозидам, лектинам, органічним кислотам тощо), що синтезуються генетично детермінованими біосинтетичними шляхами та механізмами адаптації макроміцетів, вони вважаються перспективними об'єктами для інноваційних розробок, спрямованих на вирішення глобальних викликів. Останнє десятиріччя макроміцети набули особливого значення як цінний ресурс 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 джерелами для створення таких добавок є макроміцети (Ishara et al., 2021; Mayirao et al., 2025). Метаболіти макроміцетів демонструють імуностимулюючі, антиоксидантні, протизапальні, протівірусні, 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*, *Hericium erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Phellinus linteus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* (Wasser et al., 2000; Barua et al., 2024). Різноманітність 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. Така різноманітність породжує низку проблем, пов'язаних з ідентифікацією метаболітів грибів, стандартизацією складу грибних продуктів з тією, чи іншою біологічною активністю, а також із 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 є однією з ключових 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, яке, забезпечуючи стабільні умови, поєднує відносну економічну доцільність із можливістю прецизійного контролю фізіологічних параметрів. 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 для розвитку широкого спектра галузей, від біотехнології та харчової промисловості до сільського господарства, охорони 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 навколишнього середовища (температура, вологість, кисень, світло) під час зберігання та технологічної обробки, що призводить до зниження ефективності кінцевого продукту. Тому розробка методів стабілізації біоактивних компонентів, зокрема інкапсулювання або використання стабілізуючих матриць, 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 їх 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 біофортificaції 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.), «Штамоспецифічні 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 було розроблення біотехнологічних основ отримання міцеліальної біомаси макроміцетів – потенційних продуцентів метаболітів з високою біологічною активністю як джерела для створення біологічно активних добавок.

Відповідно до мети було сформульовано наступні **завдання**:

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

Ho 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 у *A. aurea* та ранозагоювальну активність міцелію у *C. schevczenkovi*.

Вперше досліджено антагоністичну активність 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 встановлено 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 *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; уреазы – 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 як монокомпоненти 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 рижію) виробництв. Вперше показано ефективність застосування 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, що сприяє створенню економічно вигідних та екологічно сталих технологій. Використання відходів макаронного виробництва та CO₂-шроту амаранту для культивування макроміцетів захищено патентами на корисну модель України № 63646 та №54524 відповідно. Впровадження

додавання CO₂-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 myxotricha* (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 schevczenkovi* 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. Шмараковим І. О., к.б.н. Борщовою В. Л., к.б.н. Кець О. В.; антиоксидантної та антимікробної активності *Hohenbuehelia*

mutotricha – 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 сорбційної активності – з к.т.н. Костенко Є. Є. з Національного університету харчових технологій (м. Київ, Україна). Права співавторів публікацій при викладі дисертації та автореферату не порушені.

При обговоренні результатів у процесі підготовки публікацій та формулювання висновків автор консультувався 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), VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (2014 р., Київ, Україна), XI Українському біохімічному конгресі (2014 р., Київ, Україна), IV Науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (2014 р., Харків, Україна), III Міжнародній науково-практичній конференції «Новітні досягнення біотехнології та нанобіотехнології» (2015 р., Київ, Україна), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (2015 р., Харків, Україна), X Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (2015 р., Київ, Україна), XXXIII 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), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації» (2018 р., Київ, Україна), II і III Міжнародних науково-практичній конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій» (2019, 2024 рр., Полтава, Україна), VII та XII Міжнародних науково-практичній інтернет-конференції: «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. Результати дисертаційного дослідження апробовано та оприлюднено у 63 науковій публікації, що включає: 24 статті у рецензованих фахових виданнях, серед яких 12 статей індексовано у міжнародній наукометричній базі даних Scopus (сім статей належать до кватилів Q1–Q3, п'ять – до Q4), 7 статей представлено у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз даних, та 5 статей опубліковано у наукових фахових виданнях України; 1 розділ у колективній монографії; 6 патентів України на корисну модель; 32 тези доповідей, представлених 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, містить 88 рисунків та 54 таблиці.

Подяка. Автор висловлює щиро подяку науковому консультанту д.б.н., проф., академіку НАН України Я.Б. Блюму за допомогу у організації проведених досліджень, у обговоренні результатів та висновків. Автор щиро вдячний д.б.н., проф., Н.А. Бісько за надані культури макроміцетів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки Національної Академії наук України імені М. Г. Холодного Національної академії наук України (м. Київ, Україна) та д.б.н. В.А. Циганковій за надані синтетичні низькомолекулярні гетероциклічні сполуки (похідні піридину та піримідину) синтезовані в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної академії наук України (м. Київ, Україна). Щира подяка Збройним Силам України за можливість жити й працювати у складних умовах воєнного стану.

РОЗДІЛ 1

МІЦЕЛІЙ ТА КУЛЬТУРАЛЬНА РІДИНА МАКРОМІЦЕТІВ ЯК ОСНОВА СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОДУКТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Загальна характеристика макроміцетів

Гриби – це окрема група організмів, яка відокремлена у самостійне царство *Mycota*, займає проміжне положення між рослинами та тваринами, більш близька до тварин, ніж до рослин. Гриби у широкому сенсі можуть класифікуватися на три різні форми, а саме дріжджі, плісняві гриби та макроміцети (або макрогриби). Макроміцети можна визначити як гриби, які утворюють епігеальні/гіпогеальні, великі спороносні структури, що називаються спорокарпами (Chang & Wasser, 2012). Ці організми часто формують значні за розміром спороносні структури – карпофори (плодові тіла), що складаються з розгалужених ниткоподібних септованих гіф (Fazenda et al., 2008). Тому, більш поширене визначення: макроміцети – гриби, які характеризуються наявністю плодових тіл, достатньо великих (≥ 1 см) для візуального спостереження неозброєним оком. Макроміцети, таксономічно належать до підцарства *Dikarya*, їх більшість класифікується на дві основні філи: *Ascomycota* і *Basidiomycota*, але деякі з них є представниками *Zygomycota* (Alexopoulos et al., 2000). Базидієві гриби, або таксономічно більш правильна назва *Basidiomycota*, – це різноманітна група вищих грибів, що включає підвідділи *Agaricomycotina*, *Ustilaginomycotina*, *Russiniomycotina*. Сумчасті гриби (*Ascomycota*) включають підвідділи *Taphrinomycotina*, *Saccharomycotina*, *Pezizomycotina* (Berger & Ersoy, 2022).

Хоча макроміцети мають, ймовірно, найдовшу історію вивчення їх різноманіття з усіх груп грибів, вони все ще залишаються малодослідженими на більшій частині земної кулі. Більше даних доступно з Північної Америки та Європи, ніж з будь-якого іншого регіону, але знання про різноманітність макроміцетів є неповними навіть для цих регіонів. Таксономічні перепони,

нестача кваліфікованих фахівців (мікологів) та незначна кількість опублікованих ретельних, багаторічних досліджень не дають змоги однозначно відповісти навіть на елементарні питання про кількість видів макроміцетів. Останнє було предметом дискусій вчених. Відповідно певним оцінками, макроміцети складають щонайменше 10 000 видів (Dwivedi et al., 2017), за іншими даними: 12 000 видів (Beulah et al., 2013), 14 000 видів в екосистемі (Trakulsrichai et al., 2017). Відповідно до проведеної ґрунтовної аналітичної роботи групи дослідників (Mueller et al., 2007), всього було зафіксовано 21 679 назв макроміцетів, половина з яких були з Північної Америки та Західної Європи. Разом з цим, за підрахунками авторів існує ще приблизно 35 000 видів "невдомих" (не ідентифікованих) макроміцетів. За результатами потенційної точності згенерованих прогнозів заснованих на співвідношенні різноманіття рослин і грибів та рівнем ендемізму, оцінено «фактичне» глобальне різноманіття макроміцетів на рівні 53 000 – 110 000. Такі оцінки узгоджуються з гіпотезою про високе загальне видове різноманіття грибів. Макроміцети, ймовірно, складають 10 % від загального різноманіття грибів (Rossman, 1994). Нещодавня оцінка показала глобальну поширеність макроміцетів на рівні 0,14–1,25 млн (Azeem et al., 2020).

Відомості, зібрані з 10 країн, засвідчили існування 2 327 дикорослих видів, з яких відомо 2166 видів дикорослих їстівних грибів (1069 видів використовується виключно як їжа), які є відомими джерелами їжі у більш ніж 80 країнах (Воа, 2004). Дикорослі види макроміцетів мають широкий ареал поширення по всьому світу, населяють величезну різноманітність як наземних так і водних середовищ існування, зустрічаються в тропічному, субтропічному кліматі, у помірних регіонах та в полярній частині Північної півкулі (Lincoff, 2002; Mueller et al., 2007). Біорізноманіття макроміцетів є важливим для функціонування та стабільності екосистем. Макроміцети можуть вести сапрофітний, паразитичний та/або симбіотичний спосіб життя. Більшість наземних макроміцетів є сапробами або мікоризними симбіонтами, але деякі з них є патогенами рослин або грибів.

Їстівні та не їстівні макроміцети, які використовуються у вигляді екстрактів або порошку для профілактики, полегшення або лікування захворювань вважаються лікарськими (Lindequist, 2013). Незважаючи на значну різноманітність макроміцетів, більшість публікацій присвячена обмеженій кількості видів лікарських та їстівних, культивованих у всьому світі грибів. Окреслено основні види лікарських їстівних макроміцетів: *Agaricus blazei* Murrill, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quéél., *Cordyceps militaris* (L.) Fr., *Cyclocybe aegerita* (V. Brig.) Vizzini, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *G. lucidum* (Curtis) P. Karst., *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *Hypsizygus marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Lenzites betulina* (L.) Fr., *Marasmius androdaceus* (L.) Fr., *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora, *Oudemansiella mucida* (Schrad.) Höhn., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr., *Schizophyllum commune* Fr., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Tremella fuciformis* Berk., *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer (Wasser & Weis, 1999). Високі харчові якості та цінні терапевтичні властивості сприяли введенню їх *in vitro*. Існує майже сто видів грибів, які можна культивувати (Boa 2004). Проте, лише близько 35 видів макроміцетів (*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, *A. brasiliensis* Fr., *Auricularia auricula-judae*, *A. nigricans* (Sw.) Birkebak, Looney & Sánchez-García, *Calocybe indica* Purkay. & A. Chandra, *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers., *Cordyceps militaris*, *Cyclocybe parasitica* (G. Stev.) Vizzini, *Dictyophora indusiata* (Vent.) Desv., *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Gloeostereum incarnatum* S. Ito & S. Imai, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *H. tessellatus* (Bull.) Singer, *Lentinus edodes*, *Morchella esculenta*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm., *P. diposa* (Batsch) P. Kumm., *P. microspora* (Berk.) Sacc., *Pleurotus citrinopileatus* Singer, *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, *P. eryngii* (DC.) Quéél., *P. ostreatus*, *Sanghuangporus vaninii* (Ljub.) L.W. Zhou & Y.C. Dai, *Sarcomyxa serotina* (Pers.)

V. Papp, *Trametes versicolor*, *Tremella fuciformis*, *Volvariella volvacea*) культивуються в промислових масштабах для отримання плодових тіл (Beulah et al., 2013). Також отримують штучно культивованій міцелій грибів – вегетативне тіло грибів, що складається з гіф, і культуральну рідину – рідке поживне середовище, в якому вирощується міцелій, і до якого гриб синтезує, в процесі свого росту, вторинні метаболіти та інші цінні речовини (Jong & Birmingham, 2001).

1.2. Біологічно активні сполуки макроміцетів

У зв'язку зі зростанням резистентності до антибіотиків та пошуком нових ефективних лікарських засобів природного походження, дослідження макроміцетів набуває особливої актуальності. Макроміцети є перспективним джерелом біологічно активних сполук з антиоксидантною, антимікробною, протизапальною, противірусною та гіполіпідемічною активністю, а також промислово важливих ферментів (лігнінолітичні, целюлозолітичні, протеолітичні) (Martinez-Burgos et al., 2024). Розуміння біологічних властивостей макроміцетів та біосинтез їх активних метаболітів відкриває нові перспективи для розвитку інноваційних технологій, спрямованих на підтримку здоров'я людини, покращення стану довкілля та розширення промислового застосування природних ресурсів.

1.2.1. Основні групи біологічно активних речовин міцелії та культуральної рідини макроміцетів

Зростаючий інтерес до хімічного складу грибів у контексті пошуку біологічно активних метаболітів сприяв їх ідентифікації та відкриттю речовин з різноманітними біологічними властивостями. Незважаючи на значні досягнення в цьому напрямку протягом останніх трьох десятиліть, лише невелика частина видів макроміцетів була вивчена з хімічної точки зору. Оцінити точну кількість

метаболітів, що синтезуються грибами, складно, але за даними Google Scholar, загальна кількість метаболітів грибів наразі становить 466 000 (Goyal et al., 2017). У розділі розглянуто не всі біологічно активні речовини, а лише найбільш важливі метаболіти, асоційовані з проведеними дослідженнями грибів, що обумовлено необхідністю зосередження уваги на ключових сполуках, які визначають їх антимікробні, протівірусні, протипухлинні та антиоксидантні властивості.

Метаболітами макроміцетів є хімічно різноманітні сполуки, які утворюються в результаті проміжних або кінцевих процесів обміну речовин, необхідних для росту, підтримки життєдіяльності та метаболізму клітин. Ці продукти поділяються на первинні та вторинні метаболіти.

Первинні метаболіти — це метаболіти, які є основними для росту, розвитку, розмноження та підтримання клітинних функцій грибів. До них належать вітаміни, амінокислоти, нуклеозиди, деякі пігменти та органічні кислоти, які зазвичай потрібні під час логарифмічної фази росту (Grienke et al., 2014). Серед найбільш цінних активних первинних метаболітів грибів можна виділити високомолекулярні сполуки, такі як полісахариди, білки та полісахаридно-білкові комплекси, що мають значну біологічну активність і використовуються в різних медичних та біотехнологічних застосуваннях.

Полісахариди – це вуглеводні полімери, до складу яких входить більш ніж один сахарид, який може бути представлений або одним типом моносахариду (гомополісахариду), або принаймні двома різними видами моносахаридів (гетерополісахариди) (Martinez-Burgos et al., 2024). Полісахариди здатні поєднуватися з білками і утворювати полісахаридні протеїнові комплекси і пептидоглікани (Dudekula et al., 2020). Однією з найважливіших і основних груп біологічно активних полісахаридів у макроміцетах є β -глюкани. Вони складаються переважно з β -(1,3)-глюкозних ланок, бічні ланцюги яких з'єднані 1,6-глікозидними зв'язками. Між різними β -глюканами існують значні структурні відмінності, що впливають на їх фізико-хімічні властивості та обумовлюють їх біологічну активність (Gargano et al., 2017; Złotko et al., 2019).

Вміст β -глюканів у грибах коливається від 0,21 до 0,53 г/100 г сухої речовини. Переважна більшість (54–82 %) із них міститься у фракції клітковини, яка є нерозчинною у воді, натомість розчинна фракція становить 16–46 %. Біоактивний характер перш за все встановлено для водорозчинних глюканів, тоді як нерозчинні фракції, що містяться в клітковині, виконують механічну функцію (Stachowiak & Reguła, 2012). Важливо, що більшість 1,3- β глюканів виявляють стійкість до шлункового соку (Mirończuk-Chodakowska & Witkowska, 2020).

Грибні β -глюкани характеризуються значною імуномодулюючою активністю, що відкриває перспективи їх використання в якості додаткового засобу при лікуванні онкологічних захворювань. Крім того, ці сполуки мають широкий спектр корисних властивостей, серед яких зниження рівня ліпідів, антиоксидантний ефект, захист нервової системи, антимікробна, протизапальна та сорбційна дії, а також здатність знижувати рівні цукру в крові та холестерину. Завдяки цим властивостям, β -глюкани можуть бути використані для профілактики серцево-судинних захворювань і загального зміцнення організму (Goyal et al., 2017; Jaros et al., 2018; Mirończuk-Chodakowska et al., 2021; Martinez-Burgos et al., 2024).

Інший тип полісахаридів – екзополісахариди, які складаються або з простих сахаридів (глюкози, епімерів глюкози, галактози і манози, ксилози), або є похідними сахаридів за рахунок приєднання цукрів до різних груп, таких як білок, фосфат, сульфат за допомогою різноманітних зв'язків (Tang et al., 2007; Choudhary, 2020). Такі полісахариди прикріплені до поверхні клітини, і секретуються назовні клітини. Вони обумовлюють протиракову, протидіабетичну, протиастматичну, антибактеріальну та противірусну, активності.

Активно вивчаються полісахариди *Cordyceps militaris*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Flammulina velutipes*, *Inonotus obliquus*, *Lentinus edodes*, *Ophiocordyceps sinensis*, *P. ostreatus*, *Phellinus* spp., *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor* (Tang et al., 2007; Bakratsas et al., 2021; Berovic et al., 2024).

Макроміцети є багатим джерелом білків і перспективними продуцентами природних біоактивних пептидів. Ці сполуки представляють собою невеликі фрагменти, що складаються з 2 до приблизно 50 амінокислот, які можуть утворюватися ендогенно або бути ізольованими з білків макроміцетів (Martinez-Burgos et al., 2024). Біологічна активність біоактивних пептидів макроміцетів значною мірою залежить від їх амінокислотного складу, будови та послідовності. Вирішальну роль відіграють кислотно-основні властивості амінокислот, обумовлені наявністю вільних α -аміногруп, α -карбокських груп і бічних ланцюгів. Довжина амінокислотного ланцюга, яка визначає молекулярну масу пептидів, а також їх електричний заряд є ключовими факторами, що впливають на взаємодію з біологічними мішенями (Landi et al., 2022). Ці параметри визначають здатність пептидів до специфічного зв'язування, проникнення крізь клітинні мембрани та участі у біохімічних реакціях, що забезпечує їхню біологічну активність, зокрема антиоксидантну, антимікробну, протипухлинну, імуностимулювальну, проліферативну, антитромбоцитарну (Martinez-Burgos et al., 2024).

Найбільше досліджень спрямовані на вивчення протеїнів їстівних видів грибів, зокрема *Agaricus spp.*, *Cyclocybe aegerita*, *F. velutipes*, *L. edodes*, *Morchella spp.*, *Pleurotus sp.* В той же час активно аналізуються протеїни лікарських видів грибів, таких як *Cordyceps militaris*, *Ganoderma lucidum*, *Ophyocordyceps sinensis* (Bakratsas et al., 2021).

Вторинні метаболіти це низькомолекулярні сполуки, які не беруть безпосередньої участі в основних метаболічних шляхах грибів, зокрема в процесах енергетичного обміну та біосинтезу структурних компонентів таких як білки, нуклеїнові кислоти та клітинні мембрани. Зазвичай вони є кінцевими продуктами первинного метаболізму, і активно утворюються під час стаціонарної фази росту клітин. Ці метаболіти часто виконують важливі біологічні функції, маючи значний вплив на різні процеси в організмі, включаючи адаптацію до змін середовища та взаємодію з іншими організмами (De Silva et al., 2013). Формування метаболічних механізмів, відповідальних за

синтез різноманітних вторинних метаболітів з унікальними хімічними структурами та біологічними властивостями, ймовірно, стало важливим еволюційним фактором адаптації макроміцетів. Це забезпечило їх здатність до самозахисту та виживання в умовах жорсткої конкуренції у природних екосистемах (Engler et al., 1998).

Вторинні метаболіти макроміцетів характеризуються молекулярною масою в діапазоні 150–1000 Да. Їх елементний склад включає вуглець (C), водень (H), кисень (O) і азот (N), а також може доповнюватися сіркою (S), фосфором (P) і галогенами, такими як хлор (Cl), бром (Br) і фтор (F). Хімічна структура цих сполук часто містить функціональні групи, зокрема гідроксильні, карбоксильні, карбонільні та аміногрупи, які забезпечують можливість утворення різноманітних точок молекулярної взаємодії (Zhong & Xiao 2009).

Фенольні сполуки є важливою групою біологічно активних сполук, до складу яких входить одне або кілька ароматичних кілець (C₆), до яких приєднані одна або кілька гідроксильних груп (OH). Фенольні сполуки утворюють широкий спектр хімічних підкласів, включаючи хінони, флавоноїди, фенольні кислоти (наприклад, гідроксибензойну та саліцилову кислоти), стильбени, токофероли, лігнани, дубильні речовини, куркуміноїди, кумарини та окислені поліфеноли (Gargano et al., 2017; Martinez-Burgos et al., 2024). Їх хімічна структура є різноманітною, що визначає широкий спектр біологічних властивостей. Найбільш відомими є антиоксидантні властивості фенолів, які зумовлені їх здатністю нейтралізувати вільні радикали. Водночас, за певних умов, таких як зміна окислювально-відновного потенціалу або рН середовища, феноли можуть проявляти прооксидантну активність, сприяючи утворенню активних форм кисню (АФК), які відіграють важливу роль у захисних реакціях організму. Додатково фенольні сполуки демонструють антимуtagenні, антиканцерогенні та протизапальні ефекти (Kozarski et al., 2015a; Islam et al., 2016). Перспективними продуцентами є *Coprinus comatus*, *Coprinellus truncorum*, *Morchella* spp. (Pilafidis et al., 2022).

Терпени і терпеноїди також становлять одну з ключових груп біологічно активних сполук, характерних для грибів, зокрема представників базидієвих видів (Alberti et al., 2020). Терпени, залежно від кількості ізопренових одиниць, поділяють на моно-, сескві-, ди-, тритерпени, тощо (Duru & Cayan, 2015). Тритерпени структурно близькі до стероїдів, основою яких є каркас з 17 атомів вуглецю, об'єднаних у кільця з різноманітними функціональними замісниками. Стероїди, що містять гідроксильну групу при атомі С3, відомі як стероли. Одним із найважливіших стеролів у грибів є ергостерол, який виконує важливу функцію підтримки плинності клітинної мембрани та здатен під впливом ультрафіолетового випромінювання перетворюватися на вітамін Д2 (Gargano et al., 2017). Різні терпени та стероїди, такі як перекис ергостерину, бетулінова кислота і ганодерова кислота, демонструють широкий спектр біологічної активності, зокрема цитотоксичну, імуномодулюючу, протівірусну, антибактеріальну, антипроліферативну, антиметастатичну та антиангіогенну (Gargano et al., 2017; Martinez-Burgos et al., 2024). Найкраще вивчені терпеноїдні сполуки *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum*, *Cyathus helenae*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *H. ramosum* (Tang et al., 2007).

Взаємозв'язок між структурою біологічно активних сполук і їх функціональною активністю є складним і багатоаспектним феноменом, який досі залишається предметом інтенсивних дискусій та наукових досліджень. Попри існування відомостей як специфічні структурні елементи молекул можуть впливати на їх біологічну активність, точні механізми і принципи цієї взаємодії залишаються недостатньо з'ясованими та аргументованими. Зокрема, існують значні труднощі у визначенні того, як зміни в молекулярній структурі, такі як наявність або відсутність певних функціональних груп, лінійність або розгалуженість ланцюгів, можуть конкретно вплинути на специфічні біологічні ефекти. Більше того, складність ще зростає через різноманіття біологічних систем, в яких ці сполуки діють, оскільки одні й ті самі молекули можуть проявляти різну активність в залежності від умов навколишнього середовища, концентрації, типу клітин або організмів. Це підкреслює складність, але

водночас і важливість дослідження взаємозв'язку між структурою та активністю, особливо в контексті розробки нових фармацевтичних і біотехнологічних засобів.

1.2.2. Біологічна активність міцелію та культуральної рідини

Наявні огляди переважно останніх років присвячені біологічній активності макроміцетів (Chaturvedi et al., 2018; Podkowa et al., 2021; Venturella et al., 2021; Bhambri et al., 2022; Meade et al., 2022; Łysakowska et al., 2023), базидіомицетів (Sivanandhan et al., 2017; Clericuzio et al., 2024), та включають аналіз терапевтичних властивостей і біологічно активних метаболітів міцелію, і культуральної рідини, а також плодових тіл. Більшість оглядових робіт, повністю присвячених вивченню біологічної активності міцелію макроміцетів та/або метаболітів їх культуральної рідини за умов глибинного культивування, з'явилися переважно після 2020 року (Zhong & Tang, 2004; Elisashvili, 2012; Bakratas et al., 2021; Campestrini & Salles-Campos, 2021; Pilafidis et al., 2022), що підкреслює актуальність цієї тематики для сучасних досліджень. Міцелій і культуральна рідина макроміцетів демонструють значний біологічний потенціал, зокрема антибактеріальну, антимікотичну, антиоксидантну, протівірусну, цитотоксичну, протипухлинну, протизапальну імуностимулюючу, гепатопротекторну, протидіабетичну, антитромботичну, антиалергічну, антидепресивну, антигіперліпідемічну, гіпотензивну, нейропротекторну та інші активності (Pilafidis et al., 2022). З огляду на широкий спектр біологічних активностей макроміцетів, у цьому розділі основна увага приділяється ключовим активностям і найпоказовішим результатам окремих досліджень. Ці результати найбільш чітко демонструють потенціал макроміцетів та мають пріоритетне значення для подальших досліджень у межах нашої роботи.

Серед численних властивостей макроміцетів особливий інтерес становить антибактеріальна активність. Макроміцети продукують антимікробні метаболіти як адаптивний механізм для забезпечення виживання в умовах природного

середовища. Ці біологічно активні сполуки виконують захисну функцію, перешкоджаючи росту та розвитку конкурентних грибів і патогенів, що дозволяє макроміцетам ефективно освоювати екологічні ніші. Дослідження антибіотичної активності макроміцетів здебільшого спрямовані на вивчення активності їх міцелію та культуральної рідини проти стандартних тест-бактерій, які представляють родини *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae* та *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* і *Escherichia coli*), а також клінічно значущих бактеріальних штамів. Натомість хімічна характеристика бактеріальних метаболітів залишається менш вивченою. Антибактеріальну активність часто досліджують методом дифузії в агар або метод серійних розведень, який дозволяє встановити мінімально інгібуючу концентрацію (МІК) і мінімально бактерицидну концентрацію (МБЦК) екстрактів грибів до патогенних тест-бактерій. Ефективність антибіотичної дії грибів чи ізольованих з них речовин оцінюють у порівнянні з комерційними антибіотиками у концентрації від 10 мкг до 50 мкг, зокрема з ампіциліном, тетрацикліном, гентаміцином, канаміцином, стрептоміцином, хлорамфініколом, метіциліном, ванкоміцином тощо.

Першу антимікотичну та антибактеріальну речовину з помірною активністю, названу «Спарасол», було виділено у 1923 році з культуральної рідини *Sparassis crispa*. У 1924 році цю сполуку ідентифікували як метил-2-гідрокси-4-метокси-6-метилбензоат (Woodward et al., 1993). Перші та найбільш масштабні, на сьогодні, дослідження потенціалу базидіоміцетів як джерела антибіотиків були проведені у 1941 році. У ході цих досліджень було вивчено екстракти плодових тіл та міцелію понад 2000 базидієвих видів (Florey et al., 1949).

Плевромутилін (дитерпен), природний антибіотик, був вперше відкритий у 1950-х роках із культуральної рідини їстівного гриба *Pleurotus passeckerianus* (сучасна назва *Clitopilus passeckerianus*). Пізніше, були відкриті інші його похідні: тіамулін та валнемулін. У 1979 р. тіамулін був першим схваленим антибіотиком для використання у ветеринарії, а потім у 1999 році валнемулін і

тіамулін були використані, головним чином, для пероральної профілактики та лікування дизентерії свиней (*Brachyspira hyodysenteriae*). У 2007 році ретапамулін (основний компонент – плевромутілін) став першим напівсинтетичним антибіотиком із групи псевдомутілінів, який отримав схвалення від Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США (Food and Drug Administration (FDA), USA) та Європейського агентства з лікарських засобів (European Medicines Agency). Його рекомендують для лікування імпетиго, а також невеликих інфікованих ран, таких як порізи чи хірургічні шви. Це перший антибіотик нового класу, який за понад 30 років дозволили для лікування місцевих інфекцій (Bailey et al., 2016).

Зазначимо, що часто досліджують антимікробну активність, яка включає антибактеріальну та антимікотичну. Suay et al. (2000) дослідили антимікробну активність 317 ізолятів, що представляють 204 видів грибів, зібраних в Іспанії. Тест мікроорганізми *Aspergillus fumigatus* MB5668, *Enterococcus faecium* MB5571, *Mycobacterium smegmatis* MB2233, *Pseudomonas aeruginosa* MB979, та *Staphylococcus aureus* MB5393, за виключенням *Bacillus subtilis* MB964, *Candida albicans* MY1055, *Serratia marcescens* MB252, і *Saccharomyces cerevisiae* W303, були резистентними до антибіотиків. Екстракти 45 % ізолятів (109 видів) виявили антимікробну активність, причому антибактеріальна дія була більше вираженою за протимікробна. Активність базидієвих видів була подібною або вищою, ніж у представників порядків Pezizales і Xylariales, але нижчою, ніж у Diaporthales, Eurotiales, Hypocreales, Leotiales і Sordariales. Надродові таксони не демонстрували значних відмінностей, однак на рівні роду спостерігалася варіабельність. Виявлені видові генетичні відмінності пояснюють варіації у здатності продукувати антимікробні метаболіти.

Rosa et al. (2003) проаналізували етилацетатні екстракти 103 ізолятів базидієвих грибів, що були представлені 84 видами з різних бразильських екосистем, на предмет їх антимікотичної та антибактеріальної активності щодо патогенних і непатогенних мікроорганізмів (*Candida albicans* ATCC 18804, *C. glabrata* ATCC 2001, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 2159, *C. tropicalis*

ATCC 750, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *B. subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *S. epidermidis* ATCC 12118, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *Streptococcus pyogenes* ATCC 8668 і *S. pneumoniae* ATCC 6314). Лише 15 екстрактів (14 %) продемонстрували значну активність проти одного або більше тест-мікроорганізмів. Найактивнішим встановлено екстракт *Irpex lacteus*, який пригнічував ріст *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium* та *S. aureus*.

Yamaç & Bilgili (2006) дослідили антимікробну активність внутрішньоклітинних та/або позаклітинних екстрактів метаболітів 21 виду макроміцетів (*Amanita caesarae*, *Armillaria mellea*, *Chroogomphus rutilus*, *Clavariadelphus truncatus*, *Clitocybe geotropa*, *Ganoderma* sp., *Ganoderma carnosum*, *Hydnum repandum*, *Hygrophorus agathosmus*, *Lenzites betulina*, *Lepista nuda*, *Leucoagaricus pudicus*, *Paxillus involutus*, *Polyporus arcularius*, *Rhizopogon roseolus*, *Sarcodon imbricatus*, *Suillus collitinus*, *Trametes versicolor*, *Tricholoma auratum* та *T. fracticum*) проти *Escherichia coli* ATCC25922, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B-3567, *Salmonella typhimurium* NRRL-B-4440, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* NRRL-B-4377, *B. subtilis* NRRL-B-558, *C. albicans* ATCC 10259 та *Saccharomyces cerevisiae* NRRL-Y-2034. Хлороформний екстракт *H. agathosmus* і дихлорметановий екстракт *S. collitinus* показали найвищу антимікробну активність як проти дріжджів, так і проти бактерій. Значення МІК для екстракту *H. agathosmus* варіювалися від 7,81 до 250 мг/мл, а для *S. collitinus* – від 31,25 до 250 мг/мл. Важливо, що активні речовини, відповідальні за антимікробну дію, виявилися термостабільними.

У дослідженнях Imtiaj & Lee (2007) нативні культуральні рідини 20-денних грибів *Sterium ostrea*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *P. coccineus*, *Oudemansiella mucida* та *Cordyceps sobolifera* пригнічували ріст *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* (від 1,00 до 13,33 мм) та *Botrytis cinerea*,

Colletotrichum gloeosporioides і *C. miyabeanus* (інгібування росту становило від 12,07 до 75,69 %).

Demir & Yamaç (2008) встановили, що активність екзополісахаридів *Ganoderma carnosum* була вищою за позитивний контроль (ванкоміцин або флуконазол) щодо *Micrococcus luteus* (NRRL В-1018), *Enterococcus faecium* (NRRL В-2354), і *Candida albicans* (NRRL Y-12983). Водночас, активність екзополісахаридів *Cerrena unicolor* та *Polyporus arcularius* проти *E. faecium*, *S. aureus* (ATCC 25923) та *M. luteus* була однаковою з позитивним контролем.

Результати певних досліджень антибактеріальної активності макроміцетів узагальнено у огляді Зайченко та ін. (2017). Зокрема, екзополісахариди *Pleurotus pulmonarius* проявляли низьку активність щодо *Escherichia coli* та *Shigella* sp. (діаметр зон інгібування 7–10 мм), тоді як більш інтенсивна дія спостерігалася щодо *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus typhimurium*, *S. aureus* та *Klebsiella pneumoniae* (20–30 мм). Культуральна рідина *Lentinus boryana* пригнічувала ріст *B. cereus* і *S. aureus* у межах 10–20 мм. Подібну активність продемонстрував *Lentinula edodes* проти *Bacillus cereus* і *Streptococcus mutans* (10–20 мм), а також майже повністю інгібував ріст *S. aureus* (20–30 мм). Секвітерпеноїди, виділені з міцелію *Ganoderma praelongum*, пригнічували ріст *S. aureus* із зонами інгібування 7–15 мм. Культуральна рідина *I. obliquus* досліджувалася як у концентрованому вигляді, так і в розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000. Максимальний діаметр інгібування росту *Mycobacterium smegmatis* становив 26 мм, однак конкретне розведення не вказано.

Необхідно враховувати штамоспецифічні особливості видів у прояві антибактеріальної активності, оскільки здатність до продукції антибактеріальних сполук може значно варіювати залежно від конкретного штаму. Серед 13 штамів *Ganoderma lucidum* та 27 штамів *G. applanatum* антибактеріальну активність виявлено у 6 штамів *G. applanatum* та 8 штамів *G. lucidum*. Зокрема, лише штами *G. applanatum* 1552, *G. lucidum* 1908 (на 14-ту добу культивування) та *G. lucidum* 1905 (на 21-шу добу культивування) продемонстрували активність проти всіх тест-культур, утворюючи зони

інгібування діаметром 9–16 мм. У іншому дослідженні 9 штамів *Laetiporus sulphureus* майже повністю пригнічували ріст *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (зони затримки росту понад 20 мм), що є особливо важливим у контексті резистентності зазначених мікроорганізмів до багатьох існуючих антибіотиків. Активність щодо *Escherichia coli* ATCC 25922 встановлено у штамів 308, 1518, 1772 та 1774 із зонами інгібування 12–17 мм. Інгібування росту *Staphylococcus aureus* виявлено для штамів 307, 1773, 1774 та 1775, із зонами інгібування 14–25 мм. Проти *Bacillus subtilis* ATCC 6633 антибактеріальної активності не виявлено (Зайченко та ін., 2017). Антибактеріальна активність демонструвала штамоспецифічну залежність як для міцелію, так і для культуральних рідин різних штамів *Hericium abietis*, *H. cirrhatum*, *H. coralloides* та *H. erinaceus* (Lomberg et al., 2023), що підкреслює необхідність цілеспрямованого дослідження кожної культури для виявлення штамів з найвищим потенціалом. Залежно від методики дослідження, виду, штаму та стадії розвитку грибів *Hericium* зона інгібування досліджених бактерій коливалася від 5,3 мм до 20,0 мм.

Хлороформний та етанольні екстракти міцелію *Fomitopsis pinicola* і *Lactarius vellereus* пригнічували ріст *Fusarium inflexum* і *F. heterosporium* на рівні 22–35 мм (Guler et al., 2009). Глюкансульфат (GS), отриманий з міцелію гриба *Ganoderma lucidum* BCCM 31549, продемонстрував ефективну антимікотичну активність проти *Aspergillus niger* штаму A60. МІК препарату склала 60 мг/мл, а мінімальна мікотична концентрація – 100 мг/мл. У присутності сублетальної дози (60 мг/мл) та субінгібуючої дози (30 мг/мл) було досягнуто успішної демеланізації міцелію *A. niger* A60. Зокрема, спостерігалось руйнування конідиєнової голівки та зменшення інтенсивності чорного пігменту (Wan-Mohtar et al., 2017). Антимікотична активність екстрактів міцелію 6 штамів *Ophiocordyceps sobolifera* була вищою (зона інгібування 14,66–20,33 мм), ніж виділених з них неочищених білків (3–9 мм). Проте МІК неочищених протеїнів була однаковою (> 0,5 мг/л) для всіх штамів. Штам Cod-KK1643

продемонстрував найвищу активність із найнижчим значенням МІК на рівні 0,78 мг/л (Sangdee et al., 2018).

Гарячі водні екстракти біомаси видів *Pleurotus* (*P. florida*, *P. citrinopileatus*, *P. sajor-caju*, *P. ostreatus* та *P. eryngii*) у концентраціях 2 мг/диск, 4 мг/диск та 6 мг/диск продемонстрували здатність до пригнічення росту бактерій у діапазоні від 6,2 мм до 18,0 мм (Özdal et al., 2019). Дослідження охоплювало грампозитивні бактерії, патогени рослин та людини, такі як *Bacillus cereus* BC-On та *Arthrobacter agilis* A17, а також грамнегативні бактерії, зокрема *P. aeruginosa* OG1, *Xanthomonas campestris* MO03, *Klebsiella oxycota* (клінічний ізолят) та *Helicobacter pylori* (ATCC 43629). Серед усіх досліджених бактерій найбільшу чутливість до екстрактів виявила *X. campestris*. Екстракти *P. ostreatus* та *P. florida* показали високу ефективність проти *A. agilis* та *H. pylori*. Екстракт *P. eryngii* виявив значну антибактеріальну активність стосовно *K. oxycota* та *X. campestris*.

Антагоністична активність макроміцетів досліджувалася методом подвійних культур. Зокрема, метаболіти *Hypsizygus marmoreus* (TUFC 11906) пригнічували ріст колоній *Alternaria alternata*, *A. brassicicola* та *Colletotrichum orbiculare* на 7,8–65,7 % і знижували утворення їх конідіального спороношення на 49,9–99,1 %. Екстракт міцелію *H. marmoreus* інгібував ріст *A. brassicicola* (60,3 %), *Botrytis cinerea* (4,6 %) та *Colletotrichum orbiculare* (17,5 %), а також значно знижував спороношення патогенів у діапазоні від 21,1 % до 100 %. Основною легкою сполукою з культуральної рідини (CF), яка проявляє антимікотичну активність, було ідентифіковано як 2-метилпропанову кислоту, 2,2-диметил-1-(2-гідрокси-1-метилетил) пропіловий ефір (Oka et al., 2015).

Встановлені рівні пригнічення росту *Trichoderma harzianum*, *Verticillium* sp., *Pythium* sp. у діапазоні від 1,34 до 55 % при їх спільному культивуванні з *Pleurotus salmoneostramineus*, *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*, *P. salmoneostramineus* і *P. ostreatus* (Owaid et al., 2016).

Міцеліальні екстракти *Lentinus citrinus* та *Neolentinus lepideus* продемонстрували потенційну антибактеріальну та антимікотичну активність проти *Candida albicans* DPUA 1336, *Cryptococcus laurentii* DPUA 1501, *Aspergillus*

flavus DPUA 1836, *E. coli* DAUPE 224 і *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607 (Alarcón Castillo et al., 2017).

Досліджено антимікотичний потенціал 23 видів грибів класу Agaricomycetes, що належать до 14 родів: *Armillaria*, *Coprinus*, *Daedalea*, *Daedaleopsis*, *Fomitopsis*, *Flammulina*, *Fomes*, *Ganoderma*, *Hericium*, *Lenzites*, *Lentinus*, *Schizophyllum*, *Stereum* та *Trametes*. Серед них *Schizophyllum commune* продемонстрував найвищий рівень пригнічення росту патогенних грибів: *A. niger* (35,7 %), *Botrytis cinerea* (6,5 %), *Fusarium oxysporum* (50,4 %) та *Guignardia bidwellii* (66,0 %) (Berikashvili et al., 2023).

Антагоністична активність культур при їх спільному вирощуванні може бути також оцінена на основі реакцій взаємодії з використанням розрахунків антагоністичного індексу (AI), який дозволяє кількісно характеризувати рівень антагоністичної взаємодії між культурами (Badalyan et al., 2002, 2004; Atamanchuk et al., 2024). AI десяти штамів *Xylaria polymorpha* щодо *Aspergillus niger* VURV-F 822, *Candida albicans* N-023, *Fusarium solani* 1P.2II.3, *Mucor plumbeus* N-018, *Penicillium polonicum* VURV-F 823, та *Trichoderma viride* N-022 варіював у межах від 14 до 20, і для десяти штамів *Xylaria longipes* значення AI коливалося в діапазоні 9,5–16,5 (Atamanchuk et al., 2024).

Антиоксидантна активність макроміцетів також тісно пов'язана з іншими біологічними активностями, такими як протипухлинна, противірусна та імуностимулююча. Завдяки здатності нейтралізувати окислювальний стрес, вона підтримує клітинний гомеостаз, що сприяє зниженню запалень, посиленню імунної відповіді та захисту клітин від ушкоджень, які можуть провокувати розвиток пухлин чи вірусних інфекцій. Kalyoncu et al. (2010) оцінили антиоксидантний потенціал міцелію 21 виду макроміцетів (*Omphalotus olearius*, *Gloeophyllum trabeum*, *Inocybe flocculosa* var. *crocifolia*, *Gymnopus dryophilus*, *Infundibulicybe geotropa*, *Lycoperdon excipuliforme*, *Postia stiptica*, *Macrolepiota excoriata*, *Pleurotus djamor*, *Inocybe catalaunica*, *Rhizopogon roseolus*, *Fomes fomentarius*, *Chroogomphus rutilus*, *Morchella esculenta* var. *rigida*, *Auricularia auricula-judae*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Stropharia inuncta*) за

здатністю знешкоджувати вільні радикали (DPPH· і ABTS+). Хлороформні екстракти міцелію цих видів інгібували активність радикалів у діапазоні 3,92–47,11 %, етанольні – від 2,32 до 88,01 %, і водні – у діапазоні від 2,42 до 81,71. Найкращий антиоксидантний потенціал встановлено для хлороформного та етанольного екстрактів міцелію *O. olearius*, водні екстракти були ефективнішими у міцелії *P. djamor* і *M. esculenta* var. *rigida*.

Слід відзначити ряд робіт, у яких показано знешкодження вільних радикалів (DPPH) міцелієм та культуральною рідиною макроміцетів. Так, антиоксидантна здатність етилацетатних екстрактів міцелію і культуральної рідини *Schizophyllum commune*, *Lentinus polychrous*, *L. squarrosulus*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum* і варіювала від 8,43 до 78,93 %, але найвищу здатність нейтралізувати вільні радикали встановлено для *S. commune* (Jiamworanunkul, 2019). Антиоксидантна активність штамів семи видів роду *Pholiota*: *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea* варіювала від 7,37 до 86,60 % та виявлено значно вищу ефективність антиоксидантної дії метанольних екстрактів біомаси *P. nameko* і *P. alnicola*, ніж екстрактів культуральної рідини *P. limonella* і *P. subochracea* (Регеда та ін., 2021). Антиоксидантна активність етилацетатних екстрактів міцелію *Xylaria polymorpha* і *X. longipes* та їх культуральних рідин досліджувалися на різних фазах росту глибинного культивування (Atamanchuk & Bisko 2023). Встановлено, що міцелій цих видів *Xylaria* демонструє більш ефективну здатність до знешкодження вільних радикалів у порівнянні з їх культуральною рідиною. Максимальне значення активності ($87,82 \pm 0,19$ %) було отримано для *X. longipes* ІВК 2718 на сьому добу культивування, а близьке значення ($87,37 \pm 0,75$ %) виявлено для *X. polymorpha* ІВК 2720 на третю добу культивування.

Грунтовне дослідження проведено науковцями щодо антиоксидантного потенціалу 130 ізолятів макроміцетів з Туреччини (Börühan et al., 2021). Значення пригнічення вільних радикалів міцелієм і культуральними рідинами варіювали у діапазоні від 50,35 до 100 %. *Hypomyces chrysospermus* було визначено як найкращий ізолят, оскільки він продемонстрував високі показники у всіх методах

аналізу, за винятком перекисного окислення ліпідів, яке виявилось помірним. Екстракт міцеліальної біомаси *Omphalotus olearius* продемонстрував вражаючі результати в активності поглинання ABTS-радикалів та інгібуванні перекисного окислення ліпідів.

Слід відзначити, що автори пов'язують антиоксидантну активність макроміцетів із вмістом фенольних сполук у їхньому складі (Kalyoncu et al., 2010; Börühan et al., 2021; Atamanchuk & Bisko 2023).

Протипухлинна активність макроміцетів є однією з найважливіших, оскільки вона відкриває перспективи створення ефективних протиракових препаратів завдяки здатності їх метаболітів індукувати апоптоз, пригнічувати ангиогенез і запобігати метастазуванню (Dudekula et al., 2020). Протипухлинна активність макроміцетів тісно пов'язана з іншими біологічними властивостями, такими як антиоксидантна, протизапальна, антимікробна та імуномодулююча активність.

Встановлено, що одночасне застосування ЛЕМ (міцеліальний екстракт *Lentinula edodes*), з хіміотерапією може знизити частоту побічних ефектів від хіміотерапії раку серед пацієнтів з пізніми стадіями кишково-шлункового раку (Okuno & Uno, 2011).

Гетероглюкан, ізольований із міцелію *Pleurotus ostreatus* демонстрував посилену активацію імунних клітин та протипухлинний потенціал на моделі мишей-пухлиноносіїв (Devi et al., 2013). Три фракції полісахаридів (РОМР1, РОМР2 і РОМР3) виділені з міцелію *P. ostreatus*, були досліджені на предмет протипухлинної активності проти раку шлунку як *in vitro*, так і *in vivo* (Cao et al., 2015). Результати МТТ-тесту вказують на виражений інгібуючий ефект РОМР2 на клітинну лінію раку шлунку людини BGC-823: при концентрації 400 мг/л протягом 72 годин рівень інгібування становив 35,6 %. Крім того, РОМР2 значно зменшував колонієутворюючу здатність клітин BGC-823, а аналіз міграції продемонстрував суттєве пригнічення їх інвазійної активності. Дослідження *in vivo* на мишах, перещеплених клітинами BGC-823, показало, що після двох тижнів лікування РОМР2 маса та об'єм пухлин значно зменшилися.

Досліджено також вплив на життєздатність клітин аденокарциноми підшлункової залози людини 31 різних екстрактів 12 видів лікарських грибів, зокрема *Agaricus nevoi*, *Coprinus comatus*, *Cyathus striatus*, *Daedalea quercina*, *Ganoderma adpersum*, *G. lucidum*, *Ganoderma* sp, *G. tsugae*, *Inonotus obliquus*, *Leucoagaricus leucothites*, *Phellinus robustus*, *Schizophyllum comune* (Sharvit et al., 2012). Серед 31 дослідженого екстракту із різними лікувальними дозами (50–500 мкг/мл), що вводилися протягом 72 годин, екстракт культуральної рідини *Cyathus striatus* продемонстрував найбільш помітне зниження життєздатності клітин.

Встановлено протипухлинну активність полісахаридів (FvP, FvP-2), отриманих з міцелію *Flammulina velutipes*, проти гепатоцелюлярної карциноми людини (клітини BEL-7402). За результатами дослідження, неочищені полісахариди інгібували ріст клітин BEL-7402 на 45 % при концентрації 640 мкг/мл (Zhao et al., 2013).

Досліджено вплив полісахаридів (PLIO), виділених з культуральної рідини *Inonotus obliquus*, на метастатичний потенціал клітин людини (Lee et al., 2016). PLIO значно знижував інвазивність клітин раку A549, що супроводжувалося зменшенням експресії матриксної металопротеїнази (ММР). Лікування PLIO також призводило до інгібування ядерної транслокації NF-κB у клітинах A549. Крім того, PLIO пригнічував фосфорилування JNK/АКТ у цих клітинах. Ці результати свідчать, що PLIO може знижувати інвазію клітин недрібноклітинного раку легені людини (NSCLC) через блокування сигнальних шляхів АКТ/NF-κB.

Полісахариди CMPS-II, і CBPS-II, виділені із міцелію *Cordyceps militaris* СІСС 14015 інгібували клітини раку легень H1299 на 54,55 % і 34,80 %, відповідно (Liu et al., 2019). Показано, що і CMPS-II, і CBPS-II можуть підвищувати рівень експресії білка та мРНК факторів клітинного апоптозу Caspase-3, Caspase-9 та p53, одночасно знижуючи рівні експресії білка та мРНК ядерного антигену проліферуючих клітин (PCNA), щоб індукувати апоптоз пухлинних клітин.

Обробка ракових клітин протягом 48 годин тритерпеноїдними сполуками, виділеними з міцелію *Morchella* sp., значно інгібувала їх ріст. Значення IC₅₀ для кожної з клітинних ліній становили 7,20 мг/мл для HT-29, 14,96 мг/мл для HepG-2, 4,41 мг/мл для PC-3 та 13,43 мг/мл для HeLa (Wang et al., 2020).

Гетерополісахариди SEPS і SIPS, виділені із міцелію *Schizophyllum radiatum* пригнічували ріст клітин різних пухлин після їх обробки протягом 72 годин (López-Legarda et al., 2021). У клітинах раку молочної залози (MDA-MB-231, негативний естрогеновий рецептор ER-) екстракти SIPS та SEPS у концентрації 200 мкг/мл продемонстрували значне пригнічення проліферації клітин, що перевищувало 50 %. Екстракт SEPS виявив найвиразніше пригнічення росту. У клітинах лімфоми миші (EL-4) не було зафіксовано значного інгібуючого ефекту при жодній з використаних концентрацій (25–300 мкг/мл) полісахаридів *S. radiatum*. У клітинній лінії мієлоїдної лейкемії людини (U937) екстракти SIPS при концентраціях 200 і 300 мкг/мл показали значне (> 40 %) інгібування проліферації клітин.

Неочищеними екстрактами і фракціями цитокінінів з міцелію *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Morchella esculenta*, *Hericium coralloides* і *Fomitopsis officinalis* обробляли клітини раку товстої кишки *in vitro* (Garmanchuk et al., 2022). Найнижчі значення IC₅₀ щодо клітин Colo 205 спостерігалися для фракції цитокініну (0,21 мкг/мл) та неочищеного екстракту (0,17 мкг/мл) з міцеліальної біомаси *H. coralloides*. *F. officinalis* також показав високу антипроліферативну активність: IC₅₀ для неочищеного екстракту становила 0,9 мкг/мл, а для фракції цитокініну – майже вдвічі менше. У діапазоні концентрацій 0,016–2 мкг/мл неочищені екстракти *G. lucidum* і *M. esculenta* та цитокінінова фракція *L. edodes* не досягли IC₅₀.

Особливої уваги заслуговує полісахаридопептид (PSP, який на 90 % складається з полісахаридів і на 10% з пептидів), отриманий з міцелію *T. versicolor* Cov-1. PSP пройшов II та III фази клінічних досліджень у Китаї, де спостерігався значний їх вплив на виживання у пацієнтах з раком стравоходу (Córdoba et al., 2012). У країнах Азії, особливо в Китаї, PSP використовують як

допоміжний засіб у клінічному лікуванні раку, зокрема для стимуляції імунологічного стану пацієнтів, які проходять хіміо- та/або радіотерапію. Протипухлинна активність PSP доповнюється знеболювальною, протівірусною та антибактеріальною діями (Mili & Rami, 2022). Встановлено позитивний ефект PSP на виживання онкохворих пацієнтів. За даними бази ClinicalTrials.gov, завершено одне клінічне дослідження, яке оцінювало потенційну користь *T. versicolor* у лікуванні гепатоцелюлярної карциноми. Наразі триває набір учасників для фази III дослідження вагінального гелю на основі *T. versicolor* (PAPILOCARE). Крім того, у США (Університеті Міннесоти) проводиться випробування екстракту *T. versicolor* у пацієток з раком молочної залози I, II або III стадії, які завершили курс променевої терапії (Habtemariam, 2020).

Слід відзначити також Шизофілан (SPG) - протипухлинний полісахарид виділений із культуральної рідини базидієвого гриба *Schizophyllum commune*. Вперше на клітинах саркоми 180 було виявлено, що водний розчин цієї сполуки виявляє протипухлинну активність. Встановлено, що шизофілан активує NK-клітини, клітини селезінки, лімфоїдні клітини та клітини кісткового мозку, а також збільшує продукування протипухлинних цитокінів. Ефективність SPG встановлено на пацієнтах з раком легень, голови та шиї, шийки матки, шлунку або товстої кишки (Okamura et al., 1986). Доведена його ефективність на пацієнтах з раком шийки матки II та III стадії, також SPG є ефективною ад'ювантною імунотерапією у поєднанні з променевою терапією (Zhang et al., 2013). Нещодавно доведено ефект генного глушіння шляхом утворення комплексу шизофілан-мРНК, що призводить до пригнічення росту клітин аденокарциноми легень людини (Ansari et al., 2025). Також для нього встановлені антибактеріальні, протипаразитарні, гепатопротекторні, протизапальні та імуностимулювальні властивості (Martinez-Burgos et al., 2024).

Макроміцети пригнічують і розвиток вірусних інфекцій різної етіології. Протівірусна активність макроміцетів привертає увагу завдяки унікальній здатності їх метаболітів чинити специфічну дію на різні етапи вірусного циклу: безпосередньо інгібують вірусні ферменти, перешкоджають синтезу вірусних

нуклеїнових кислот, а також блокують адсорбцію вірусів на поверхні клітин. Ці прямі антивірусні ефекти проявляють особливо низькомолекулярні сполуки. Непрямі антивірусні ефекти є результатом імуностимулюючої активності полісахаридів або інших складних молекул (Brandt & Piraino, 2000).

Полісахаропептид (PSP), отриманий із міцелію *Trametes versicolor* проявив інгібування інтерфейсу між ВІЛ-1 gp120 та іммобілізованим рецептором CD4 (Ng, 1998). Протівірусна активність проти ВІЛ, зокрема шляхом інгібування зворотної транскриптази ВІЛ-1, а також проти вірусу гепатиту В і гепатиту С була виявлена в дослідженнях *in vitro* для LEM, отриманого із міцелію *Lentinula edodes* (Zhang et al., 2022).

Встановлено антивірусну активність макроміцетів щодо різних типів вірусів грипу. Зокрема, екстракт міцелію *Kuehneromyces mutabilis* демонстрував активність проти вірусів грипу типів А і В (Mentel et al., 1994). Фенольні сполуки, такі як гісполон і гіспідин, екстраговані з міцелію *Inonotus hispidus*, проявили активність проти вірусів А/Brazil/11/78 (H1N1), А/Hongkong/1/68 (H3N2) і В/Singapore/222/79 (Ali, 2003). Крім того, глюкан (АНСС, active hexose correlated compound), виділений із міцелію *L. edodes*, показав ефективність проти вірусу грипу типу А (H1N1, PR8) (Lindequist, 2024). Досліджена можливість створення вакцини проти вірусу H5N1 з використанням міцелію 12 видів грибів, серед яких позитивні результати встановлені для *Macrolepiota graciata*, *Grifola frondosa*, *Lentinus edodes* і, особливо, *Phellinus linteus* (Ichinohe et al., 2010). Встановлено, що імунізація за допомогою комбінації вакцини і екстракту міцелію *P. linteus* викликала відносно слабку Т-клітинну відповідь, і, одночасно, ад'ювантна активність екстрактів міцелію може бути досягнута шляхом активації дендритних клітин. Препарат LEM, отриманий із міцелію *L. edodes*, демонструє здатність інгібувати вірус грипу, запобігаючи його проникненню в клітини хазяїна. Додатково він сприяє активації імунної відповіді через сигнальний шлях інтерферонів I типу (IFN-I) (Kuroki et al., 2018).

Виявлена також антигерпетична активність. Екстракт з міцелію *Lentinula edodes* (JLS-S001) блокував реплікацію вірусу простого типу (ВПГ-1) на пізніх

стадіях реплікаційного циклу, ймовірно збірку та/або бутонізацію нуклеокапсул і подальший вихід з оброблених клітин (Sarkar et al., 1993). Liu et al. (2004) припускають, що механізм дії протеоглюкану (GLPG), виділеного з міцелію *G. lucidum* полягав у пригніченні реплікації ВПГ, втручаючись на ранніх стадіях адсорбції вірусу та його проникнення в клітини-мішені. Дослідження показали, що культуральна рідина *Coriolus versicolor* (*Trametes versicolor*) 353 виявляє певну тенденцію до дії проти ДНК-геномного вірусу ВПГ-1 (штам УС) і РНК-геномного вірусу ВВС (штам Індіана) при її застосуванні на клітинних моношарах у лікувальному режимі (1 Іг ТЦД50). Однак на моделі вірусної інфекції на клітинному рівні вона не демонструвала значущої противірусної активності. Це підтверджується низькими значеннями хіміотерапевтичного індексу (ХТІ) $\leq 2,82$ (Антоненко, 2013).

Екстракти з міцелію *Fomes officinalis* пригнічували активність різних форм віспи: штам *F. officinalis* 1 проявив ХТІ $> 14,7$ проти віспи корови, а штам *F. officinalis* 4 – проти вірусу осповакцини з показником ХТІ $> 20,4$ (Stamets, 2005). Також, екстракти міцелію *F. fomentarius*, *Ganoderma applanatum* і *G. resinaceum* знижували рівень вірусу деформованих крил медоносної бджоли (Stamets et al., 2018).

Встановлено вплив макроміцетів і на вірус рослин. Зокрема, лектин, виділений із міцелію *Agrocybe aegerita* (Sun et al., 2003), а також полісахариди з культуральної рідини *Ganoderma lucidum*, *G. applanatum* (Kovalenko et al., 2008) і *Tremella mesenterica* (Поліщук та Коваленко, 2009) виявляють антивірусну активність проти тютюнової мозаїки. На прикладі *A. aegerita* показано, що механізм антивірусної дії обумовлений перешкоджанням процесу інфікування рослинної клітини шляхом прикріплення лектину до вірусної частки (Kovalenko et al., 2008). Полісахарид глюкуронооксиломанан, виділений з міцелію *T. mesenterica* пригнічував репродукції вірусу. Також показана здатність цього полісахариду індукувати стійкість рослин *de novo* (Поліщук та Коваленко, 2009).

Зазначимо, що противірусна активність макроміцетів є менш дослідженою порівняно з антибактеріальною чи протипухлинною, проте відіграє важливу роль

у комплексному терапевтичному потенціалі цих організмів. Вона доповнює антиоксидантну та імуностимулюючу активності, сприяючи підвищенню захисних властивостей організму та боротьбі з інфекційними захворюваннями.

Ранозагоювальна активність макроміцетів тісно пов'язана з їх іншими біологічно активними властивостями, такими як антиоксидантна, антимікробна, протизапальна та імуностимулювальна активність. Ці властивості сприяють комплексному впливу на процеси регенерації тканин та боротьби з інфекційними агентами, які можуть ускладнювати загоєння ран. Ранозагоювальна активність макроміцетів включає стимуляцію імунних епітеліальних клітин, позаклітинного матриксу, цитокінів, факторів росту, активних форм кисню (АФК) та різних проміжних продуктів запалення. Відповідно, ефективність процесу загоєння ран значною мірою залежить від збалансованості прозапальних і прорегенеративних сигналів, які регулюються цитокінами. Ці механізми узагальнені на основі результатів ранозагоювальної активності плодових тіл *Agaricus spp.*, *Calvatia gigantean*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *G. praelongum*, *Hericium erinaceus*, *Lycoperdon echinatum*, *L. pusillum*, *Phallus impudicus*, *Phellinus gilvus* (Sharifi-Rad et al., 2020). Проте міцелій та культуральна досліджувалися вкрай епізодично. Відповідно до результатів, отриманих Badalyan et al. (2004), міцелій *Lentinula edodes* демонструє антипротозойні та мітогенні ефекти, що дозволяє розглядати його як перспективний компонент для створення ранозагоювальних та інших регенеративних біопрепаратів. Нанесення 10 мкл розчину імуномодулюючого білка LZ-8 (1 мг/мл), виділеного з міцелію *Ganoderma lucidum* (рейші), на рану в тканинах печінки щурів після монополярної електрохірургії, значно прискорювало загоєння та знижувало рівні ядерного фактора каппа В (NF-κB), каспази-3 та апоптозу (Lin et al., 2014).

Біомаса макроміцетів є ідеальним біосорбентом завдяки абсорпції забруднювачів у біомасу або їх прилипанні до поверхні біомаси. Використання процесу сорбції біомаси макроміцетів було встановлено на прикладі забруднювачів, які не піддаються біологічному розкладанню, таких як барвники,

важкі метали, засобів особистої гігієни, поліциклічних ароматичних вуглеводнів та речовин, що спричиняють неприємний запах (Jureczko & Przysaś, 2021).

Вивчалася сорбційна здатність органічних забруднювачів, зокрема барвників (Iqbal et al., 2007), поліциклічних ароматичних вуглеводнів (фенантрени та пірену) міцелієм *Phanerochaete chrysosporium* (Ding et al., 2013; Konan et al., 2024). Біосорбція забезпечувала швидке перенесення ароматичних вуглеводнів з розчину до біомаси гриба, тоді як біодеградація сприяла їхньому розподілу як у розчині, так і в біомасі. При цьому інтенсивність біодеградації зростала з часом інкубації, а видалення забруднювачів було ефективнішим за використання нативного міцелію *P. chrysosporium* порівняно з сухим (Ding et al., 2013). Висока сорбційна здатність важких металів встановлена для міцелію різних видів *Pleurotus*: *P. florida* (Cd, Cr, Pb, Hg), *P. ostreatus* (Cr, Pb, Cd, Cu, Cr, Fe, Ni, Zn, Hg), *P. djamour*, *P. salmoneo-stramineus*, *P. cystidiosus* (Pb) (Karahi & Sachdeva, 2017). Міцелій *Auricularia polytricha* ефективно сорбував Cd, Cu та Pb (Zhang et al., 2011). Слід відзначити сорбційну активність двох цитостатичних препаратів: блеоміцин та вінкрисдин нативним (живим) та сухим міцелієм *Fomes fomentarius* (CB13), *Hypholoma fasciculare* (CB15), *Phyllotopsis nidulans* (CB14), *Pleurotus ostreatus* (BWPН), *Trametes versicolor* (CB8). Встановлено що серед живої біомаси *T. versicolor* (CB8) мав найбільшу сорбційну здатність до блеоміцину, а *P. nidulans* (CB14) найкраще працював щодо вінкрисдину (Jureczko & Przysaś, 2021).

Більшість досліджень закінчені на стадії доклінічних випробувань і вимагають продовження коштовних і тривалих клінічних досліджень. Однак, в цілому, виявлена біологічна активність міцелію та культуральної рідини макроміцетів підтверджує їх значний потенціал як джерел різноманітних біологічно активних речовин. Взаємозв'язок між антибактеріальною, антимікотичною, антагоністичною, антиоксидантною, протівірусною, протипухлинною, ранозагоювальною та сорбційною активностями свідчить про їх можливу мультифункціональність, полівалентність та синергетичну взаємодію. Такий широкий спектр властивостей підкреслює перспективність

макроміцетів у біотехнології, фармакології та медицині. Однак, більшість досліджень наразі зосереджені на вивченні активності неочищених екстрактів, тоді як ідентифікація окремих метаболітів залишається недостатньо висвітленою. Це обмежує розуміння механізмів дії та потенційного практичного застосування виявлених сполук і свідчить про необхідність подальших досліджень. Разом з цим, рішення про раціональність виділення біологічно активних речовин із макроміцетів повинно прийматися на основі комплексного аналізу економічних, екологічних та технологічних факторів. Важливо враховувати вміст цільової сполуки, вартість процесів екстракції та очищення, вплив на навколишнє середовище, наявність альтернативних джерел та стабільність сполуки. У багатьох випадках більш раціональним може бути використання методів біотехнології, таких як культивування грибів у контрольованих умовах або використання методів генної інженерії для підвищення продуктивності цільових сполук.

Таким чином, комплексний підхід до дослідження макроміцетів, що включає аналіз синергізму та мультифункціональності їх метаболітів, є надзвичайно важливим для розкриття повного потенціалу цих організмів. Подальший розвиток таких досліджень сприятиме створенню нових ефективних засобів для боротьби з інфекційними хворобами, пухлинами, оксидативним стресом та іншими патологічними станами.

1.3. Технологічні аспекти культивування макроміцетів

Культивування макроміцетів є ключовим етапом для продукування біологічно активних сполук, що знаходять широке застосування в біотехнології, медицині, фармацевтиці, харчовій промисловості та екології. Цей процес забезпечує не лише продукування необхідних метаболітів, але й оптимізацію та контроль умов їх синтезу, що є необхідним для ефективного виробництва та стандартизації кінцевого продукту. Регулювання технологічних параметрів культивування макроміцетів є критично важливим для досягнення високої

продуктивності та біосинтетичної активності, що сприяє створенню нових біотехнологічних продуктів та інноваційних рішень.

1.3.1. Сучасні підходи до культивування макроміцетів у лабораторних та промислових умовах

Переважає більшість комерційно культивованих видів макроміцетів вирощують за допомогою широковживаного методу твердофазної ферментації (Singh & Pathak, 2018; Di Piazza et al., 2025) з метою отримання плодівих тіл грибів як харчових продуктів, так і для подальшої їх переробки і виробництва різноманітної продукції. Культивування у твердому стані – це трифазний гетерогенний процес, що відбувається в різних біореакторах і складається з твердої, рідкої та газоподібної фаз (Berovic et al., 2024). Основою твердофазної ферментації макроміцетів є різні агаризовані поживні середовища та субстрати різного рослинного походження, переважно відходи лігноцелюлози та сільсько-господарства (Barshteyn & Krupodorova, 2016; Lu et al., 2020) з певним вмістом вологи, в середньому 50-55 %, хоча можливі коливання від 30 % до майже 80%, залежно від субстрату і його утримуючої здатності. Тобто твердофазне культивування як правило не потребує або майже не потребує вільної води (López-Gómez et al., 2020). Ефективність такого типу ферментації залежить від багатьох факторів, зокрема від самого вибору субстрату (його фізико-хімічних характеристик, теплової обробки), температури і часу культивування, освітлення, складу повітря, кількості внесеного інокулята.

Проте, вагомого значення набувають методи отримання міцелію та культуральної рідини макроміцетів. Культивованій міцелій (міцеліальна біомаса) не використовується безпосередньо як їжа, але може бути використаний як інгредієнт у складі харчових продуктів чи дієтичної добавки, як ароматизатори та підсилювачі смаку. Аналогічне застосування мають екстракти міцелію чи їх культуральна рідина.

Останнім часом при культивуванні макроміцетів активно застосовується глибинне культивування як альтернатива твердофазному культивуванні для отримання міцеліальної біомаси і ефективного виробництва цінних метаболітів (Tang et al., 2007; Fazenda et al., 2008; Elisashvili, 2012; Dudekula & Devarai, 2020; Bakratsas et al., 2021; Campestrini & Salles-Campos, 2021; Berovic et al., 2024). Глибинне культивування біомаси лікарських грибів є швидким та ефективним технологічним підходом, який забезпечує комплексне вирощування у контрольованих умовах. Тривалість культивування грибної біомаси, залежно від виду та умов, становить від 10 до 28 днів, після чого вона досягає свого кінцевого стану (Berovic et al., 2024). Глибинна ферментація – це культивування організмів у рідкому поживному середовищі, де забезпечується достатній вміст поживних речовин, а співвідношення води та твердого субстрату підтримується на певному рівні (Barua et al., 2024).

Глибинне культивування можна проводити в колбах чи біореакторах в статичних і перемішуваних (з аерацією) умовах в залежності від мети експерименту (Berovic et al., 2024). Як правило, глибинне культивування в колбах спрямоване на оцінку кращих умов культивування з можливим подальшим масштабуванням процесу, зменшуючи ризик збоїв у процесі на промисловому рівні. Для отримання значної кількості біомаси культур чи їх метаболітів адаптованих до дослідницьких та промислових масштабів використовують біореактори – закриті автоматизоване або напівавтоматизоване обладнання для вирощування, в якому відбуваються процеси ферментації. Найбільш поширеним є біореактор з перемішувачем резервуаром, обладнаний системою лопатей або турбін для перемішування та аерації культурального середовища (Campestrini & Salles-Campos, 2021).

Перспективність глибинного культивування обумовлена численними біотехнологічними перевагами перед звичайним твердофазним культивуванням: повноцінна доступність живильних компонентів поживного середовища; короткий інкубаційний період; технічна доступність активних метаболітів і важливих специфічних компонентів культури; можливість контролю,

регулювання умов культивування та збільшення виходу біомаси та біологічно-активних сполук з подальшою метою масштабування і розвитку економічно життєздатних промислових процесів; гарантія належної контрольованої якісної та чистої, без домішок, продукції; генетична однорідність міцелію чи цільового продукту (Tang et al., 2007; Verovic et al., 2024).

Використання обох варіантів ферментації макроміцетів у єдиному послідовному процесу дозволяє уникнути певних їх обмежень. Такий підхід ефективно реалізований на прикладі виробництва ферментів грибів, які спочатку продукуються за умов твердофазного культивування, а потім застосовується глибинне культивування (López-Gómez & Venus, 2021).

Культивування однієї культури гриба є загальноприйнятим методом одержання міцеліальної біомаси, культуральної рідини та вторинних метаболітів. Так звана монокультура росте у створених контрольованих умовах. Однак, такі умови значно відрізняються від природнього середовища існування, перш за все через відсутність комплексу біотичних та абіотичних взаємодій. Тобто повністю нівелюється наявність конкурентного середовища існування організмів та їх виживання, які за звичай і обумовлюють появу фенотипових і генотипових ефектів (Moody, 2014).

Сучасні дослідження (Knowles et al., 2022; Lima & de Lucas, 2022; Xu et al., 2023; Todorov et al., 2024) свідчать про ефективність стратегії спільного культивування культур (макроміцетів з макроміцетами, макроміцетів з мікроводоростями/ціанобактеріями, макроміцетів з бактеріями), які можуть бути реалізовані як за умов твердофазної так і глибинної ферментації. Така стратегія культивування спрямована на створення фізіологічних умов, за яких криптичні гени можуть бути активовані для стимуляції біосинтетичних шляхів і виділення досі не експресованого різноманіття хімічних сполук екзогенного походження або завдяки авторегуляторним молекулам (Wakefield et al., 2017). У спільному культивуванні взаємодія між культурами відбувається або за допомогою летких речовин, або за допомогою сигналізації *in-loc*, що спричинює регуляцію спеціалізованих метаболітів (Pettit, 2011).

Зрозуміло, що кожний метод і стратегія культивування має як переваги, так і певні обмеження, що визначають доцільність їх застосування в конкретних умовах. В цілому, культивування макроміцетів є складним біотехнологічним процесом, який вимагає врахування низки ключових факторів. До них належать мета та вид отриманого продукту, технічна простота та реалізація виробничого процесу, необхідна кількість кваліфікованих і робочих ресурсів, а також собівартість вирощування і ефективність виходу кінцевої продукції. Досягнення оптимального балансу між зазначеними чинниками є важливим завданням у процесі організації як лабораторного так і промислового культивування. З огляду на постійно зростаючі потреби ринку грибною продукції, та завдяки вдосконаленню технологічних підходів, впровадженню метаболічної інженерії та сучасного автоматизованого обладнання, можливі нові перспективи розвитку багатовимірної біотехнологічної індустрії вирощування макроміцетів. Майбутній прогрес у цій сфері передбачатиме створення економічно ефективніших виробничих систем, підвищення продуктивності та розширення асортименту біологічно активних речовин, отриманих з грибів, для різноманітних галузей промисловості.

1.3.2. Вплив умов культивування на біосинтетичну активність макроміцетів

Дослідження впливу умов культивування на продуктивність біомаси макроміцетів та синтез їх біологічно активних метаболітів є актуальним, оскільки технологічні параметри вирощування можуть значно впливати на кількість та якісний склад синтезованих речовин. Достатня кількість досліджень присвячена введенню макроміцетів в культуру з подальшою оптимізацією протоколів культивування. Загальноживаною є практика однофакторного дослідження впливу фізико-хімічних параметрів культивування (живильні середовища, температура, рН, оптимальні джерела вуглецю та азоту, співвідношення C/N тощо) за умов глибинного культивування. З іншого боку,

необхідно зазначити, що багато досліджень присвячено впливу умов культивування, як правило, на один чи два види грибів. Існує дуже мало оглядів, присвячених вивченню цього напряму стосовно видів грибів певних родів, зокрема роду *Pleurotus* (Gregori et al., 2007) та *Coriolus* (Antonenko & Klechak, 2011) та різних видів і родів (Krupodorova et al., 2021b). Аналіз впливу складу та рН поживних середовищ, температури культивування, джерел вуглецевого та азотного живлення на ріст базидієвих грибів з різних родів Agaricales (45 видів), Polyporales (40 видів), Hymenochaetales (15 видів), Auriculariales (3 видів), Russulales (3 видів), Cantharellales (2 видів), Boletales (2 видів), Thelephorales (1 вид), Atheliales (1 вид), і Tremellales (1 вид) узагальнено у нашому огляді (Krupodorova et al., 2021b), який базується на результатах 20-річних досліджень, висвітлених у наукових публікаціях. Ефективність впливу умов культивування на біологічну активність макроміцетів представлена також у оглядах Elisashvili (2012), Gargano et al. (2017), Rahi & Malik (2016), Dudekula et al. (2020), Bakratas et al. (2021). На основі оглядів літератури відзначимо ключові аспекти впливу умов культивування на ріст і синтез метаболітів.

Вплив поживних середовищ на розвиток міцелію і синтез метаболітів може відрізнятися залежно від виду грибів та їх штамів. Оскільки морфогенетичні характеристики різних штамів мають суттєві відмінності, розробка універсального середовища, придатного для культивування споріднених видів навіть у межах одного роду, є проблематичною. Слід відзначити роботу Ломберг (2005), в якій встановлено вплив середовищ на швидкість росту 78 % досліджених культур (50 видів грибів, 131 штамів). Досліджені середовища можна розташувати в такий ряд (за ступенем сприятливості використаних середовищ для росту базидієвих грибів): пшеничний агар > картопляно-глюкозний агар > агар з вівсяного шроту > сусло-агар. На основі результатів нашого огляду (Krupodorova et al., 2021b) поживні середовища, такі як картопляно-декстрозне та картопляно-глюкозне, а також мальт-екстракт або комплексні середовища для грибів, виявилися оптимальними для біосинтетичної активності більшості макроміцетів. Водночас сільськогосподарські та харчові

відходи, які містять значну кількість природних речовин, можуть забезпечувати ефективніший ріст біомаси і синтезу метаболітів порівняно із синтетичними та напівсинтетичними середовищами (Barshteyn & Krupodorova, 2016). Необхідно також враховувати беззаперечну перевагу використання харчових відходів – їх безпечність відповідно нормативним документам.

Температура є одним з ключових факторів росту міцелію і продукування біологічно активних речовин, який безпосередньо впливає на багато інтегрованих метаболічних процесів у живих організмах, зокрема на асиміляцію та транслокацію цукру та азоту, дихання та біосинтез. Зазвичай дослідники зосереджуються на вивченні таких кардинальних температур росту, як мінімальна (початок росту), оптимальна (найкращий ріст) і максимальна (припинення росту). Слід зазначити огляд Cabello et al. (2004), в якому досліджено вплив температури на ріст 66 видів тропічних грибів, зібраних у Папуа-Новій Гвінеї. І огляд Imtiaj et al. (2009), в якому показано вплив температури на ріст міцелію 371 штамів, що належать до 9 видів їстівних грибів. Відомо, що макроміцети здатні рости в широкому діапазоні температур, проте для більшості макроміцетів температури від 20 °C до 30 °C є оптимальними, хоча деякі види краще ростуть за високих температур, зокрема 35–37 °C. Зазначимо, що оптимальна температура культивування грибів часто обумовлена їх генетичним походженням і температурними умовами його зростання в природі.

Одним з найважливіших хімічних факторів для культивування грибів є рН середовища, який впливає на біосинтетичну активність міцелію та морфологічні зміни через диференціацію функції клітинної мембрани, на розчинність солей і поглинання необхідних поживних речовин із середовища (Gbolagade et al., 2006; Jonathan et al., 2009; Adebayo-Tayo et al., 2011; Elisashvili, 2012). Гриби зазвичай обмежені ростом у вузькому діапазоні рН, близькому до нейтрального, хоча деякі адаптовані до екстремальних рН (Deacon 2006). Адаптація до різного рН вимагає внутрішньої гомеостатичної системи рН і спеціальної регуляторної системи, яка гарантує, що молекули, що піддаються впливу навколишнього середовища, виділяються лише за сприятливих умов (Penalva et al., 2008). З іншого боку,

секреція сполук, таких як органічні кислоти, дозволяє грибам змінювати рН середовища (Cervantes-Chavez et al., 2010). Величина зміни рН також залежить від придатності поживних речовин і від здатності гриба позбавлятися від іонів амонію з солі сульфату амонію або виділяти іони H^+ як побічний продукт асиміляції NH_4^+ (Prusky et al., 2001; Bi et al., 2016). Міцелій різних видів грибів може рости в широкому діапазоні рівнів рН. Оптимальне значення рН є свого роду чутливим значенням для успішного росту грибів, проте слабокислі та нейтральні значення рН є більш придатними для росту більшості досліджених макроміцетів.

Характеристика живильних потреб макроміцетів дозволяє встановити їхні фізіологічні особливості. Вуглецевмісні субстрати, такі як цукри та їх похідні (оліго- та полісахариди), є джерелами енергії для клітин. Здатність макроміцетів продукувати широкий спектр гідролітичних та окислювальних ферментів зумовлює їх унікальну особливість утилізувати різноманітні джерела вуглецю. Однак, враховуючи, що глюкоза є основним будівельним блоком різних сахаридів, можна зробити висновок, що глюкоза, а також її структурні або стереоізомери, епімери та полімери є найкращими джерелами вуглецю для росту міцелію більшості родів грибів. Азот також вкрай важливий для біосинтетичної активності макроміцетів. Це один з ключових елементів у фізіологічному контролі, регуляції метаболізму, синтезі азотовмісних сполук, виробленні ферментів або метаболітів. За своєю природою гриби не можуть фіксувати азот і потребують надходження азотовмісних сполук. Загальноприйнято вважати, що гриби можуть використовувати різні сполуки азоту для своїх потреб. Біосинтетичну активність краще забезпечується в основному органічними джерелами азоту, такими як амінокислоти, складні органічні сполуки азоту, пептиди, а також неорганічними джерелами азоту, такими як нітрати та солі амонію. Водночас, потреби грибів у вуглеці та азоті пов'язані між собою. Оптимальне співвідношення C/N характеризує баланс поживних речовин у середовищі, де міцелій будує свої клітини, отримує енергію та синтезує

азотовмісні клітинні компоненти, такі як нуклеїнові кислоти, амінокислоти, ферменти та ДНК (Krupodorova et al., 2021b).

Швидкість перемішування та аерації також впливають на утворення продуктів ферментації. Ці чинники відіграють важливу роль у забезпеченні мікроорганізмів киснем, необхідним для їх росту та життєдіяльності. Вони визначають морфологію біомаси (ниткоподібна форма чи пелети), рівень насичення клітин киснем, а також впливають на реологічні властивості культурального середовища, зокрема його в'язкість (Dudekula et al., 2020).

Також вік і розмір посівного матеріалу суттєво впливають на метаболічну активність мікроорганізмів, що, у свою чергу, визначає рівень утворення біомаси та синтез метаболітів. Оптимальний обсяг посівного матеріалу зазвичай становить від 2 % до 10 % від загального об'єму культурального середовища (Dudekula et al., 2020).

Відомим також є вплив окремих вітамінів (біотин, нікотинова і аскорбінова кислота, тіамін, рибофлавін) на ріст міцелію та виробництво біологічно активних метаболітів, зокрема полісахаридів. Для підвищення синтезу метаболітів макроміцетами застосовують різноманітні стимулювальні агенти, такі як жирні кислоти, поверхнево-активні речовини, рослинні олії та органічні розчинники. Встановлено, що ці агенти сприяють підвищенню проникності клітинних мембран, викликаючи їх дезорганізацію або впливаючи на регуляцію синтезу ферментів, залучених до біосинтезу продуктів (Elisashvili, 2012).

Беззаперечно, умови культивування впливають на біосинтетичну активність макроміцетів. Ідеально, коли оптимальні умови культивування є однаковими для росту і синтезу метаболітів. Однак, оптимальні умови для росту грибів можуть відрізнятися від тих, що забезпечуватимуть максимальне накопичення біологічно активних метаболітів. Різниця впливу умов середовища на ріст і біосинтез метаболітів макроміцетами досліджувалася несистематично, і на сьогодні відсутні ґрунтовні огляди, присвячені цьому питанню. З метою підкреслення важливості встановлення оптимальних умов для росту та синтезу

метаболітів доцільно розглянути приклади окремих досліджень, які, на нашу думку, демонструють це найкраще.

Fang & Zhong (2002) відзначили, що початкове значення поживного середовища на рівні рН 6,5 сприяло синтезу максимум біомаси ($17,3 \pm 0,12$ г/л) і вмісту ганодерової кислоти ($1,20 \pm 0,03$ мг/100 мг) *Ganoderma lucidum*. Проте зниження рН з 6,5 до 3,5 забезпечувало більший вихід екзополісахариду.

Kim (2003) виявив, що оптимальні умови для росту міцелію та синтезу полісахаридів *Grifola frondosa* досягалися при значенні рН 5 і температурі 20 °С. Максимальний синтез полісахаридів спостерігався на 12-й день культивування, тоді як максимальний ріст міцелію був зафіксований на 18-й день. Додавання манози, целобіози та крохмалю сприяло як підвищенню рівня полісахаридів, так і збільшенню росту в умовах глибинної культури.

Maо et al. (2005) отримали максимальний синтез кордицепіну ($245,7 \pm 4,4$ мг/л) на 18 день культивування *Cordyceps militaris* в середовищі, що містило 40 г/л глюкози. Проте, максимальна продукція кордицепіну ($345,4 \pm 8,5$ мг/л) і його продуктивність ($19,2 \pm 0,5$ мг/л на добу) забезпечували 42,0 г/л глюкози і 15,8 г/л пептону.

Lin & Sung (2006) виявили, що вміст 5 % глюкози, 0,5 % нітрату кальцію, 0,1 % сульфату заліза та 0,1 % нікотинової кислоти обумовлювали максимальний синтез екзополісахаридів *Antrodia cinnamomea* (0,49 г/л) після 14 днів росту за діапазон температур 23–28 °С. Тоді як продукування міцеліальної біомаси було оптимальним за температури від 25 до 28 °С і різко знижувалася за межами цього діапазону температур.

Shih et al. (2006) зазначили, що умови культивування істотно впливають на метаболічну активність *Antrodia cinnamomea* CCRC36716. Максимальний синтез ендо- та екзополісахаридів на рівні 1861 ± 62 мг/л і 41 ± 12 мг/г, відповідно, отримали на 10-й день культивування у середовищі з 3 % кукурудзяного порошку, 3 % дріжджового та мальт-екстрактів. Кращий вихід тритерпеноїдів (30 мг/г) встановлено після 14 днів культивування у 3 % середовищі з кукурудзяним порошком. Мальтоза та глюкоза забезпечували високий вихід міцеліальної

біомаси (1482 ± 63 мг/л), а 4 % лактози та сахарози сприяли синтезу екзополісахаридів (1318 ± 48 мг/л). Найвищий вміст екзополісахаридів ($49,9$ мг/г) зафіксовано у середовищі з 4% глюкози на 10-й день культивування, тоді як максимальний рівень тритерпеноїдів (31 мг/г) отримано у середовищі з 2 % глюкози через 14 днів росту. Рослинні олії стимулювали ріст та продукцію ендополісахаридів, але знижували синтез тритерпеноїдів. Додавання 0,5 % арахісового масла сприяло максимальному синтезу ендополісахаридів (1147 ± 47 мг/л), тоді як високий вміст O_2 підвищував ріст клітин і синтез полісахаридів, але інгібував тритерпеноїди.

Barros et al. (2007) встановили, що $(NH_4)_2HPO_4$ є найбільш ефективним джерелом азоту для підвищення біоактивних властивостей *Leucoraxillus giganteus*. Це сприяло максимальному вмісту фенолів та мінімальним значенням мінімально інгібуючих концентрацій антибактеріальної активності, хоча істотних відмінностей у рості міцелію між різними джерелами азоту не було виявлено.

Shih et al. (2007) встановили, що оптимальним для росту міцелію *Cordyceps militaris*, синтезу екзополісахаридів і кордицепіну виявився відносно низький рівень рН. Дріжджовий екстракт стимулював виробництво екзополісахаридів та кордицепіну, тоді як кукурудзяний порошок – синтез аденозину. Низьке співвідношення C/N було оптимальним для синтезу як аденозину, так і кордицепіну. Також встановлено стимулюючий вплив рослинних олій на ріст міцелію та синтез екзополісахаридів, проте їхній вплив на виробництво аденозину та кордицепіну не спостерігався.

Vieira et al. (2008) зазначили, що перемішування поживного середовища та висока концентрація джерел вуглецю (4 %) збільшували ріст міцелію *Polyporus tricholoma*, тоді як лактоза та відсутність перемішування сприяли синтезу антибактеріальних метаболітів.

Melo et al. (2009) встановили, що ріст міцелію *Flammulina velutipes* був кращим у декстрозному картопляному середовищі, проте інтенсивніший синтез енокіподинів А, В, С і D (метаболітів з антимікробною активністю) спостерігався

у живильному середовищі Понтекорво. Водночас підвищення температури від 25 °C до 37 °C на 15-ту добу культивування в солодовому екстракті та пептонному бульйоні оптимізувало синтез антимікробних метаболітів. Автори відзначили відсутність кореляції між синтезом біомаси та антимікробних метаболітів, припускаючи наявність кореляції між складом поживного середовища та біосинтезом енокіподинів.

Нуун (2013) вивчав біосинтетичну активність міцелію *Cordyceps bassiana* в залежності від поживних середовищ культивування і умов освітлення. Рівні аспарагіну, аспарагінової кислоти, глутамінової кислоти, глутаміну, гістидину, лізину, орнітину та проліну були значно вищими при використанні декстрозного агару з додаванням 0,5 % дріжджового екстракту (СДАЕ) і освітлення. Тоді як рівні більшості спиртів, насичених і ненасичених жирних кислот, складних ефірів жирних кислот, стеринів і терпенів були вищими в умовах росту у горіховому середовищі без світла і також у середовищі СДАЕ без світла. СДАЕ з додаванням заліза сприяло посиленому синтезу аміномалонової кислоти, яблучної кислоти, манової кислоти та еритритолу.

Tang et al. (2023) показали, що оптимальні значення рН поживного середовища для росту міцелію, синтезу тритерпенів, внутрішньоклітинних та позаклітинних полісахаридів, міцеліального білка та гідролізованих амінокислот становили 10, 3, 2, 7, 2 та 2 відповідно. Здатність до поглинання 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH) та гідроксильного радикалів була найвищою за початкових рН 3, 7 та 9 відповідно.

Слід зазначити, що метаболічні шляхи синтезу макроміцетів залишаються недостатньо вивченими. Дослідження Leung et al. (2007) встановили, що підживлення амонієм на стадії культивування міцелію *Cordyceps sinensis* Cs-НК1 суттєво підсилює метаболічні процеси, що призводить до різкого збільшення як внутрішньоклітинного накопичення кордицепіну, так і продукції екзополісахаридів. Основним метаболічним механізмом посиленого біосинтезу кордицепіну може бути поглинання аміаку клітинами гриба для синтезу глутаміну, який є попередником у біосинтезі нуклеозидів. Водночас стимуляція

активності Н⁺-АТФ-ази плазматичної мембрани сприяє підвищенню поглинання глюкози, що забезпечує ефективніший біосинтез екзополісахаридів. Результати He et al. (2021) демонструють, що джерело вуглецю впливає на метаболічні процеси *Inonotus obliquus*, регулюючи експресію ключових генів у біосинтетичному шляху полісахаридів, що визначає їх структуру та біоактивність. Дослідження Flores et al. (2022) показало, що склад поживного середовища суттєво впливає на метаболічні шляхи *Pleurotus* spp.. Наприклад, біосинтез фолатів був підвищеним у *P. eryngii* var. *elaeoselini*, вирощеного на картопляно-декстрозному агарі, збагаченому пшеничною соломкою. Це можна пояснити високим вмістом вітаміну В₁₂ та фолієвої кислоти в пшеничній соломці. Подібна закономірність спостерігалася для метаболізму аргініну та проліну, активність якого була вищою у *P. eryngii*, вирощеного на тому ж субстраті, порівняно з контрольним середовищем. Фолатний шлях за участю одного пулу вуглецю був найбільш вираженим у *P. eryngii* та *P. ostreatus* PO3 у порівнянні з іншими представниками роду *Pleurotus*. Водночас шлях біосинтезу фолатів демонстрував вищі рівні активності у *P. eryngii* var. *thapsiae* та *P. eryngii* var. *elaeoselini*. У свою чергу, шлях біосинтезу пантотенату та коензиму А (КоА) був особливо активним у *P. ostreatus* PO5.

Різниця в умовах культивування, необхідних для росту і синтезу метаболітів макроміцетів, може бути пояснена кількома факторами. Ріст макроміцетів (формування міцелію) і синтез вторинних метаболітів є процесами з різними метаболічними потребами. Для росту зазвичай необхідні умови, що сприяють активному обміну речовин і синтезу структурних компонентів клітин. У той же час синтез метаболітів, особливо вторинних, часто є відповіддю на стресові умови (низький вміст поживних речовин, специфічний склад джерел вуглецю чи азоту, неідеальні температури, зміни рН або нестача кисню), які не завжди співпадають з оптимальними умовами для росту. Макроміцети здатні адаптуватися до змін середовища росту через регулювання експресії генів, що визначає їх реакцію на умови культивування. Ця пластичність може призводити до того, що одні й ті самі фактори (наприклад, рН, температура або джерело

вуглецю) впливають на ріст і синтез метаболітів по-різному. Видо- та штамоспецифічність макроміцетів зумовлена різними генетичними програмами, що визначають їх потреби в поживних речовинах, температурі, рН та інших параметрах, і, як наслідок, впливають на рівень активності метаболічних шляхів, зокрема біосинтезу вторинних метаболітів.

Дослідження, спрямовані на отримання міцелію та культуральної рідини макроміцетів, активно розвиваються, зокрема через вдосконалення методів оптимізації умов культивування, використання генетичних модифікацій грибів для підвищення продуктивності, а також застосування біотехнологій для синтезу цінних корисних метаболітів. Переважна більшість робіт зосереджена на однофакторному підході, що дозволяє оцінити вплив окремих параметрів. Проте, врахування взаємозв'язку між різними параметрами культивування через багатофакторний аналіз є більш перспективним, оскільки дозволяє отримати комплексне уявлення про процеси росту та біосинтезу метаболітів. Ґрунтовне розуміння живильних вимог макроміцетів сприяє розширенню знань про їх морфогенетичні особливості, а також є важливим для моделювання росту грибів у контрольованих і змінених умовах. Досягнення оптимальних умов культивування, що забезпечують баланс між сприятливими умовами для росту та ефективним синтезом метаболітів, дозволить максимально реалізувати біотехнологічний потенціал макроміцетів у виробництві цінних біоактивних сполук.

1.4. Світовий ринок продукції на основі макроміцетів

Дикорослі та штучно культивовані гриби – дві основні складові світової індустрії грибів. І ті, і інші поділяються на їстівні, їстівні-лікарські та лікарські. Проте, за останні десятиліття спосіб життя та харчові уподобання людей кардинально змінилися внаслідок урбанізації, військових конфліктів, нестачі продуктів харчування, тощо. Зміна структури харчування спричинила зростання захворюваності на хвороби, пов'язані зі способом життя. Разом з цим, інтерес до

розробки натуральних лікувально-профілактичних та лікарських засобів, в тому числі і на основі грибів, з метою профілактики і терапії людей з різними захворюваннями зростає у 21 сторіччі. Їстівні-лікарські та лікарські гриби розглядаються як джерела біологічно активних речовин, що володіють широким спектром фармакологічної дії, зокрема антибактеріальною, антиоксидантною, противірусною, гепатопротекторною, протипухлинною, імуностимулювальною та іншими активностями. Поряд з цим, відмічається зростаюча кількість веганського населення, підвищення рівня обізнаності про здоров'я, висока доступність інтернет ресурсів. Ці ключові фактори сприяють зростанню розробки комерційних фунгопродуктів та ринку дієтичних добавок на основі грибів. Вважається, що ці продукти підвищують імунітет, покращують когнітивні функції, енергетику, зменшують запалення та мають багато інших переваг для здоров'я людини.

Слід зазначити, що існує серйозна потреба в критичному аналізі, підвищенні якості та правовому контролі, які необхідні як для підвищення та підтримки довіри споживачів, так і для дотримання поточних та майбутніх стандартів, встановлених регуляторними органами. Після ухвалення Закону про здоров'я та освіту щодо дієтичних добавок 1994 року, Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA) видало низку нормативних актів, які звільняють виробників дієтичних добавок від необхідності доводити їхню ефективність та безпечність у рамках тривалих і вартісних процедур, передбачених для лікарських засобів. Відповідно до документів FDA (Wasser et al., 2000), дієтичні добавки віднесені до категорії харчових добавок поряд з іншими натуральними продуктами і фітотерапевтичними засобами, і це означає, що вони можуть продаватися без схвалення FDA, що є значною перевагою для швидкого виведення продукту на ринок. Дієтичні добавки на основі грибів — це продукти, отримані з міцелію або плодових тіл грибів, які представлені у вигляді капсул, таблеток або рідких екстрактів і характеризуються потенційними терапевтичними ефектами (Wasser et al., 2000; Varua et al., 2024). Переважна більшість таких продуктів

виготовляється у формі сухих порошків та рідких екстрактів із плодових тіл грибів, що зростають у природних умовах або культивуються комерційно. Крім того, для виробництва використовуються висушена біомаса міцелію, отримана шляхом твердофазного чи глибинного культивування, або екстракт з неї.

В Україні застосування дієтичних добавок регулюється законом № 771/97-ВР «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» (редакція від 26.10.2023), який дає наступне визначення: Дієтична добавка – харчовий продукт, який: є концентрованим джерелом поживних речовин (у тому числі білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, мінеральних речовин) або інших речовин з поживним або фізіологічним ефектом; виготовляється у формі капсул, пастилок, пігулок та саше, ампул з рідинами, пляшок для крапельного дозування чи в інших формах рідин та/або порошків; призначений для споживання в невеликих визначених кількостях; споживається як доповнення до звичайного харчового раціону окремо або в комбінації з іншими харчовими продуктами (<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771/97-%D0%B2%D1%80#Text>). Державна фармакопея України (ДФУ) дає інше тлумачення визначення: дієтичні добавки – вітамінні, вітамінно-мінеральні або трав'яні добавки окремо та/або в поєднанні у формі таблеток, порошків тощо, які приймаються орально разом із їжею або додаються до їжі в межах фізіологічних норм для додаткового порівняно із звичайним харчуванням вживанням цих речовин.

Світовий ринок продукції на основі макроміцетів є однією з найбільш швидкозростаючих вертикалей в рамках нутрицевтиків, ринок оцінюється в \$8 млрд. на сьогоднішній день, з прогнозованим зростанням на 9,3 % щорічно, досягнувши \$19 млрд. до 2030 року (<https://capital10x.com/functional-mushrooms-nutraceuticals/>). Це може бути пов'язано зі зростаючим прийняттям цих грибів як супер продуктів завдяки їх різноманітним перевагам для здоров'я. Сегмент застосування в продуктах харчування та напоях забезпечив найбільшу частку виручки – понад 42% на світовому ринку в 2021 році. Оскільки ці гриби споживаються у великих масштабах як харчові добавки завдяки їхнім корисним

харчовим властивостям, очікується, що сегмент зазнає значного зростання в найближчі роки (<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/functional-mushroom-market-report>). Очікується, що використання фунгопродуктів, особливо в порошкоподібній формі, в рецептурах дієтичних добавок значно збільшиться в найближчі роки завдяки зростаючому вживанню дієтичних добавок, особливо в таких країнах як Китай і Японія. Фармацевтичний сегмент буде демонструвати найвищі темпи зростання протягом прогнозованого періоду завдяки зростаючому застосуванню грибів у медичній промисловості.

Світовий ринок грибної продукції сегментований на основі виду гриба, зокрема Reishi (*Ganoderma lucidum*), Cordyceps (*Ophiocordyceps sinensis*), Lion's Mane (*Hericium erinaceus*), Turkey Tail (*Trametes versicolor*), Shiitake (*Lentinula edodes*), Chaga (*Inonotus obliquus*) та ін. Досліджуваний ринок є висококонкурентним, з присутністю багатьох дрібних гравців. Основними компаніями, що працюють на світовому ринку функціональних грибів, є наступні: New Wave Holdings Corp; M2 Ingredients; Nammex; CNC Exotic Mushrooms; Mitoku Company; Hokkaido Reishi Co. Ltd; Shanghai Finc Bio-tech Inc; Lianfeng (Suizhou) Food Co. Ltd; Hirano Mushroom LLC. Інновації та розширення продукції є основними стратегіями, прийнятими компаніями в цій галузі, що зумовлено швидкою трансформацією ринку. У 2021 році Psyence Group Inc. оголосила, що її спільне підприємство Goodmind співпрацює з однією з найбільших мереж роздрібної торгівлі кавою в Південній Африці – vida e caffè для розгортання свого бренду продуктів на основі грибів в Південній Африці. У травні 2022 року компанія Urexі, підрозділ Grove Inc., запустила лінійку продуктів з лікарських грибів, які доступні безпосередньо споживачам та на маркетплейсі Amazon.

На українському фармацевтичному ринку, згідно з даними Державного експертного центру Міністерства охорони здоров'я України станом на 25.12.2024 р., відсутні зареєстровані лікарські засоби, що містять гриби як основний компонент. Проте, вітчизняний фармацевтичний ринок (аптечна мережа та інтернет-ресурси) поступово розширює свій асортимент природних

фунгозасобів та реагує на зростаючий світовий попит використання та вживання лікарських грибів. На сьогодні, українськими виробниками представлена низка дієтичних добавок на основі грибів. Лідерами серед них є НВО «ФітоБіоТехнології» (серія «Грибна аптечка», м. Київ), ТОВ «Еліт-фарм» (м. Дніпро), Київський центр фунготерапії, біорегуляції та аюрведи (м. Київ), компанії «Царство грибів» (м. Київ), «MicoFit» (м. Харків), «Мудрий мухомор» (м. Одеса), «Дана, Я» (м. Київ). Основою української грибної продукції є базидієві види грибів (*Agaricus blazei*, *Cantharellus cibarius*, *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondoza*, *Hericium erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus ostreatus*) і сумчастий гриб – *Ophiocordyceps sinensis*. Найбільш відомою є дієтична добавка «Мікотон» на основі *Fomes fomentarius*, промислова реалізація якої здійснюється на потужностях ТОВ «Мікотон-Агліконт» (Київська обл.). Аналіз такої продукції показав, що вітчизняні виробники випускають тверді (капсули, таблетки, порошки, фіто чаї, сухий екстракт, супозиторії) та рідкі (краплі, рідкі екстракти) форми продукції. Сировиною для виробництва таких дієтичних добавок є плодове тіла чи/та міцелій грибів, які є комплексом цінних природних біологічно активних речовин. Аналіз ринку продукції на основі грибів в Україні, свідчить про позитивні тенденції розширення асортименту такої продукції. Привабливі маркетингові стратегії та рекламні компанії, що швидко реагують на потреби населення та сучасні актуальні інновації, також сприяють ефективному зростанню. Виробники роблять акцент на стратегії підвищення пізнаваності бренду за допомогою реклами та нової упаковки. Крім того, очікується, що попит дієтичні добавки на основі макроміцетів буде рости високими темпами завдяки збільшенню кількості споживачів, які обирають здорове харчування та натуральну складу продукції.

Поверхнєве та глибинне культивування дозволяє отримати міцелій грибів із високим вмістом біологічно-активних речовин, який може бути використаний як для створення дієтичних добавок, так і для фармацевтичної розробці

парафармацевтиків – біологічно активних добавок до їжі, що рекомендуються для зміцнення здоров'я й профілактики різних захворювань.

Заголом, гриби містять багато полісахаридів, фенольних сполук, терпеноїдів та вітамінів, селену, які мають чудові антиоксидантні, омолоджуючі, антивікові, протизморшкові, освітлюючі та зволожуючі властивості, корисні при створенні косметичної продукції. Крім того, споживачі позитивно реагують на продукцію з маркуванням «натуральні» або «чисті» продукти. Як результат, косметичні компанії все частіше виробляють засоби по догляду за шкірою на основі грибів, щоб задовольнити зростаючі споживчі вподобання. Преміальні продукти, виготовлені з натуральних та органічних інгредієнтів, коштують дорожче, але споживачі готові платити за них вищу ціну.

Зростання популярності веганських дієт, ймовірно, збільшить попит на замітники м'яса, такі як гриби, у харчовій промисловості та виробництві дієтичних добавок, що, як очікується, буде сприятливим для ринку грибів.

Отже, розробка дієтичних добавок на основі макроміцетів є важливим і перспективним напрямом, зважаючи на сучасні виклики у сфері охорони здоров'я, зокрема зростання захворюваності на серцево-судинні та онкологічні хвороби. Висока біологічна активність екстрактів цих грибів, що проявляється в антибактеріальних, протипухлинних, протівірусних та антиоксидантних властивостях, а також багатий вміст біологічно активних сполук, як полісахариди й феноли, відкривають можливості для створення ефективних і безпечних продуктів, здатних зміцнювати імунітет та запобігати різним захворюванням. Враховуючи світовий попит на натуральні та екологічно чисті дієтичні добавки й наявність в Україні унікальних природних ресурсів для культивування макроміцетів, їх використання сприятиме розвитку національної харчової та фармацевтичної галузей, створенню робочих місць, імпортозаміщенню та підвищенню конкурентоспроможності вітчизняних виробників на світовому ринку. Подальші дослідження, що включають вивчення біологічної активності макроміцетів та розробку доступних технологій виробництва міцелію,

сприятимуть забезпеченню наявності дієвих дієтичних добавок і, як наслідок, покращенню здоров'я населення.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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>

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>

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.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Види та штами макроміцетів

Для досліджень були обрані види їстівних та лікарських грибів (разом 34 штами), відомі за даними літератури як продуценти біологічно активних речовин, та мало досліджені види. Відібрані макроміцети за систематичним положенням належать до відділу Ascomycota (3 види), порядків Нуросcreales та Pezizales та відділу Basidiomycota, порядків Agaricales, Hymenochaetales, Polyporales та Russulales (27 видів) (таблиця 2.1), які були отримані з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, що є Національним надбанням України (Bisko et al., 2024). Латинські назви грибів наведено відповідно до офіційних номенклатурних баз даних IndexFungorum (<http://www.indexfungorum.org>), Mycobank (<http://www.mycobank.org>) та Fungal Names (<http://fungalinform.im.ac.cn/fungalname/fungalname.html>), за виключенням *Pseudospongipellis litschaueri*, для якого в даний час прийнята сучасна таксономічна концепція (Wang & Dai, 2022).

Зазначимо, що для одного з видів базидіоміцетів спостерігається розбіжність у видовій назві між базами даних: *Crinipellis schevczenkovi* (Mycobank) та *Crinipellis schevczenkoi* (IndexFungorum). Для деяких видів у науковій літературі також часто використовуються їх синонімічні назви: *Cyclocybe aegerita* (*Agrocybe aegerita*), *Fomitopsis betulina* (*Piptoporus betulinus*), *Lentinula edodes* (*Lentinus edodes*), *Ophiocordyceps sinensis* (*Cordyceps sinensis*), *Trametes versicolor* (*Coriolus versicolor*).

Таблиця 2.1

**Список досліджених видів та штамів макроміцетів та їх систематичне
положення**

№ 3/ п	Вид гриба		Номер штаму ІВК
	латинська	українська	
1	2	3	4
Царство Fungi			
Відділ Ascomycota			
Клас Sordariomycetes			
Порядок Нуросcreales			
Родина Cordycipitaceae			
1	<i>Cordyceps militaris</i> (L.) Fr.	Кордицепс військовий ⊕	207
Родина Ophiocordycipitaceae			
2	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) Sacc.	Кордицепс китайський ⊕	1928
Порядок Pezizales			
Родина Morchellaceae			
3	<i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers.	Зморшок їстівний* ⊕	1853
Царство Fungi			
Відділ Basidiomycota			
Порядок Agaricales			
Родина Agaricaceae			
4	<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers.	Гнойовик білий ⊕	137
Родина Lyophyllaceae			
5	<i>Hypsizygus marmoreus</i> (Peck) H.E. Bigelow	Опеньок мармуровий* ⊕	2006
6	<i>Lyophyllum shimeji</i> (Kawam.) Hongo	Ліофілум шімеджі* ⊕	1662
Родина Marasmiaceae			
7	<i>Crinipellis schevczenkovi</i> Bukhalo	Крініпеліс Шевченко ⊕	31
Родина Omphalotaceae			
8	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Шіітаке їстівний* ⊕	355
Родина Physalacriaceae			
9	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.) Sing.	Опеньок зимовий* ⊕	1878
Родина Pleurotaceae			
10	<i>Hohenbuehelia myxotricha</i> (Lév.) Singer	Гоенбуегелія міксоволосиста	1599
11	<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn	Глива рожева* ⊕	455
12	<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quéf.	Глива королівська* ⊕	2015
13	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Глива звичайна* ⊕	551
14			1685
15			2460
16			2461
17			2462

Таблиця 2.1 (продовження)

1	2	3	4
Родина Schizophyllaceae			
18	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	Розщепка звичайна ⁺	1768
Родина Tricholomataceae			
19	<i>Lepista luscina</i> (Fr.) Singer	Рядовка міцнонога ^{*,+}	64
Родина Tubariaceae			
20	<i>Cyclocybe aegerita</i> (V. Brig.) Vizzini	Опеньок тополевий ^{*,+}	1853
Порядок Hymenochaetales			
Родина Hymenochaetaceae			
21	<i>Inonotus obliquus</i> (Fr.) Pilát.	Трутовик косий ⁺	1877
22	<i>Phellinus igniarius</i> (L.) Quél.	Трутовик несправжній ⁺	29
Родина Oxyporaceae			
23	<i>Oxyporus obducens</i> (Pers.) Donk	Окспор тополевий	5085
Порядок Polyporales			
Родина Cerrenaceae			
24	<i>Pseudospongipellis litschaueri</i> (Lohwag) Y.C. Dai & Chao G. Wang	Трутовик Літшауера	5312
Родина Fomitopsidaceae			
25	<i>Auriporia aurea</i> (Peck) Ryvar den	Золотопориця золотиста	5048
26	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr.	Трутовик справжній ⁺	355
27	<i>Fomitopsis betulina</i> (Bull.) P. Karst.	Трутовик березовий ^{*,+}	327
28	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst.	Трутовик соснолюбивий ⁺	1523
29	<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray	Грифола кучерявенька ^{*,+}	976
Родина Ganodermataceae			
30	<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	Трутовик плоский ⁺	1701
31	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Трутовик лакований ⁺	1900
Родина Laetiporaceae			
32	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill	Трутовик сірчано-жовтий ^{*,+}	352
Родина Polyporaceae			
33	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	Траметес різнобарвний ⁺	353
Порядок Russulales			
Родина Hericiaceae			
34	<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	Герицій гребінчатий ^{*,+}	970

Примітка: «*» – їстівний; «^{*}» – умовно їстівний «⁺» – лікарський

Для досліджень використовували наступний матеріал: нативний та сухий міцелій (міцеліальна біомаса); нативну, концентровану та висушену

культуральну рідину (КР); екстракти міцелію грибів та їх культуральної рідини. Міцелій відокремлювали від культурального середовища фільтруванням через фільтрувальний папір (Ватмана № 4), двічі промивали дистильованою водою. За потреби нативний міцелій висушували до постійної маси при 105 °С для встановлення продукування біомаси (за абсолютно сухою вагою), при 60 °С – для подальшого аналізу біологічної активності. Подрібнення нативного міцелію проводили за допомогою ступки. Культуральну рідину концентрували у 5–10 разів на пісочній бані. Висушену міцеліальну біомасу та культуральну рідину подрібнювали за допомогою лабораторного млина ЛЗМ-1 (Україна) протягом 30 с.

Кількість культур (видів, штамів), залучених у проведених експериментах та приготування екстрактів грибів була обумовлена конкретною метою та завданням і зазначена у відповідних розділах.

2.2. Культивування макроміцетів

2.2.1. Методи культивування макроміцетів

Твердофазне культивування (Elisashvili, 2012) використовували для отримання у чашках Петрі 7–10 добового посівного матеріалу культур грибів на агаризованих середовищах, визначення показників радіальної швидкості росту, встановлення ферментативної та антагоністичної активностей грибів.

Для дослідження показників продукування міцеліальної біомаси, біоконверсії субстратів, впливу умов культивування, а також для отримання міцеліальної біомаси з метою подальшого визначення її біологічної активності (антиоксидантної, антибактеріальної, противірусної, протипухлинної, ранозагоювальної, сорбційної) використовували глибинне культивування (Elisashvili, 2012; Dudekula et al., 2020) культур грибів в колбах Ерленмейера об'ємом 250 мл в термостаті за температури 26 ± 2 °С без перемішування (за статичних умов) або за умов динамічного переміщування на орбітальній качалці,

за 120 об/хв або 180 об/хв (за умов динамічного переміщення). Тривалість культивування, обумовлена конкретною метою і зазначена у відповідних розділах. Загальна схема проведених експериментів наведена у додатку В.

2.2.2. Склад субстратів та поживні середовища для зберігання і культивування макроміцетів

Чисті культури грибів зберігали в пробірках на скошеному агаризованому поживному середовищі – пивному суслі (цукристість 7° за Баллінгом) при температурі 4°C, перевірка чистоти росту культур проводили раз на місяць, пересів – кожні 3 місяці.

Для культивування макроміцетів використовували основні рідкі та агаризовані поживні середовища наступного складу (г/л):

- глюкозо-пептон-дріжджове середовище (ГПД): глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; KH_2PO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,25; дистильована вода – 1 л;
- глюкозо-аспарагінове середовище (ГА): глюкоза – 10; аспарагін-0,4; KH_2PO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,5; дистильована вода – 1 л;
- натуральні поживні середовища на основі макух, шротів, какао-вели, дерті, крихти та битої вермішелі у кількості 60 г на 1 літр дистильованої води;
- мальт-екстракт (МЕ, Thermo Fisher Scientific, США): мальт-екстракт – 30; пептон – 5; дистильована вода – 1 л;
- картопляно-декстрозне середовище (КД, Difco, США): декстроза – 20; крохмаль – 4,0; дистильована вода – 1 л;
- Сабуро-декстрозне середовище (Сабуро, HiMedia Pvt limited, Mumbai, Індія): декстроза – 20,0; пептон – 10,0; дистильована вода – 1 л;
- сусло-агар (СА, Merck, Німеччина): солодовий екстракт 15,0; універсальний пептон 0,75; мальтоза – 12,75; декстрин – 2,75; гліцерол – 2,35; калій фосфорнокислий однозаміщений – 0,4; хлорид амонію – 1,0; агар-агар – 20,0.

У разі використання агаризованих середовищ, до зазначених вище відповідних рідких поживних середовищ додавали агар у кількості 10 г на 1 л середовища (скорочене позначення: КДА, ГПДА відповідно).

Приготовані поживні середовища стерилізували відповідно до загальноприйнятих методик (Zimbro et al., 2009). Після стерилізації, колби Ерленмейєра об'ємом 250 мл з 50 мл живильного середовища за стерильних умов інокулювали трьома дисками, діаметром 8 мм з міцелієм необхідного виду гриба, або 5 чи 10 % (за об'ємом) стерильного гомогенізованого міцелія, який був попередньо вирощений на чашках Петри з КДА чи ГПДА протягом 7–10 днів в залежності від дослідженого виду гриба.

Дослідження загального складу. Зразок (наважка 5 г субстрату чи міцеліальної біомаси грибів), використаний у дослідженні, був висушений у печі при 105 ± 5 °C протягом 24 годин до досягнення постійної ваги. Втрата ваги після сушіння відома як вологість (%), розрахувати за допомогою наступного рівняння (Iqbal et al., 2016):

$$\text{Вологість} = \frac{\text{Початкова вага} - \text{Кінцева вага}}{\text{Початкова вага}} \times 100\% \quad (2.1)$$

Зольність субстратів (наважка 2 г) визначали після спалювання у муфельній печі за температури 550 °C до повного озолення (6 годин) з наступним охолодженням у ексикаторі. Зола (загальну кількість %) розраховували за наступним рівнянням (Iqbal et al., 2016):

$$\text{Зола} = \frac{\text{Вага золи}}{\text{Початкова вага зразка}} \times 100\% \quad (2.2)$$

Вміст вуглецю (C) визначали шляхом перерахунку зольності субстратів за формулою):

$$C = (100\% - \text{зола}) \times 0,52 \quad (2.3)$$

Дослідження наявності сквалену проводили методом газової

хроматографії (ГХ) з мас-спектрометричним детектором (прилад Hewlett Packard). Концентрацію сквалену визначали за стандартним зразком (Merck, Німеччина).

Для визначення жиророзчинних вітамінів (каротиноїдів, токоферолів α , β , γ , δ) зразок піддавали лужному гідролізу. Далі жиророзчинні вітаміни видаляли екстракцією сумішшю гексану з етером (1:1). Після випарювання концентратів до сухого стану, ізопропанольний концентрат аналізували методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за фотометричного детектування: токофероли 290 нм, каротиноїди – 450 нм. Концентрацію токоферолів визначали за відповідними калібрувальними графіками стандартних речовин.

Видалення амінокислот із відходу вуглекислотної екстракції (CO_2 -шроту амаранту) проводили наступним чином. Наважку поміщали у мірну пробірку. Приливали 4 мл MeOH , 1 мл HCl та воду до 10 мл. Перемішували і залишали на 12 годин. Фільтрували крізь фільтр «біла стрічка». Відбирали 8 мл, переносили у фарфорову чашку, обережно упарювали на пісочній бані досуха. Кількісне визначення амінокислот проводили за допомогою хроматографії.

Вміст хімічних елементів встановлювали у CO_2 -шроті амаранту. Зразки субстратів зважувались та озолувались в муфельній печі при температурі $400\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 30 хвилин. Зола, що залишилась після спалювання, зважували на аналітичних терезах для визначення зольності. Подальший аналіз вмісту мікро- та макроелементів проводився методом маспектрометрії за допомогою Thermo Finnigan Element – 2 відповідно з попереднім протоколом підготовки проб для аналізу (Пономаренко та ін., 2008). Розчинення проб проводили у МХ-печі ETHOS фірми MILESTONE (Італія). Робоча частота МХ-випромінення - 2450 МГц, максимальна потужність – 1600 Вт. Як внутрішній стандарт використовували індій - ^{115}I , зовнішній – стандартні зразки габро-есекситового (СГД-1А; СГД-2) і хвостів золотоносної руди (СЗХ-3).

Визначали вміст вітамінів у субстраті CO_2 -шрот амаранту. Визначення вмісту вітаміну B_1 було основане на окисненні тіаміну в тіохромі, екстракції

останнього в органічному розчиннику та вимірюванні інтенсивності флуоресценції (Fujiwara & Matsui, 1953). Встановлення наявності вітаміну B₂ здійснювали за допомогою рибофлавінзв'язуючого апобілку з білку курячих яєць (Zandomeneghi & Zandomeneghi, 2009). Виявлення наявності вітаміну B₁₂ здійснювали мікробіологічним методом (Poonawalla & Iyengar, 1965) за допомогою індикаторної культури *Escherichia coli* 113-2, яка має чутливість 0,005–5,0 мкг/мл, що дозволяє виявити дуже малі кількості вітаміну (мікрограми) у середовищі. Визначення вітаміну А та каротиноїдів визначали колориметричним методом, оснований на його кольорових реакціях з трихлористою сурмою у хлороформі та трифтороцтовій кислоті (Murata & Nagashima, 1960). Визначення вітаміну С встановлювали на основі редуруючих властивостей аскорбінової кислоти титрування 2,6-дихлоріндофенолу, який працює за принципом відновлення аскорбінової кислоти до безбарвного розчину з глибокого синього кольору окисленого барвника. Формування візуальної кінцевої точки для титрування – надлишок барвника стає рожевим у кислому розчині (Tee et al., 1988).

2.2.3 Вплив умов культивування на біосинтетичну активність макроміцетів

З метою вивчення впливу натуральних поживних середовищ на ріст міцеліальної маси 30 видів грибів в якості монооснови рідкого поживного середовища були використанні відходи олійно-екстракційного виробництва: шрот плодів шипшини, насіння гарбуза, розторопші, льону; шрот зародків пшениці, вівса, амаранту (НВ ТОВ «Житомирбіопродукт», м. Житомир, Україна), виноградних кісточок, амаранту (ТОВ «ECO Natural Vegetable Oil», м. Київ, Україна), макуха сої, ріпаку, соняшника (ПрАТ «Ніжинський жиркомбінат», м. Ніжин, Україна), рижю (Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка, Київ, Україна), гірчиці (Факторія-Агро, м. Вишгород, Україна), СО₂-шрот амаранту й ехінацеї (НПК «Амарант», м. Миколаїв, Україна), та відходи харчової

промисловості: крихта та бита вермішель (відход макаронного виробництва ТОВ «Київська макаронна фабрика», м. Київ, Україна), порошок з какао шкарлупи – какаовела (Корпорація Рошен, Київ, Україна), дерть ячмінна та пшенична, пшеничні висівки (ТОВ Калуський комбінат хлібопродуктів, Калуш, Україна). Усі зазначені харчові відходи доступні у вільному продажу.

Суміш основ (шротів чи відходів харчової промисловості) використовували у співвідношенні 1:1. Інокуляцію проводили трьома дисками, культивування – 14 днів у термостаті без перемішування при температурі 26 ± 1 °C.

Ефективність використання альтернативних субстратів для культивування грибів встановлювали у порівнянні з результатами росту на ГПД і з урахуванням продуктивності продуцента біомаси не менше 10 г/л. Ефективність біоконверсії (ЕБ, %) використаних відходів як основ рідких поживних середовищ розраховували за модифікованою формулою біологічної ефективності (Chang et al., 1984):

$$ЕБ = \frac{\text{Суша вага міцелію}}{\text{Сухо вагу відходів}} \times 100\% \quad (2.4)$$

Вплив періоду інкубації на утворення міцеліальної біомаси та прояв відповідної біологічної активності досліджували на 7, 14, 21, 28 і 35 добу. Інокуляцію ГПД поживного середовища проводили міцеліальними дисками та інкубували у термостаті без перемішування при 26 ± 2 °C, або на 3, 5, 7, 9, 11 доби при інокуляції гомогенізованим міцелієм при 26 ± 2 °C з постійним динамічним перемішуванням на орбітальному шейкері (120 об/хв). Після інкубації реєстрували концентрацію міцеліальної біомаси за сухою вагою та досліджували відповідну біологічну активність.

Для оцінки впливу температури інокульовані міцеліальними дисками колби інкубували за різних температур (24, 26, 28 і 30 °C) у різних термостатах

протягом 14 днів. Після закінчення інкубаційного періоду оптимальну температуру фіксували шляхом визначення концентрації міцеліальної біомаси. Вимірювання величин рН поживних середовищ, культуральної рідини грибів та робочих розчинів визначали потенціометричним методом з використанням рН-метрів марок «рН-340» та «рН-150 МИ», у яких шкала градуйована в одиницях рН.

Для вивчення впливу рівня рН колби інокульовані міцеліальними дисками інкубували протягом 14 днів при 26 ± 1 °С за різних значень рН (у діапазоні значень від 2,5 до 7,0 з інтервалом 0,5 одиниць). Перед автоклавуванням середовище доводили до потрібного рівня рН додаванням 1М НСІ та 1М NaOH. Після інкубаційного періоду визначали ріст, а також відповідну активність, зокрема антибактеріальну чи антиоксидантну.

Вплив джерел вуглецю та азоту на ріст грибів *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii* та відповідну біологічну активність вивчали на глюкозо-аспарагіновому поживному середовищі. Замість глюкози, як джерела вуглецю, до живильного середовища вносили моно-, ди- та полісахариди у кількості, що була еквівалентна 10 г глюкози в перерахунку на вуглець. Джерелами азоту були органічний та мінеральний азот, які додавали у середовища в кількостях, еквівалентних 0,4 г аспарагіну в перерахунку на азот. Культивування проводили 14 днів у термостаті без перемішування при температурі 26 ± 1 °С. Вивчали вплив концентрацій оптимальних джерел вуглецю та азоту на ріст на відповідну біологічну активність шляхом додавання їх до базового живильного середовища (ГА).

Вплив синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук (представлені піридином і похідними піримідину), відомі як регулятори росту рослин: N-оксид-2,6-диметилпіридин (Івін), натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин (Methyur), калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину (Kamethur) вивчали на ГПД середовищі. Сполуки були синтезовані та отримані у концентраціях 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} М (моль/л) з відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних сполук Інституту біоорганічної

хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної Академії наук України. Інокуляцію приготованих середовищ проводили міцеліальними дисками комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* 551 (НК-35), 1685, 2460, 2461, 2462, з наступним інкубуванням у термостаті при температурі 25 °С без перемішування. Вплив хімічних сполук на ріст штамів *P. ostreatus* визначали залежно від тривалості культивування на 7-му, 14-ту та 21-шу добу культивування.

З метою з'ясування впливу УФ-опромінення на ріст та антибактеріальну активність, чашки Петрі, інокульовані *Fomitopsis betulina*, піддавалися опроміненню ультрафіолетовим світлом протягом різних відрізків часу (5, 15, 30, 45, 60 хв) на початку росту (3-тя доба культивування) та в активній фазі росту (на 10 добу). Опромінення культур проводилося на установці, що складалась з двох ламп «Philips» потужністю 30 Вт кожна ($\lambda = 254$ нм, відстань до об'єкту опромінення – 0,30 м). Загальна потужність випромінювання (F) становила 60 Вт. Площа опромінюваної поверхні (S) для кожного зразка дорівнює площі чашки Петрі і становить:

$$S = \pi \cdot r^2 = 3,14 \cdot 4,5^2 = 63,59 \text{ см}^2 \quad (2.5)$$

де r – радіус чашки Петрі (4,5 см).

Густина випромінювання (E) становить:

$$E = \frac{F}{S} = \frac{60}{63,59} = 0,94 \text{ Вт/см}^2 \quad (2.6)$$

Відповідно для кожного відрізка часу (t, с) доза випромінювання (H) становить:

$$H = E \cdot t \quad (2.7)$$

При значеннях $t_1 = 300$ с, $t_2 = 900$ с, $t_3 = 1800$ с, $t_4 = 2700$ с, $t_5 = 3600$ с доза випромінювання становитиме: $H_1 = 0,28$ кДж/см²; $H_2 = 0,85$ кДж/см²; $H_3 = 1,69$ кДж/см²; $H_4 = 2,54$ кДж/см²; $H_5 = 3,38$ кДж/см².

Після 12 діб культивування на чашці Петрі культури пересівали в рідке середовище ГПД у плоскодонних колбах (250 мл), що містили 50 мл поживного середовища, вносячи по три міцеліальні диски (діаметром 8 мм), вирізані з чашки Петрі з ГПДА. Інокульовані культури культивували 14 діб у термостаті без перемішування при температурі $27 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.3. Мікроскопічні дослідження міцелію

Вегетативний міцелій у фазі активного росту (7 доба) досліджували за допомогою світлового мікроскопу Zeiss Primo Star (Німеччина). Зразки для світлової мікроскопії готували з використанням дистильованої води або водного розчинін конго червоного (CR) (Sigma-Aldrich, США). Мікрофотографії виконані за допомогою цифрової камери Canon PC 1089 (Японія).

Виявлення мікроструктур вегетативного міцелію (7 доба росту) проводили за допомогою сканувального електронного мікроскопу Jeol JSM-6060 LA (Японія). Зразки для сканувальної електронної мікроскопії готували за методикою Quattlebaum & Carner (1980) з певною модифікацією. Перед інокуляцією грибом в чашку Петрі, на поверхню глюкозо-пептон-дріжджового середовища стерильно розміщували покривні скельцями (5×5 мм). Після наростання вегетативного міцелію на покривні скельця, проводили їх фіксацію парами тетроксиду осмію (1 % розчин OsO₄) тривалістю 8 годин. Після повного їх висихання (72 години) здійснювали напилення золотом у вакуумному розпилювачі ЛІ-4Х з ротацією.

2.4. Молекулярно-генетичний аналіз міцелію

Загальну ДНК виділяли із нативного міцелію *F. betulina*, попередньо вирощеного на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі. Зразки міцелію занурювали у рідкий азот, додавали невелику кількість карборунду та подрібнювали товкачем. ДНК виділення виконували за модифікованим протоколом Microprep Isolation for Plants (Pluzhnyk et al., 2025):

1. Переносили гомогенізований міцелій в пробірки.
2. Додавали 750 мкл екстракційного буферу (1% додецил сульфат натрію, 100 мМ NaCl, 10 мМ EDTA, 50 мМ Трис (рН 8,0), 10 мМ 2-меркаптоетанолу та перемішували.
3. Пробірки інкубували при 65 °С 10 хв.
4. Додавали 200 мкл 3М розчину ацетату натрію та ретельно перемішували.
5. Суміш інкубували на льоду 20 хв.
6. Центрифугували (18000 g) 10 хв.
7. До супернатанту додавали рівний об'єм ізопропанолу та ретельно перемішували.
8. Суміш центрифугували (18000 g) 2 хв.
9. До отриманого осаду ДНК додавали 450 мкл 80% розчину етанолу.
10. Центрифугували (18000 g) 2 хв.
11. Етанол зливали, а пробірки сушили до повного випаровування етанолу.
12. Отриману ДНК розчиняли в 50 мкл буфера TE (10 мМ Трис, рН 8,0; 1 мМ EDTA).

Ефективність екстракції ДНК оцінювали за допомогою електрофорезу та спектрофотометрії на спектрофотометрі DS-11 FX+ (DeNovix, США).

Гени, що кодують внутрішній транскрибований спейсер ядерної рДНК (ITS) ампліфікували за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції з використанням загальноживаних для грибів праймерів ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') та ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). Ампліфікацію

проводили на термоциклері Techne TC-3000X PCR (Keison Products, Великобританія) з використанням безбарвного реакційного буфера MyTaq Reaction Buffer Colorless (Meridian Bioscience Inc., США) та полімерази Pfu-X. Умови полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР): первинна денатурація ДНК (98 °С, 3 хв); 30 циклів: денатурація при 98 °С 30 с, відпал праймера при 55 °С 30 с; елонгація при 72°С 1 хв; кінцева елонгація: 72 °С 10 хв, у кінці процесу ампліфікації температуру знижували до 4 °С. Продукти ампліфікації розділяли електрофорезом в 1 % агарозному гелі.

Секвенування здійснювала компанія Macrogen Europe на комерційній основі. Кожна послідовність була перевірена за допомогою базового інструменту пошуку локального вирівнювання (BLAST) у базі даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), щоб переконатися, що вона належить до правильного роду та виду, не є забрудненою, а також для пошуку найближчих збігів. Отримані нуклеотидні послідовності ITS регіону рибосомальної ДНК були депоновані до GenBank.

2.5. Методи визначення біосинтетичної активності макроміцетів

2.5.1. Визначення показників росту вегетативного міцелію макроміцетів

Ріст грибів на твердих (агаризованих) середовищах вимірювали за радіальною та середньою швидкістю росту. Радіальну швидкість росту (RCR, мм/добу) колонії грибів розраховували за формулою (Weis et al., 1999):

$$RCR = \frac{(R_2 - R_1)}{(t_2 - t_1)} \quad (2.8)$$

R_2 – радіус колонії в кінці фази лінійного росту, мм;

R_1 – радіус колонії на початку фази лінійного росту, мм;

$t_2 - t_1$ – тривалість фази лінійного росту, діб.

Середню швидкість росту (см/доба) колонії грибів розраховували за формулою:

$$\text{Середня швидкість росту} = \frac{\text{Діаметр колонії в останній день росту (см)}}{\text{Вимірювання кількості днів після інокуляції (доба)}} \quad (2.9)$$

На рідких середовищах оцінювали ефективність процесу культивування (ферментації) за наступними показниками (Nayak et al., 2013):

- концентрація біомаси (X , г/л) виражали у грамах сухої маси (г) на літр (л) за абсолютно сухою вагою:

$$X = X_{\text{макс}} - X_0 \quad (2.10)$$

де $X_{\text{макс}}$ – кількість біомаси на конкретну добу,

X_0 – кількість інокулюма.

- продуктивність за біомасою (P_x , мг·л⁻¹·добу⁻¹):

$$P_x = C_M \times 1,000/t \quad (2.11)$$

C_M (г/л) - концентрація міцелію в кінці культивування;

t - тривалість культивування (доба).

- продуктивність за продуктом (P_p , мг·л⁻¹·добу⁻¹):

$$P_p = C_p/t \quad (2.12)$$

C_p (мг/л) - концентрація продукту в кінці культивування;

t - тривалість культивування (доба).

2.5.2. Визначення вмісту полісахаридів

Визначення ендopolісахаридів проводили у сухій міцеліальній біомасі 30 досліджених видів грибів за описаною методикою (Mukchaylova et al., 2023). Для кількісного визначення внутріклітинних полісахаридів брали подрібнену наважку сухого міцелію у кількості 100 мг, переносили в пробірку об'ємом 20 мл, додавали 5 мл 1 М NaOH, закривали пробкою та екстрагували у термостаті при 60 °С протягом 1 години, періодично перемішували. Отриманий екстракт центрифугували 20 хвилин при 6000 об/хв. Осад відділяли, у супернатанті визначали вміст полісахаридів фенол-сірчаноокислим методом (Dubois et al., 1956). Виміри виконували на фотоелектроколориметрі при 490 нм в кюветі 5 мм. Контролем був розчин, що замість супернатанту містив 1 мл дистильованої води, 1 мл 5 % водного розчину фенолу та 5 мл концентрованої сірчаної кислоти.

Екзopolісахариди у культуральній рідині 30 видів грибів визначали ваговим методом (Narmuratova et al., 2023). Відділену культуральну рідину після зняття міцелію концентрували у роторному випарнику (втричі від початкового об'єму), осаджували 96 % охолодженим етанолом у співвідношенні 1:1 і та залишали за температури 4 °С до повного осадження на 24 год. Осад відділяли з супернатанту центрифугуванням при 8000×g протягом 15 хв та сушили при 60 °С до постійної ваги. Вміст полісахаридів визначали фенол-сірчаноокислим методом (Dubois et al., 1956) глюкозу використовували як стандарт. Виміри виконували на фотоелектроколориметрі при 490 нм в кюветі 5 мм. Контролем був розчин, що замість супернатанту містив 1 мл дистильованої води, 1 мл 5 % водного розчину фенолу та 5 мл концентрованої сірчаної кислоти. Вихід екзopolісахаридів виражали в грамах сухої ваги у перерахунку на літр культуральної рідини.

2.5.3. Визначення вмісту загальних фенольних сполук

Загальний вміст фенольних сполук у сухій міцеліальній біомасі 30 видів грибів та у їх культуральній рідині визначали реакцією з реактивом Фоліна–Чокальтеу (Reis et al., 2012b). Зразок екстракту (1 мл) змішували з 0,5 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу (попередньо розведеного водою у співвідношенні 1:10), з додаванням карбонату натрію (75 г/л, 4 мл) та води. Після вортексу (15 с) суміші інкубували при 40 °С протягом 30 хв. Оптичну густину реєстрували при 765 нм на спектрофотометрі (UV-1800, Китай). Контролем служив розчин усіх реактивів без екстракту гриба. Калібрувальну криву галової кислоти як стандарту використовували для розрахунку фенольних сполук. Вміст фенольних сполук виражали як міліграм еквівалентів галової кислоти на грам сухих зразків (мг ЕГК/г).

2.5.4. Визначення вмісту екзоферментів

Наявність екзоклітинних ферментів грибів у чашках Петрі з ГПДА середовищем та додатковим вмістом відповідних реактивів встановлювали за допомогою загальноприйнятих тестових якісних кольорових реакцій (Molitoris, 1986). Позитивну реакцію встановлювали за появою відповідного індикатору: забарвлення (червоно-коричневе або фіолетове забарвлення – реакція наявності лакази з α -нафтолом; рожеве забарвлення в зоні активності ферменту – реакція наявності уреазі на сечовину; ярко-рожеве забарвлення – реакція наявності нітрат-редуктази з α -нафтолом та сульфаніловою й оцтовою кислотами), знебарвлення зафарбованого середовища (безбарвні зони середовища – реакція наявності амілази на 3 % розчин Люголя), осад (білий осад – реакція наявності ліпази з Tween 80 та CaCl_2), зональність (за появою прозорих зон навколо міцеліальної колонії або під нею – реакція наявності протеази на желатин).

Кількісний вміст лакази визначали спектрофотометричним методом при 420 нм, використовуючи 2,2-азинобіс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонову

кислоту) (ABTS) у 0,1 М натрій-ацетатному буфері (рН 3,5) за температури 20 °С (Liu et al., 2007). Активність лакази виражали в одиницях активності на мілілітр ферментного розчину (Од/мл).

Відповідно до методики дослідження, рН поживних середовищ доводили до значення рН 6,0 за допомогою підготовлених розчинів 1N КОН або 1N НСІ.

2.5.5. Встановлення вмісту протеїну та амінокислот

Загальний азот у біомасі визначали за методом К'ельдаля (АОАС, 2023). Досліджений зразок (наважка 2,5 г) додавали до 5 г розчину суміші (CuSO_4 : K_2SO_4 : FeSO_4 9:90:1) і 25 мл концентрованої H_2SO_4 . Отриманий знебарвлений матеріал (10 мл) переганяли з 40 % NaOH у апараті К'ельдаля. Звільнений аміак збирали в 4 % розчині борної кислоти. Використовували індикатор метилен. Титрування проводили проти стандартного розчину H_2SO_4 до появи золотисто-жовтого кольору як кінцевої точки.

Сирий протеїн вираховували шляхом перерахунку кількості загального азоту з використанням вживаного для грибів коефіцієнту 4,38, та для субстратів – 6,25.

Для аналізу гідролізованих амінокислот (АК) зразки (міцелій грибів та культуральна рідина) піддавали гідролізу у соляній кислоті у вакуумно-герметичних пробірках при 106 °С протягом 24 годин. Вміст АК у гідролізатах визначали за допомогою автоматичного аналізатора Т-339 (Microtechnology, Чехія, Прага) з постколонковою дериватизацією за допомогою нінгідрину. Концентрації амінокислот (г/100 г білків) розраховували із зовнішніх стандартів для різних амінокислот.

2.5.6. Встановлення вмісту жиру та жирнокислотного складу ліпідів

Визначення сирого жиру в зразках (2 г) проводили екстракцією петролейним ефіром при 40–60 °С протягом 16 годин в екстракційній трубці

апарату Сокслета з наступним випарювання розчинника на киплячій водяній бані. Після цього екстракт витримували в духовці з гарячим повітрям при 105 °С протягом 30 хв і повністю висушити. Зразок охолоджували в ексикаторі та зважували.

Сирий жир (%) визначали за наведеною формулою:

$$\text{Сирий жир} = (M_2 - M_1) / M \times 100 \% \quad (2.13)$$

де M_2 – вага колби + вага зразка жиру, г

M_1 – вага колби, г

M – вага зразка гриба.

Визначення жирнокислотного складу міцеліальної біомаси було виконано із залученням методу, заснованого на перетворенні тригліцеридів жирни кислот у їх метилові естери, з наступним газово-рідинним хроматографічним визначенням на хроматографі HRGC 5300 Mega (Carlo Erba, Італія). Умови: скляна набивна колонка (3,5 м), заповнена Chromosorb W/HP з нанесеною 10 % рідкою фазою Silar 5CP при умові програмованої температури 140–250 °С з нарощуванням 2 °С/хв. Ідентифікацію жирних кислот проводили за допомогою стандартів фірми Sigma, Serva, їх вміст виражали у відсотках від загальної суми.

2.5.7. Визначення антагоністичної активності

Антагоністичну активність (АА) грибів вивчали відносно різних мікроміцетів: *Aspergillus niger* Tiegh. IFBG 134, *Penicillium polonicum* K.W. Zaleski IFBG 138, *Mucor* sp. Fresen. IFBG 139 (з Колекції мікроорганізмів та ліній рослин для харчової та сільськогосподарської біотехнології ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»), *Pichia kudriavzevii* Boidin, Pignal & Besson (синоніми: *Issatchenkia orientalis*, *Candida krusei*) 301 і *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 17/138, 311, 315, 319 (з музею патогенних для людини мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хворобі

ім. Л.В. Громашевського НАМН України»), *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I. C. Hallett, *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. з колекції мікроорганізмів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Дослідження проводили у чашках Петрі на КДА методом подвійних культур, відразу після інокуляції чашки Петрі герметизували плівкою «Parafilm «М», та інкубували в темряві за температури 26 ± 1 °C протягом 14 діб, з подальшим моніторингом до 30 днів. Ріст грибів спостерігали щодня протягом місяця та фіксували морфологічні зміни (забарвлення міцелію та агару, візуалізація лінії контакту, виділення крапель ексудату, утворення щільних зон міцелію, примордіїв та ін.) у взаємодіючих колоніях. Відсоток інгібування росту міцелію реєстрували на 9-й день, а тип взаємодії – кожні три дні протягом 30 днів.

Оцінювали характер та динаміку взаємодії контактуючих колоній за шкалою реакцій антагонізму, запропонованою Badalyan et al. (2002, 2004) (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Взаємодія колоній грибів за шкалою реакцій антагонізму

Реакції взаємодії контактуючих колоній грибів			Шкала реакцій
Тип	Взаємне гальмування росту колоній грибів при контакті	A	1
	Взаємне гальмування росту колоній грибів на дистанції	B	2
	Спокійне наростання одного гриба на колонію іншого гриба без затримки його росту	C	3
Підтип	Часткове наростання колонії одного гриба на іншу колонію гриба після взаємного гальмування росту колоній при контакті	C _{A1}	3,5
	Часткове наростання колонії одного гриба на іншу колонію гриба після взаємного гальмування росту колоній на дистанції	C _{B1}	4
	Повне наростання колонії одного гриба на іншу колонію гриба після взаємного гальмування росту колоній при контакті	C _{A2}	4,5
	Повне наростання колонії одного гриба на іншу колонію гриба після взаємного гальмування росту колоній на дистанції	C _{B2}	5

Для кожного виду грибів розраховували індекс антагонізму (AI) за наступною формулою:

$$AI = A(n \times 1) + B(n \times 2) + C(n \times 3) + C_{A1}(n \times 3.5) + C_{B1}(n \times 4) + C_{A2}(n \times 4.5) + C_{B2}(n \times 5), \quad (2.14)$$

де n = частота кожного типу або підтипу реакції.

Для грибів, що продемонстрували реакції наростання типів А і В, визначали відсотки пригнічення росту культур, що контактують: диски діаметром 8 мм, один – з колонії макроміцетів і один – з колонії мікроміцета, поміщали на поверхню агару один напроти іншого на відстані 30 мм. І одночасно для контролю росту у монокультурі по одному 8 мм диску з відповідним грибом поміщали у центр чашки Петрі. Вимірювали діаметр колонії та розраховували відсоток пригнічення росту за формулою Singh & Tripathi (1999):

$$PI = \frac{d_c - d_t}{d_c} \times 100, \quad (2.15)$$

де PI = відсоток інгібування росту мікроміцета, %

d_c = ріст мікроміцета на контрольній чашці (мм),

d_t = ріст мікроміцета в подвійній культурі (мм).

Визначали інгібування росту умовних патогенів (*A. niger*, *C. albicans*, *P. kudriavzevii*, *P. polonicum*) культуральною рідиною *Cordyceps militaris*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Pseudospongipellis litschaueri*, *Lentinula edodes*, *P. ostreatus*, *Trametes versicolor*. Для цього інокульовані міцеліальними дисками відповідної культури гриба колби з ГПД інкубували у термостаті без перемішування за температури $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Після 14 днів культивування міцелій стерильно видаляли, а культуральну рідину змішували з попередньо підготовленим (розплавленим) і охолодженим до 40°C поживним середовищем

КДА у співвідношенні 1:1. Отриману суміш розливали по чашкам Петрі діаметром 45 мм. Після затвердіння середовища в центр чашки Петрі стерильно вносили один диск (8мм), вирізаний з колонії відповідного патогена. І одночасно для контролю росту у монокультурі по одному 8 мм диску з відповідним патогеном поміщали у центр чашки Петрі. Відразу після інокуляції чашки Петрі герметизували плівкою «Parafilm «М» й інкубували в темряві за температури 26 ± 1 °С. Через 7 днів визначали індекс інгібування патогенів за вищезазначеною формулою (2.15).

2.5.8. Визначення антибактеріальної активності

Антибактеріальну активність 30 видів грибів та їх культуральної рідини проводили методом дифузії в агар. Нативний гомогенізований міцелію 30 видів грибів, отриманий на ГПД середовищі і натуральному середовищі з CO₂-шротом амаранту та концентровану на пісочній бані (у 10 разів) їх нативну культуральну рідину наносили на стерильні диски з фільтрувального паперу діаметром 8 мм, які розміщували в чашки Петрі на поверхню агаризованого м'ясопептонного середовища (МПА, готове поживне середовище Державного дослідного підприємства Інституту продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України). Як тест-культури використовували спорові добові суспензії (10^6 КУО/мл) бактерій: *Staphylococcus aureus* Rosenbach УКМ В-4001 (АТСС 65388), *Bacillus subtilis* Ehrenberg, Cohn, УКМ В-906 (АТСС 6633) та *Escherichia coli* Migula, Castellani & Chalmers, УКМ В-901 (АТСС 25922) з Української Колекції мікроорганізмів (УКМ) Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, які культивували за температури 37 °С. Антибактеріальну активність оцінювали шляхом вимірювання діаметра зони затримки росту (мм). Антибактеріальну активність реєстрували у випадках, коли зона інгібування перевищувала 8 мм.

Фільтрувальні диски, просочені деякими комерційними антибіотиками (Сульфадіметоксин, Левоміцетин (Прат «Дарниця», Україна), Еритроміцин,

Лінкоміцин, Тетрациклін, Цефтріаксон (ПАТ НВЦ «Борщагівський» ХФЗ, Україна), Гросептол (ТОВ «Гедеон Ріхтер», Польща), Грамокс А (ТОВ «Сперко Україна», Україна), Зітроцин (ТОВ «Юнік Фармасьютикал Лабораторіз», Індія), Бензиленцимін, Гентаміцин (ПАТ «Галичфарм», Україна) та натуральними ефірними оліями шавлії та евкаліпта (ТОВ «Ароматика», Україна), використовували як референс препарати для оцінки ефективності та перспективності використання грибів. Дистильовану воду використовували як негативний контроль.

Дослідження антибактеріальної активності нативної, нативної концентрованої (у 5–10 разів), ліофілізованої, та висушеної культуральної рідини *F. betulina* проводили методом серійних розведень на середовищі Мюллер-Хінтона (Conda, США) згідно з методичними рекомендаціями (Міністерство охорони здоров'я України, 2007). Відокремлену від міцеліальної біомаси шляхом фільтрації культуральну рідину висушували за допомогою ліофільної сушарки (Telstar Cryodos-80, Терасса, Іспанія) з попереднім заморожуванням за температури $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, або з використанням лабораторної сушарної шафи (Snol-58/350, Umega, Литва).

За стерильних умов у 6 пробірок вносили по 1 мл середовища, у першу додавали 2 мл досліджуваного екстракта *F. betulina* певної концентрації, після чого перемішували, відбирали 1 мл і переносили у наступну пробірку. Аналогічно проводили розведення для наступних 5 пробірок. З останньої пробірки відбирали 1 мл. Таким чином, кінцевий об'єм у кожній пробірці становив 1 мл (середовище Мюллер-Хінтона чи культуральна рідина гриба), а концентрація культуральної рідини гриба у кожній наступній пробірці знижувалася у 2 рази. Для інокуляції використовували мікробну суспензію, еквівалентну 0,5 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів на поживному бульйоні, концентрація клітин становила 10^6 КУО/мл. По 0,5 мл інокулюма вносили в кожну пробірку, що містила по 0,5 мл відповідних розведень препарату (зразка культуральної рідини гриба), та перемішували. Пробірки інкубували впродовж 24 год при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Як контроль використовували

0,5 мл середовища Мюллер-Хінтона на стерильність, контроль росту еталонних бактерій *Pseudomonas aeruginosa* Schroeter, Migula ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та клінічні ізоляти *P. aeruginosa* 99/3066 MBL, *P. aeruginosa* 99/3066 MBL, *E. coli* 116/3196 KPC, *S. haemoliticus* Schleifer & Kloos 22/824 MRSA, *S. aureus* 134/ 3569 MRCNS, *Klebsiella pneumoniae* Schroeter, Trevisan 6/509 ESBL, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* 50/1496 MBL, *Acinetobacter baumannii* Bouvet Grimont 88/2995 MBL з музею патогенних для людини мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України». Результати оцінювали за наявністю або відсутністю росту мікроорганізмів (за ступенем мікробного помутніння живильного середовища). МІК зразків культуральної рідини вважали ту мінімальну концентрацію, яка викликала повне інгібування росту мікроорганізму, що досліджувався. Для оцінки проводили визначення МБЦК, шляхом висіву по 0,1 мл з кожної пробірки з препаратом на агаризоване середовище Мюллер-Хінтона. Інкубація при 37 °С протягом 24 год. МБЦК препарату до мікроорганізмів встановлювали як найменшу концентрацію, при якій був відсутній ріст на агаризованому середовищі Мюллер-Хінтона.

Антимікробну активність спиртових (EtOH) екстрактів міцелію *Hohenbuehelia tuxotricha* досліджували з використанням методу розведення в агарі методом розведення агару відповідно до рекомендацій Інституту клінічних та лабораторних стандартів, Європейського комітету стандартів (CLSI, 2012) та Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості з тестування антимікробної чутливості (EUCAST, 2015). Висушений за температури 60 °С, подрібнений міцелій (5 г), отриманий на ГПД та СД середовищах екстрагували 30 мл 96 % етанолу (EtOH) за допомогою нагрітої магнітної мішалки протягом приблизно 24 годин з наступною фільтрацією через фільтрувальний папір (№ 4) та концентрували при 40 °С у роторному випарнику (Heidolph Laborota 4000 Rotary Evaporator, Польща). Екстракти використовували у різних концентраціях 12,5–800 мкг/мл. Розчинник використовували як негативний контроль. Комерційні антибіотики: Флузол (Флуконазол, Nobel Ilac Sanayii Ve Ticaret A.S.,

Туреччина), Амфоліп (Амфотерицин В, Bharat Serum and Vaccines, Індія), Амікацин (Provet Veterinary Products, Туреччина), Альфазид (Ампіцилін, Avis Пас А.С., Туреччина) та Флапрокс (Ципрофлоксацин, World Medicine Пас Сан. Ве Тіс. А.С., Туреччина) використовували як референтні препарати.

Антимікробну активність встановлювали проти добових суспензій (10^6 КУО/мл) тест бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* Schleifer & Kilpper-Bälz ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 та грибів *Candida albicans* (С.-Р. Robin) Berkhout ATCC 10231, *Nakaseomyces glabratus* Sugita & Takashima (*C. glabrata*) ATCC 90030 та *Pichia kudriavzevii* (ATCC 34135), отриманих з Американської Колекції мікроорганізмів (American Type Culture Collection). Тест бактерії попередньо культивували в бульйоні Мюллера-Хінтона, тест гриби – на комерційному середовищі RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, США). Оцінювали МІК екстрактів міцелію *H. myxotricha*.

2.5.9. Визначення антиоксидантної активності

Сухий подрібнений міцелій (1 г) 30 видів грибів екстрагували різними розчинниками (10 мл): етилацетатом (EtOAc), метанолом (MeOH), етанолом (EtOH), водою (H₂O) та водно-етанольними сумішами (70 % та 50 % EtOH). Екстракцію проводили за кімнатної температури на орбітальному шейкері зі швидкістю перемішування 100 об/хв протягом 72 годин. Після процедури екстрагування з міцелію грибів проводили центрифугування при 9000 об/хв при 4 °С протягом 10 хв, а потім супернатант кожного міцелію грибів піддавали подальшому аналізу.

Культуральну рідину 30 видів грибів піддавали рідинно-рідинній екстракції EtOAc у співвідношенні (1:2) при кімнатній температурі та перемішуванні протягом 72 годин зі швидкістю 100 об/хв. Після поділу фракцій на колонці, етил ацетатну фракцію упарювали за допомогою вакуумного

роторного випарника (40 °С). Залишки розчиняли в розчиннику у співвідношенні 1:1 (мас/об) і піддавали подальшому аналізу.

Вимірювання антиоксидантної активності грибних екстрактів проводили з використанням вільного стабільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрил-гідразилу (DPPH) за методикою, описаною в дослідженні Liu et al. (2007). DPPH – стабільний вільний радикал, розчини якого має інтенсивно-фіолетове забарвлення ($\lambda_{\text{max}} = 517 \text{ нм}$). Взаємодія DPPH зі сполуками, що здатні вловлювати вільні радикали, спричинює появу жовтого кольору. Об'єм 100 мкл метанольного екстракту різних концентрацій змішували з 2900 мкл розчину DPPH (120 мкМ) у метанолі. Суміш інкубували у темному середовищі за температури 37 °С протягом 30 хв. Контролем у цьому експерименті слугувала суміш метанолу та DPPH, без додавання грибного екстракту. Вимірювання поглинання проводили при довжині хвилі 517 нм, а інгібування DPPH визначали шляхом розрахунку відсотка активності поглинання радикалів для кожного грибного екстракту. Цей розрахунок проводили за наведеним рівнянням:

$$\text{АОА} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{зразка}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (2.16)$$

де АОА – антиоксидантна активність, %

A – це показник поглинання.

Визначення загального оксидантного статусу (TAS), загального окислювального статусу (TOS), та індексу окисного стресу (OSI) досліджували на прикладі EtOH екстракту міцелію *Hohenbuehelia tuxotricha*, отриманого після глибинного культивування (14 діб) на ГПД та середовищі Сабуро у термостаті за температури $26 \pm 1 \text{ °С}$ без перемішування.

Приготування екстракту: висушений за температури 60 °С, подрібнений міцелій (5 г) *H. tuxotricha* екстрагували 30 мл 96 % EtOH за допомогою магнітної мішалки протягом 24 годин з наступною фільтрацією через

фільтрувальний папір (№ 4) та концентрували при 40 °С у роторному випарнику (Heidolph Laborota 4000 Rotary Evaporator, Польща).

TAS і TOS статус зразків міцелію *H. myxotricha* визначали за допомогою наборів TAS для аналізу Rel (Erel, 2004). Тролокс використовувався як калібратор у тестах на антиоксиданти. Перекис водню використовувався як калібратор у випробуваннях на окислювачі.

Індекс окисного стресу (OSI) (довільна одиниця) визначали за наступною формулою (Erel, 2005):

$$OSI = \frac{TOS \text{ (}\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ еквівалент/л)}}{TAS \times 10 \text{ (mmol Trolox еквівалент/л)}} \quad (2.17)$$

TAS – загальний антиоксидантний статус;

TOS – загальний окислювальний статус.

Значення OSI показує, наскільки ендogenous антиоксиданти пригнічують окислювальні сполуки в зразку.

2.5.10. Визначення противірусної активності

Для встановлення антивірусної активності було відібрано 10 видів грибів, біомаса яких була вирощена на живильному середовищі (основа – CO₂-шрот амаранту) при культивуванні протягом 14 діб у термостаті без перемішування за температури 26 ± 1 °С. У експериментах використовували 10%-ний водний екстракт біомаси *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Flamullina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Lyophyllum schimeji*, *Pleurotus eryngii*, *P. ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Schizophyllum commune*. Водний екстракт міцелію грибів отримували наступним чином. В скляну пробірку вносили 10 г сухої міцеліальної біомаси додавали 90 мл дистильованої води, закривали кришкою і добре перемішували, використовували для екстракції водяну баню (температура 60 °С) протягом 4 годин, з періодичним перемішуванням вмісту пробірки. Переносили вміст пробірок у центрифужні пробірки. Двічі змивали зі

стінок пробірки залишки біомаси, з поетапним додаванням дистильованої води, спочатку 2 мл, а потім 1 мл. Центрифугували 10 хв за 6000 об/хв і отримали надосадкову рідину, яку використовували для подальших досліджень.

Для визначення токсичності (максимально переносимої концентрації – МПК) та протигрипозної активності суспензії грибів використовували культуру клітин MDCK (перещеплювана культура клітин нирки собаки – кокер-спанієля). У дослідах застосовували не менш ніж десять рядів лунок в планшетах з культурою клітин для кожного розведення препарату в поживному середовищі. Планшети з культурою клітин інкубували при 37 °С з подачею 5 % CO₂ протягом 5 днів. Щодня проводили спостереження дослідних та контрольних культур з метою встановлення наявності або відсутності цитопатогенної дії (ЦПД). Ступінь ЦПД визначали за зміною морфології клітин (округлення, зморщування клітин, відторгнення від поверхні лунок дегенеративно змінених по 4+ плюсовій системі від + до ++++): “-“ – повна відсутність дегенерації клітин; “+” – уражено не більше 25 % (захист клітин моношару від антивірусного препарату на 75 %); “++” – уражено не більше 50 % клітинного моношару; “+++” – уражено не більше 75% клітинного моношару; “++++” – повна дегенерація клітинного моношару. За МПК препарату приймали його найбільшу (максимальну) кількість, яка не викликала дегенерацію клітин.

Визначали мінімально активну концентрацію (МАК), тобто мінімальну кількість препарату, яка гальмує розвиток вірус-специфічної цитопатогенної дії (ЦПД) на 50 %. Для визначення МАК тест-вірус у дозі 100 ТЦД₅₀ в об’ємі 0,1 мл вносили в культуру клітин MDCK та інкубували протягом 60 хвилин за температури 37 °С. Після адсорбції вірусу на клітинах залишки його видаляли, клітини відмивали живильним середовищем, після чого в підтримувальне середовище (RPMI 1640 + 2 % фетальної сироватки) вносили препарати у різних концентраціях. Відсутність ЦПД у досліді (в оброблених культурах), при наявності його в контролі, а також зниження інфекційного титру в оброблених культурах, при наявності його в контрольних та різниця інфекційних титрів у досліді в порівнянні з контролем вірусу грипу дозволяли виявити МАК грибів.

Визначення протигрипозної активності грибів *in vitro* проводили на перещеплюваній культурі клітин MDCK. Перед інфікуванням культуру клітин обробляли розчином трипсину в дозі 2 мкг/мл. Використовували вірус грипу, штам A/FM/1/47(H1N1), інфекційний титр в клітинах MDCK - 6,0 lg ID₅₀. Потім середовище росту зливали, до клітин вносили вірус грипу в дозі 100 ID₅₀ і залишали для контакту на 60 хв, потім додавали екстракти грибів у різних концентраціях і до клітин додавали підтримуюче середовище. Після 48–72 год інкубації клітин культуральну рідину збирали і в ній визначали активність гемаглютининів та інфекційний титр вірусу грипу.

Для визначення протигерпетичної активності екстрактів грибів в умовах *in vitro* використовували добову перещеплювану культуру клітин RK-13 (культура клітин нирки кролика). Клітини вирощували в плашках (Nunclon, Surface, Данія) на середовищі RPMI 1640 з додаванням 10 % фетальної сироватки при температурі 37 °C у термостаті з подачею 5 % CO₂. Ростове середовище зливали, до клітин додавали вірус герпесу 2-го типу і залишали на 1 годину контакту. Через 1 год контакту неадсорбований вірус видаляли і додавали суспензії екстрактів грибів у різних концентраціях, в лунки вносили підтримуюче середовище (живильне середовище без сироватки). Культури інкубували в термостаті з подачею 5 % CO₂ протягом 3 діб, щодня контролюючи стан клітин за допомогою мікроскопа. Одночасно ставили контроль вірусу. Через 72 год інкубації клітин культуральну рідину збирали і в ній визначали інфекційний титр вірусу з титруванням в культурі клітин.

Для оцінки ефективності дії грибних екстрактів розраховували хіміотерапевтичний індекс (ХТІ) шляхом встановлення співвідношення МПК до МАК (Щербінська та ін. 2001).

2.5.11. Визначення протипухлинної активності

У проведених експериментах використовували водні екстракти та суспензії міцелію *Trametes versicolor* та *Auriporia aurea*, отримані на живильному

середовищі (основа – CO₂-шрот амаранту) при культивуванні протягом 14 діб у термостаті без перемішування за температури 26 ± 1 °С. Водний екстракт міцелію грибів отримували наступним чином. В скляну пробірку вносили 2 г біомаси додавали 10 мл дистильованої води, закривали кришкою і добре перемішували. Ставили пробірку на водяну баню (температура 60 °С) на 4 години, час від часу добре перемішували вміст пробірок. Переносили вміст пробірок у центрифужні пробірки. Двічі змивали зі стінок пробірки залишки біомаси, поетапним додаванням дистильованої води, спочатку 2 мл, а потім 1мл. Центрифугували 10 хв за 6000 об/хв і отримали надосадкову рідину темно коричневого кольору. Суспензію отримували шляхом суспендування міцелію (2 г) грибів у фізіологічному розчині.

Як моделі росту злоякісного новоутворення при дослідженні протипухлинної активності екстрактів міцелію грибів *Trametes versicolor* та *Auriporia aurea* використовували штами карциноми легені Льюїса мишей та карциноми Герена у щурів, отримані з Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України з Національного банку культур тканин. Трансплантацію карциноми Льюїса мишам здійснювали шляхом внутрішньом'язевого введення 0,2 мл 10 % суспензії клітин у фізіологічному розчині (3·10⁶ кл/мл). Трансплантацію карциноми Герена проводили щурам шляхом підшкірного введення в ділянку стегна 30 % суспензії пухлинних клітин у фізіологічному розчині. Інокулят давав фокус пухлинного росту на місці введення. Результати дослідів з пухлинами (карциномою Герена та карциномою Льюїса) оцінювали за динамікою об'єму пухлин та середньою тривалістю життя тварин після перещеплення пухлин (Shmarakov & Katan, 2011) Пухлини вимивали з черевної порожнини ізотонічним розчином натрію хлориду.

Дослідження проводили на мишах лінії C57BL6/J віком 2-2,5 місяці та вагою 18-20 г та білих безпородних щурах віком 2,5-3 місяці та масою 90–100 г. Починаючи з 6 доби після інокуляції пухлинних клітин карциноми Льюїса, тварини були розділені на групи:

- група I (П, контрольна) – тварини з перещепленою карциномою Льюїса (15 мишей), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* 200 мкл фізіологічного розчину;
- група II (П+Г, дослідна) – тварини з перещепленою карциномою Льюїса (10 мишей), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* 200 мкл водного екстракту міцелію гриба *Trametes versicolor*.

Щоденно проводився моніторинг морфологічних параметрів дослідних тварин, включаючи масу тіла, розмір основного пухлинного вузла. Розмір первинної пухлини карциноми (V, мм) Льюїса розраховували за формулою:

$$V = ab^2, \tag{2.18}$$

де a – більший діаметр пухлини, мм

b – менший діаметр пухлини, мм

Евтаназію тварин проводили на 18-ту добу після перещеплення карциноми Льюїса (період активного росту пухлини та гематогенного метастазування у легенях) під легким ефірним наркозом. Видаляли легені та проводили підрахунок кількості метастазів, їх розмірів та характер розміщення. Окремо по 5 тварин кожної групи залишали для моніторингу тривалості життя.

Починаючи з 6 доби після інокуляції пухлинних клітин карциноми Герена, тварини були розділені на групи:

- група I (П, контрольна) – тварини з перещепленою карциномою Герена (10 щурів), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* по 1 мл фізіологічного розчину через кожні 12 годин;
- група II (П+E1, дослідна 1) – тварини з перещепленою карциномою Герена (6 щурів), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* по 1 мл водного екстракту міцелію гриба *Trametes versicolor* через кожні 12 годин.
- група III (П+C1, дослідна 2) – тварини з перещепленою карциномою Герена (6 щурів), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* 1 мл водної суспензії міцелію гриба *T. versicolor*.

- група IV (П+E2, дослідна 3) – тварини з перещепленою карциномою Герена (6 щурів), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* по 1 мл водного екстракту міцелію гриба *Auriporia aurea* через кожні 12 годин.
- група V (П+C2, дослідна 4) – тварини з перещепленою карциномою Герена (6 щурів), які отримували щоденно інтрагастрально *per os* по 1 мл водної суспензії міцелію гриба *A. aurea* через кожні 12 годин.

Щоденно проводився моніторинг морфологічних параметрів дослідних тварин (розмір основного пухлинного вузла) та моніторинг тривалості життя. Розмір первинної пухлини (V , мм) карциноми Герена розраховували за формулою:

$$V = ab^2, \tag{2.19}$$

де a – більший діаметр пухлини, мм

b – менший діаметр пухлини, мм

Тварин утримували у стандартних умовах віварію при фіксованому режимі освітлення 12:12, на стандартному раціоні харчування за умови вільного доступу до води. Всі експерименти з тваринами проводили відповідно до Національних загально етичних принципів експериментів на тваринах (Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження», стаття 26 № 3447-IV від 21.02.2006), що узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їхнім використанням в експериментах, були дотримані.

2.5.12. Визначення ранозагоювальної активності

Для визначення можливого ранозагоювального ефекту використовували подрібнений сухий міцелій *Ganoderma lucidum* 1900 і *Crinipellis schevczenkovi* 31, отримані при глибинному культивуванні (14 діб) у термостаті, за температури $26 \pm 2^\circ\text{C}$ на поживному середовищі на основі CO_2 -шроту амаранту. Водний

екстракт грибів отримували шляхом змішування 100 мг порошкоподібного міцелію відповідного гриба з 1 мл стерильної дистильованої води для ін'єкцій при струшуванні за температури 60 °C протягом 30 хв. Потім центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хвилин. Екстракти зберігали в холодильнику при температурі 4 °C.

Експерименти проводили на білих мишах-альбіносах лінії FVB, 3-місячного віку чоловічої статі. Миші були надані Європейською молекулярно біологічною лабораторією (ЄМБЛ) і утримувалися на базі кондиційованого віварію Інституту геронтології при фіксованому режимі освітлення 12:12, їх годували стандартною їжею і водою *ad libitum*.

Для проведення експериментів використовували модель висічної рани (Sharifi-Rad et al., 2020). Усі маніпуляції з тваринами проводилися під анестезією хлороформом. На спинній ділянці хутро видаляли голінням, після дезінфекції підстриженої області з 2 %-ним розчином detox®, був зроблений розріз близько 5 мм в діаметрі (повна товщина кругової шкіри) для подальшої обробки екстрактами грибів чи контролем.

Тварини були розділені на три групи: група I і II були тестові групи, група III – контрольна.

Група I: піддослідних тварин обробляли 20 мкл водного екстракту міцелія *Ganoderma lucidum* місцево один раз на день протягом 6 днів.

Група II: піддослідних тварин обробляли 20 мкл водного екстракту міцелія *Crinipellis schevczenkovi* місцево один раз на день протягом 6 днів.

Група III: контрольну групу тварин обробляли стерильною дистильованою водою один раз на день протягом 8 днів.

Зразки шкіри відбирали на 3-тю та 5-ту добу після операції, фіксували в 10 % буферному розчині формаліну, зневоднювали в спиртах і заливали в парафін для подальших гістологічних досліджень. Із тканини, що знаходилась у парафінових блоках, робили зрізи товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином, і оцінювали їх стан за гістопатологічними змінами. Вивчення зрізів проводили з допомогою світлового мікроскопа (Leica DC500).

Для кількісного аналізу довжини відкритої рани було використано програмне забезпечення “Image J”.

Всі експерименти проводили відповідно до Національних загальноетичних принципів експериментів на тваринах (Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження», стаття 26 № 3447-IV від 21.02.2006), що узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Усі процедури, пов’язані з етичним поводженням з тваринами та їхнім використанням в експериментах, були дотримані.

2.5.13. Визначення сорбційної активності

Досліджували вплив поживного середовища культивування на основі відповідного монокомпонентного субстрату (шрот зародків пшениці, шрот амаранту після CO₂-екстракції, макуха ріпаку) на сорбційну здатність міцелію *P. ostreatus*.

До наважки подрібненої міцеліальної біомаси *Pleurotus ostreatus* 551 (НК-35) додавали 30 мл теплої (45–50 °C) дистильованої води, перемішували і залишали на 10 хв. для набухання. До отриманої суміші додавали 1 мл 0,1 М розчину солі досліджуваного металу, перемішували 1 годину на магнітній мішалці, фільтрували крізь складчастий фільтр. У фільтраті визначали вміст іонів досліджуваних металів за методом градуювального графіка. Кількість Pb²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺, що була сорбована грибним порошком, визначали як різницю між масою Pb²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺, що була внесена і масою Pb²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺, що була знайдена у фільтраті.

За допомогою розведених розчинів HNO₃ і NaOH, CH₃COOH і уротропіна доводили рН розчинів.

Визначення Pb²⁺, Cd²⁺ та Hg²⁺ у фільтраті проводили згідно з описаною методикою (Костенко та Бутенко, 2012). Для визначення сорбції Pb²⁺ міцелієм *P. ostreatus* у мірну пробірку місткістю 10 мл вносили 1 мл фільтрату, 1 мл

0,01 М HNO₃ для створення рН 3, додавали 2 мл 10⁻³ М водного розчину металохромного індикатора сульфоназо III і доводили загальний об'єм до 10 мл дистильованою водою. Вимірювали оптичну густина при $\lambda = 660$ нм відносно води через 5 хвилин після змішування розчинів. Виявлення Cd²⁺ та Hg²⁺ у фільтраті виконували наступним чином: у мірний стакан місткістю 50 мл вносили 1 мл фільтрату, додавали 1 мл 10⁻³ М розчину металохромного індикатора – ксиленоловий помаранчевий, додавали дистильовану воду і створювали в об'ємі 25 мл рН 5,8 за допомогою уротропіну та HCl при постійному перемішуванні. Оптичну густина вимірювали при $\lambda = 580$ відносно води через 5 хвилин після змішування розчинів.

2.6. Визначення фармако-технологічних властивостей гранульованої суміші міцелію *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis pinicola*

Сухі 14-добова міцеліальна біомаси *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* (отримані після культивування на середовищі з CO₂-шротом амаранту) та *Fomitopsis pinicola*, отримана на оптимізованому поживному середовищі) була досліджена на основні фармако-технологічні властивості. Аналіз здійснювали згідно методики Державної фармакопеї України (ДФУ, 2015). Одержані порошки просіювали крізь стандартний набір металотканих сит діаметром 20 см з розмірами отворів від № 1400 до № 90, використовуючи метод механічного струшування протягом 5 хвилин. Результати оцінювали за різницею у масі сита до початку випробування і після його завершення разом із порошком. Кристалографію подрібненого міцелію оцінювали при збільшенні у 400 разів використовуючи мікроскоп XSM-20 (Китай). Аналізовані зразки мас для інкапсулювання отримували методом вологого гранулювання з використанням сит з діаметром отворів 2 мм та 1 мм за допомогою лабораторного гранулятора НГ-12 (ТОВ «Адоніс», Україна). Гранули висушували за температури 50 °С протягом 3 год у конвекційній сушарці. Після обпудрювання гранулят підлягав

вивченню за параметрами насипної густини та густини після усадки порошків, текучості порошків, а саме показнику стисливості та коефіцієнту Гауснера.

Зразки мас для інкапсулювання підлягали вивченню за показником втрати в масі при висушуванні.

Для формування модельних зразків мас для інкапсулювання використовували такі допоміжні речовини: лактоза моногідрат марки GranuLac® 200 (виробництва Meggle, Німеччина); мікрокристалічна целюлоза (МКЦ) 101 (виробник Mingtai Chemical Co. LTD, Taiwan); маніт (постачальник ТзОВ «СФЕРА СІМ», Україна); натрій кроскармелоза (виробник Mingtai Chemical Co. LTD, Taiwan); магнію стеарат (виробник ТОВ НВП «Електрогазохім», Україна); тальк (постачальник ТзОВ «СФЕРА СІМ», Україна); полівінілпіролідон (ПВП) К30 марки (виробник StarTech & JRS Speciality Products Co. LTD, Китай); карбоксиметилцелюлоза FH60 (постачальник ТОВ «ІНГРЕДІЯ», Україна).

Наповнення капсул здійснювали методом вдавлювання за допомогою ручного капсулятора на 100 комірок (НПО Гідромаш-1, м. Київ, Україна).

2.7. Статистична обробка результатів

Результати експериментів отримано у трикратній біологічній повторності. У таблицях наведено середні значення для трьох біологічних повторів, представлені як середнє арифметичне \pm стандартне відхилення ($M \pm SD$). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакету Microsoft Excel. Достовірність результатів становила 95 % ($p \leq 0,05$). Статистичний аналіз включав однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) з подальшим застосуванням LSD-критерію Фішера для множинних порівнянь та розрахунок коефіцієнта кореляції (r). Відмінності між групами вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ МАКРОМІЦЕТІВ ТА НАКОПИЧЕННЯ МЕТАБОЛІТІВ

З точки зору користі для людини, у проведених дослідженнях використовували гриби, які віднесені до різних категорій (Chang & Wasser, 2017): (a) гриби, що належать до їстівних; (b) гриби, які вважаються такими, що мають лікувальні властивості, і називаються лікарськими; (d) «інші гриби», які включають гриби, властивості яких залишаються менш визначеними. Зазначене розділення грибів за категоріями є умовним, оскільки молоді плодові тіла деяких видів грибів, зокрема *Coprinus comatus*, *Fomitopsis betulina* можуть вживатися і є умовно їстівними. У Європі та Америці *Schizophyllum commune* вважається неїстівним, здебільшого через малий розмір, шкірясту текстуру плодового тіла. Однак в Індонезії та південно-східній Африці, Мексиці, Китаї та інших тропічних країнах він є їстівним делікатесом (Han et al., 2005; Ruán-Soto et al., 2006). Разом з цим, більшість їстівних грибів вважаються лікарськими.

За результатами аналізу літератури, тринадцять використаних в роботі видів (*Cyclocybe aegerita*, *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*, *Hypsizygos marmoreus*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Morchella esculenta*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*) були обрані нами як відомі представники їстівних грибів з високою харчовою цінністю та важливими лікувальними властивостями, дванадцять видів (*Coprinus comatus*, *Cordyceps militaris*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Inonotus obliquus*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Phellinus igniarius*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*) як лікарські гриби та п'ять видів (*Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri*), які відносяться до категорії «d».

Проведення експериментів передбачало роботу з культурою зазначених вище видів макроміцетів *in vitro*. До макроміцетів традиційно відносять

представників вищих грибів (Dikarya) з відділів Ascomycota та Basidiomycota, для життєвого циклу яких характерне утворення статевих спороношень у спеціалізованих спорокарпах (макроскопічних плодових тілах). Таким чином, макроміцети у своєму життєвому циклі мають дві фази розвитку: вегетативну фазу (міцелій) і репродуктивну (плодові тіла). Зважаючи на певні проблеми та складнощі одержання плодових тіл грибів, використання чистої культури грибів, і відповідно міцеліальної біомаси, має ряд суттєвих переваг:

- відсутність сезонності збору врожаю дикорослих плодових тіл грибів та обмеженості тривалості плодоношення грибів та їх кількості;
- досить висока продуктивність росту та біосинтетична активність грибів в культурі;
- мікробіологічна чистота культивованої міцеліальної біомаси грибів, постійність якісного та кількісного складу;
- можливість контролю прогнозованого рівня синтезу міцеліальної біомаси та біологічно активних метаболітів як в міцелії так і в культуральній рідині за рахунок контрольованих умов вирощування;
- енергоощадна технологія дозволяє отримати бажані цільові продукти ферментації за короткий період часу.

Культивування міцелію *in vitro* є найкращим методом отримання міцелію та бажаних біологічно активних метаболітів для подальшої розробки стабільних та безпечних біотехнологічних продуктів на основі макроміцетів і, таким чином, має значний промисловий потенціал.

З огляду на це, створені колекції мікроорганізмів, зокрема грибів, є цінним і доступним джерелом різноманітних природних метаболітів. Доцільність та необхідність існування таких ресурсів для фундаментальних і прикладних досліджень підтримується на державному рівні. Одним із таких цінних ресурсів є Колекція культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені Миколи Григоровича Холодного НАН України (ІВК), що має статус національного надбання України (Ломберг та ін., 2015). Оскільки Колекція ІВК є найбільшою в Україні та однією з найбільших у Європі спеціалізованою колекцією культур

макроміцетів, для виконання дисертаційного дослідження та вивчення біосинтетичної активності було обрано 30 видів з цієї колекції.

3.1. Швидкість росту та синтез біомаси макроміцетів

Встановлення швидкості росту міцелію та концентрації біомаси на живильних середовищах є ключовим аспектом для ефективного культивування макроміцетів як в лабораторних, так і в промислових умовах. Знання цих двох важливих параметрів є порівняльним інструментом для подальшого визначення оптимальних умов культивування грибів з метою досягнення максимального росту і продуктивності грибів.

Радіальна швидкість росту міцелію грибів є індикатором життєздатності культури на певному агаризованому середовищі та критерієм відбору високопродуктивних видів та штамів. Цей показник також дає змогу оцінити адаптованість культури до компонентів живильного середовища. Вибір оптимального штаму макроміцетів є вирішальним фактором для успішного глибинного культивування. Різні штами можуть істотно відрізнятися за швидкістю росту, виходом біомаси міцелію та здатністю до біосинтезу біологічно активних метаболітів.

Для з'ясування швидкості росту було обране напівсинтетичне середовище ГПДА. Це досить широковживане поживне середовище, яке зазвичай використовується для культивування різних грибів, зокрема макроміцетів (Krupodorova et al., 2021b). Його склад забезпечує збалансоване надходження вуглецю, азоту, необхідних мінеральних речовин та факторів росту, що зумовлює його придатність для культивування багатьох видів грибів. Глюкоза слугує основним джерелом вуглецю, забезпечуючи енергією клітинні процеси та ріст. Для макроміцетів глюкоза є легкозасвоюваним цукром, який підтримує швидкий ріст і виробництво біомаси. Концентрація глюкози в цьому середовищі зазвичай достатня для сприяння інтенсивному росту грибів, особливо на ранніх стадіях розвитку міцелію. Пептон – це складне органічне джерело азоту, білкового

походження. Він містить амінокислоти, пептиди та інші азотисті сполуки. Наявність пептону в середовище підтримує активний ріст грибів, забезпечуючи їх легкодоступним азотом, який має вирішальне значення для синтезу білків і ферментів, необхідних для розвитку міцелію. Дріжджовий екстракт багатий на вітаміни, фактори росту та додаткові амінокислоти. Він є додатковим джерелом азоту, а також вітамінів групи В, які важливі для різних метаболічних шляхів грибів. Дріжджовий екстракт покращує поживний профіль середовища, роблячи його більш сприятливим для росту вибагливих макроміцетів, які можуть потребувати додаткових вітамінів та факторів росту для оптимального росту. Дигідрофосфат та дигідроортофосфат калію діють як буферні агенти і є джерелом фосфору, необхідного для синтезу нуклеїнових кислот, енергетичного метаболізму (АТФ) та функціонування клітинних мембран грибів. Збалансована присутність цих речовин забезпечує стабільний рівень рН середовища, що є вирішальним для підтримки активності ферментів та оптимального росту грибів. Сульфат магнію забезпечує наявність магнію, необхідного кофактору для багатьох ферментативних реакцій, у тому числі тих, що беруть участь у реплікації ДНК та енергетичному обміні. Сульфат магнію також відіграє важливу роль у синтезі деяких амінокислот. Концентрація $MgSO_4$ є достатньою для підтримки ферментативних функцій, які є важливими для росту і розвитку грибів.

Ростові характеристики міцелію на агаризованому середовищі можуть бути охарактеризовані як швидкість росту міцелію (GR), середня швидкість росту (GR_{avr}) (Badalyan et al., 2019; 2023) або радіальна швидкість росту (RGR або Vr) (Weis et al., 1999; Guadarrama-Mendoza et al., 2014; Dzhagan et al., 2023). Фаза лінійного росту зазвичай являє собою період послідовного і стабільного зростання гриба, що робить радіальну швидкість росту відтворюваним і надійним вимірюванням для оцінки росту гриба в контрольованих умовах. Радіальна швидкість росту варіювала від $3,3 \pm 0,4$ до $18,4 \pm 0,9$ мм/добу в залежності від дослідженого виду гриба (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Ріст та продуктивність біомаси макроміцетів

Макроміцети	Радіальна швидкість росту, мм/добу	Концентрація біомаси (X), г/л	Продуктивність по біомасі (Px), мг·л ⁻¹ ·добу ⁻¹
<i>A. aurea</i>	13,9 ± 0,5	11,8 ± 0,7	842 ± 70
<i>C. comatus</i>	10,2 ± 0,4	9,4 ± 0,2	671 ± 28
<i>C. militaris</i>	8,2 ± 0,2*	15,1 ± 0,1*	1080 ± 90*
<i>C. schevczenkovi</i>	16,2 ± 0,8*	7,1 ± 0,1	507 ± 15
<i>C. aegerita</i>	9,9 ± 0,5	8,7 ± 0,1	621 ± 38
<i>F. velutipes</i>	11,7 ± 0,7	8,9 ± 0,3	635 ± 35
<i>F. fomentarius</i>	13,6 ± 0,7	11,1 ± 0,1	792 ± 66
<i>F. betulina</i>	5,6 ± 0,4*	8,1 ± 0,9	578 ± 86
<i>F. pinicola</i>	11,5 ± 0,3	8,9 ± 0,8	635 ± 89
<i>G. applanatum</i>	10,7 ± 0,3	11,9 ± 0,3	850 ± 34
<i>G. lucidum</i>	16,0 ± 0,9*	11,4 ± 0,5	814 ± 50
<i>G. frondosa</i>	6,5 ± 0,6	6,1 ± 0,1	435 ± 2
<i>H. erinaceus</i>	4,8 ± 0,7	3,4 ± 0,1*	242 ± 19*
<i>H. marmoreus</i>	7,2 ± 0,4	4,5 ± 0,0	442 ± 48
<i>H. myxotricha</i>	12,2 ± 0,2	6,2 ± 0,4	321 ± 9
<i>I. obliquus</i>	4,9 ± 0,7	4,0 ± 0,1	285 ± 16
<i>L. sulphureus</i>	9,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1*	228 ± 18*
<i>L. edodes</i>	5,1 ± 0,6	6,0 ± 0,1	428 ± 13
<i>L. luscina</i>	3,3 ± 0,4*	4,1 ± 0,1	292 ± 11
<i>L. shimeji</i>	14,3 ± 0,9	12,4 ± 0,2	885 ± 26
<i>M. esculenta</i>	16,2 ± 0,1*	9,0 ± 0,2	642 ± 25
<i>O. sinensis</i>	8,6 ± 0,1	15,5 ± 0,3	1110 ± 37*
<i>O. obducens</i>	14,2 ± 0,7	7,0 ± 0,2*	500 ± 22
<i>P. igniarius</i>	4,4 ± 0,5	9,9 ± 0,1	707 ± 19
<i>P. djamor</i>	7,6 ± 0,6	15,3 ± 0,1*	1090 ± 37*
<i>P. eryngii</i>	8,3 ± 0,2	11,0 ± 0,8	785 ± 87
<i>P. ostreatus</i>	12,8 ± 0,3	11,0 ± 0,2	785 ± 43
<i>P. litschaueri</i>	15,0 ± 0,8	8,7 ± 0,1	621 ± 23
<i>S. commune</i>	14,1 ± 0,9	11,0 ± 0,2	785 ± 18
<i>T. versicolor</i>	18,4 ± 0,9*	7,9 ± 0,2	564 ± 37

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Висока швидкість росту макроміцетів вказує на швидше поширення міцелію, що є бажаним для застосувань, які вимагають швидкої колонізації субстрату, наприклад, у процесах культивування грибів чи при рості грибів у спільній культурі. Показник радіальної швидкості росту, зазвичай,

використовують для оцінки ефективності росту різних видів та штамів грибів у різних умовах та він є реферативним показником росту на контрольному середовищі.

Більшість досліджених макроміцетів характеризувалися середньою радіальною швидкістю росту (від 4 до 8 мм/добу). Лише *Lepista luscina* була повільноростучим видом (радіальна швидкість росту нижча за 4 мм/добу). Слід зазначити, що види, які належать до однакових родів *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Pleurotus* досить різнилися за швидкістю росту, і лише види *Ganoderma* належать до однакової групи грибів, які швидко росли.

За ростовим коефіцієнтом, *Grifola frondosa* була віднесена до макроміцетів з повільною швидкістю роста (Ліновицька та Бухало, 2004). Інші штами *M. esculenta* мали більшу швидкість радіального росту 11,1–16,4 мм/добу (Михайлова, 2008). Інші дослідники також відносять штами *Ophycordyceps sinensis* до помірно ростучих видів (Barseghyan et al., 2011).

В цілому, показник радіальної швидкості росту є не лише видоспецифічною, а й штамоспецифічною ознакою (Дзигун, 2004; Ліновицька та Бухало, 2005; Михайлова, 2008; Barseghyan et al., 2011; Мукчайлова et al., 2021).

Вирощування міцелію для кожного досліджуваного виду проводили в колбах з середовищем ГПД протягом 2 тижнів (як придатний період культивування для більшості досліджуваних нами видів) при глибинному культивуванні без перемішування. Усі досліджувані види були здатні рости в ГПД середовищі. Концентрація утвореної біомаси значно варіювала від $3,2 \pm 0,1$ до $15,5 \pm 0,3$ г/л залежно від виду гриба (табл. 3.1). Цей показник забезпечує пряме вимірювання загального росту та накопичення грибної біомаси в культурі. Це важливо для оцінки ефективності використання поживних речовин і загального виходу біомаси в біопроцесах. На підставі отриманих даних, за рівнем утворення міцеліальної біомаси (ефективністю перетворення поживних речовин у біомасу) гриби можна умовно поділити на три групи: низькопродуктивні (≤ 5 г/л), середньопродуктивні (5–10 г/л) та високопродуктивні (≥ 10 г/л) продуценти біомаси. Третину (36,7 %) становлять гриби, які належать до

високопродуктивних видів: *Auriporia aurea*, *Cordyceps militaris*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune*. Висока концентрація біомаси вказує на більш ефективний ріст і перетворення поживних речовин, що має вирішальне значення для таких застосувань, як виробництво мікопротеїнів, синтез ферментів та інших біологічно активних метаболітів. Малий відсоток (16,6 %) становлять досліджені види з низьким показником утворення біомаси. До цієї групи увійшли *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Inonotu obliquus*, *Laetiporus sulphureus*, *Lepista luscina*. Більшість грибів (46,7 %) віднесено до помірних продуцентів біомаси: *Coprinus comatus*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Cyclocybe aegerita*, *Flammulina velutipes*, *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Grigola frondosa*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula edodes*, *Morchella esculenta*, *Oxyporus obducens*, *Phellinus igniarius*, *Pseudospongipellis litschaueri*, *Trametes versicolor*. Слід зазначити, що види, які належать до однакових родів *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Pleurotus* за ефективністю перетворення поживних речовин у біомасу належать до однакових категорій.

Показник продуктивності біомаси відображає ефективність виробництва біомаси протягом певного часу, враховуючи як швидкість росту, так і загальний урожай. Це особливо важливо для оптимізації промислових процесів ферментації, де час і продуктивність є критичними факторами. Визначення продуктивності по біомасі міцелію грибів має широкий спектр перспектив, і є важливим аспектом у розвитку біотехнологій та промислових процесів.

Протягом 14-денного періоду вимірювали продуктивність міцелію (P_x), найвищу продуктивність спостерігали у *Ophiocordyceps sinensis* ($1110 \pm 37 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$), *Pleurotus djamor* ($1090 \pm 14 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$) та *Coedyceps militaris* ($1080 \pm 90 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{добу}^{-1}$). Більш висока продуктивність біомаси вказує на те, що обрані умови культивування є сприятливі для швидкого та ефективного виробництва біомаси певних грибів, що є корисним у комерційному масштабі культивування грибів і біотехнологічних застосувань. Найменший приріст спостерігався у

Laetiporus sulphureus (228 ± 18 мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Hericium erinaceus* (242 ± 19 мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Inonotus obliquus* ($285 \pm$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Lepista luscina* (292 ± 11 мг·л⁻¹·добу⁻¹).

Порівняно з нашими результатами, Ghatnur et al. (2015) спостерігали меншу кількість міцелію *Ophiocordyceps sinensis* ($377,86$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) наприкінці 14-го дня культивування. За той самий період культивування Borges et al. (2014) також відмітили меншу кількість міцелію *Pleurotus djamor* ($571,42$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Однак, Wang et al. (2019) зафіксували аналогічну продуктивність міцелію *Coprinus militaris* (1000 мг·л⁻¹·добу⁻¹) протягом 14 днів глибинного культивування в оптимізованих умовах. Слід зазначити, що аналогічно високий рівень продуктивності міцелію (1190 ± 52 мг·л⁻¹·добу⁻¹) було виявлено Umeo et al. (2015) для *Lentinus crinitus*. Також, показники продуктивності *Lentinula edodes* (369 ± 45 мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Schizophyllum commune* (868 ± 24 мг·л⁻¹·добу⁻¹) були значно вищими, ніж у *Lentinus crinitus*.

За результатами радіальної швидкості росту, накопичення міцеліальної біомаси встановлено різні групи росту та продуктивності біомаси. В цілому, гриби в більшості є помірноростучими. Швидко росли та активно продукували біомасу третина досліджених видів, зокрема *Auriporia aurea*, *Cordyceps militaris*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus eryngii*, *Schizophyllum commune*.

Досліджені показники разом забезпечують загальні показники росту грибів. Так, швидкість радіального росту дає уявлення про швидкість поширення міцелію, що важливо для застосувань, які потребують швидкої колонізації. Концентрація біомаси вимірює загальний урожай біомаси, що відображає ефективність використання поживних речовин і потенційний вихід біопроектів. Продуктивність біомаси поєднує в собі аспекти темпів зростання та врожайності з часом, пропонуючи ключову метрику для оптимізації та розширення промислових процесів ферментації. Разом ці показники допомагають оцінити продуктивність культур і спрямувати подальші дії щодо оптимізації умов для досягнення бажаних результатів як у дослідницьких, так і в промислових умовах.

Вибір правильного виду гриба має вирішальне значення для успішного глибинного культивування. Різні штами можуть значно відрізнятися за швидкістю росту, виходом міцелію та здатністю синтезувати біологічно активні сполуки. Передові біотехнологічні методи, такі як генетична модифікація та мутагенез, можуть бути використані для посилення важливих ознак у штамів грибів, що сприятиме покращенню продуктивності та біоактивності.

Отримані дані щодо швидкості росту та концентрації біомаси мають важливе значення для фундаментальних досліджень у галузі біотехнології. Вони сприяють кращому розумінню фізіологічних процесів, що відбуваються в міцелії грибів, дозволяючи оцінити їх біотехнологічний потенціал і перспективи використання в промисловому виробництві.

3.2. Вміст ендopolісахаридів у міцелії макроміцетів та екзopolісахаридів у культуральній рідині

Серед різноманітності цінних вторинних метаболітів полісахариди викликають значний інтерес при культивуванні макроміцетів. Унікальні властивості та великий потенціал застосування полісахаридів забезпечують попит на них на світовому ринку. Очікується, що глобальний ринок полісахаридів і олігосахаридів досягне понад 22 мільярдів доларів США із середньорічним зростанням понад 5 % протягом 2020-2030 років (<https://www.factmr.com/report/427/polysaccharides-oligosaccharides-market>). Як зазначають Sivanesan et al. (2022), макроміцети мають давню історію, починаючи з Давнього Єгипту, і широко досліджуються та використовуються в кулінарії. Їх полісахариди цінуються як нутрицевтики, що відіграють вирішальну роль у лікуванні різних захворювань і розладів людини. Полісахариди з міцелію та культуральної рідини макроміцетів продемонстрували різноманітну біологічну активність, включаючи антиоксидантну, протизапальну, протипухлинну, противірусну, антигіперліпідемічну, антигіперглікемічну, гепатопротекторну та імуномодулюючу (Zhang et al., 2007; Xiang et al., 2022; Flores et al., 2024).

Зважаючи на значні штамоспецифічні особливості синтезу полісахаридів у макроміцетів (Umeo et al., 2015; Kizitska et al., 2024), встановлення перспективних продуцентів залишається ключовим напрямком біотехнологічних досліджень. Усі досліджені макроміцети здатні синтезувати полісахариди, причому спостерігаються значні відмінності залежно від виду гриба (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Продуктивність синтезу полісахаридів грибів

Види грибів	Ендополісахариди (мг·л ⁻¹ ·добу ⁻¹)	Екзополісахариди (мг·л ⁻¹ ·добу ⁻¹)
<i>A. aurea</i>	41,7 ± 0,29	40,00 ± 0,21
<i>C. militaris</i>	58,13 ± 0,47*	37,14 ± 0,13
<i>C. comatus</i>	43,91 ± 0,21	55,71 ± 0,33*
<i>C. schevczenkovi</i>	33,22 ± 0,18	94,28 ± 0,40*
<i>C. aegerita</i>	60,09 ± 0,64*	12,86 ± 0,09
<i>F. velutipes</i>	34,33 ± 0,09	132,86 ± 0,56*
<i>F. fomentarius</i>	30,00 ± 0,43	147,14 ± 0,70*
<i>F. betulina</i>	14,06 ± 0,08	12,86 ± 0,07
<i>F. pinicola</i>	28,22 ± 0,15	22,14 ± 0,15
<i>G. applanatum</i>	30,68 ± 0,36	138,57 ± 0,40*
<i>G. lucidum</i>	38,42 ± 0,12	54,28 ± 0,20*
<i>G. frondosa</i>	30,54 ± 0,33	30,71 ± 0,12
<i>H. erinaceus</i>	8,54 ± 0,05	20,00 ± 0,09
<i>H. myxotricha</i>	33,35 ± 0,54	31,43 ± 0,11
<i>H. marmoreus</i>	28,28 ± 0,10	160,00 ± 0,30*
<i>I. obliquus</i>	9,64 ± 0,07*	57,14 ± 0,07*
<i>L. sulphureus</i>	10,99 ± 0,02*	58,57 ± 0,06*
<i>L. edodes</i>	45,08 ± 0,46*	50,00 ± 0,04
<i>L. luscina</i>	13,38 ± 0,18*	22,86 ± 0,09
<i>L. shimeji</i>	13,82 ± 0,23*	65,71 ± 0,08*
<i>M. esculenta</i>	19,64 ± 0,14	48,58 ± 0,05
<i>O. obducens</i>	22,85 ± 0,08*	34,28 ± 0,03*
<i>O. sinensis</i>	70,86 ± 0,78	90,00 ± 0,61*
<i>P. igniarius</i>	26,87 ± 0,16	77,14 ± 0,42*
<i>P. djamor</i>	49,51 ± 0,34	60,00 ± 0,16*
<i>P. eryngii</i>	65,92 ± 0,64*	8,57 ± 0,03*
<i>P. ostreatus</i>	9,99 ± 0,31*	88,57 ± 0,70*
<i>P. litschaueri</i>	31,07 ± 0,41	90,00 ± 0,30*
<i>S. commune</i>	52,17 ± 0,55*	52,86 ± 0,05
<i>T. versicolor</i>	40,06 ± 0,27	31,43 ± 0,07

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Найвища продуктивність ендopolісахаридів була відмічена 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). Найнижчі значення спостерігали у *Hericium erinaceus* ($8,54 \pm 0,05$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Inonotus obliquus* ($9,64 \pm 0,07$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Laetiporus sulphureus* ($10,99 \pm 0,02$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Diamantopoulou et al. (2014) встановили різні значення ендopolісахаридів для *Agrocybe aegerita* (сучасна назва *Cyclocybe aegerita*) за різних умов: 40, 241,5, 229 мг·л⁻¹·добу⁻¹ на 8, 20, 24 дні культивування, відповідно, в статичних умовах, і 9,05, 241,67 мг·л⁻¹·добу⁻¹ на 16 і 24 дні культивування, відповідно, в умовах перемішування. Hsieh et al. (2005) спостерігали вищі значення для *Cordyceps militaris*, які досягали 435,71 і 1,070 мг·л⁻¹·добу⁻¹ на 7-й і 3-й день відповідно в оптимізованому середовищі культивування в колбі з шейкером і ферментері.

Хоча існує значна кількість літератури про виділення та біологічні властивості ендopolісахаридів *Pleurotus eryngii* (Ma et al., 2017, 2020, 2022, 2024; Gong et al., 2022; Vlassopoulou et al., 2022), дані про них під час глибинного культивування, наскільки нам відомо відсутні, що свідчить про новизну наших досліджень. Високий рівень продуктивності екзopolісахаридів встановлено для *Hypsizygus marmoreus* ($160,00 \pm 0,30$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), значні кількості також були виявлені у *Ganoderma applanatum* ($138,57 \pm 0,40$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Flammulina velutipes* ($132,86 \pm 0,56$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Найнижче значення було виявлено для *Pleurotus eryngii* ($8,57 \pm 0,03$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), після якого другим за показником були *Cyclocybe aegerita* і *Fomitopsis betulina*, обидва зі значенням 86 мг·л⁻¹·добу⁻¹. Деякі з наших результатів продуктивності екзopolісахаридів у цих трьох видів були нижчими порівняно з іншими дослідженнями, проведеними в умовах оптимізованого глибинного культивування з перемішуванням. Наприклад, Chen et al. (2017) повідомили про вищий цей показник ($0,024$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) для *Hypsizygus marmoreus*, використовуючи двоступеневу стратегію рН у середовищі на основі глюкози. У нашому попередньому дослідженні (Krupodorova, 2011) інший штам *G. applanatum* (1527 ІВК) утворював 827 мг·л⁻¹·добу⁻¹ екзopolісахаридів.

Однак продуктивність екзополісахаридів нашого штаму *Ganoderma applanatum* (1700 IBK) була вищою, ніж у штаму *G. applanatum* UCC002, який синтезував $13,57 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$ за умов культивування глибинному культивуванні з перемішуванням та $16,43 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$ за статичних умов (Montoya et al., 2013). Крім того, порівняно зі штамом *G. applanatum* KFRI 1646, для якого значення продуктивності синтезу екзополісахаридів становило $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$ за умов постійного струшування (Lee et al., 2007), наш досліджуваний штам продемонстрував вищі показники, що свідчить про його більший біотехнологічний потенціал у відповідних умовах культивування. Крім того, порівняно з нашим штамом *Flammulina velutipes*, Wu et al., (2021) спостерігали нижчі значення продуктивності екзополісахаридів у монокультури ($40 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$) та в ко-культури з *Ganoderma lucidum* ($15 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$) протягом 14 днів росту. Крім того, Lung & Huang (2012) повідомили про вищі значення продуктивності екзо- ($58,57 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$) і ендополісахаридів ($10,99 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{добу}^{-1}$) для *Laetiporus sulphureus* порівняно з нашими результатами.

Слід зазначити, що види в межах одного роду, такі як *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Pleurotus eryngii* і *P. djamor*, демонстрували значні відмінності в продуктивності екзополісахаридів порівняно з ендополісахаридами і ростом міцелію (табл. 3.2). На противагу цьому, для *Fomitopsis betula* і *F. pinicola* спостерігалася лише двократна різниця у значеннях продуктивності екзо- і ендополісахаридів, тоді як значення продуктивності міцелію статистично не відрізнялися.

Кореляційний аналіз за методом Пірсона (табл. 3.3) виявив значну позитивну кореляцію між продуктивністю міцелію та вмістом ендополісахаридів ($r = 0,650$), що свідчить про тісний взаємозв'язок між цими показниками. Водночас встановлено невелику позитивну кореляцію між продуктивністю міцелію та вмістом екзополісахаридів ($r = 0,134$), що може свідчити про менший вплив продуктивності міцелію на синтез екзополісахаридів у культуральній рідині.

Таблиця 3.3

Коефіцієнт кореляції Пірсона (r) між продуктивністю міцелію та полісахаридами всіх досліджуваних видів

Коефіцієнт кореляції (r)	
Міцеліальна біомаса/ендополісахариди	Міцеліальна біомаса/екзополісахариди
0,6505	0,1339

Визначення вмісту загальних ендо- та екзополісахаридів проводили на 14 добу культивування грибів. Значення ендополісахаридів у міцелії коливалися від $1,56 \pm 0,10$ до $10,32 \pm 0,35$ %, тоді як значення екзополісахаридів у культуральних рідинах варіювали від $0,12 \pm 0,03$ до $2,24 \pm 0,30$ г/л (рис. 3.1).

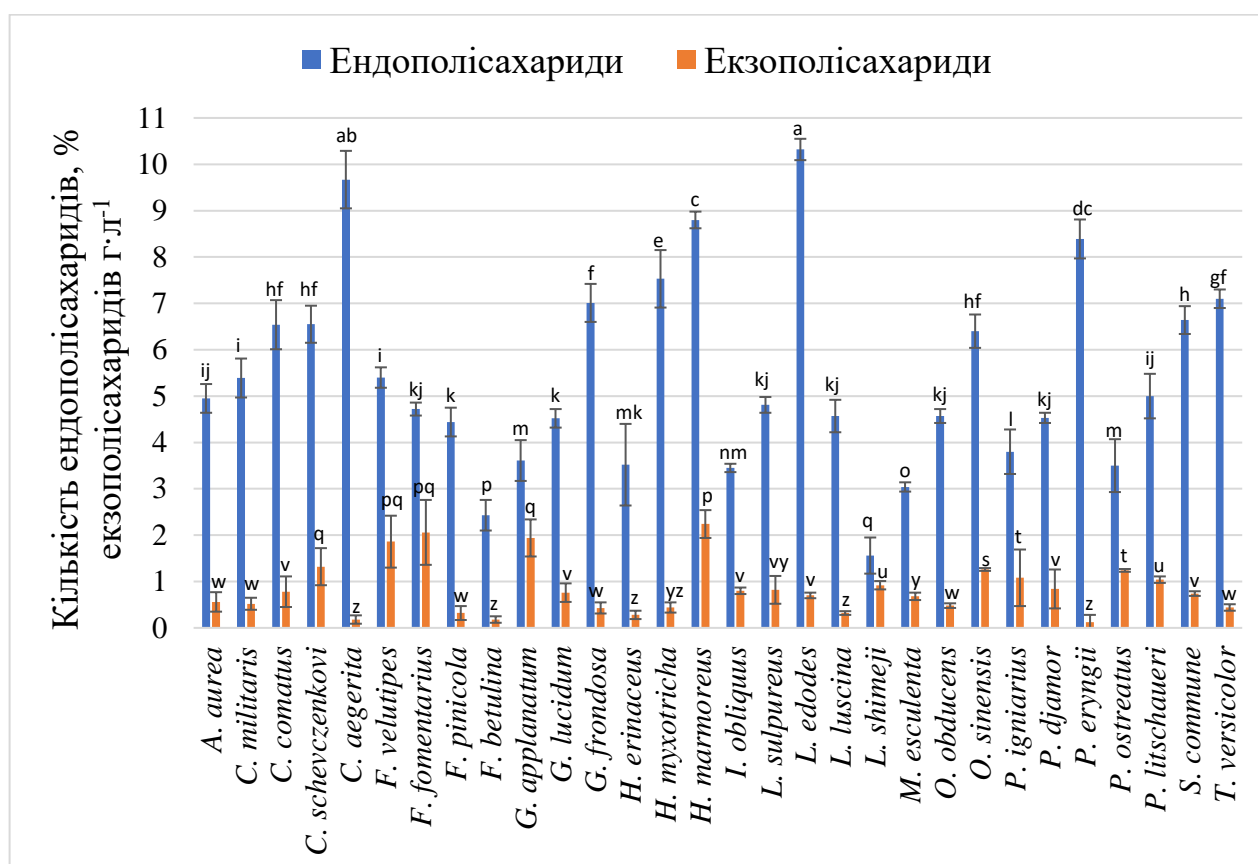


Рис. 3.1. Загальний вміст полісахаридів у міцеліальній біомасі макроміцетів та культуральній рідині

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

Ендополісахариди є домінуючими полісахаридами в досліджуваних видах, причому *Lentinula edodes* містить найбільшу кількість ($10,32 \pm 0,35$ %), на другому і третьому місцях – *Cyclocybe aegerita* ($9,67 \pm 0,62$ %) і *Hypsizygos marmoreus* ($8,80 \pm 0,18$ %). *H. marmoreus* також виділився як значне джерело екзополісахаридів з кількістю $2,24 \pm 0,30$ г/л. Слід також зазначити рівень екзополісахаридів у *Fomes fomentarius* ($2,06 \pm 0,70$ г/л) і *Ganoderma applanatum* ($1,94 \pm 0,40$ г/л).

Зазначимо, що такі види як *Lentinula edodes*, *Cyclocybe aegerita* та *Hypsizygos marmoreus*, з найвищими значеннями ендополісахаридів, а також екзополісахаридів *H. marmoreus*, є істивними, що потенційно розширює спектр їх майбутнього використання в харчовій та фармацевтична промисловості (Giavasis, 2004). Встановлено, що лентинан, виділений з міцелію *L. edodes*, проявляє противірусну (Ren et al., 2018) та імуномодулюючу (Turło et al., 2004) активності. Слід мати на увазі, що отримані нами результати є основою для подальших досліджень. За даними літератури, оптимізація умов глибинного культивування *L. edodes* дозволила отримати різні значення ендополісахаридів: 7,9 % (Bisko et al., 2020), 46,91 мг/г (Reza et al., 2018). Chen et al. (2017) відзначили 1,81 г/л екзополісахаридів при глибинному вирощуванні *H. marmoreus*. Порівняно з нашими результатами, Chen et al. (2008) спостерігали нижче значення екзополісахаридів (3,64 г/л), але Alvanti et al. (2020) отримали більш високе їх значення (5,4 г/л) при ферментації *Fomes fomentarius* за оптимальних умов культивування. Більш високі результати врожайності екзополісахаридів *Ganoderma applanatum* були встановлені в інших дослідженнях: 2,2 г/л Lee et al. (2007) та 9,1 г/л шляхом застосування різного співвідношення вуглець/азот у середовищі на основі сироватки (Круподорова, 2011).

Вищі значення ендополісахаридів були встановлені у кількох видів грибів порівняно з нашими результатами: $50,39 \pm 0,41$ мг·г⁻¹ у *Phellinus igniarius* (Guo et al., 2010), 12,2–14,0 % у *Ophyocordyceps sinensis* (Poyedinok, 2015), 7,5 % у *Ganoderma lucidum* (Boromenskyi & Bisko, 2020) та 4,3–6,5% у *Hericium erinaceus* (Mukchaylova et al., 2023). Нижчий вміст ендополісахаридів спостерігався у

Fomes fomentarius (2,86 г·л⁻¹) (Chen et al., 2011) та *Ganoderma lucidum* (1,25 г·л⁻¹) (Mahendran et al., 2012). Вищі значення екзополісахаридів були відмічені для таких видів, як *Morchella esculenta* (4,1-5,3 г·л⁻¹) (Taşkin et al., 2011), *Pleurotus eryngii* (7,27 г·л⁻¹) (Sun et al., 2014), *Grifola frondosa* (3. 88 г·л⁻¹) (Osińska-Jaroszuk et al., 2015), *Ganoderma lucidum* (1,6-10,0 г·л⁻¹) (Krupodorova, 2011; Kachrimanidou et al., 2023) та *Cordyceps militaris* (до 5,713 г·л⁻¹) (Wang et al., 2019). Менші значення екзополісахаридів отримано у таких видів, як *Schizophyllum commune* (0,30–0,56 г·л⁻¹) (Іванова та ін., 2014) та *T. versicolor* (0,1–0,21 г·л⁻¹) (Osińska-Jaroszuk et al., 2015).

Зазначимо, що на утворення полісахаридів впливають умови вирощування, тип ферментації та склад середовища. Наприклад, синтез ендополісахаридів у *Ganoderma lucidum* досягав 8,28 г/100 мл у дослідженому середовищі (Mahendran et al., 2012), тоді як штами *Fomitopsis betulina* продукували 0,02–2,20 г·л⁻¹ ендополісахаридів залежно від середовища культивування (Kizitska et al., 2024). Доведено, що такі добавки, як Tween 80 та фарнезол, значно підвищували вихід ендо- і екзополісахаридів у *Inonotus obliquus* (Xu et al., 2015), *P. igniarius* (Yang et al., 2021) та *Trametes versicolor* (Wang et al., 2017).

Спосіб культивування також впливав на врожай та продуктивність полісахаридів. *Cordyceps militaris* продукував 2,27 г·л⁻¹ ендополісахаридів у колбі та 5,713 г·л⁻¹ у реакторі з мішалкою (Wang et al., 2019). Підходи з використанням ферментації багаторазових партій та спільного культивування додатково підвищували продукування ендополісахаридів. При цьому спільне культивування *Ganoderma lucidum* та *Flammulina velutipes* сприяло синтезу екзополісахаридів зі зниженою цитотоксичністю (Wu et al., 2021).

Отримані результати підкреслюють значний біотехнологічний потенціал досліджених видів грибів для виробництва полісахаридів. Оптимізація умов культивування та впровадження передових біотехнологічних стратегій можуть суттєво підвищити продуктивність цих видів, розширивши їх застосування у біотехнології, нутрицевтиці та медицині.

Згідно з отриманими даними, наші скринінгові дослідження вперше висвітлюють можливості синтезу полісахаридів за умов глибинного культивування таких маловивчених видів, як *Auriporia aurea*, *Cyclocybe aegerita*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Відсутність інформації про ці види в науковій літературі підкреслює новизну та актуальність наших результатів.

Максимальний рівень синтезу полісахаридів було встановлено для ксилотрофних видів *Cyclocybe aegerita*, *Hypsizygus marmoreus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum* та *Lentinula edodes*. Ми припускаємо, що це можна пояснити їх адаптивним ферментативним апаратом і генетичними особливостями. Ферменти, такі як целюлази, геміцелюлази та лігнінази, не лише забезпечують розкладання деревини, але й сприяють біосинтезу структурних полісахаридів, включаючи β -глюкани, які є основними компонентами клітинних стінок грибів. Крім того, висока активність таких ферментів, як целюлази та лакази, зумовлює накопичення екзополісахаридів як побічних продуктів метаболізму. Ймовірно, досліджені види мають унікальні метаболічні шляхи вуглеводного обміну, що забезпечують інтенсивний синтез ендополісахаридів для побудови клітинних структур. А генетична спадковість цих грибів визначає типи й кількість полісахаридів, які вони можуть продукувати. Вірогідно, що деякі види природним шляхом набули гени, відповідальні за синтез біологічно активних полісахаридів, що робить їх перспективними об'єктами для біотехнологічних досліджень.

Таким чином, отримані результати формують наукове підґрунтя для подальших фундаментальних і прикладних досліджень, спрямованих на вдосконалення методів культивування грибів з метою виробництва полісахаридів для подальшого їх застосування у біотехнології, фармацевтичній та харчовій промисловості.

3.3. Вміст фенольних сполук у міцелії макроміцетів та культуральній рідині

Макроміцети в процесі росту та розвитку продукують широкий спектр вторинних метаболітів. Особливий інтерес при культивуванні грибів становлять такі вторинні метаболіти, як фенольні сполуки, зокрема фенольні кислоти, флавоноїди, гідроксибензойні кислоти, лігніни, дубильні речовини та окислені поліфеноли (Abdelshafy et al., 2021; Krsmanović et al., 2023). Кількісне визначення фенольних сполук у міцелії різних видів грибів дає змогу оцінити їхню потенційну антиоксидантну активність та здатність до синтезу вторинних метаболітів. Усі досліджені макроміцети синтезували фенольні сполуки, демонструючи значні міжвидові відмінності (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Продуктивність синтезу фенольних сполук грибів

Види грибів	Фенольні сполуки (мг·л ⁻¹ ·добу ⁻¹)
<i>A. aurea</i>	0,72 ± 0,03
<i>C. militaris</i>	0,59 ± 0,02*
<i>C. comatus</i>	0,15 ± 0,01*
<i>C. schevczenkovi</i>	0,59 ± 0,04*
<i>C. aegerita</i>	0,02 ± 0,01*
<i>F. velutipes</i>	0,51 ± 0,02*
<i>F. fomentarius</i>	0,08 ± 0,03
<i>F. betulina</i>	1,10 ± 0,50*
<i>F. pinicola</i>	1,42 ± 0,60*
<i>G. applanatum</i>	0,08 ± 0,04
<i>G. lucidum</i>	0,28 ± 0,03
<i>G. frondosa</i>	0,23 ± 0,06
<i>H. erinaceus</i>	0,12 ± 0,01
<i>H. myxotricha</i>	0,36 ± 0,31
<i>H. marmoreus</i>	0,08 ± 0,02
<i>I. obliquus</i>	1,37 ± 0,10*
<i>L. sulphureus</i>	1,07 ± 0,50*
<i>L. edodes</i>	1,43 ± 0,30*
<i>L. luscina</i>	0,72 ± 0,04
<i>L. shimeji</i>	0,05 ± 0,02*
<i>M. esculenta</i>	1,82 ± 0,70*
<i>O. obducens</i>	0,40 ± 0,06*
<i>O. sinensis</i>	0,86 ± 0,03

Таблиця 3.4 (продовження)

<i>P. igniarius</i>	0,11 ± 0,04
<i>P. djamor</i>	0,05 ± 0,02*
<i>P. eryngii</i>	0,57 ± 0,03*
<i>P. ostreatus</i>	0,21 ± 0,11
<i>P. litschaueri</i>	0,11 ± 0,05
<i>S. commune</i>	0,16 ± 0,01
<i>T. versicolor</i>	0,45 ± 0,01

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Найвищий показник продуктивності фенольних сполук встановлено для *Morchella esculenta* ($1,82 \pm 0,70$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Lentinula edodes* ($1,43 \pm 0,30$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Fomitopsis pinicola* ($1,42 \pm 0,60$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Найнижчий показник мали *Cyclocybe aegerita* ($0,02 \pm 0,01$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Lyophyllum shimeji* ($0,05 \pm 0,02$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Pleurotus djamor* ($0,05 \pm 0,02$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Reis et al. (2012) виявили нижчий рівень продуктивності ($0,26$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) у міцелії *L. edodes* після 48 днів культивування. Профілі деяких фенольних сполук були ідентифіковані в міцелії *L. edodes* (Kała et al., 2021; Wu et al., 2023). Mau et al. (2004) встановили загальний вміст фенолів на рівні $3,63 \pm 0,31$ мг·л⁻¹ у міцелії *M. esculenta*.

Значення загального вмісту фенольних сполук варіювало 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. 3.2). Скринінгові дослідження відіграють важливу роль у виявленні перспективних продуцентів біологічно активних метаболітів та розширенні наукових знань про маловідомі види грибів. Наскільки нам відомо, в науковій літературі відсутня взагалі інформація про здатність до синтезу фенольних сполук таких видів, як *Auriporia aurea*, *Cyclocybe aegerita*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lyophyllum shimeji*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*.

Важливо підкреслити, що нами вперше отримано також дані щодо вмісту фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* і *Lepista luscina*, незважаючи на існуючі дослідження фенольних сполук в екстрактах їх плодових тіл. Це

підкреслює новизну наших даних та свідчить про необхідність проведення подальших досліджень для визначення їх біотехнологічного потенціалу.

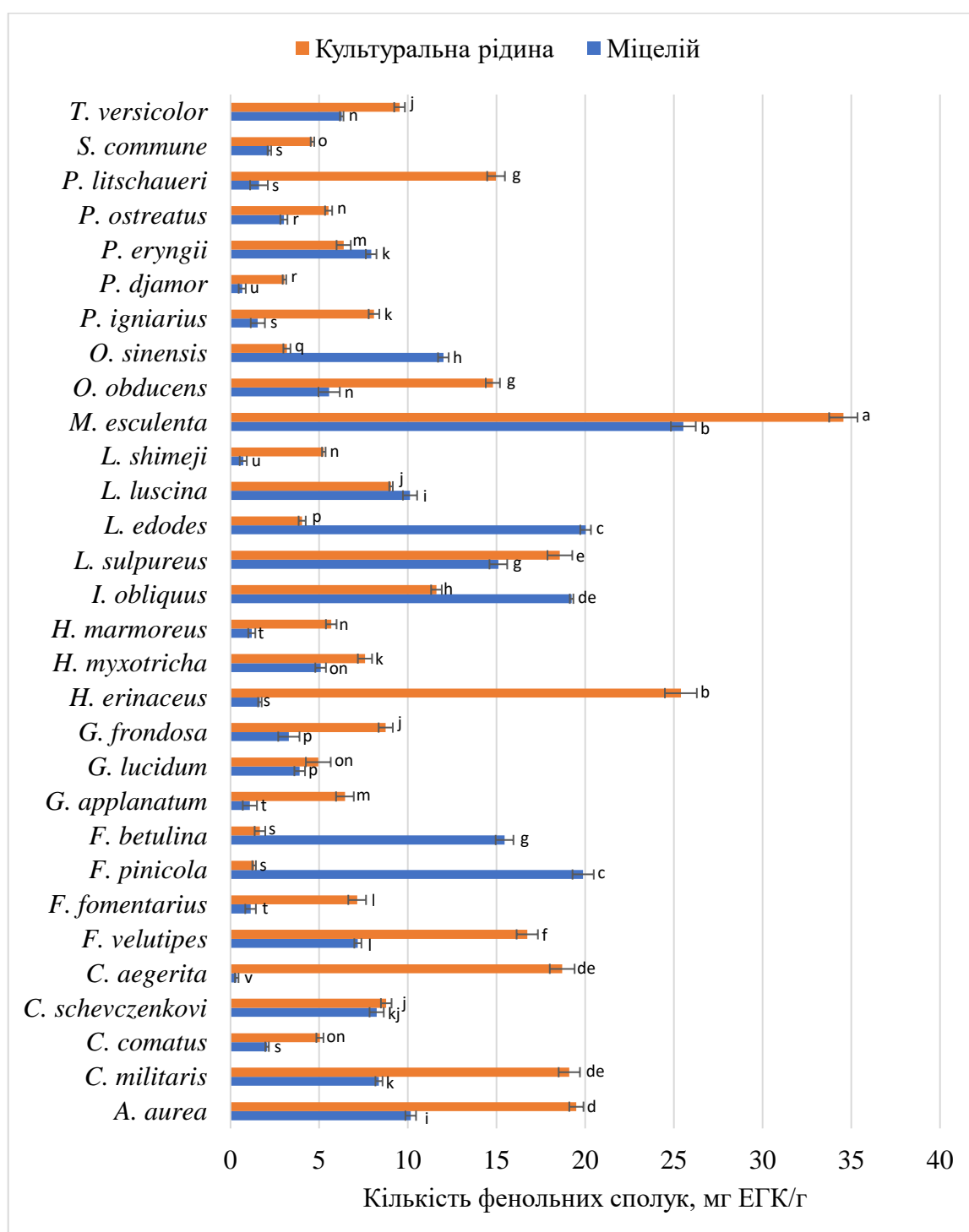


Рис. 3.2. Загальний вміст фенольних сполук у мицеліальній біомасі макроміцетів та у культуральній рідині

Наші результати показали, що у більшості досліджених видів грибів (66,7 %) вміст фенольних сполук був вищим у культуральній рідині порівняно з міцелієм грибів. Найвищий вміст фенольних сполук було виявлено в культуральній рідині та міцелії *Morchella esculenta* зі значеннями $34,55 \pm 0,80$ мг ЕГК/г та $25,53 \pm 0,70$ мг ЕГК/г відповідно. Здатність наґрунтового виду *M. esculenta* до утворення мікоризи, ймовірно, пов'язана із синтезом високих рівнів фенольних сполук. Це може бути результатом складних, еволюційно адаптованих взаємодій з рослиною-господарем, що зумовлено генетично закодованою схильністю та активацією специфічних метаболічних шляхів. Ці фактори разом посилюють виробництво фенольних сполук, які мають вирішальне значення для виживання та успіху симбіотичних відносин. Наступними за рівнем вмісту фенольних сполук були зразки міцелію *Fomitopsis pinicola* ($19,88 \pm 0,60$ мг ЕГК/г) та *Lentinula edodes* ($20,02 \pm 0,30$ мг ЕГК/г), а також екстракт культуральної рідини *Hericiium erinaceus* ($25,39 \pm 0,99$ мг ЕГК/г). Крім того, продуктивність фенольних сполук (R_{TRC}) була найвищою у *M. esculenta*, *L. edodes* та *F. pinicola* (табл. 3.4). Це підтверджується результатами, представленими на рисунку 3.2, які показують, що ці види містять найбільшу кількість цих вторинних метаболітів. Зазначимо, статистично значущої різниці у вмісті фенольних сполук між культуральною рідиною та міцелієм двох досліджуваних видів, *Crinipellis schevczenkovi* та *Ganoderma lucidum* не було виявлено. Виявлено, що види одного роду *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Pleurotus eryngii* та *P. djamor* мали значні відмінності у вмісті фенольних сполук у міцелії та культуральній рідині. На противагу цьому, достовірну різницю було виявлено лише в міцелії *Ganoderma applanatum* та *G. lucidum* (рис. 3.2).

Порівняння з літературними даними показало, що Valu et al. (2020) встановили вміст фенольних сполук у міцелії *Hericiium erinaceus*, який становив 23,2 мг ЕГК/г, що є нижчим за наш результат, але близьким до показника, виявленого в культуральній рідині. Цей результат узгоджується з даними Narmuratova et al. (2023), які визначили вміст фенольних сполук для шести штамів *H. erinaceus* у межах від $2,34 \pm 0,05$ до $3,15 \pm 0,05$ мг ЕГК/г. Крім того, за

даними Mishra et al. (2013), вміст фенольних сполук у різних видів гливи коливався від 3,94 до 21,67 мг ЕГК/г. Найвищий рівень фенольних сполук було зафіксовано у *Pleurotus eryngii* (21,67 мг ЕГК/г міцелію), після якого другим за показником був *P. djamor* (18,88 мг ЕГК/г). Крім того, як і в дослідженні Mishra et al. (2013), в нашому дослідженні міцелій *P. eryngii* був вищим продуцентом фенолів (рис. 3.2). Також, Reis et al. (2012) виявили що значно нижчі значення $9,11 \pm 0,23$ мг ЕГК/г для *P. eryngii* та $12,53 \pm 0,30$ мг ЕГК/г для міцелію *L. edodes*, ніж результати цього дослідження (рис. 3.2). Проте, Onar et al. (2016) протестували 70 % EtOH та чистий EtOH екстракти *F. pinicola*, і виявили значно вищі значення фенольних сполук на рівні $278,0 \pm 2,9$ мг ЕГК/г та $313,2 \pm 5,8$ мг ЕГК/г, відповідно, ніж наші результати.

Huang et al. (2021) досліджували міцеліальну біомасу отриману протягом 7–14 днів, залежно від виду, використовуючи гарячі водні екстракти з комбінацій та співвідношень шістнадцяти видів лікарських грибів, включаючи *A. auricula-judae*, *Cordyceps militaris*, *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii* та *Trametes versicolor*. Значення фенольних сполук у всіх зразках варіювали від $15,53 \pm 0,23$ до $18,88 \pm 0,34$ мг ЕГК/г, причому найвищий показник спостерігався у комбінації п'яти видів (*P. ostreatus*, *G. lucidum*, *A. auricula-judae*, *T. versicolor* і *L. edodes*), що можна порівняти з результатами нашого дослідження. Проте, міцелій *C. comatus* у нашому дослідженні показав значно нижчий вміст фенольних сполук, ніж раніше виявили Теšanović et al. (2017) ($81,95 \pm 2,62$ мг ЕГК/г). Аналогічно, культуральна рідина у нашому дослідженні мала значно нижчу кількість фенольних сполук порівняно з дослідженням Теšanović et al. (2017) ($69,48 \pm 3,51$ мг ЕГК/г). Подібна тенденція спостерігалася і в дослідженні Mišković et al. (2021), де зразки міцелію показали вищий вміст фенольних сполук порівняно з результатами нашого дослідження. Так, найвищий вміст фенольних сполук після 14 днів культивування був виявлений у сербських та італійських штамів *Schizophyllum commune* ($76,65 \pm 1,30$ мг ЕГК/г та $82,62 \pm 0,99$ мг ЕГК/г, відповідно). Deshmukh & Lakshmi (2023) повідомили, що водні

екстракти міцелію *Cordyceps militaris* демонструють аналогічний нашим результатам рівень фенольних сполук 8,50 мг ЕГК/г.

Зазначимо, умови культивування можуть ефективно підвищувати вміст фенольних сполук макроміцетів. Krsmanović et al. (2023) встановили значно вищий вміст фенольних сполук у *Flammulina velutipes* після чотирьох тижнів УФ-обробки ($58,34 \pm 1,70$ мг ЕГК/г) порівняно з двотижневим культивуванням у нашому дослідженні, тоді як результати *Trametes versicolor* були співставними ($15,56 \pm 0,30$ мг ЕГК/г). У нашому дослідженні також повідомляється про нижчий вміст фенольних сполук у культуральній рідині *F. velutipes* ($14,86 \pm 0,55$ мг ЕГК/г), але в п'ять разів вищий вміст фенольних сполук у культуральній рідині *T. versicolor* ($47,22 \pm 0,49$ мг ЕГК/г) порівняно з нашими результатами. Huang et al. (2021) відзначили коливання вмісту фенольних сполук у *Cordyceps militaris* (від $1,75 \pm 0,07$ до $3,74 \pm 0,18$ мг·мл⁻¹) залежно від середовища культивування, типу ферментації та штаму. Додавання *Radix Puerariae* до середовища культивування значно збільшило синтез фенольних сполук *Schizophyllum commune* до 3731,56 мг ЕГК/г, порівняно з 288,35 мг ЕГК/г у контрольному середовищі (Deng et al., 2021).

Зазначимо, що відмінності в отриманих значеннях можуть бути зумовлені різними умовами культивування, методами екстракції та використаними аналітичними підходами. Ці порівняння підкреслюють варіабельність фенольних сполук для різних видів грибів і підкреслюють необхідність стандартизованих протоколів культивування та екстракції. Спостережувані відмінності у значеннях фенольних сполук між дослідженнями можуть також відображати генетичну різноманітність штамів грибів та їх адаптацію до конкретних умов середовища культивування.

Отримані результати свідчать про значний метаболічний потенціал 30 видів грибів, оскільки як їх міцелій, так і культуральна рідина виявилися джерелами фенольних сполук. Це підкреслює важливість комплексного дослідження внутрішньоклітинних і позаклітинних метаболітів макроміцетів для повного розкриття їх біотехнологічного потенціалу. Вивчення видів з різними

екологічними та фізіологічними характеристиками, особливо малодосліджених, сприяє розширенню наукових знань про їх метаболічний профіль і потенційні сфери застосування. Вперше встановлено здатність до синтезу фенольних сполук такими видами, як *Cyclocybe aegerita*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lyophyllum shimeji*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Також вперше підтверджено наявність фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*.

Серед досліджених грибів *Morchella esculenta*, *Lentinula edodes* та *F. pinicola* продемонстрували найвищий рівень фенольних сполук, що робить їх перспективними кандидатами для подальших досліджень. Таким чином, отримані дані формують наукову базу для майбутніх досліджень і відкривають можливості практичного використання фенольних сполук у галузі нутрицевтики, підтверджуючи потенціал макроміцетів як джерел біологічно активних речовин.

3.4. Вміст екзоферментів макроміцетів

Макроміцети є ключовими деструкторами лігноцелюлозного матеріалу в багатьох екосистемах, відіграючи важливу роль у кругообігу вуглецю та поживних речовин. Завдяки здатності до синтезу ферментів, таких як лігнінази, целюлази та геміцелюлази, вони ефективно розкладають складні органічні сполуки, зокрема лігнін і целюлозу, до простіших форм, доступних для засвоєння іншими організмами. Це сприяє підтриманню екологічної рівноваги, забезпечуючи переробку рослинної біомаси та повернення органічного вуглецю та поживних речовин у ґрунт і атмосферу. Грибні ферменти використовуються з давніх часів і до сьогодні у багатьох галузях промисловості, включаючи хлібопечення, пивоваріння, сироваріння, у виробництві антибіотиків, паперу, миючих засобів, текстильній промисловості, а також у виробництві напоїв і продуктів харчування від чаю та кави до фруктових соків і вина (El-Gendi et al., 2022).

Макроміцети здатні продукувати різноманітні ферменти як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно, що створює значний потенціал для їх виробництва у великих кількостях з низькою собівартістю та збереженням активності в очищених формах. Крім того, грибні системи легко піддаються генетичним маніпуляціям (Goyal et al., 2017). Макроміцети є переважно сапрофітами і отримують поживні речовини з навколишнього целюлозного матеріалу, тому для більшості грибних клітин характерна висока активність лігноцелюлолітичних ферментів, включаючи целюлази, β -глюкозидази, лігнінпероксидази та лакази. Інші позаклітинні ферменти можуть брати участь у захисті грибів від небезпечних сполук, які існують в природі або є результатом процесу гідролізу субстрату. Більшість робіт присвячено дослідженню ферментативної активності однієї екофізіологічної групи грибів, зокрема білої гнилі (Kachlishili et al., 2006; Elisashvili et al., 2009; Isroi et al., 2011; Nagadesi & Arya, 2013). Численні роботи присвячені дослідженню: одного класу ферментів у різних видів грибів (Saparrat et al., 2000; Elisashvili et al., 2009; Nakamura et al., 2011; Chen et al., 2012), або навпаки дослідники вивчають комплекс ферментів лише у певних видах (Shu et al., 2006; Bancercz & Ginalska, 2007; Buchalo et al., 2011a, 2012; Majolagbe et al., 2012). Відзначимо, що дослідження позаклітинних ферментів грибів, що належать до різних еколого-фізіологічних і таксономічних груп, проводились досить епізодично (Saparrat et al., 2000; Floudas et al., 2012).

Дослідження ферментних профілів грибів відрізнялись кількістю виявлених ензимів та рівнем їх візуалізації (табл. 3.5, рис. 3.3). Встановлено наявність ензимів, що обумовлюють метаболізм вуглеводів (амілази), ліпідів (ліпази), азотних сполук (протеази, нітратредуктази, уреази) та окисно-відновні процеси (лакази). Наявність трьох чи чотирьох з виявлених 6 ферментів домінували у ферментативному профілі досліджених видів грибів.

Таблиця 3.5

Ферментативна активність грибів

Види грибів	Амілаза	Лаказа	Протеаза	Ліпаза	Уреаза	Нітрат-редуктаза
<i>A. aurea</i>	2	1	0	1	1	0
<i>C. comatus</i>	2	3	0	2	0	0
<i>C. militaris</i>	2	0	2	2	3	0
<i>C. schevczenkovi</i>	2	2	0	3	2	0
<i>C. aegerita</i>	1	1	0	0	3	0
<i>I. obliquus</i>	2	1	0	0	2	0
<i>F. velutipes</i>	3	1	0	1	1	0
<i>F. fomentarius</i>	2	2	0	0	2	0
<i>F. betulina</i>	2	0	3	1	0	0
<i>F. pinicola</i>	2	1	0	3	0	0
<i>G. applanatum</i>	1	2	0	2	1	0
<i>G. lucidum</i>	2	2	0	3	0	0
<i>G. frondosa</i>	2	1	3	3	0	0
<i>H. erinaceus</i>	3	1	0	2	1	0
<i>H. myxotricha</i>	3	0	0	2	1	0
<i>H. marmoreus</i>	1	1	0	1	3	0
<i>L. sulphureus</i>	1	0	2	3	0	0
<i>L. edodes</i>	2	3	1	3	0	0
<i>L. luscina</i>	3	3	0	1	3	3
<i>L. shimeji</i>	2	1	0	3	3	0
<i>M. esculenta</i>	2	0	0	2	2	2
<i>O. sinensis</i>	3	0	2	2	2	0
<i>O. obducens</i>	2	1	0	2	0	0
<i>P. igniarius</i>	2	1	0	3	0	0
<i>P. djamor</i>	2	0	0	1	3	0
<i>P. eryngii</i>	2	1	0	0	0	0
<i>P. ostreatus</i>	3	1	0	3	3	0
<i>P. litschaueri</i>	2	1	0	3	2	0
<i>S. commune</i>	2	0	0	2	3	0
<i>T. versicolor</i>	2	0	0	2	1	0

Примітка: 0 – негативна реакція, 1 – слабка позитивна реакція, 2 – позитивна реакція, 3 – сильна позитивна реакція

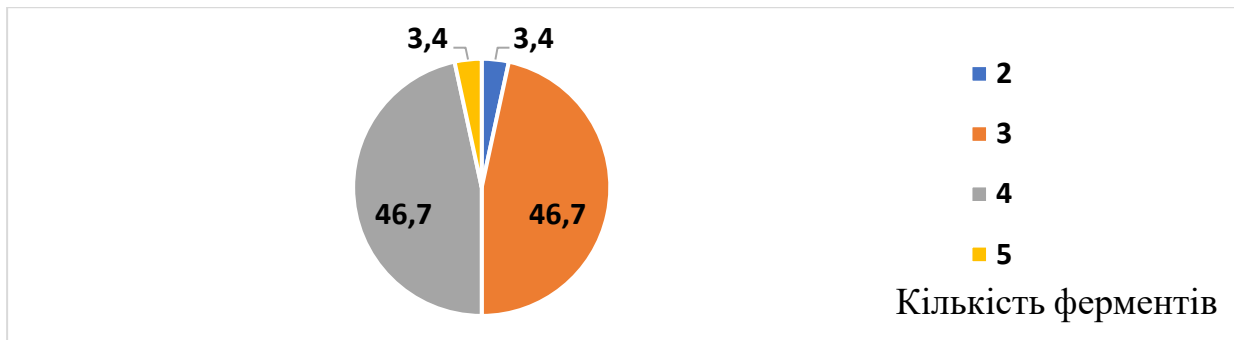


Рис. 3.3. Вміст виявлених ферментів у макроміцетах, %

У всіх досліджених грибів виявлена миттєва активність на фермент амілазу, який здатний розщеплювати крохмаль, глікоген. Амілази активно застосовують у харчовій (хлібопекарській, пивоварній), фармацевтичній, текстильній та паперовій промисловості, а також як компоненти для миючих засобів (Saxena, 2011). Alpana (1980) виявив амілазну активність для 28 із 60 досліджених базидієвих грибів. На відміну від цих даних, нами відмічена позитивна реакція на амілазу у *Pleurotus eryngii*, і слабо виражена активність у *Laetiporus sulphureus* та *Ganoderma applanatum* і підтверджена активність у *G. lucidum*. На скільки нам відомо, наявність амілази встановлена нами вперше для 7 видів (*Coprinus comatus*, *Fomitopsis betulina*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum schimeji*, *Phellinus igniarius*, *Pseudospongipellis litschaueri*). Висока амілазна активність встановлена для 6 видів грибів – *Hericium erinaceus* (рис. 3.4 А), *Auriporia aurea* (рис. 3.4 В), *Ophiocordyceps sinensis* (рис. 3.4 С), *H. myxotricha*, *Lepista luscina*, *Pleurotus ostreatus*.

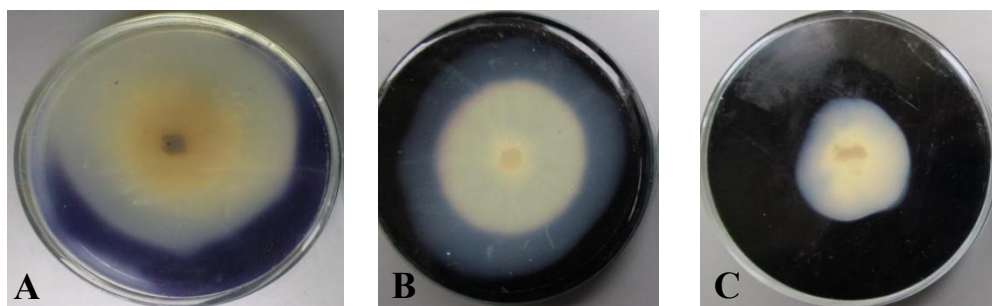


Рис. 3.4. Секреція амілази *Hericium erinaceus* (А), *Auriporia aurea* (В) та *Ophiocordyceps sinensis* (С) у поживне середовище

У біотехнологічному аспекті, лакази базидіоміцетів використовують в різних галузях: текстильній та паперовій промисловості з метою відбілювання матеріалів (Kirby et al., 2000; Nagai et al., 2002; Pointing et al., 2002; Baldrian, 2004) в якості природних засобів під час біоремедіації (Jordaan & Leukes, 2003; Manusamy et al., 2008a,b). Наявність лакази встановлено у 21 виді грибів (табл. 3.5). Перспективними продуцентами лакази виявлено 3 вида – *Lentinula edodes*, *Lepista luscina* та *Coprinus comatus* (рис. 3.5). Слід зазначити, що для видів *L. luscina*, *C. comatus* та *Crinipellis schevczenkovi* наявність лакази виявлена вперше. На відміну від наших результатів, даний ензим був знайдений у інших штамів *Pleurotus djamor* (Kalmış et al., 2008), *Hohenbuehelia myxotricha* (Jang et al., 2009), *Laetiporus sulphureus* (Shekher et al., 2011), *Trametes versicolor* (Jarosz-Wilkolazka et al., 2002; Elisashvili et al., 2008; Erden et al., 2009; Jang et al., 2009; Shraddha et al., 2011; Seshikava & Singara, 2012). За даними літератури найкраще вивчено лакази грибів роду *Pleurotus* (Vanhulle et al., 2007; Elsayed et al., 2012), *Lentinus*, *Ganoderma* та *Agaricus*, та виділено лакази з *Coriolopsis polyzona*, *Phlebia tramellosa*, *Pycnoporus sanguineus* (Vanhulle et al., 2007), *Daedalea quercina*, *Cerrena unicolor*, *Pholiota mutabilis* *Trametes* (Leonowicz & Trojanowski, 1978), *Trametes hirsutus* (Rosales et al., 2002), *Clitocybe maxima*, *Oudemansiella radicata* (Balaraju et al., 2010).

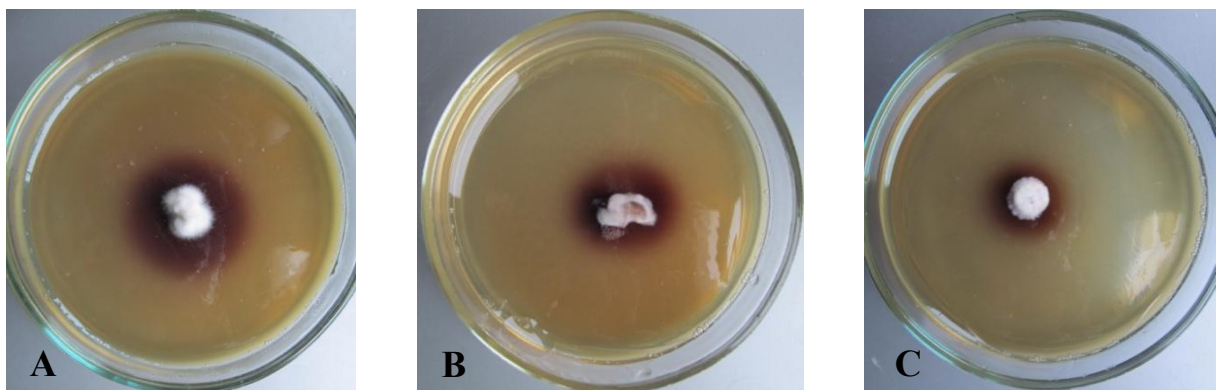


Рис. 3.5. Секреція лакази *Lentinula edodes* (А), *Lepista luscina* (В) та *Coprinus comatus* (С) у поживне середовище

Проведено також кольорові реакції на визначення протеази, яка заслуговує особливої уваги завдяки широкому потенціалу застосування в різних областях (Ray, 2012). Наявність такого ферменту встановлена у 6 видів грибів (табл. 3.5). Найбільш помітну активність протеази виявлено на 2-й день у *Fomitopsis betulina* (рис. 3.6 А), в той час як для інших видів: *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa*, *Cordyceps militaris*, і *Ophiocordyceps sinensis* встановлена наявність прозорої зони навколо колоній на 4-й день. Відзначимо, що активність протеази у *L. edodes* та *G. frondosa* зникала на 7-й день, але виникла навколо колонії *Laetiporus sulphureus*. Результати (наявність або відсутність протеази) у *Ganoderma lucidum*, *L. sulphureus*, *Trametes versicolor* (на відміну від видів *Ganoderma applanatum*, *Pleurotus eryngii* і *Schizophyllum commune*) аналогічні результатам Goud et al. (2009). Здатність грибів *L. edodes* та *G. frondosa* до синтезу протеази були знайдені також Nakamura et al. (2011).

Широка універсальність використання ліпази в різних галузях промисловості (Verma et al., 2012) мотивувала нас до дослідження грибів на активність ліпази. Виявлено наявність ліпази у 26 (близько 87 % досліджуваних) видів (табл. 3.5). Лише 4 види (*Cyclocybe agerita*, *Fomes fomentarius*, *Inonotus obliquus* і *Pleurotus eryngii*) не мали здатності синтезувати цей фермент. Найбільш ранній прояв наявності ферменту, виявлених на 4-й день у *Crinipellis shevchenkovi* і *Ganoderma lucidum* (рис. 3.6 В), тоді як *Ganoderma applanatum* і *Fomitopsis pinicola* показали меншу активність у цей день. Варто відзначити, що наявність ліпази (осад) відмічена у *G. applanatum* на 14-й та на 25-й день культивування. Для *Fomitopsis betulina* і *Hohenbuehelia myxotricha* встановлено пізній прояв ліпази – на 25-й день інкубації. Для видів *Auriporia aurea*, *Crinipellis shevczenkovi*, *H. myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Oxyporus obducens*, *Pseudospongipellis litschaueri* наявність ліпази встановлено нами вперше. Раніше Goud et al. (2009) також відмічали активність ліпази у *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*. На відміну від їх досліджень, нами також зафіксована наявність цього ферменту ще й у інших видів *Pleurotus eryngii*, *Ganoderma applanatum*, *Laetiporus sulphureus* і *Trametes versicolor*. Аналогічний

прояв ліпази у *Grifola frondosa* та *S. commune* підтверджено у попередніх результатах Бухало та її співавтори (Бухало та ін., 2011, 2012).

Незважаючи на важливість наявності азотовмісних компонентів для росту грибів, інформація про асиміляцію нітрату у представників базидієвих грибів залишається обмеженою. В цьому аспекті дослідження ферментів уреаз та нітратредуктази є актуальним. Наявність уреаз встановлено у 67 % досліджених видів грибів (табл. 3.5.). Уреазну активність спостерігали вже на 2-й день культивування в чашках Петрі у сумчастих видів *Cordyceps militaris* (рис. 3.6 С.) і *Morchella esculenta*, а також у базидієвих – *Cyclocybe aegerita*, *Coprinus comatus*, *Lepista luscina*, *Pleurotus ostreatus*, *Pseudospongipellis litschaueri*. Наявність уреазної активності в наших дослідженнях був досить близько до результатів, отриманих для *M. esculenta* (Chu et al., 2002) але кращий для *Schizophyllum commune* (Бухало та ін., 2012) і гірший для *Grifola frondosa* (Бухало та ін., 2011). Останній прояв за часом наявності ферменту спостерігали для *Auriporia aurea* і *Ganoderma applanatum* на 20-й день культивування. Для видів *A. aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri* вперше встановлено здатність до синтезу ферменту уреаз.

Відомо, що одним із основних ферментів у регуляції асиміляції нітратів у більшості організмів є нітратредуктаза. Проте, наявність цього ферменту виявленено лише у двох ґрунтових сапротрофних видах *Lepista luscina* (рис. 3.6 D) та *Morchella esculenta*. Абсолютно аналогічні результати для *M. esculenta* були отримані Михайловою (2008). Необхідно відзначити, що *L. luscina* як продуцент цього ферменту встановлено вперше.



Рис. 3.6 Секреція ферментатив: протеази *Fomitopsis betulina* (A); ліпази *Ganoderma lucidum* (B); уреази *Cordyceps militaris* (C), нітратредуктази *Lepista luscina* (D)

Різноманіття встановлених ферментів макроміцетів можна представити наступним чином (в порядку зменшення кількості виявлених ферментів): амілаза > ліпаза > лаказа > уреаза > протеаза > нітратредуктаза (рис. 3.7). Інформація про наявність різних ферментів є важливою для визначення доступних і економічно вигідних субстратів для культивування макроміцетів.

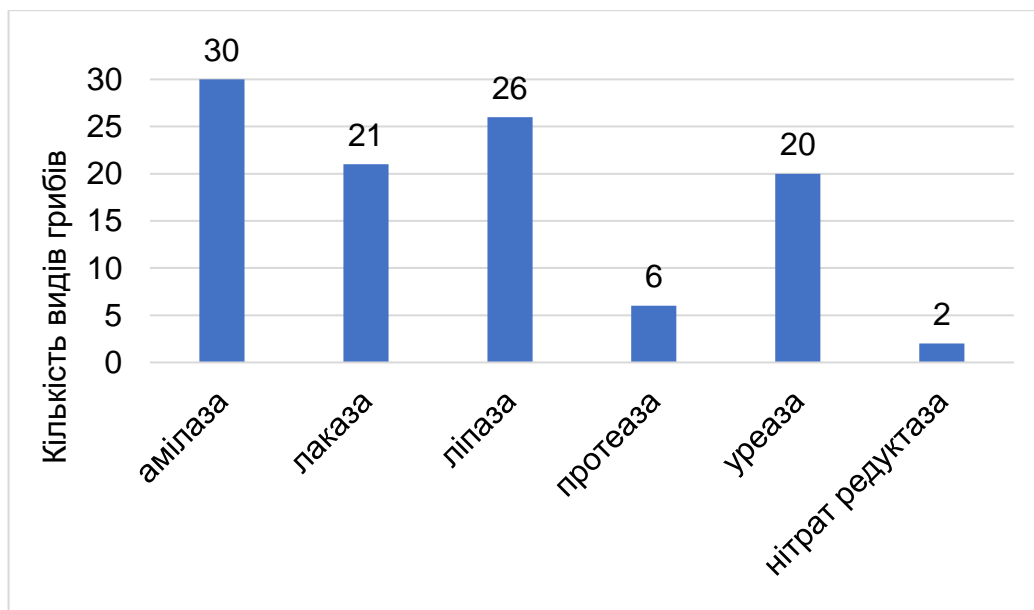


Рис. 3.7. Кількісне представлення виявлених ферментів макроміцетів

Вивчення ферментативної активності грибів є одним з важливих етапів розуміння їх фізіологічних та біохімічних особливостей та виявлення перспективних напрямів їх подальшого використання. Можливість синтезу

різних ферментів закодована у геномі грибів, і вона може бути реалізована за певних умов культивування. Результати проведених досліджень показали різний потенціал тридцяти видів грибів з різних екофізіологічних та таксономічних груп до синтезу позаклітинних ферментів. Враховуючи кількість виявлених ферментів та ступінь їх візуалізації базидієвий гриб *Lepista luscina* можна вважати найцікавішим. Одним з основних результатів дослідження було отримання вперше даних про здатність грибів до синтезу позаклітинних ферментів. За результатами проведеного скринінгу встановлено види грибів потенційно перспективні для подальших досліджень певної ферментативної активності: *Auriporia aurea*, *Hericium erinaceus*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* (амілази); *Coprinus comatus*, *Lentinula edodes*, *L. luscina* (лакази); *Fomitopsis betulina* і *Grifola frondosa* (протеази); *Cordyceps militaris*, *L. luscina*, *P. ostreatus* (уреази); *L. luscina* і *Morchella esculenta* (нітратредуктази).

Знання метаболічних можливостей грибів, зокрема їх здатності до біодеструкції відходів харчової промисловості, має значний потенціал для захисту навколишнього середовища шляхом рециклізації та біоконверсії виробничих залишків різних секторів економіки. Для успішної реалізації цього підходу необхідно детально вивчити закономірності росту грибів і синтезу їх метаболітів за різних умов культивування.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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.

Kruporodova, T., Barsteyn, V., Zaichenko, T, Gafforov, Y., Raśeta M. (2024). Antioxidant potential of macromycetes. Матеріали XII Міжнародної науково-практичної конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій». Полтава: ПП «Астрая».

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.

Круподьорова, Т.А, Іванова, Т.С, Мегалінська Г.П. (2013). Скринінг макроміцетів на наявність ферментів, Тези доповідей VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115-й річниці заснування НТУУ «КПІ» «Біотехнологія ХХІ століття». Київ: НТУУ «КПІ».

РОЗДІЛ 4

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ МАКРОМІЦЕТІВ

Макроміцети демонструють високу ефективність у боротьбі з численними хворобами та метаболічними порушеннями, включно з онкологічними та дегенеративними захворюваннями. Ці терапевтичні властивості обумовлені їх здатністю чинити складні фармакологічні дії на різні клітинні та молекулярні мішені. Біоактивні сполуки макроміцетів можуть взаємодіяти з рецепторами на поверхні клітин, ініціюючи каскад сигнальних процесів, що забезпечує високу ефективність і специфічність їх дії (Borchers et al., 2004; Poucheret et al., 2006).

Особливий інтерес викликають антагоністичні, антибактеріальні та антиоксидантні властивості грибів, які мають значний потенціал для створення нових профілактичних та терапевтичних засобів. Антибактеріальні властивості грибів є перспективними у боротьбі зі зростаючою резистентністю патогенних мікроорганізмів до існуючих антибіотиків. Водночас антиоксидантні властивості сприяють нейтралізації вільних радикалів, зменшенню оксидативного стресу та попередженню пов'язаних із ним патологій, зокрема серцево-судинних і нейродегенеративних захворювань.

Сучасні наукові дослідження зосереджені на вивченні біологічної активності макроміцетів, відкриваючи нові можливості для їх практичного використання. Ідентифікація нових видів грибів та їх біоактивних сполук, розробка ефективних методів виділення та синтезу цих компонентів, а також дослідження механізмів їх біологічної дії створюють основу для розробки інноваційних засобів підтримки здоров'я та екологічно безпечних технологій. Саме ці актуальні напрями визначили вибір наступних етапів наших досліджень.

4.1. Антагоністична активність макроміцетів в умовах спільного культивування з мікроміцетами

Останнім часом широкого територіального поширення набула поява грибкових інфекцій, зокрема дерматитів, що обумовлено, насамперед, зростанням та постійною міграцією населення, а також зміною способу життя в індустріальних країнах (Thambugala et al., 2024). За даними ВООЗ, кожний п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожний десятий має виражені клінічні прояви. Найгостріше постає проблема, пов'язана з мікозами стоп (Rukanikigitero et al., 2021). Нажаль, із-за погіршення соціальних факторів, сучасного стану медицини, аналогічна ситуація спостерігається і в Україні. Слід відзначити погіршення санітарно-просвітницької роботи, недотримання відповідних санітарних норм у басейнах, саунах, косметологічних кабінетах, салонах краси, які можуть бути вогнищами інфекції. Серед медичних чинників існують проблеми у лікуванні хворих з грибковими захворюваннями із соціально неблагополучних прошарків населення, загальне погіршення стану імунітету населення, використання інвазійних методів діагностики, зростання кількості випадків захворювань, що часто супроводжуються грибковими інфекціями (цукровий діабет, онкологічні захворювання, ВІЛ-інфекція та ін.).

Сьогодні відомо більше 400 видів грибів, здатних викликати захворювання у людини. Найчастіше, захворювання викликають представники царства грибів (Fungi) трьох класів: 1) зигоміцети (збудники мукорозів, ентомофторозів); 2) аскоміцети (збудники кандидозів, хромобластомікозу, феогіфомікозів, у тому числі чорної п'єдри, фузаріозу, фавусу, трихофітії, мікроспорії, епідермофітії, гістоплазмозу, бластомікозу, паракокцидіомікозу (американського бластомікозу), кокцидіомікозу та ін.); 3) базидіоміцети (збудники криптококозу, білої п'єдри, маласезіозів, у тому числі висівкоподібного лишая та ін.) (Коляденко та Короленко, 2008).

Ці факти свідчать, що мікози нині належать до найбільш актуальних клінічних проблем сучасної медицини. Особливу небезпеку становлять

представники родів *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium* та *Mucor*, які є етіологічними агентами тяжких грибкових інфекцій (Mirhosseini & Khosravi, 2023; Thambugala et al., 2024). Ці патогенні мікроорганізми викликають алергічні реакції, ускладнюють перебіг хронічних захворювань та значно послаблюють імунну систему пацієнтів. Крім цього, складність терапії мікотичних інфекцій зумовлена їх частою асоціацією з іншими мікроорганізмами, зокрема пліснявими грибами, дріжджоподібними видами, бактеріями та дерматофітами. Така комбінація патогенів ускладнює діагностику та лікування, знижуючи ефективність стандартних терапевтичних підходів. Узагальнюючи сучасні виклики у сфері лікування мікозів, слід відзначити, що наявність токсичних побічних ефектів, алергічних реакцій у пацієнтів, а також поширення явищ полірезистентності значно обмежують можливості сучасної терапії. У зв'язку з цим постає нагальна потреба у розробці нових антимікотичних препаратів, які поєднували б низький рівень токсичності, високу терапевтичну ефективність та економічну доступність для широких верств населення. Зазначені аспекти стали визначальними для формування напрямів наших подальших досліджень, спрямованих на вивчення антимікотичних властивостей макроцітетів. Такий підхід має на меті пошук потенційно перспективних продуцентів, здатних ефективно протидіяти патогенним мікроорганізмам, водночас характеризуючись широким терапевтичним потенціалом.

4.1.1. Реакції взаємодії грибів

Особливий інтерес представляє причинно-наслідковий зв'язок біологічних та біохімічних основ для імунних та захисних реакцій конкуруючих видів, що проявляється на різних рівнях життя. Взаємодія між організмами є результатом біологічних характеристик організмів, які визначають стратегії виживання, а біохімічні процеси забезпечують їх ефективність на молекулярному рівні (Marmann et al., 2014; Rosero-Chasoy, 2021; Sanitá et al., 2022).

Взаємодія між грибами може здійснюватися на відстані, після контакту на рівні окремих гіф і після контакту на рівні всього міцелію (Woodward & Boddy, 2008). Антагонізм на відстані, як правило, спричинений летючими та дифузними хімічними речовинами, включаючи ферменти, токсини та інші антимікотичні метаболіти. На рівні гіфів виникають два основні типи антагонізму, тобто гіфальна інтерференція і паразитизм. Контакт на рівні міцелію, який часто називають грубим міцеліальним контактом. Ймовірно, існує багато механізмів, що включають вивільнення ферментів, токсинів та інших антимікотичних сполук. Незалежно від механізму антагонізму, кінцевим результатом може бути «глухий кут», коли жоден вид не розвивається; заміщення, коли один вид займає місце іншого; часткове заміщення, коли один вид займає частину, але не всю територію антагоніста; або взаємне заміщення, коли один вид займає місце, яке раніше займав інший, і навпаки.

Загалом, міжвидова взаємодія грибів при спільному вирощуванні може проявлятися через кілька механізмів: конкуренцію за ресурси та простір, секрецію біологічно активних речовин (антимікотиків, ферментів, алелохімікатів), гіперпаразитизм, та індукцію імунітету шляхом вироблення захисних структур або метаболітів, які зміцнюють власні захисні механізми й знижують активність інших організмів (Khunnamwong et al., 2020; Xia et al., 2023). Ці механізми можуть діяти як окремо, так і в комбінації, забезпечуючи макроміцетам перевагу у боротьбі за виживання та ресурсну базу у спільному середовищі.

Спільне вирощування грибів на твердому середовищі у обмеженому просторі є зручним методом проведення антагоністичних досліджень та пошуку біологічно активних метаболітів, оскільки можна легко візуально оцінити ріст колонії, тип взаємодії, фенотипічні зміни у морфології колоній та індукцію метаболізму.

Для характеристики взаємодії макроміцетів з іншими грибами в спільній культурі використовувались різні концепції (Bruce & Highley, 1991; Badalyan et al., 2002; Owaid, 2017; Pasaylyuk, 2017). На нашу думку, визначення

антагоністичної здатності макроміцетів за методом, запропонованим Badalyan et al. (2002, 2004), з використанням шкали оцінок та обчислення антагоністичного індексу (AI) є більш доцільним підходом для скринінгу та кількісної оцінки антагоністичного потенціалу макроміцетів за умов твердофазного культивування. Такий підхід забезпечує стандартизовану інтерпретацію результатів, дозволяючи об'єктивно порівнювати активність різних штамів та видів грибів.

При сумісному культивуванні 30 видів досліджених макроміцетів та патогенних мікроміцетів виявлено різні реакції взаємодії: взаємне гальмування росту колоній при контакті (тип А), на дистанції (тип В), спокійне наростання без затримки росту гриба (тип С), а також часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту контактуючих колоній при контакті (підтипи С_{A1}, С_{A2}) та обчислено антагоністичну активність 30 виду макроміцетів проти *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida albicans* (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Антимікотична активність грибів

Макроміцети	<i>P. kudriavzevii</i> 301	Штами <i>C. albicans</i>				<i>Aspergill niger</i>	<i>Penicillium polonicum</i>	<i>Mucor</i> sp.	AI
		17/ 138	311	315	319				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>A. aurea</i>	С	С	С _{A1}	С	А	С _{A1}	С _{A2}	С _{A1}	21,5
<i>C. comatus</i>	С _{A2}	С _{A2}	С _{A1} *	С _{A1}	С _{A1} *	А	А	С _{A2}	21,5
<i>C. militaris</i>	С _{A1}	С _{A2}	С _{A1} *	С _{A1}	С _{A1} *	А	С _{A1}	С _{A1}	23,0
<i>C. schevczenkovi</i>	С	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2}	С _{A1}	А	30,0
<i>C. aegerita</i>	С	С	С _{A1}	С	С	С _{A1}	С _{A1}	С _{A1}	22,5
<i>F. velutipes</i>	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2} *	С _{A1}	С _{A1} *	А	А	С _{A2}	22,5
<i>F. fomentarius</i>	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2}	С _{A2}	А*	С _{A1}	С _{A2}	С _{A2}	27,0
<i>F. betulina</i>	С _{A2}	С	С _{A2}	С _{A2}	А*	С _{A1}	С _{A2}	С _{A1}	25,5
<i>F. pinicola</i>	С	С	С*	С	С	С _{A1}	А	А	20,5

Таблиця 4.1 (продовження)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>G. applanatum</i>	C _{A2}	C _{A2}	C _{A2} *	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1}	C _{A2}	A	31,5
<i>G. lucidum</i>	C	C	C*	C	C	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1}	24,0
<i>G. frondosa</i>	A	B	C _{A2} *	A	C _{A2}	A	A	C	15,0
<i>H. erinaceus</i>	A	A	B*	A	C _{A1}	A	B	C	11,5
<i>H. mycotricha</i>	C _{A2}	C _{A2}	A*	C _{A1}	A*	C _{A2}	C _{A1}	A	23,5
<i>H. marmoreus</i>	C _{A1}	A	A*	C _{A1}	C _{A1} *	C _{A2}	A	C	12,5
<i>I. obliquus</i>	C	C	C _{A1}	C	A	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1}	13,5
<i>L. sulphureus</i>	C	C	C*	C	C*	C _{A1}	C _{A1}	A	24,0
<i>L. edodes</i>	C	C _{A2}	C _{A2} *	C _{A2}	C _{A2} *	C _{A1}	C _{A2}	B	31,0
<i>L. luscina</i>	A	A	A*	A	A*	C _{A1}	C _{A2}	C _{A2}	5,0
<i>L. shimeji</i>	C _{A2}	C _{A2}	C*	C _{A2}	C _{A2}	C _{A2}	A	C _{A2}	22,0
<i>M. esculenta</i>	A	B	A	A*	A	A	C _{A2}	C _{A2}	7,0
<i>O. sinensis</i>	C _{A1}	C _{A1}	C _{A2}	C _{A1}	C _{A1}	A	A	A	21,5
<i>O. obducens</i>	C	C	C	C	C	C _{A1}	C _{A2}	C _{A1}	18,5
<i>P. igniarius</i>	A	C _{A2}	C _{A1}	C _{A1}	A	A	A	C	15,5
<i>P. djamor</i>	B	C _{A2}	C _{A1} *	C _{A2}	C _{A2}	A	C _{A1}	C _{A1}	23,5
<i>P. eryngii</i>	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1} *	C	C _{A1}	A	C _{A1}	C _{A1}	23,5
<i>P. ostreatus</i>	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1} *	C _{A2}	C _{A1} *	C _{A1}	C _{A2}	C _{A2}	28,5
<i>P. litschaueri</i>	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1}	C _{A1}	C _{A2}	A	C _{A1}	C _{A2}	25,0
<i>S. commune</i>	C	C _{A2}	C	A	C*	A	C _{A1}	C _{A2}	18,5
<i>T. versicolor</i>	C	C	C	C	C	C _{A2}	C _{A2}	C _{A1}	24,0

Примітка: А і В – взаємне гальмування росту колоній при контакті та на дистанції, відповідно; С – спокійне наростання та підтипи С_{A1}, С_{A2} - часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту контактуючих колоній при контакті, * - наявність поліморфізму у *Candida albicans*. Жирним шрифтом виділено реакцію патогену.

Антагоністичний індекс варіював у межах від 5,0 до 31,5 залежно від виду гриба. Варто підкреслити значний антагоністичний потенціал досліджених макроміцетів: 83,3 % (25 видів) продемонстрували АІ \geq 15. Згідно зі шкалою оцінки антагоністичної активності, запропонованою Badalyan et al. (2002), такі значення свідчать про високу антагоністичну здатність грибів, що підтверджує їх перспективність для подальших біотехнологічних застосувань.

Двосторонній антагонізм грибів (тип А) описані в літературі за умови одночасного росту в культурі *Sphaeropsis sapinea* (*Diplodia pinea*) з *Armillaria* sp.,

Bjerkandera adusta, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia* sp. (Morin-Sardin, 2017); *Verticillium* sp., *Pythium* sp. з *Hericium erinaceus*, *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor* (De Oliveira et al., 2019); *Bipolaris sorokiniana* і *L. edodes*, *Fusarium culmorum* і *Coriolus trametes*, *Rhizoctonia cerealis* і *Flammulina velutipes* (Badalyan et al., 2004).

Взаємне гальмування росту колоній при контакті на дистанції (тип В) встановлено для ксилотрофних видів *Hypholoma sublateritium*, *Polyporus varius*, *P. subarcularius*, *Pleurotus cornucopiae*, *Pholiota aurivella* при сумісному культивуванні з *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Bipolaris sorokiniana* і *Rhizoctonia cerealis* (Badalyan et al., 2002) і для сумчастих видів *Xylaria polymorpha* і *X. longipes* при спільному рості з *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* (Atamanchuk et al., 2024).

Антагоністична активність мікроміцетів по відношенню до макроміцетів також описана в літературі. Спокійне наростання без затримки росту (тип С) раніше вже було описано в подвійній культурі вирощування мікроміцетів та ксилотрофних макроміцетів: *Trichoderma* spp. і *Pholiota populnea* (Badalyan, 2004), *Phythium* sp. і *Agrocybe pediades* (Chaudhary & Tripathi, 2016). Встановлено також часткове наростання (підтип С_{A1}) міцелію мікроміцетів на колонію ксилотрофних базидієвих грибів: *Bipolaris sorokiniana* з *Lentinula edodes*, *Pholiota aurivella*, *P. populnea* (Badalyan et al., 2002); *Trichoderma harzianum* з *Cerioporus squamosus*, *L. edodes*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus cornucopiae*; *Trichoderma pseudokoningii* з *C. squamosus*, *Pholiota aurivella*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*; *Trichoderma viride* з *C. squamosus*, *Flammula alnicola*, *P. aurivella*, *Pleurotus cornucopiae* (Badalyan et al., 2004). Повне наростання (підтип С_{A2}) встановлено при рості фітопатогенних грибів і ксилотрофних базидієвих грибів: *Fusarium culmorum* з *Fomes fomentarius*, *Ganoderma adspersum*, *Lentinus tigrinus*, *Lenzites betulinus* (Bruce & Highley, 1991), *Pleurotus tuberregium* (Badalyan et al., 2008), *Trichoderma harzianum* з *Flammulina velutipes*, *F. alnicola*, *Kuehneromyces mutabilis* та *Pholiota aurivella* (Badalyan et al., 2004). Для різних штамів *Xylaria polymorpha* і *X. longipes* було виявлено варіабельність прояву реакцій наростання

(тип С, підтипи C_{A1} і C_{A2}) на колонії *Aspergillum niger*, *Penicillium polonicum*, *Fusarium soloni*, *Trichoderma viride*, *Candida albicans* (Atamanchuk et al., 2024).

Усі проведені *in vitro* дослідження підтверджують значний антагоністичний потенціал макроміцетів, що належать до різних екологічних та систематичних груп. З практичної точки зору, ґрунтове розуміння механізмів таких взаємодій відкриває перспективи для дослідження прихованих ресурсів захисних процесів грибів. Це може стати основою для подальшого виявлення нових антимікробних метаболітів, які мають потенціал для використання в біотехнологіях, фармакології та аграрному секторі.

4.1.2. Особливості росту макроміцетів і *Saccharomycetaceae*

Клінічні дослідження свідчать, що найрозповсюдженіші мікози викликані дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Гриби *Candida* spp. – опортуністичні патогени, які зумовлюють поверхневі та інвазивні кандидози. Основними збудниками кандидозів є *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Nakaseomyces glabrata* (синонім *Candida glabrata*), значно рідше з патологічного вогнища виділяють *Candida lusitaniae*, *C. guilliermondii* та *C. rugosa* (Вринчану, 2016). Найпоширенішим збудником є *C. albicans*. Інфекції, обумовлені *C. albicans* можна розділити на основні групи: шкірні (шкіра та її придатки), слизові (ротоглоткова, стравохідна та вульвовагінальна) та системні (інфекції крові, кандидемія та інші форми інвазивного кандидозу) (Papon et al., 2013). Хворі на СНІД та рак, а також особи, що перенесли трансплантацію, мають високий ризик розвитку кандидозу через імуносупресію. Крім того, такий вид як *Pichia kudriavzevii* (синоніми: *Candida krusei*, *Issatchenkia orientalis*), також поступово стає причиною інвазивного кандидозу (Samaranayake & Samaranayake, 1994; Samaranayake et. al., 1994), а також викликає оніхомікоз у пацієнтів з хронічними слизово-шкірними інфекціями (Hossain & Ghannoum, 2001). Разом з цим, викликає занепокоєння поява нових фактів стійкості до існуючих комерційних препаратів. У той же час поганий ефект деяких препаратів та висока можливість

рецидиву кандидозу, а також токсичність препаратів сучасної медикаментозної терапії на основі кетоконазолу підкреслюють необхідність пошуку нових ефективних протигрибкових засобів з низьким побічним ефектом та малою токсичністю.

Здійснено спільне культивування макроміцетів з представниками *Saccharomycetaceae*: *Candida albicans* 17/138 (еталонний штам), 311, 315, 319 (клінічні ізоляти), *Pichia kudriavzevii* 301 (клінічний ізолят) та встановлена частота виникнення реакції взаємодій (рис. 4.1, 4.2). Отримані результати свідчать про виражений антагонізм макроміцетів щодо патогенних грибів, зокрема *P. kudriavzevii* та *C. albicans*, з частотою заміщення 78,7 %. Варто зазначити, що повна заміна патогенних штамів макроміцетами відбувалася майже вдвічі частіше (30,7 %), ніж часткова (19,3 %), що підкреслює значний інгібуючий потенціал досліджених макроміцетів.

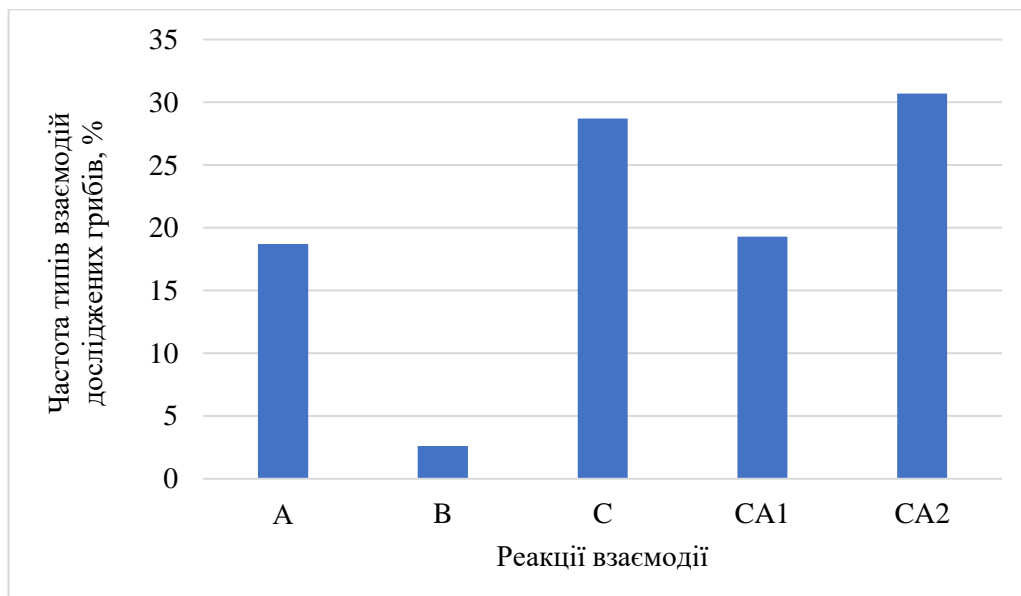


Рис. 4.1. Розподіл реакцій взаємодії між колоніями макроміцетів та *Saccharomycetaceae*, виражений у відсотках від загальної кількості (450) протестованих пар. Типи реакцій: А і В – взаємне гальмування росту колоній при контакті та на дистанції, відповідно; С – спокійне наростання, та підтипи С_{А1}, С_{А2} – часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту контактуючих колоній при контакті



Рис. 4.2. Конкурентна взаємодії між дослідженими грибами: взаємне гальмування росту колоній при контакті *Morchella esculenta* і *Candida albicans* 315 (A); взаємне гальмування росту колоній *Pleurotus djamor* і *Pichia kudriavzevii* 301 на дистанції (B); C – спокійне наростання *Fomitopsis betulina* на *C. albicans* 17/138 (C); часткове наростання *Pleurotus eryngii* на *C. albicans* 319 (D); повне наростання *Pseudospongipellis litschaueri* на *C. albicans* 17/138, лицьова (E) та зворотна (F) сторони чашки Петрі, відповідно. Примітка: праворуч – гриб патоген, ліворуч – макроміцет

На скільки нам відомо, нами вперше отримано дані для всіх досліджених видів макроміцетів проявляти антагоністичну активність проти *Pichia kudriavzevii* та *Candida albicans*. Пізніше вченими Atamanchuk et al. (2024) також встановлено домінування реакцій наростання штаммами *Xylaria polymorpha* (за типом C, і підтипами C_{A1} і C_{A2}) та *X. longipes* (підтипи C_{A1} і C_{A2}) на колонії *C. albicans*.

Проведений скринінг дозволив легко визначити найбільш активні види з різних екологічних груп з високим антагоністичним індексом (AI): ксилотрофні види *Ganoderma applanatum* (AI = 22,5), *Lentinula edodes* (AI = 21,0), *Flammulina velutipes*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Pleurotus ostreatus* (AI = 20,5), гриб листової підстилки *Crinipellis schevczenkovi* (AI = 21) та ґрунтовий сапротроф *Lyophyllum shimeji* (AI = 21). Попередні експерименти також показали, що ксилотрофні гриби *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma* sp. мали найсильніший конкурентний ефект проти мікопаразитичних грибів, зокрема *Clonostachys rosea*, *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii* та *T. viride* (Badalyan et al., 2004). Більше того, було встановлено, що *P. ostreatus* мав найсильнішу антагоністичну активність щодо патогенних грибів зернових культур, а саме *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (сучасна назва: *Gaeumannomyces tritici*), *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia cerealis* (сучасна назва: *Ceratobasidium ceyanle*) (Badalyan et al., 2002).

Зазначимо, що потенціал деяких видів макроміцетів пригнічувати *Pichia kudriavzevii* представлено у літературі епізодично. Екстракти міцелію *Agrocybe perfecta*, *Climacodon pulcherrium*, *Odumansiella canarii*, *Pycnoporus sanguineus* (Rosa, 2003), *Lentinus edodes* (Hearst et al., 2009), були ефективними проти цього патогену.

За даними літератури проведена незначна кількість експериментів щодо ефективності пригнічення росту *Candida albicans* екстрактами міцелію базидіоміцетів: *Hericium* sp. (Song et al., 2020), *Hypsizygus marmoreus* (Angelini et al., 2023), *Armillaria mellea*, *Irpex lacteus*, *Meripilus giganteus*, *Morchella costata*, *M. elata*, *M. esculenta* var. *vulgaris*, *M. hortensis*, *M. rotunda*, *Oudemansiella canarii*, *Paxillus involutus*, *Pleurotus eryngii*, *P. ostreatus* (Alves et al., 2013). Пригнічувати ріст *C. albicans* також можуть метаболіти культурального середовища базидієвих видів: *Ganoderma lucidum* (Bitew & Abate, 1994; Alencar & Clemente, 2013), *Lentinula edodes*, *P. ostreatus* (Alencar & Clemente, 2013), що узгоджується з отриманими нами даними.

Явище антагонізму характеризувалося змінами морфологічних, фізіологічних та біохімічних параметрів у двох організмах, які спільно росли. Ці зміни можуть мати як окремий, так і комплексний характер, впливаючи на життєздатність та метаболічну активність обох культур грибів.

Проведені дослідження створюють підґрунтя для встановлення кореляцій між антагоністичною активністю макроміцетів і ступенем вірулентності штамів *Candida albicans*. Це дозволяє оцінити можливості використання макроміцетів як біологічних агентів для зниження патогенності грибів роду *Candida* та розробки нових підходів до протигрибкової терапії. Як правило, штами *C. albicans* 17/138 та *P. litschaueri* виявили вищу чутливість до дії всіх досліджених макроміцетів порівняно з клінічними ізолятами *C. albicans*. Це свідчить про варіативність ступеня резистентності серед патогенних штамів, що може бути обумовлено відмінностями в їх генетичному профілі, адаптаційних механізмах та здатності до формування біоплівки. Виявлено появу фенотипового поліморфізму (утворення псевдогіф) у клінічних ізолятів *C. albicans* (рис. 4.3): *C. albicans* 311 при спільному культивуванні з 17 грибами (ентомофіл *C. militaris*, ґрунтові сапротрофи *Coprinus comatus*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji* та ксилотрофні види *Flammulina velutipes*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Hericium erinaceus*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*); *C. albicans* 315 – з ґрунтовий вид *Morchella esculenta*; *C. albicans* 319 – з 12 грибами (ентомофіл *Cordyceps militaris*, ґрунтові сапротрофи *C. comatus*, *L. luscina* та ксилотрофи *Flammulina velutipes*, *Fomitopsis betulina*, *Fomes fomentarius*, *H. marmoreus*, *H. myxotricha*, *L. sulphureus*, *L. edodes*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune*). Таким чином, два клінічні ізоляти *C. albicans* 311 та 319 виявляли поліморфізм у разі спільного культивування з *C. militaris*, *C. comatus*, *L. luscina*, *F. velutipes*, *H. marmoreus*, *H. myxotricha*, *L. sulphureus*, *L. edodes*, *P. ostreatus*.

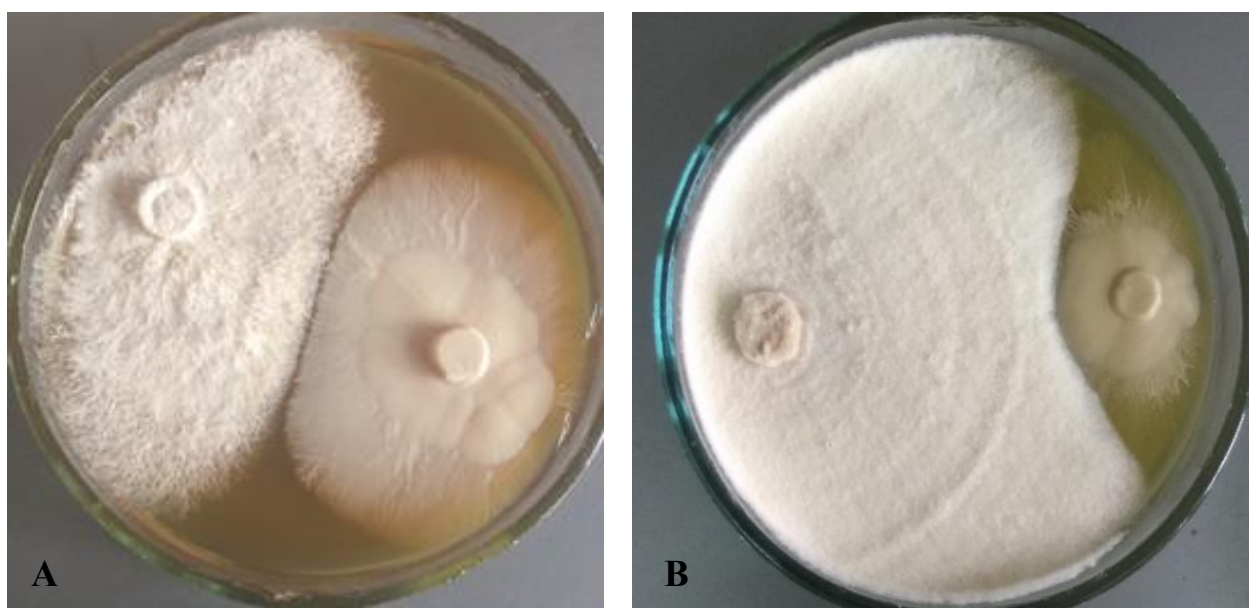


Рис. 4.3. Поліморфізм клінічних ізолятів *Candida albicans* (праворуч) при сумісному культивуванні з макроміцетами (ліворуч): *Hericium erinaceus* і *C. albicans* 311(А), *Fomes fomentarius* і *C. albicans* 319 (В)

Відомо, що основною функцією гіф умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема представників роду *Candida* spp., є інвазія у субстрат, на який вони потрапляють. Цей процес забезпечує колонізацію, живлення та поширення патогенів у відповідних умовах середовища. Однак у контексті антагоністичної взаємодії з макроміцетами утворення гіф може розглядатися як захисна відповідь на стресові умови, спричинені метаболітами антагоністів. Зокрема, різка зміна рН середовища внаслідок синтезу органічних кислот або інших біоактивних сполук може індукувати морфологічні зміни *Candida* spp., стимулюючи утворення гіф як механізму виживання. Це припущення вимагає подальших експериментальних досліджень, спрямованих на з'ясування молекулярних механізмів такої адаптації та оцінку ролі різних метаболітів макроміцетів у модифікації морфології умовно-патогенних грибів.

Конкурентні або антагоністичні взаємодії, що спостерігалися під час спільного культивування макроміцетів, призвели до виражених морфологічних змін колоній грибів (рис. 4.4). Вважається, що такі морфологічні зміни можуть бути опосередковані підвищеною регуляцією генів, залучених до процесів

антагонізму (Iakovlev et al., 2004). Зокрема, при контакті колоній *Grifola frondosa* з *Pichia kudriavzevii* було відзначено формування міцеліального валика (рис. 4.4 А), що, ймовірно, свідчить про активний захист або обмеження поширення конкурента. Взаємодія на межі контакту між колоніями призвела до утворення локального повітряного міцелію *Fomitopsis betulina* (рис. 4.4 В), що може бути відповіддю на стресові умови чи спробою конкурентного витіснення. Крім того, у разі спільного культивування *Ganoderma applanatum* з *P. kudriavzevii* спостерігали утворення центральної смуги на межі контакту (рис. 4.4 С), яка може бути результатом взаємного обмеження росту або хімічної сигналізації між видами. Такі морфологічні зміни вказують на складні механізми антагоністичної взаємодії, що включають морфогенетичні та біохімічні відповіді, спрямовані на виживання та конкурентне переважання.

Через 20 днів спільного культивування спостерігали утворення метаболітів на колоніях досліджуваних макроміцетів у вигляді ексудату. Зокрема, у *Fomes fomentarius* з'явилися темно-коричневі краплі ексудату (рис. 4.4 D), а на колоніях *Pleurotus ostreatus* та *Lyophyllum shimeji* – блискучі золотисті краплі рідини (рис. 4.4 Е, 4.4 F). Подібне продукування вторинних метаболітів золотистого кольору було описано раніше на краях колоній *Lentinula edodes* при спільному вирощуванні з *Verticillium* sp. та *Pythium* sp. (Owaid, 2017). Важливо відзначити, що *Fomes fomentarius* продемонстрував здатність утворювати примордії в умовах подвійного культивування, причому цей процес був більш вираженим у зонах контакту з *Candida albicans* (рис. 4.4 Е). Аналогічні явища описані в літературі: формування примордіїв у *Lentinus tigrinus* при спільному вирощуванні з *Bipolaris sorokiniana* (Badalyan, 2002). Це може свідчити про стимулюючий вплив патогенного гриба на морфогенез макроміцета через індукцію стресової відповіді або активацію механізмів захисту на біотичний стрес.

Найбільш виражені морфологічні зміни спостерігали при взаємодії *Coprinus comatus* з *C. albicans* 311, що включали утворення коричневих бар'єрів на лінії контакту з патогенним мікроорганізмом, зміну кольору міцелію та

реверзumu колонії ксилотрофного гриба (рис. 4.4 Н, J, L, M). Аналогічну реакцію раніше описували як стійкість штаму *Lentinula edodes* UFLA-LE5 до метаболітів *Trichoderma* sp. (dos Santos, 2019). Зміни у морфології та кольорі колонії також були відзначені при спільному вирощуванні *Coprinus comatus* і *Candida albicans* 319 (рис. 4.4 Н, J, L, M). Кількісно рівень лакази *C. comatus* збільшився у 3,3 рази ($48,0 \pm 5,2$ Од/мл у монокультури *C. comatus* та $153,6 \pm 10,1$ Од/мл при спільному культивуванні *C. comatus* і *C. albicans* 319). Імовірно, метаболіти, що дифундують зі штаму *C. albicans*, індукують активацію лаказної активності *C. comatus*, яка, у свою чергу, спричиняє окислення поліфенолів і синтез коричневих пігментів у гіфах. Це може бути результатом активації загальних клітинних механізмів стресостійкості. Раніше нами було встановлено наявність лаказної активності у 21 виду грибів (Krupodorova et al., 2014), проте лише спільне культивування *C. comatus* зі штамми *C. albicans* 311 і 319 дозволило виявити її індукцію. Спільне культивування виявлено ефективним для активації лакази *C. comatus*, яка забезпечує захист грибів від окислювального стресу та може слугувати перспективним біотехнологічним підходом для підвищення продуктивності ферменту. Варто зазначити, що біологічна активність цього ферменту вже була підтверджена: лаказа, ізольована з міцелію *C. comatus* (штам JT-01), виявила антипатогенну активність, зокрема інгібувала зворотню транскриптазу ВІЛ-1 (Zhao et al., 2014). Це підкреслює потенціал використання *C. comatus* як джерела біологічно активних сполук із широким спектром антимікробної та протигрибкової дії.

Підсилення активності лігнін-модифікуючих ферментів, таких як лаказа, пероксидаза марганцю, фенолоксидаза та пероксидаза, у спільних культурах грибів є широко дослідженим явищем у мікології. Згідно з численними науковими роботами (Rayner et al., 1994; Savoie et al., 1998; Bruce & Highley, 1999; Natvani et al., 2002; Badalyan et al., 2002, 2004; Uzar et al., 2017), цей процес обумовлений складними міжвидовими взаємодіями, що виникають у змішаних культурах базидієвих грибів.



Рис. 4.4. Зміни морфології колоній грибів: утворення міцеліального валику *Grifola frondosa* при контакті з *Pichia kudriavzevii* 301 (А); утворення локального повітряного міцелію *Fomitopsis betulina* при контакті з *Candida albicans* 319 (В);

наявність центральної борозни при культивуванні *Ganoderma applanatum* та *P. kudriavzevii* 301 (C); формування примордіїв *Fomes fomentarius* та коричневого кольору крапель ексудату при культивуванні з *C. albicans* 17/138 (D); золотисті краплі ексудату *Pleurotus ostreatus* при культивуванні з *C. albicans* 311 (E) та *Lyophyllum shimeji* при культивуванні з *C. albicans* 311 (F); формування хвилеподібного міцелію коричневого кольору у *Coprinus comatus* (G) і зворотна сторона ксилотрофа (L) при культивуванні з *C. albicans* 311; зміни у лицьовій (I) та зворотній стороні колонії (M) *C. comatus* при культивуванні з *C. albicans* 319. G і K – лицьова та зворотна сторони колонії *C. comatus* у моно культурі, відповідно (контроль). Примітка: праворуч – гриб патоген, ліворуч – макроміцет

Крім того, утворення темних зон у спільних культурах грибів може бути зумовлене синтезом меланіну — пігменту з багатофункціональними захисними властивостями (Suthar et al., 2023). Так, меланін утворює фізичний бар'єр, який перешкоджає проникненню ферментів, що руйнують клітинні стінки, і обмежує доступ інших мікроорганізмів до життєво важливих структур грибного міцелію. Крім цього, цей пігмент також виконує важливу роль у стресових відповідях грибів, сприяючи адаптації до несприятливих умов навколишнього середовища, таких як зміни вологості, температури та наявності токсичних сполук. Водночас, меланін бере участь у формуванні імунних механізмів захисту, обмежуючи поширення патогенних організмів та забезпечуючи стійкість до міцеліальної інвазії. Завдяки своїй хімічній стабільності та стійкості до деградації, меланін є одним із ключових факторів виживання грибів у конкурентних екосистемах.

У науковому контексті поява ексудату та зміна кольору слід інтерпретувати як результат того, що спільне культивування стимулює значне посилення біосинтезу конститутивно присутніх сполук або накопичення криптичних метаболітів, які залишаються невиявленими в аксенічній культурі штаму-продуцента (Marmann et al., 2014; Rosero-Chasoy et al., 2021). Зазначені метаболіти потенційно можуть відігравати ключову роль у реалізації протигрибкової та/або фунгістатичної активності.

За результатами проведених досліджень встановлено, що спільне культивування макроміцетів призводить до змін морфологічних характеристик деяких грибних колоній, зокрема утворення міцеліального гребня, повітряного міцелію, бугорів, крапель ексудату, зміни кольору колонії та поліморфізму клінічних ізолятів *Candida albicans*. Отримані результати свідчать про значний антимікотичний потенціал 30 досліджених видів макроміцетів щодо штамів *Pichia kudriavzevii* та *C. albicans*.

Наскільки нам відомо, вперше продемонстровано антагоністичну активність в подвійній культурі усіх досліджених макроміцетів щодо зазначених патогенних грибів. Серед них виділено види з високим антагоністичним індексом (AI) з різних екологічних груп: ксилотрофи *Ganoderma applanatum* (AI = 22,5), *Lentinula edodes* (AI = 21,0), *Flammulina velutipes*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Pleurotus ostreatus* (AI = 20,5); представник грибів листової підстилки *Crinipellis schevczenkovi* (AI = 21); та ґрунтовий сапротроф *Lyophyllum shimeji* (AI = 21). Ці види є перспективними для подальших досліджень з метою створення на їх основі біофунгіцидних препаратів. Окрему увагу привертає здатність до підвищення синтезу лакази при сумісному культивуванні *Coprinus comatus* та *C. albicans*, що підтверджує застосування стратегії сумісного культивування як перспективний біотехнологічний підхід інтенсифікації продукцію важливих вторинних метаболітів.

4.1.3. Особливості росту макроміцетів з пліснявими мікроміцетами

Aspergillus niger* і *Penicillium polonicum

Псування харчових продуктів залишається актуальною глобальною проблемою, пов'язаною зі значними економічними втратами. Нитчасті гриби, відомі як пліснява, є однією з найважливіших груп мікроорганізмів, відповідальних за цей процес (Maškova et al., 2023). Їх активність впливає на візуальні та органолептичні властивості харчових продуктів, а також може супроводжуватися утворенням токсичних метаболітів. Крім того, багато видів

нитчастих грибів проявляють опортуністичний патогенний потенціал щодо людини, що посилює ризики, пов'язані з їх присутністю в харчових продуктах.

Одним із найбільш поширених представників нитчастих грибів є *Aspergillus niger*, який часто спричиняє гниття різних фруктів і овочів. Його активне розмноження призводить до значних економічних втрат через псування врожаю та зниження якості продукції. Завдяки своїй здатності виживати в різних умовах, цей грибок залишається серйозним викликом для харчової промисловості. Цибуля, манго, виноград і помідори є найбільш згадуваними фруктами і овочами, для яких *A. niger* є основною причиною гнилі рослин. Цей вид також був описаний для людей і тварин як опортуністичний патоген, що викликає алергічні розлади або продукує мікотоксини (Gautam et al., 2011). Мікроміцет *A. niger* є різновидом плісняви, яку іноді пов'язують з деякими випадками пневмонії та інфекцій слухового проходу.

Іншим важливим представником нитчастих грибів є *Penicillium polonicum* – психротолерантний ксерофільний вид, який часто асоціюється з псуванням широкого спектра харчових продуктів, зокрема цибулі, круп, сушеного м'яса, арахісу, бульб батату та цитрусових (Khalil et al., 2019). Завдяки своїй здатності адаптуватися до низької температури та низької вологості, цей грибок залишається стійким у різних умовах зберігання. Крім того, *P. polonicum* був ідентифікований як частина специфічної грибкової популяції, що сприяє розвитку себореюного дерматиту у людей (Mahmoudi & Rezaie, 2020), підкреслюючи його небезпечність не лише в харчовій промисловості, а й у медицині. В останні роки *P. polonicum* було виявлено в легеновому мікробіомі пацієнтів із хронічними запальними захворюваннями дихальних шляхів. Розвиток цієї опортуністичної інфекції пов'язують зі зниженням ефективності імунної системи (Rubio-Portillo et al., 2020).

Негативний вплив двох потенційних умовно-патогенних грибів, *Aspergillus niger* та *Penicillium polonicum*, зумовив наш вибір тест-грибів у цьому дослідженні.

Реакції взаємодії грибів залежали від виду дослідженого макроміцету та одного з двох видів мікроміцетів. Водночас сім видів макроміцетів (*Coprinus comatus*, *Cyclocybe aegerita*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Phellinus igniarius*) демонстрували однаковий тип взаємодії з конкуруючими мікроміцетами (табл. 4.1). Спільне культивування досліджуваних видів грибів з урахуванням їх відносної конкурентної здатності призводило до таких реакцій: взаємне гальмування росту колоній при контакті, тип А (рис. 4.5 А), взаємне гальмування росту колоній при контакті, тип В (4.5 В), S_{A1} часткове (4.5 D) і S_{A2} повне заміщення (4.5 G, H, I) наростанням після взаємного гальмування росту контактуючих колоній.

Однією з можливих життєвих стратегій, що використовуються грибами у відповідь на різні біотичні та абіотичні стреси навколишнього середовища, є здатність змінювати свою морфологію. Зміни морфології міцелію відбувалися у зонах непрямого контакту з конкурентом: наявність центральних смуг при контакті *Schizophyllum commune* з *Aspergillus niger* (рис. 4.5 А) та локалізований повітряний міцелій *C. schevczenkovi* в місцях контакту з цим мікроміцетом (рис. 4.5 С). Дослідження показали, що культивування з кожним із досліджених мікроміцетів призводило до зміни кольору колонії *Trametes versicolor* з білого на кремовий (рис. 4.5 G–I). Культивування *Aspergillus niger* стимулювало утворення примордіїв у колонії *Fomes fomentarius* та синтез метаболітів гриба у вигляді світло- та темно-коричневих крапель (рис. 4.5 F).

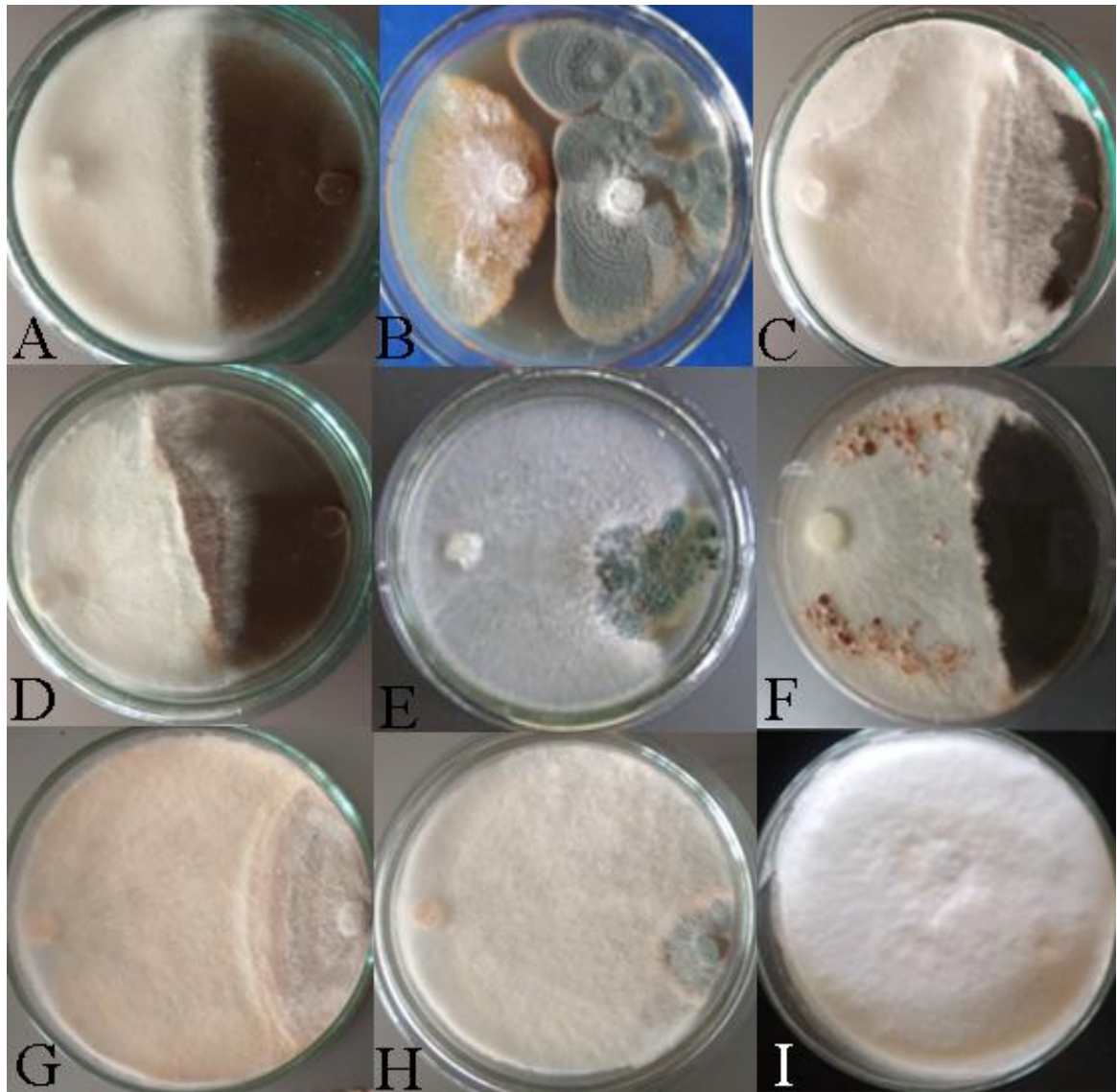


Рис. 4.5. Міжвидові взаємодії між міцеліями деяких досліджених грибів: взаємне гальмування росту колоній *Schizophyllum commune* і *Aspergillus niger* при контакті (А), взаємне гальмування росту колоній *Hericium erinaceus* і *Penicillium polonicum* на дистанції (В); часткове наростання після взаємного гальмування росту колоній *Pleurotus ostreatus* і *A. niger* при контакті (D),); часткове наростання після взаємного гальмування росту колоній *Pleurotus eryngii* і *P. polonicum* при контакті (E); повне наростання після взаємного гальмування росту колоній *Trametes versicolor* і *A. niger* (G) і *T. versicolor* і *P. polonicum* (H); локальний повітряний міцелій *Crinipellis schevczenkovi* при контакті з *A. niger* (C); утворення примордій на колонії *Fomes fomentarius* (F), монокультура *T. versicolor* на 30 добу (I). Примітка: праворуч – мікроміцет, ліворуч – макроміцет

Сильний антагонізм між дослідженими грибами, як макроміцетами, так і, в меншій кількості випадків, мікроміцетами, проявлявся у вигляді реакцій типу C_{A1} та C_{A2} (табл. 4.1). Натомість приблизно рівні конкурентні можливості між грибами-конкурентами фіксувалися у формі реакцій типу А. Аналізуючи кожен тип або підтип взаємодії макроміцетів з *Aspergillus niger*, встановлено значне переважання тупикових ситуацій після контакту міцелію, які становили 48,39 %. Водночас загальна частота заміщення міцелію, як часткового, так і повного, перевищувала половину випадків і досягала 51,61 % (рис. 4.6 А). У експериментах з *Penicillium polonicum* повне заміщення (41,93 %) дещо переважало над іншими типами взаємодії. Звертає на себе увагу висока сумарна частота (67,74 %) реакцій заміщення (часткового або повного) у спільному зростанні макроміцетів і *P. polonicum* (рис. 4.6 В).

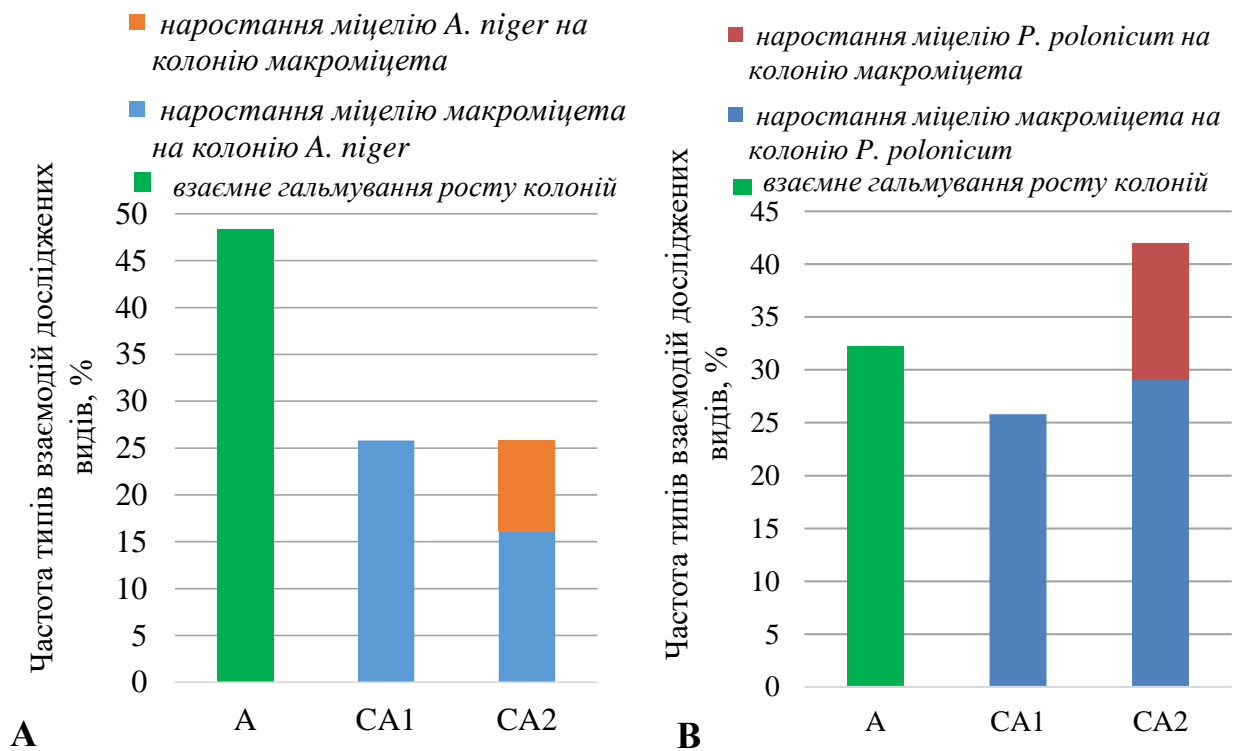


Рис. 4.6. Розподіл реакцій взаємодії між макроміцетами і мікроміцетами: *Aspergillus niger* (А), *Penicillium polonicum* (В), виражений у відсотках від загальної кількості (90) протестованих пар. Реакції взаємодій: типи А взаємне гальмування росту колоній при контакті; підтипи C_{A1} , C_{A2} – часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту колоній при контакті, відповідно

Усі досліджені гриби, за винятком *Inonotus obliquus* та *Lepista luscina*, мали різний рівень антагоністичної активності проти двох досліджуваних мікроміцетів. *Hypsizyugus marmoreus* та *Lyophyllum shimeji* були неактивними при сумісному культивуванні з *Aspergillus niger*. Види *Morchella esculenta* та *Oxyporus obducens* були пасивними при спільному вирощуванні з *Penicillium polonicum*.

Результати аналізу взаємодій між макроміцетами та мікроміцетами показали, що рівень індексу антагонізму (ІА) коливався від 0 до 9,0 (табл. 4.1). Визначення ІА дозволило умовно розділити досліджені гриби на три групи за відносною антагоністичною здатністю: активні види (ІА = 8–9) *Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor*; помірно активні види (ІА = 4.0–7) *Cordyceps militaris*, *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Schizophyllum commune*; види з низькою активністю (ІА = 1–3.5) *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Lyophyllum shimeji*, *Morchella esculenta*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Oxyporus obducens* та *Phellinus igniarius*.

На основі значень індексу антагонізму (ІА) було виявлено, що ксилотрофні види *Ganoderma lucidum* та *Trametes versicolor* були найбільш активними проти досліджених умовних патогенів. Гриб *T. versicolor* раніше проявив значну конкурентну активність, інгібуючи розвиток рослинних патогенних грибів, таких як *Verticillium* sp. та *Pythium* sp. (Owaid, 2017), а також до грибів, що викликають гниття деревини, зокрема *Phlebia radiata* (White & Boddy, 1992), *Coniophora puteana* та *Laetiporus sulphureus* (Owens et al., 2014). Окрім того, для *G. lucidum* було виявлено сильний конкурентний ефект у подвійній культурі з такими грибами, як *Clonostachys rosea*, *Trichoderma pseudokoningii*, *T. viride* (Badalyan et al., 2002), а також з патогенними видами *Bipolaris sorokiniana*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia cerealis*

(Badalyan et al., 2004). Ці результати свідчать про високий потенціал зазначених видів грибів для використання в біологічному контролі різноманітних патогенів, що викликають хвороби рослин і руйнують деревину.

Таким чином, спостережувані міжвидові міцеліальні взаємодії між дослідженими грибами можна кваліфікувати як конкурентні, оскільки їх типовим результатом є або взаємодія після контакту міцелію, або часткова чи повна елімінація одного виду грибів іншим. Загалом, досліджені макроміцети виявили помірну антагоністичну активність проти мікроміцетів: 11 видів проявили активний антагонізм, а 6 – помірний. Результати свідчать про вищу антагоністичну активність макроміцетів проти *Penicillium polonicum* (загальне значення $AI = 74$) порівняно з *Aspergillus niger* ($AI = 67,0$). Це вказує на потенціал використання окремих видів макроміцетів як біологічних агентів для контролю умовно-патогенних мікроорганізмів.

На основі значень антагоністичного індексу (AI) ксилотрофні види *Ganoderma lucidum* та *Trametes versicolor* були визначені як найбільш активні. З практичної точки зору, ці гриби є перспективними видами для подальшого виділення та вивчення їх метаболітів, які можуть бути використані у розробці нових, безпечніших та екологічних фунгіцидів або фунгістатиків. Ці речовини будуть ефективними у боротьбі з *Aspergillus niger* та *Penicillium polonicum*, забезпечуючи стійку альтернативу традиційним хімічним засобам.

4.1.4. Особливості росту макроміцетів і *Mucor* sp.

Після появи у 2020 році рідкісного вірусу COVID-19 по всьому світу також значно зросла кількість мукормікозів (Mahalaxmi et al., 2021). Фактична захворюваність на мукормікоз залишається невизначеною, проте рівень смертності від нього коливається в межах 31 % і наближається до 96 % (Matiku et al., 2024). Мукормікоз – небезпечна для життя, часто смертельна, інфекція, яка виникає у пацієнтів, які є імунокомпрометованими внаслідок діабетичного кетоацидозу, нейтропенії, трансплантації органів, онкологічних захворювань та

або підвищення рівня доступного заліза в сироватці крові (Ibrahim et al., 2014). Викликати мукормікоз можуть представники родини Mucogaseae, дуже поширені в природі, зокрема в ґрунті, які розвиваються як сапрофіти на харчових продуктах, кормах для худоби, овочах та фруктах при їх зберіганні. Ряд видів цих грибів використовуються протягом століть у виробництві продуктів харчування – для дозрівання сирів або виробництва ферментованої їжі. Також використовують мукоральні гриби для виробництва ферментів та біопалива (Morin-Sardin et al., 2017). В той же час, представники родини Mucogaseae, як етіологічні агенти, що викликають мукормікоз, здатні уражувати практично будь-яку частину тіла (Mahalaxmi et al., 2021; Matiku et al., 2024). Найчастіше страждають синуси або легені після вдихання спор грибів з повітря, або шкіра після того, як грибок потрапляє в шкіру через розріз, опік або інший тип травми шкіри. До основних форм клінічних проявів мукормікозу також належать шлунково-кишкові та дисеміновані або системні симптоми. Незважаючи на бурхливий розвиток діагностичних методів та появу сучасних антимікотичних засобів, діагностика та лікування мукормікозів залишається складним завданням медицини (Matiku et al., 2024). Мукоральні гриби стійкі до сучасних лікарських засобів (Morin-Sardin et al., 2017). Таким чином, представники родини Mucogaseae заслуговують на увагу з огляду пошуку грибів з антимікотичними властивостями.

Наскільки нам відомо, в науковій літературі до наших досліджень були відсутні дані щодо спільного культивування макроміцетів і *Mucor* sp. Пізніше, Atamanchuk et al. (2024) описали різні реакції взаємодій штампів *Xylaria polymorpha* і *X. longipes* з *Mucor plumbeus*. Аналіз реакцій наростання в досліджених взаємодіях виявив наявність антагоністичної активності у грибів (рис. 4.7). Отримані результати свідчать про домінування одностороннього антагонізму з боку *Mucor* sp., що пригнічує розвиток або спричиняє загибель макроміцетів у 80 % випадків, відповідно до реакцій типу С і підтипів С_{А1} та С_{А2} (рис. 4.7). Зокрема, спостерігалось активне наростання міцелію *Mucor* sp. на міцелій чотирьох ксилотрофних видів: *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*,

Hypsizyugus marmoreus і *Phellinus igniarius*, за типом С, що характеризується спокійним наростанням без затримки росту мікроміцета. Ці результати підкреслюють високу конкурентну здатність. *Mucor* sp. у системах спільного культивування.

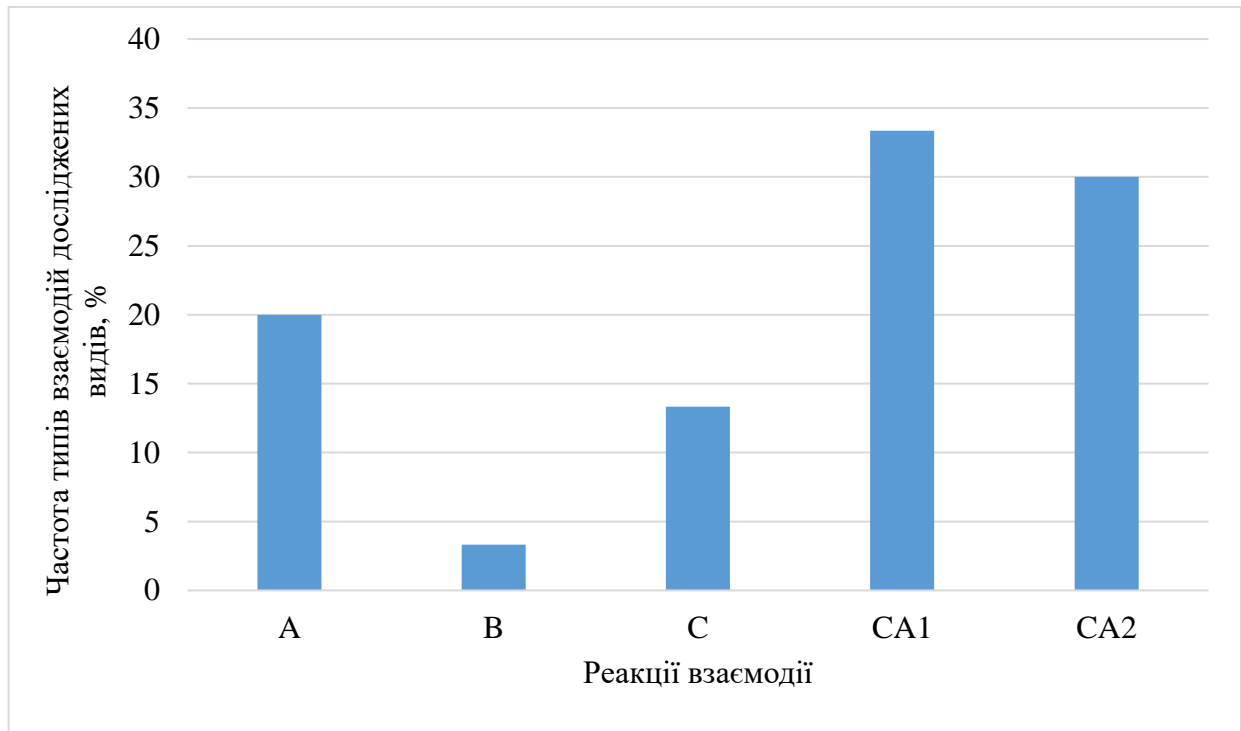


Рис. 4.7. Розподіл реакцій взаємодії між досліджуваними грибами, виражений у відсотках від загальної кількості (90) протестованих пар. Реакції взаємодій: типи А і В – взаємне гальмування росту колоній при контакті та на дистанції, відповідно; С – спокійне наростання; підтипи C_{A1} , C_{A2} – часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту колоній при контакті, відповідно

Після взаємного гальмування росту видів грибів при контакті спостерігали часткове наростання міцелію *Mucor* sp. (підтип C_{A1}) на міцелій дев'яти видів базидієвих грибів (ксилотрофів *Auriporia aurea*, *Cyclocybe aegerita*, *Ganoderma lucidum*, *Fomitopsis betulina*, *Inonotus obliquus*, *Oxyporus obducens*, *Preurotus eryngii*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*) та ентомофільного сумчастого гриба *Cordyceps militaris*.

Повне наростання міцелію *Mucor* sp. після взаємного гальмування росту видів грибів при контакті (підтип C_{A2}) відмічено на міцелій шести ксилотрофів

(*Coprinus comatus*, *Fomes fomentarius*, *Flammulina velutipes*, *Pleurotus djamor*, *P. ostreatus*, *Pseudospongipellis litschaueri*) та трьох нагрунтових види (*Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Morchella esculenta*).

Про двосторонній антагонізм грибів свідчать розраховані відсотки пригнічення росту грибів та виявлені реакції наростання типів А і В (рис. 4.8 А, рис. 4.8 В, рис. 4.9). Індекси пригнічення макроміцетів варіювалися від 38,9 до 57 % (максимальне значення встановлена для *Hohenbuehelia тухотрича*) і мікроміцета – від 54,4 до 77,7 %. Слід відзначити майже однаковий відсоток пригнічення *Fomitopsis pinicola* і *Mucor* sp. У аналогічних експериментах виявлені індекси пригнічення від 30,7 до 98,3 % для культур *Sphaeropsis sapinea* (*Diplodia pinea*) з *Armillaria* sp., *Bjerkandera adusta*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia* sp. (Morin-Sardin, 2017) та від 26,7 до 67,1 % – *Verticillium* sp., *Pythium* sp. з *Hericium erinaceus*, *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor* (De Oliveira et al., 2019). Взаємне гальмування росту колоній при контакті (тип А) виявлено для шести базидієвих видів: *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola*, *Laetiporus sulphureus*, *Hohenbuehelia тухотрича* (ксилотрофів), *Crinipellis schevczenkovi* (підстилкового сапротрофу), *Lyohpyllum shimeji* (гумусового сапротрофу) та ентомофільного сумчастого гриба *Ophiocordyceps sinensis*.

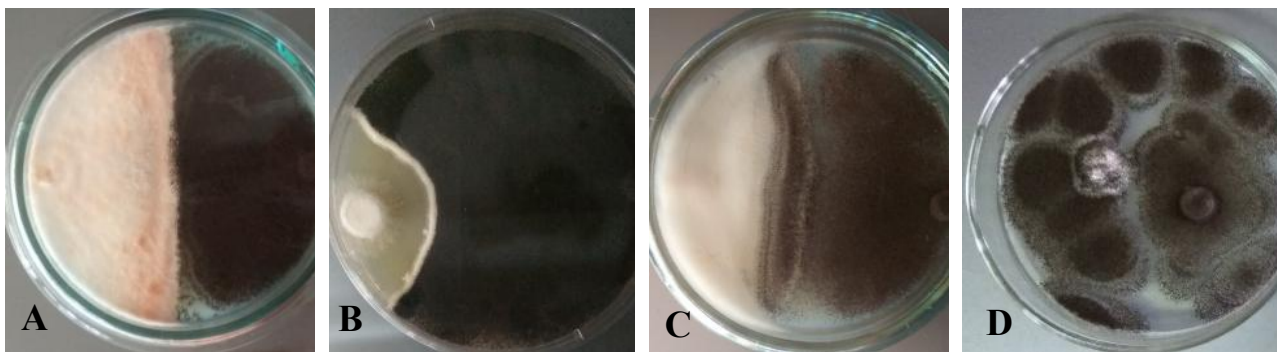


Рис. 4.8. Конкурентна взаємодія між дослідженими грибами: взаємне гальмування росту колоній при контакті *Auriporia aurea* і *Mucor* sp (А), взаємне гальмування росту колоній *Lentinula edodes* і *Mucor* sp. на дистанції (В); часткове наростання *Mucor* sp на колонію *Schizophyllum commune* (С), повне наростання *Mucor* sp на колонію *Lyohpyllum shimeji* (D). Примітка: праворуч – гриб патоген, ліворуч – макроміцет

Отримані результати узгоджуються з даними інших досліджень щодо взаємодії макроміцетів з мукоральними видами. Так, пригнічення росту *Mucor* sp. встановлено під дією метаболітів культуральної рідини *Ganoderma lucidum* (Bitew & Abate, 1994). Відсутність активності *Hericium erinaceus* також зазначена проти *Mucor globosus* (Narmuratova et al., 2023).

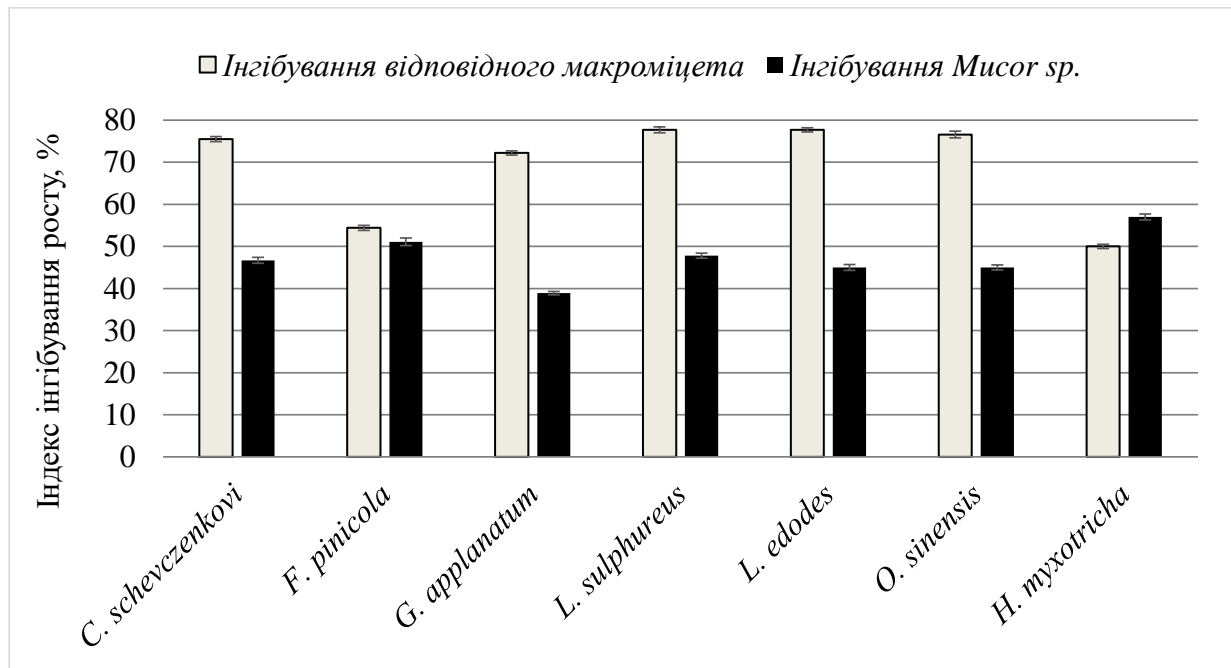


Рис. 4.9. Взаємне пригнічення росту грибів у подвійній культурі

З практичної точки зору, інтерес може становити базидієвий ксилотроф *Lentinula edodes*. Для даного виду виявлено тип взаємодії В, візуально спостерігали наявність прозорої зони 5–8 мм (рис. 4.8 В), що свідчить про дифузію в агар антимікотичних речовин, здатних не тільки інгібувати ріст мікроміцета, але й стримувати його ріст на відстані. Особливу увагу привертає утворення безбарвного міцелію *Mucor* sp. IFBG 139 у формі незначного валика навпроти колонії *L. edodes*. Така взаємодія може свідчити про потенційну здатність *L. edodes* до інгібування росту конкурента або регуляції його розвитку. Отримані результати вказують на перспективність розширення сфер практичного застосування штаму *L. edodes* у сучасних біотехнологіях. Подальші дослідження і тести можуть підтвердити його ефективність як джерела нових біологічно

активних сполук або як компонента біопрепаратів з протигрибковими властивостями.

Таким чином, досліджені макроміцети виявили обмежену антагоністичну активність щодо *Mucor* sp. IFBG 139. Отримані результати підтверджують домінування одностороннього антагонізму з боку *Mucor* sp., що пригнічує розвиток або спричиняє загибель макроміцетів у 80 % випадків, згідно з реакціями типу С і підтипами С_{A1} та С_{A2}. Це підкреслює високу конкурентну здатність *Mucor* sp. у системах спільного культивування та вказує на необхідність пошуку ефективних біологічних агентів для його контролю. Максимальний індекс пригнічення росту *Mucor* sp. спостерігався при його спільному культивуванні з *Hohenbuehelia tuxotricha*. У свою чергу, *Lentinula edodes* проявив здатність продукувати антимікотичні метаболіти, які пригнічували ріст *Mucor* sp. навіть на відстані, ймовірно, через виділення летких речовин або дифузію активних сполук. Ці два види ксилотрофних базидієвих грибів становлять значний інтерес як перспективні біотехнологічні об'єкти. Подальші дослідження їх антимікотичних метаболітів можуть сприяти створенню ефективних фунгіцидних препаратів для використання в сільському господарстві, медицині та інших галузях, де необхідний біологічний контроль патогенних мікроорганізмів.

4.1.5. Антагоністична активність штамів *Pleurotus ostreatus*

Окрім високої харчової та промислової цінності, *Pleurotus ostreatus* залишається важливим об'єктом досліджень у біотехнології, мікології, медицині та фармації. Враховуючи, що не лише види, а й штами грибів можуть суттєво відрізнятися за своїми властивостями, пошук антимікотичних властивостей грибів є першим цілеспрямованим етапом відбору перспективних фунгіцидних засобів.

На прикладі комерційних штамів *Pleurotus* з'ясовано реакції взаємодії з *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Pichia kudriavzevii*, які здатні викликати

захворювання людини і тварин, у тому числі аспергільоз, кандидоз, токсикоз. Крім цього, *A. niger*, *Fusarium poae* та *Microdochium nivale* є широко поширеними патогенами важливих сільськогосподарських кормів, а також пов'язані з псуванням різних харчових продуктів, що призводить до значних економічних втрат. Водночас ці нитчасті гриби часто є умовно-патогенними мікроорганізмами людини та тварин (Stenglein, 2009; Abdelhalim et al., 2020; Gnat et al., 2021). Незважаючи на різні екологічні та трофічні вимоги відібраних мікроміцетів, для всіх використаних штамів *Pleurotus ostreatus* була зареєстрована сильна антагоністична активність щодо *A. niger*, *C. albicans*, *P. kudriavzevii*, *F. poae* та *M. nivale*.

Спільне культивування досліджуваних штамів *Pleurotus ostreatus* на основі їх відносної конкурентної здатності призводило до однієї реакції (підтип взаємодії C_{A2}) – повного заміщення після початкового тупикового стану при контакті (рис. 4.10). Всі штами *P. ostreatus* виявили сильну антагоністичну активність з високим рівнем антагоністичного індексу ($AI=22,5$). Морфологія контактних колоній грибів не змінилася.

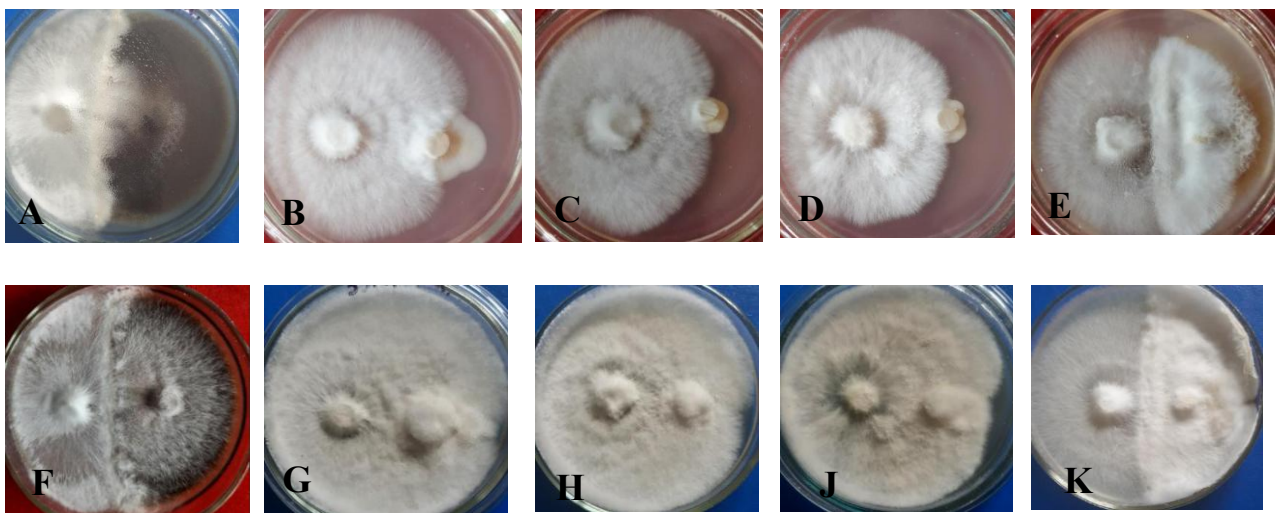


Рис. 4.10. Міжвидові взаємодії між міцелієм штамів *Pleurotus ostreatus* (ліворуч) та досліджених грибів (праворуч): *P. ostreatus* 551 і *A. niger* на 7 (А) і 14 добу росту (F), *P. ostreatus* 551 і *M. nivale* на 7 (B) та 14 добу росту (G), *P. ostreatus* 1685 і *C. albicans* на 7 (C) і 14 добу росту (H), *P. ostreatus* 2460 і *P. kudriavzevii* на 7 (D) і 14 добу росту (J); *P. ostreatus* 2461 і *F. poae* на 7 (E) і 14 добу росту (K)

Відсутність варіабельності типів реакцій, рівня їх візуалізації та морфологічних змін у колоніях грибів, а також однаковий рівень антагоністичного індексу свідчать про те, що встановлені взаємодії між грибами не залежали від конкретного штаму макроміцета. Це може означати, що характер антагоністичних відносин визначається більш універсальними біологічними механізмами, такими як продукування метаболітів, ферментативна активність або конкуренція за субстрат, а не особливостями певних штамів.

Така стійкість може бути зумовлена генетично закріпленими механізмами захисту та нападу, характерними для виду *Pleurotus ostreatus*. Це також свідчить про можливість застосування різних штамів цього виду в біотехнологічних процесах без істотних змін їхньої антагоністичної активності, що є важливим для розроблення стандартизованих біофунгіцидних препаратів.

Однак слід мати на увазі, що результати дослідження можуть не відображати справжніх екологічних зв'язків через можливий вплив абіотичних і біотичних факторів у навколишньому середовищі, але це дослідження пропонує попередній, і швидкий спосіб вивчення та передбачення, як перевірені досліджені штами *Pleurotus ostreatus* будуть взаємодіяти з патогенними грибами. Розуміння реакції мікробних спільнот і можливих змін у середовищі існування можуть надати цінну інформацію про мікробну конкуренцію грибів. Наскільки нам відомо, антагоністична активність *P. ostreatus* проти *Fusarium poae* і *Microdochium nivale* була вивчена в цьому дослідженні вперше при спільному культивуванні. Наші результати узгоджуються з даними про існуючу антагоністичну активність та здатність міцелію *P. ostreatus* замінювати міцелій *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* та *Rhizoctonia cerealis* (Badalyan et al., 2002), *Clonostachys rosea* та *Trichoderma pseudokoningii* (Badalyan et al., 2004), *Pythium* spp. (Owaid et al., 2016). Крім того, подальше вивчення впливу на живі організми буде важливим для поглиблення розуміння цих антимікотичних метаболітів та їх потенційного терапевтичного використання.

Таким чином, використання методу подвійних культур у цій роботі дозволило розширити знання про міжвидові взаємодії грибів, а також оцінити й порівняти антагоністичну активність макроміцетів щодо низки патогенних мікроміцетів, таких як *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Fusarium poae*, *Microdochium nivale*, *Mucor* sp., *Penicillium polonicum* та *Pichia kudriavzevii*.

В цілому при досліджених взаємодіях виявлено різні реакції антагонізму: взаємне гальмування росту колоній при контакті (тип А), на дистанції (тип В), спокійне наростання без затримки росту гриба (тип С), а також часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту контактуючих колоній при контакті (підтипи C_{A1} , C_{A2}). У більшості випадків спільного культивування досліджених грибів активація криптованих генів відбувається, ймовірно, завдяки інокуляції індуктора та мішені без фізичних бар'єрів між ними. У такій ситуації стимуляція метаболітів є найінтенсивнішою, оскільки може здійснюватися через виділення сигнальних молекул у середовище або шляхом дифузії летких (Selegato & Castro-Gamboa, 2023). Такий високий ступінь контакту свідчить про взаємний вплив обох культур, створюючи складну систему взаємодій, яка наближається до природних умов (Bader et al., 2010). Проте важливо враховувати, що умови скринінгу можуть сприяти прояву лише одного антагоністичного механізму, тоді як за інших умов середовища домінуючими можуть стати інші механізми, що впливатимуть на результати взаємодії (Bruce & Highley, 1991). Це підкреслює необхідність різнобічного підходу до вивчення грибних взаємодій для отримання повнішої картини їх біотехнологічного потенціалу.

Макроміцети виявили значну антагоністичну активність щодо досліджених патогенних мікроміцетів. У порядку зменшення чутливості до макроміцетів досліджені мікроміцети можна розташувати в такому порядку: *Candida albicans*, *Pichia kudriavzevii*, *Penicillium polonicum*, *Aspergillum niger*, *Mucor* sp. Обчислення антагоністичного індексу для 30 видів макроміцетів дозволило виділити види з високим потенціалом антимікотичної активності:

Crinipellis schevczenkovi, *Ganoderma applanatum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*.

Загалом, отримані результати підкреслюють перспективність досліджених макроміцетів як потенційних біологічних агентів для створення фунгіцидних препаратів. Такий підхід забезпечує цінну інформацію для майбутніх біотехнологічних розробок, спрямованих на контроль фітопатогенів і умовно патогенних грибів.

4.2. Антибактеріальна активність макроміцетів

Вивчення антибактеріальної активності є надзвичайно актуальним у контексті зростаючої резистентності патогенних мікроорганізмів до існуючих антибіотиків. Антибіотикорезистентність, яка набула масштабу глобальної кризи, суттєво ускладнює лікування бактеріальних інфекцій, підвищуючи рівень смертності та економічні витрати на охорону здоров'я. Особливу увагу для вирішення цієї проблеми привертають біоактивні метаболіти природного походження. Пошук нових природних джерел антибактеріальних сполук серед грибів, рослин або мікроорганізмів, є перспективним напрямом у сучасній біотехнології та медицині. Макроміцети є багатим джерелом біоактивних сполук, зокрема вторинних метаболітів, які демонструють унікальні механізми дії, здатні долати резистентність бактерій. Результати численних досліджень антибактеріальної активності грибів були узагальнені в оглядах (Alves et al., 2012; Ranadive et al., 2013; Vallavan et al., 2020). Результати аналізу антибіотичної активності макроміцетів демонструють варіабельність її інтенсивності: від низької до високої, з можливістю повної відсутності. Особливий інтерес представляють дослідження, які дозволяють не тільки оцінити, але й порівняти антибактеріальний потенціал різних вегетативних форм грибів (плодові тіла, міцелій), культуральної рідини (Yamaç & Bilgili, 2006; Demir & Yamaç, 2008; Wong et al., 2009; Mehta & Jandaik, 2012; Owaid et al., 2015; Kaur et al., 2015; Lomberg et al., 2023).

Були проведені дослідження антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини методом дифузії в агар. У двадцяти досліджених видів макроміцетів (67 % від загальної кількості) було виявлено антибактеріальну активність в екстрактах міцелію та/або культуральної рідини. Це свідчить про відносно широкий потенціал грибів як джерела природних антибактеріальних сполук. Розмір зони затримки росту тест-бактерій коливався від $9,7 \pm 0,3$ мм у діаметрі до повного інгібування росту бактерій (табл. 4.2), що вказує на варіативність рівня антибактеріальної дії різних видів макроміцетів.

Мінімальні значення можуть свідчити про наявність помірних або вузько специфічних біологічно активних речовин, тоді як максимальні – про присутність потужних антибактеріальних метаболітів із широким спектром дії. Варто зазначити, що, наскільки нам відомо, антибактеріальна активність видів *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri* встановлена вперше в межах нашого дослідження.

Спектр антибактеріальної активності досліджених грибів варіював залежно від виду макроміцетів, а також від типу досліджуваного зразка — міцелію або культуральної рідини. Така диференціація може бути пояснена відмінностями у синтезі біологічно активних сполук у різних фазах розвитку грибів та їх накопиченні в культуральному середовищі. Міцелій макроміцетів є основним джерелом вторинних метаболітів, які можуть проявляти антибактеріальні властивості. Водночас культуральна рідина містить метаболіти, що виділяються в процесі росту грибів, включаючи водорозчинні сполуки з антибактеріальною активністю.

Таблиця 4.2

Антибактеріальна активність макроміцетів

Види грибів	Діаметр зон пригнічення росту, мм					
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 65388	
	М	КР	М	КР	М	КР
<i>A. aurea</i>	–	–	–	–	–	–
<i>C. militaris</i>	–	15,0 ± 0,1*	–	14,1 ± 0,9*	–	13,0 ± 1,0*
<i>C. aegerita</i>	11,5 ± 0,5*	14,0 ± 0,0*	–	12,0 ± 0,0	12,5 ± 0,5	15,4 ± 1,0*
<i>C. comatus</i>	–	–	15,0 ± 0,0*	–	–	–
<i>C. schevczenkovi</i>	–	12,0 ± 0,1	–	14,6 ± 0,5*	–	12,0 ± 0,0
<i>I. obliquus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>F. velutipes</i>	–	–	–	9,7 ± 0,3	–	–
<i>F. fomentarius</i>	–	–	–	–	–	–
<i>F. betulina</i>	–	III	–	–	–	III
<i>F. pinicola</i>	–	20,0 ± 0,0*	–	19,8 ± 0,2*	–	21,8 ± 0,8*
<i>G. applanatum</i>	–	10,0 ± 0,1	–	–	–	12,0 ± 0,0
<i>G. lucidum</i>	19,1 ± 0,9*	10,0 ± 0,1	–	–	–	–
<i>G. frondosa</i>	–	–	–	–	–	–
<i>H. erinaceus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>H. myxotricha</i>	–	13,3 ± 0,7*	–	–	–	–
<i>H. marmoreus</i>	–	12,0 ± 0,4	–	–	–	14,0 ± 1,0*
<i>L. sulphureus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>L. edodes</i>	–	III	–	13,0 ± 1,0	–	–
<i>L. luscina</i>	–	10,0 ± 0,0	–	15,0 ± 0,0*	11,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
<i>L. shimeji</i>	–	–	–	–	–	–
<i>M. esculenta</i>	11,0 ± 0,0*	11,5 ± 0,5*	–	–	23,8 ± 1,2*	–
<i>O. obducens</i>	10,0 ± 0,0	9,5 ± 0,5	–	–	–	–
<i>C. sinensis</i>	–	11,0 ± 1,0	–	10,5 ± 0,5	–	11,5 ± 0,5
<i>P. igniarius</i>	–	–	III	III	–	–
<i>P. djamor</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. eryngii</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. ostreatus</i>	–	12,0 ± 0,0	–	12,0 ± 0,2	–	13,0 ± 0,4*
<i>P. litschaueri</i>	–	–	–	–	–	–
<i>S. commune</i>	11,0 ± 1,0	11,0 ± 1,0	–	–	–	–
<i>T. versicolor</i>	16,8 ± 1,2*	–	–	11,4 ± 0,4	18,6 ± 1,4*	–

Примітка: М – міцелій; КР – культуральна рідина; III – повне пригнічення росту бактерій; «–» – відсутність антибактеріальної активності; * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Порівняльний аналіз антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини досліджених грибів показав, що культуральна рідина демонструвала вищу активність щодо всіх трьох тест-бактерій (рис. 4.11).

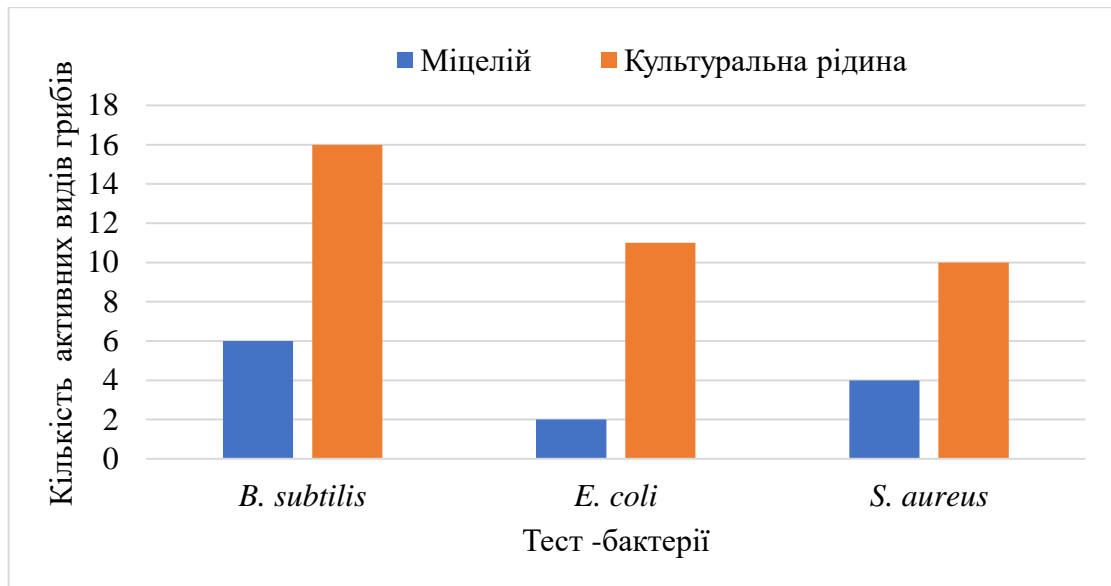


Рис. 4.11. Антибактеріальна активність міцелію грибів та їх культуральної рідини

Можливими метаболітами, відповідальними за підвищену активність культуральної рідини, є фенольні сполуки, полісахариди, органічні кислоти та терпеноїди, які здатні проникати в середовище культивування. Натомість у міцелії ці сполуки можуть залишатися в зв'язаному стані або міститися в менш доступних концентраціях. Отримані результати свідчать про те, що для отримання максимальної антибактеріальної активності доцільно враховувати обидва типи зразків, оскільки їх хімічний склад може суттєво відрізнятися. Це підкреслює важливість комплексного підходу до дослідження біологічної активності макроміцетів.

Найвищу активність проти *Bacillus subtilis* виявлено у культуральній рідині *Fomitopsis betulina* та *Lentinula edodes*, проти *Staphylococcus aureus* – культуральній рідині *F. betulina*, і проти *Escherichia coli* – культуральній рідині та міцелію *Phellinus igniarius*. Відзначимо останню активність, оскільки це вказує на присутність у зразках *P. igniarius* антибактеріальних сполук, здатних долати захисний бар'єр грамнегативних бактерій, що зазвичай мають підвищену стійкість до антибактеріальних агентів. Встановлені нами високі показники антибактеріальної активності грибів *F. betulina*, *L. edodes*, *P. igniarius*

узгоджуються з результатами інших досліджень. У попередніх дослідженнях виявлена здатність *F. betulina* (синонім: *P. betulinus*), штам Lu9-1 в умовах глибинного культивування з переміщуванням продукувати антибіотик піптамін, ефективний проти різних бактерій, включаючи *B. subtilis* та *S. aureus* (Schleger et al., 2000). З етил ацетатного екстракту плодових тіл *P. betulinus* ізольовано та ідентифіковано 3 β -ацетокси-16 α -гідроксил-24-оксо-5 α -ланоста-8-ен21-оїнову кислоту, з антибактеріальним ефектом проти *B. subtilis*, *S. aureus* та *E. coli*, а також поліпорінову кислоту C – проти *B. subtilis* та *S. aureus* (Alresly et al., 2016). Метаболіти з міцелію *L. edodes*, штам Le-1 і, особливо, з культуральної рідини (Ishikawa et al., 2001; Hasegawa et al., 2005) пригнічували ріст *B. subtilis*. Також, в іншому дослідженні (de Carvalho et al., 2007) культуральна рідина *L. edodes* інгібувала ріст *S. aureus*, проте була не активна проти *B. subtilis* та *E. coli*. Загалом, різні антибактеріальні сполуки, такі як кортинелін (Przybylowicz & Donoghue, 1990), лентинамін, β -етилфеніловий спирт (Komenushi et al., 1996) та лентинін (Komenushi et al., 1996; Hatvani 2001) були виділені з *L. edodes*. *Phellinus* spp., при глибинному культивуванні виявили антибактеріальну активність щодо *B. subtilis* (Getha et al., 2009). Водний екстракт плодових тіл *P. igniarius* проявляв інгібуючу дію на ріст *S. aureus*, включаючи штами, чутливі до метициліну (Sittiwet & Puangpronpitag, 2008).

Загалом, наявність антибактеріальної активності підтверджено для ряду видів грибів. Suay (2000) відзначив антибактеріальну активність міцелію та культуральної рідини *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus eryngii*, *Piptoporus betulinus* проти *Bacillus subtilis*, а у видів *Laetiporus sulphureus*, *Fomitopsis pinicola* і *P. eryngii*, ще й проти *Staphylococcus aureus*. Слід відзначити, що на відміну від наших досліджень Suay (2000) не виявив антибактеріальну активність у неідентифікованого представника родини *Hohenbuehelia*. В іншому експерименті (Mitreveli et al., 2021) встановлено здатність етанольних екстрактів біомаси та культуральної рідини *F. pinicola*, штам BCC58 пригнічувати *E. coli* (МІК 0,5 мг/мл), водних екстрактів біомаси та етил ацетатного екстракту з

культуральної рідини – пригнічувати *E. coli* (МІК 15 і 20 мг/мл) та *S. aureus* (7,5 і 6,0 мг/мл, відповідно).

Досліджені макроміцети доцільно розподілити умовно на три групи залежно від спектра їх антибактеріальної дії (рис. 4.12):

1. Гриби з широким спектром активності, міцелій та/або культуральна рідина яких інгібували ріст усіх трьох тест-бактерій. Це свідчить про наявність у складі зразків комплексу метаболітів із різнобічною антибактеріальною дією. До цієї групи належить 8 видів грибів (26,7 % досліджених видів): *Cyclocybe aegerita*, *Cordyceps militaris*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Fomitopsis pinicola*, *Lepista luscina*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*.

2. Гриби з вибірковою активністю, екстракти яких пригнічували ріст двох із трьох тест-бактерій. Можливо, це зумовлено специфічною дією окремих метаболітів на певні бактеріальні види. До цієї групи ввійшло 5 видів (16,7 % досліджених видів): *Fomitopsis betulina*, *Ganoderma applanatum*, *Hypsizygos marmoreus*, *Lentinula edodes*, *Morchella esculenta*.

3. Гриби з вузьким спектром активності, активність яких була спрямована лише проти однієї з тест-бактерій. Такий результат може вказувати на наявність специфічних антимікробних сполук, спрямованих проти окремих мікроорганізмів. До цієї групи належить 7 видів грибів (23,3 % досліджених видів): *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Phellinus igniarius*, *Schizophyllum commune*.

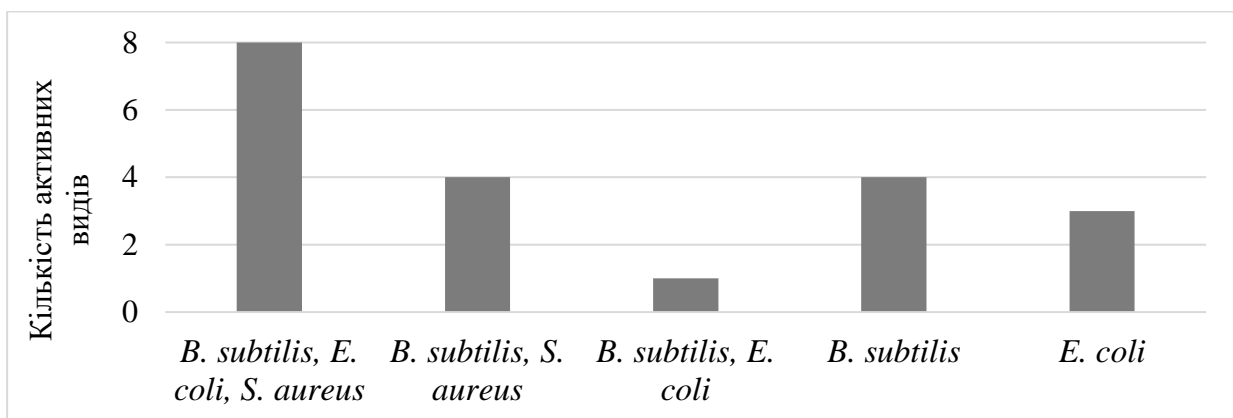


Рис. 4.12. Спектр антибактеріальної активності макроміцетів

Для порівняння ефективності антибактеріальної дії відібраних видів грибів було проведено тестування чутливості тест-бактерій до деяких комерційних антибіотиків та натуральних ефірних олій *Salvia* і *Eucalyptus* (табл. 4.3). Отримані результати продемонстрували значний антибактеріальний потенціал грибних екстрактів, що свідчить про їх можливе використання як альтернативних або додаткових засобів у боротьбі з патогенними мікроорганізмами.

Таблиця 4.3

Чутливість тест-бактерій до комерційних антибіотиків та натуральних ефірних олій

Зразки комерційних антибіотиків та ароматичних олій	<i>B. subtilis</i> АТСС 6633	<i>E. coli</i> АТСС 25922	<i>S. aureus</i> АТСС 65388
Сульфадіметоксин (50 мг/мл), Україна	20,3 ± 0,6	–	–
Левоміцетин (500 мг/мл), Україна	ПІ	ПІ	ПІ
Еритроміцин (100 мг/мл), Україна	ПІ	16,0 ± 1,0	ПІ
Гросептол (480 мг/мл), Польща	ПІ	–	–
Тетрациклін (100 мг/мл), Україна	ПІ	18,0 ± 1,4	23,8 ± 2,0
Лінкоміцин (300 мг/мл), Україна	ПІ	ПІ	ПІ
Грамокс А (25 мг/мл), Україна	ПІ	25,0 ± 0,2	17,6 ± 2,0
Зітроцин (40 мг/мл), Індія	25,0 ± 0,0	–	19,0 ± 0,1
Цефтріаксон (100 мг/мл), Україна	ПІ	ПІ	ПІ
Бензиленцимін (100 мг/мл), Україна	ПІ	ПІ	ПІ
Гентаміцин (40 мг/мл), Україна	ПІ	ПІ	ПІ
Ефірна олія шавлії, Україна	ПІ	9,5 ± 0,5	ПІ
Ефірна олія евкалипта, Україна	ПІ	11, 5± 0,9	14,5 ± 0,5

Примітка: «–» – відсутність активності; «ПІ» – повне інгібування росту культур (≥ 25 мм в діаметрі)

Зокрема, антибактеріальна активність відібраних видів грибів *Fomitopsis pinicola*, *Lentinula edodes*, *Phellinus igniarius* була не лише порівнянною з ефективністю деяких комерційних антибіотиків, але й у ряді випадків перевершувала їх. Крім того, ця активність значно перевищувала ефект від

застосування ефірних олій *Salvia* та *Eucalyptus*, що підкреслює високий біологічний потенціал цих видів макроміцетів.

Окремо слід зазначити вищу стійкість грамнегативної бактерії *Escherichia coli* до досліджених антибіотиків порівняно з грампозитивними бактеріями *Bacillus subtilis* і *Staphylococcus aureus*. Це явище узгоджується з відомими особливостями грамнегативних бактерій, у яких зовнішня мембрана слугує додатковим бар'єром, знижуючи проникність антибактеріальних агентів. І тим самим, підкреслює ефективність та доцільність відібраних видів грибів.

За результатами аналізу антибактеріальної активності для проведення подальших експериментів відібрано культуральну рідину *Fomitopsis betulina* та використано метод серійних розведень у рідких поживних середовищах, що дозволяє дати кількісну оцінку антибактеріальної активності. З метою розширення потенційних шляхів використання антибактеріальних властивостей культуральної рідини *F. betulina*, проведено серію експериментів з вивчення активності різних зразків культуральної рідини *F. betulina* по відношенню до інших еталонних бактеріальних культур. Початкові розчини культуральної рідини гриба отримували шляхом вимірювання її певної кількості (в перерахунку на сухі речовини): концентрація нативної культуральної рідини варіювала від 0,146 до 18,75 мг/мл, нативної концентрованої – від 0,75 до 96,85 мг/мл, у випадку нативної ліофілізованої, висушеної та концентрованої нативної культуральної рідини – від 2,0 до 250 мг/мл. Ліофілізовані та висушені зразки (за допомогою сушарки СНОЛ, Україна) культуральної рідини розчиняли в чистому диметилсульфоксиді (ДМСО, Україна).

Для визначення наявності росту бактеріальних культур пробірки з посівами переглядали у прохідному світлі. Проте насичене забарвлення зразків не лише ускладнювало, але і не унеможливило візуальну оцінку росту мікроорганізмів у пробірках. Така ситуація є типовою для природних екстрактів грибів, які містять природні метаболіти, зокрема пігменти, що можуть впливати на точність визначення МІК, яка пригнічувала видимий ріст культури.

Для визначення мінімальної МБцК виконували дозовані висіви зразків з усіх пробірок на стандартизоване поживне середовище (агар Мюллер – Хінтона). За результатами МБцК чутливість еталонних бактерій до дії культуральної рідини *Fomitopsis betulina* умовно можна розмістити наступним чином: *Staphylococcus aureus* > *Pseudomonas aeruginosa* > *Escherichia coli* (табл. 4.4). МБцК нативної культуральної рідини *F. betulina* дорівнювала, для всіх трьох бактеріальних культур, 18,75 мг/мл. Встановлено вплив способу дегідратації зразків на антибактеріальну активність. МБцК культуральної рідини, отриманої за допомогою ліофільної сушки, становила 7,8 мг/мл щодо еталонних бактерій *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 та *P. aeruginosa* ATCC 27853. Водночас культуральна рідина *F. betulina*, висушена у сушильній шафі типу СНОЛ, демонструвала аналогічну МБцК щодо *P. aeruginosa* (7,8 мг/мл), нижчу щодо *E. coli* (15,6 мг/мл), але значно кращу щодо *S. aureus* (>2,0 мг/мл) (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Мінімальна бактерицидна концентрація культуральної рідини

F. betulina, мг/мл

Зразки культуральної рідини <i>F. betulina</i>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P.</i> <i>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

Враховуючи високу вартість ліофільної сушки, необхідність герметизації зразків для запобігання повторному поглинанню вологи, а також прийнятні показники МБЦК, отримані для зразків, висушених у шафі СНОЛ, зразок *F. betulina*, отриманий методом дегідратації у сушарній шафі було обрано для подальшого дослідження культуральної рідини гриба.

Протестовані зразки культуральної рідини *Fomitopsis betulina* виявили нижчу антибактеріальну активність щодо *S. aureus* ATCC 25923, проте демонстрували вищу ефективність проти *P. aeruginosa* ATCC 27853 порівняно з мінімальною МБЦК етанольних екстрактів плодових тіл *F. betulina* (Dresh, 2015). Ефективність пригнічення росту *S. aureus* ATCC 25923 під дією висушеної та концентрованої висушеної культуральної рідини *F. betulina* розчиненої у ДМСО була кращою за інші результати МБЦК: етилацетатний (3,125 мг/мл) та ацетонові (12,5 мг/мл) екстракти з міцелію *C. sinensis* (Xiao et al., 2009), та різні екстракти плодових тіл *Amanita citrina*, *A. muscaria*, *A. pantherina*, *A. porphyria*, *Bjerkandera adusta*, *Clavicornia pyxidata*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Lactarius aurantiacus*, *Panellus typticus*, *Rhodocollybia maculate*, *Russula fragilis*, *Tubaria furfurace* (5 мг/мл), *Cortinarius armillatus*, *C. sanguineus*, *Daedaleopsis confragosa*, *Gymnopilus penetrans*, *Lactarius helvus*, *L. vellereus*, *Psilocybe fascicularis*, *P. lateritia*, *Scleroderma citrinum* (>5 мг/мл), *Heterobasidion annosum*, *Lenzites betulinus*, *Stereum hirsutum*, *Thelephora terrestris*, *Trametes hirsuta*, *Trichaptum fuscoviolaceum* (> 2,5 мг/мл) (Nowacka et al., 2015); *Coriolus versicolor* (5,0 мг/мл) (Matijašević et al., 2016); *Pleurotus squarrosulus* (62,5 і 31,25 мг/мл) (Ayodele and Idoko, 2011); *Cantharellus cibarius* (20,0 мг/мл) (Kozarski et al., 2015a). В той же час, антибактеріальна активність *Fomitopsis betulina* проти *S. aureus* ATCC 25923 поступалась МБЦК екстрактам з плодових тіл *Hygrophorus agathosmus* (125 мкг/мл), *Suillus collitinus* (>1000 мкг/мл) (Yamac & Bilgili, 2006), *Hyphodontia paradoxa* (0,625 мг/мл) (Nowacka et al., 2015).

Грамнегативна бактерія *E. coli* ATCC 25922 виявилася менш чутливою до протестованих зразків культуральної рідини березової губки (*Fomitopsis betulina*) порівняно з екстрактами з плодових тіл таких грибів, як *Suillus collitinus* (>1000

мкг/мл) (Yamac & Bilgili, 2006), *Amanita citrina*, *A. muscaria*, *A. pantherina*, *A. porphyria*, *Bjerkandera adusta*, *Clavicornia pyxidata*, *Cortinarius armillatus*, *C. sanguineus*, *Daedaleopsis confragosa*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Gymnopilus penetrans*, *Heterobasidion annosum*, *Hygrophoropsis aurantiaca*, *Hyphodontia paradoxa*, *Lactarius aurantiacus*, *L. helvus*, *L. vellereus*, *Lenzites betulinus*, *Panellus stypticus*, *Pseudoclitocybe cyanthiformis*, *Psilocybe fascicularis*, *P. lateritia*, *Rhodocollybia maculate*, *Russula fragilis*, *Scleroderma citrinum*, *Stereum hirsutum*, *Thelephora terrestris*, *Trametes hirsuta*, *Trichaptum fuscoviolaceum*, *Tubaria furfuracea* (0,625 до 5 мг/мл) (Nowacka et al., 2015).

Варто зазначити, що всі протестовані зразки культуральної рідини *Fomitopsis betulina* демонстрували значно вищу ефективність у пригніченні росту *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 порівняно з метанольними та етанольними екстрактами плодових тіл *Pleurotus squarrosulus*, для яких рівень МБЦК становив 62,5 мг/мл та 31,25 мг/мл відповідно (Kalu & Kenneth, 2017).

Зауважимо, що, на відміну від наших експериментів, більшість зазначених вище досліджень зосереджені на вивченні антибактеріальної активності екстрактів плодових тіл грибів. Отримані результати дослідження антибактеріальної активності культуральної рідини *Fomitopsis betulina* щодо стандартних штамів бактерій стали підґрунтям для подальшого вивчення та розширення спектра її потенційної антибактеріальної дії.

Згідно з результатами бактеріологічних досліджень, у понад третини випадків інфекцій, спричинених збудниками пневмонії, менінгіту, інфекцій шкіри, легень, кровоносних судин, гонореї, малярії та туберкульозу, виявляють полірезистентність до антибіотиків. Це вказує на загострення глобальної проблеми антибіотикорезистентності, яка створює серйозні виклики для охорони здоров'я. За даними досліджень мікробіологічних центрів та прогнозами Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ), упродовж наступних 20–30 років усі відомі патогенні мікроорганізми можуть набути резистентності до існуючих антибіотиків. У найближчі 10–15 років не передбачається створення принципово нових класів антибактеріальних препаратів, що вимагає пошуку

альтернативних джерел антибактеріальних сполук (<http://www.asz.org.ua/index.php/study/274-suchasni-aspekti-zastosuvannja-antibakterialnih-preparativ-chastina-1-rezistentnist-do-antibakterialnih-preparativ.html>). У зв'язку з цим наступним етапом нашого дослідження було вивчення антибіотичної активності культуральної рідини *Fomitopsis betulina* проти найбільш важливих антибіотикорезистентних штамів клінічних ізолятів. Усі протестовані штами демонстрували полірезистентність і продукували різні види бета-лактамаз, включаючи: метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA), метицилін-резистентний коагулазонегативний стафілокок (MRCNS), металобеталактамази, здатні гідролізувати майже всі бета-лактамі антибіотики (MBL), бета-лактамази розширеного спектру, які забезпечують стійкість до пеніцилінів і цефалоспоринів (ESBL), карбапенемаза, що руйнує карбапенеми (KPC), цефалоспориноліаза класу C, яка забезпечує стійкість до більшості цефалоспоринів (AmpC). Дослідження антибактеріальної активності грибних екстрактів щодо таких клінічних ізолятів є перспективним напрямом для розробки нових природних антибактеріальних засобів, здатних протидіяти стійким патогенам.

Важливим результатом наших досліджень стало виявлення здатності культуральної рідини *Fomitopsis betulina* пригнічувати ріст усіх протестованих антибіотикорезистентних штамів бактерій (табл. 4.5). Визначення МБЦК показало, що для нативної культуральної рідини *F. betulina* значення МБЦК становило: 12,1 мг/мл проти грампозитивних бактерій, і 12,1 – 48,42 мг/мл проти грамнегативних бактерій. Для половини клінічних ізолятів було встановлено МБЦК на рівні 12,1 мг/мл. Найменш чутливим до антибактеріальних речовин культуральної рідини виявився штам *Escherichia coli* 116/3196 KPC, що може бути пов'язано з його підвищеною стійкістю через наявність карбапенемази. Значно кращі результати були отримані під час тестування висушеної сконцентрованої культуральної рідини *F. betulina*, суспендованої у ДМСО. У таких умовах значення МБЦК щодо клінічних ізолятів становили: 7,8 мг/мл

проти грампозитивних бактерій, і 7,8 – 15,6 мг/мл проти грамнегативних бактерій.

Таблиця 4.5

Мінімальна бактерицидна концентрація культуральної рідини

F. 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. haemolyticus</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>Klebsiella pneumoniae</i> 6/509 ESBL, AmpC, KPC	24,21	15,6
<i>Acinetobacter baumannii</i> 50/1496 MBL	12,10	15,6
<i>Acinetobacter baumannii</i> 88/2995 MBL	12,10	7,8

Порівняння отриманих у нашому дослідженні результатів з даними інших наукових праць щодо антибактеріально

ї активності проти клінічних резистентних патогенів є відносно складним через різноманітність використовуваних бактеріальних штамів, видів грибів, розчинників для отримання екстрактів та методів оцінки антибактеріальної активності. У літературі відзначається значна варіативність у визначенні МБЦК щодо стійких бактерій, що обумовлено вищезазначеними факторами. Водночас, для більш глибокого розуміння ефективності антибактеріальної дії екстрактів *Fomitopsis betulina* щодо клінічних ізолятів доцільно провести порівняння з відповідними даними літератури.

Різноманітні види екстрактів (50 мг/мл) з плодового тіла *Lenzites quercina* проявили різний рівень активності стосовно 6 штамів *S. aureus* (MRSA) (зона

затримки роста 4–18 мм) (Ogidi et al., 2015). Різні значення МІК метанольних та етанольних екстрактів (12,5; 25; 50 і 100 мг/мл) *Rigidoporus microporus* отримано щодо клінічних ізолятів *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* *S. aureus* (MRSA) (Falade et al., 2017). Тринадцять видів грибів *Agaricus arvensis*, *A. bisporus*, *Cantharellus cibarius*, *Fistulina hepatica*, *Lactarius deliciosus*, *L. salmonicolor*, *Lepista nuda*, *Leucopaxillus giganteus*, *Mycena rosea*, *Ramaria botrytis*, *Russula delica*, *Sarcodon imbricatus*, *Tricholoma portentosum* мали однакову МІК метанольних екстрактів (> 20 мг/мл) стосовно клінічних ізолятів *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, але по відношенню до *S. aureus* (MRSA) МІК становила >10 мг/мл у випадку *F. hepatica* та *R. delica* (Alves et al., 2012).

Встановлено пригнічення росту (від 9 до 25 мм) клінічних ізолятів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* водними екстрактами з плодових тіл *Flammulina* sp., *Boletus* sp., *Cortinarius* sp., *Trichaptum* sp., *Tricholoma nudum*, *Auricularia auricular-judae*, *Psalliota campestris* у концентраціях 0,01; 0, 1 та 1,0 мг/мл (Udu-Ibiam et al., 2014). Етанольний екстракт (МІК 6, 25 та 12,5 мг/мл) з плодового тіла *Pleurotus tuber-regium* проявив активність проти *S. aureus* та *E. coli*, відповідно (Ezeronye et al. 2005). Встановлено МІК (25 і 50 мг/мл) метанольного та ацетонового екстрактів з плодового тіла *Trametes elegans* стосовно клінічного ізоляту *E. coli* та *P. aeruginosa* (Awala & Oyetao, 2015). Різні види сирих екстрактів (25 мг/мл та 50 мг/мл) з плодового тіла *Pleurotus ostreatus* гальмував ріст (11–18 мм) клінічних ізолятів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* (Emoghene & Onwudinjo, 2011). Встановлена слабка активність (від 1 до 7 мм) етанольних та водних екстрактів з плодового тіла *Pleurotus* sp. і рослини *Psychotria microphylla* щодо клінічних ізолятів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* (Udu-ibiam et al., 2015).

Досліджено використання екстрактів етанольного і петролейного ефіру *Amanita muscaria*, етанольного та хлороформного екстрактів *A. phalloides*, хлороформних екстрактів *Russula kivuensis*, *Lactarius densifolius* та *A. muscaria* проти іншого клінічного ізоляту *K. pneumoniae*. В цілому, МІК зазначених грибів

становила від 6,25 до 25 мг/мл (Chelela et al., 2014). Активність екстракту з плодового тіла *Lyophyllum decastes* відсутня проти клінічного ізоляту *P. aeruginosa* (Pushpa & Purushothama, 1993). Комплексний екстракт з плодових тіл *Infundibulicybe geotropa*, *Lactarius controversus*, *L. deliciosus* пригнічував ріст клінічного ізоляту *P. aeruginosa* (зона затримки росту варіювала від 7 до 12 мм) (Altuner & Akata, 2010).

Метанольний екстракт з плодового тіла *Phellinus switeniae* виявився дієвим проти клінічних ізолятів *Acinetobacter baumannii* (МІК 2.33–4.66 мг/мл) (Belsare et al., 2013). Активна бактеріальна речовина 2-aminoquinoline (2-AQ), отримана із *Leucoraxillus albissimus* була ефективною (МІК 128 мкг/мл) по відношенню до штамів UWL, ATCC 19606 *A. baumannii* (Schwan et al., 2002).

Аналіз даних літератури свідчить, що більшість досліджень зосереджена на вивченні антибактеріальної активності екстрактів із плодових тіл макроміцетів або, рідко, виділених компонентів. На відміну від цього, наше дослідження спрямоване на вивчення культуральної рідини *Fomitopsis betulina*, що підкреслює новизну отриманих результатів та розширює існуючі уявлення про потенційні джерела біологічно активних сполук при культивуванні макроміцетів.

З'ясування та розуміння дії антибактеріальних компонентів макроміцетів є надзвичайно важливими через їх значний потенціал у боротьбі зі стійкими патогенними мікроорганізмами. Проте, встановлення та деталізація механізму їх дії залишаються складним та недостатньо дослідженим питанням у мікробіології та біотехнології. Одним із найбільш вивчених прикладів є механізм дії плевромутіліну, виділеного з грибів, який функціонує як інгібітор прокаріотичного синтезу білка. Його антибактеріальна активність обумовлена здатністю зв'язуватися з рибосомальною субодиноцею 50S бактерій (Poulsen et al., 2001) та 70S (Nigam & Singh, 2014), що блокує синтез білків, необхідних для життєдіяльності бактеріальної клітини. Похідні плевромутіліну, такі як тіамулін і валнемулін, зв'язуються з рибосомальною РНК у пептидилтрансферазному центрі. Це призводить до утворення неактивних ініціюючих комплексів, які не

можуть увійти в цикл подовження пептидного ланцюга, що в результаті блокує синтез білків у бактеріальній клітині. Цей механізм дії пояснює високу специфічність плевромутілінів до бактерій та їх ефективність проти низки грампозитивних і деяких грамнегативних патогенів.

Крім інгібування синтезу білків, антибактеріальний механізм екстрактів грибів може бути зумовлений їх впливом на проростання спор патогенних грибів. Наприклад, культуральні фільтрати *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* та *Clitocybe nuda* продемонстрували повне пригнічення проростання спор фітопатогенного гриба *Alternaria brassicicola*, а культуральні фільтрати *Coprinus comatus*, *Tremella aurantialba* та *L. edodes* – інгібували проростання спор *Phytophthora capsici* (Chen & Huang, 2010). Ці результати свідчать про різноманітність механізмів антибактеріальної та протигрибкової дії грибів, що включають порушення процесів білкового синтезу, руйнування клітинних структур та пригнічення ключових етапів життєвого циклу патогенів. Слід також мати на увазі вірогідну комплексну дію грибних екстрактів, що охоплює декілька молекулярних мішеней, і створює широкі перспективи для їх використання у розробці нових антибактеріальних препаратів із багатовекторним механізмом дії.

Таким чином, дослідження антибактеріальної активності макроміцетів підтверджують їх значний потенціал у створенні нових терапевтичних препаратів для боротьби з бактеріальними інфекціями. Встановлено, що культуральна рідина міцелію досліджених видів грибів виявляє вищу антибактеріальну активність порівняно з їх міцелієм, що підкреслює її перспективність як джерела антибактеріальних метаболітів для біотехнологічних розробок. Результати, отримані в ході дослідження, вперше демонструють антибактеріальну активність видів *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Це підкреслює наукову новизну проведеного дослідження та відкриває перспективи для подальшого вивчення зазначених макроміцетів як потенційних джерел біологічно активних сполук.

На основі отриманих даних було відібрано культуральну рідину *Fomitopsis betulina*. Висушена та концентрована культуральна рідина цього гриба продемонструвала широкий спектр антибактеріальної активності щодо еталонних тест-бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 у концентраціях від >2 до 18,75 мг/л. Вона також ефективно діяла на полірезистентні клінічні ізоляти, такі як *S. aureus* MRSA, *S. haemolyticus* MRCNS, *P. aeruginosa* MBL, *E. coli* KPC, *Klebsiella pneumoniae* ESBL, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* MBL, у концентраціях від 7,8 до 48,42 мг/л. Визначені мінімальні інгібуючі концентрації залишаються в межах дозволених нормативів для антибіотичних препаратів, що підкреслює потенціал цього гриба у створенні нових природних антибактеріальних засобів. Подальші дослідження повинні бути зосереджені на виділенні, ідентифікації та структурному аналізі активних метаболітів, а також на з'ясуванні їх механізму д

ії. Це відкриває перспективи для розробки інноваційних фармацевтичних препаратів, призначених для лікування бактеріальних інфекцій, зокрема і тих, що спричинені резистентними штамами патогенів.

4.3. Антиоксидантна активність макроміцетів

Дослідження антиоксидантної активності є надзвичайно актуальним через зростаючу поширеність захворювань, асоційованих з оксидативним стресом. Надмірне утворення активних форм кисню (АФК), яке лежить в основі цього процесу, є одним з ключових патогенетичних факторів розвитку серцево-судинних, нейродегенеративних, онкологічних захворювань, а також прискорення процесів старіння (Jomova et al., 2023).

Антиоксиданти відіграють важливу роль у нейтралізації вільних радикалів, забезпечуючи захист клітинних структур та запобігаючи ушкодженням ДНК, білків і ліпідів. У зв'язку з цим пошук природних джерел ефективних антиоксидантів, зокрема серед рослин, грибів і мікроорганізмів, набуває

особливого значення для створення дієтичних добавок, лікарських засобів і косметичних препаратів.

Макроміцети є перспективними джерелами природних антиоксидантів завдяки здатності синтезувати широкий спектр біологічно активних сполук, таких як фенольні, полісахариди та терпенові похідні (Asatiani et al., 2010; Mattila et al., 2023). Численні експериментальні дані свідчать про виражені антиоксидантні властивості багатьох видів грибів, що дозволяє їм ефективно нейтралізувати вільні радикали. Імовірно, здатність до знешкодження вільних радикалів є одним із ключових механізмів, завдяки якому макроміцети демонструють терапевтичний потенціал у боротьбі з різними захворюваннями (Sánchez, 2016). Антиоксидантна активність різних дикорослих і комерційно культивованих видів грибів вивчалася щодо різних радикалів, включаючи 2,2'-азино-біс-3-етилбензотіазолін-6-сульфонової кислоти (ABTS), 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH), хелатування металів, перекисне окислення ліпідів, поглинання гідроксилів і нітритів (Islam et al., 2016; Mwangi et al., 2022). Одним із найефективніших та доступних методів оцінки антиоксидантної активності є DPPH-тест (Rodríguez-Roque et al., 2018), який базується на визначенні здатності антиоксидантів відновлювати стабільний радикал DPPH. Цей метод широко використовується завдяки своїй простоті, швидкості проведення та можливості візуального контролю реакції, що супроводжується зміною кольору розчину з інтенсивно фіолетового до світло-жовтого (Gulcin & Alwasel, 2023).

Оцінено потенціал етилацетатних екстрактів 30 видів досліджених грибів щодо знешкодження вільного радикалу DPPH. Усі досліджені види макроміцетів після глибинного культивування (без перемішування) на середовищі ГПД демонстрували різний рівень антиоксидантної активності (рис. 4.13).

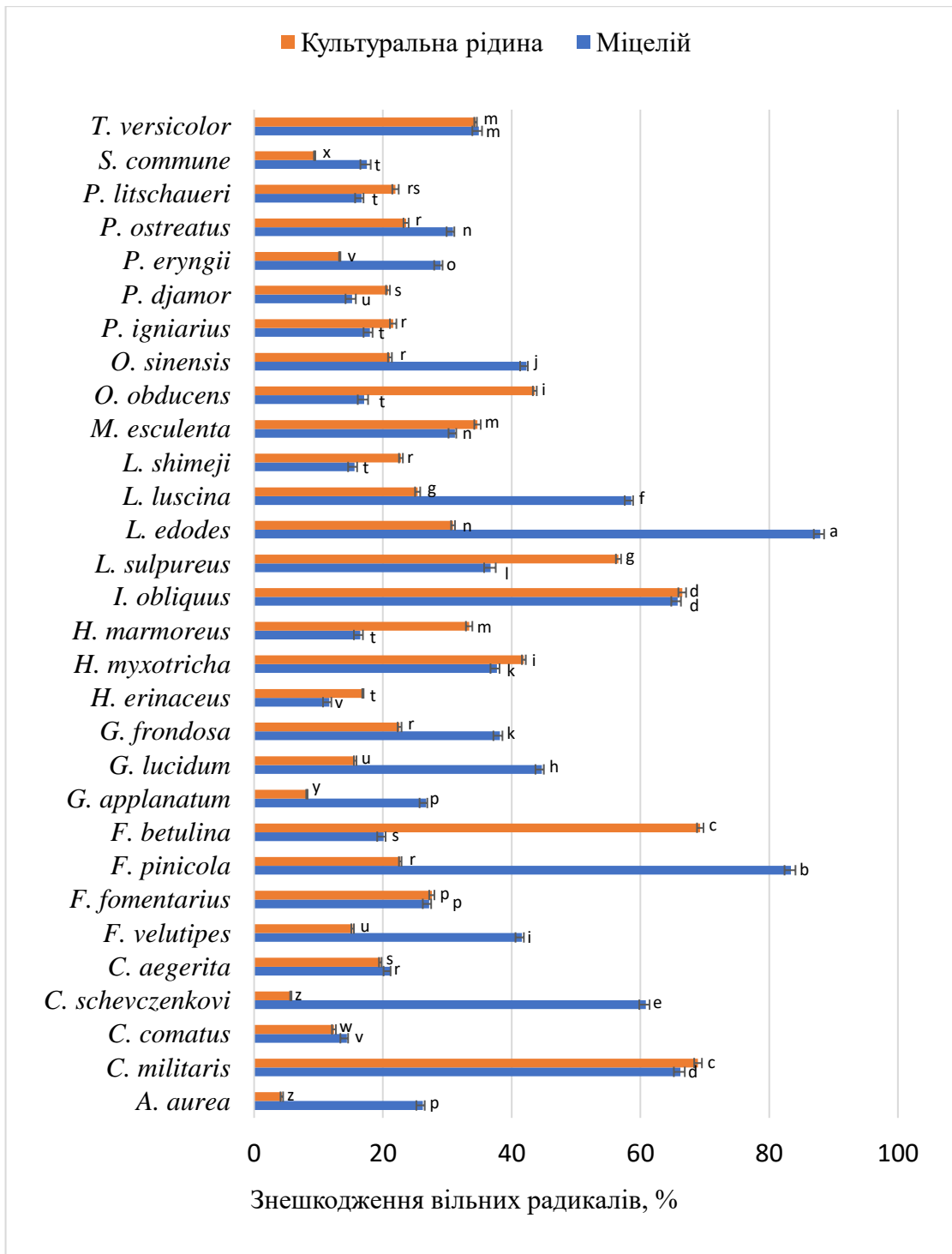


Рис. 4.13. Антиоксидантна активність етилацетатних екстрактів міцелію макроміцетів та культуральної рідини

Наскільки нам відомо, вперше встановлено антиоксидантну активність *Auriporia aurea*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Oxyporus obducens*. У літературі також немає підтвердження наявності антиоксидантної активності у міцелії *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola*, *Lepista luscina*, незважаючи на

дослідження антиоксидантних властивостей у їх плодових тілах. 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 % та 4,3–69,3 % для міцелію та культуральної рідини, відповідно, залежно від досліджуваних видів грибів. Загалом, у половини видів грибів (50 %) міцелій показав кращу антиоксидантну активність порівняно з культуральною рідиною, що свідчить про потенційну роль внутрішньоклітинних компонентів у нейтралізації вільних радикалів.

Слід зазначити, що міцелій трьох видів ксилотрофів *Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius* і *Trametes versicolor* мав антиоксидантну активність на рівні культуральної рідини. Найвищий відсоток інгібування вільних радикалів виявлено для міцелію *Lentinula edodes* ($87,94 \pm 0,80$ %) і *Fomitopsis pinicola* ($83,39 \pm 0,70$ %).

Антиоксидантна активність 130 ізолятів грибів (міцелій та культуральна рідина) з Туреччини становила від 50,35 до 100 % (Börühan et al., 2021). Культуральна рідина досліджених нами грибів загалом досліджувалась спорадично (Souilem et al., 2017; Jiamworanunkul, 2019; Börühan et al., 2021; Flores et al., 2022), тому наше дослідження доповнює існуючі знання про антиоксидантний потенціал грибів в цілому.

Антиоксидантну активність за допомогою DPPH-аналізу раніше було виявлено у тих самих видів грибів, що й у нашому експерименті, зокрема у різних екстрактах міцелію *Coprinus comatus* (Vamanu, 2013, 2014; Huang et al. 2021), *Cordyceps militaris* (Huang et al., 2021; Deshmulh & Lakshmi, 2023), *C. sinensis* (Dong & Yao, 2008), *Flammulina velutipes* (Zhao et al., 2013; Börühan et al., 2021; Huang et al., 2021), *Fomes fomentarius* (Kalyoncu et al., 2010; Börühan et al., 2021), *Ganoderma applanatum* (Prasad et al., 2015; Börühan et al., 2021; Suruga et al., 2022), *G. lucidum* (Kalyoncu et al., 2010; Heleno et al., 2012; Prasad et al., 2015; Darsih et al., 2019; Jiamworanunkul, 2019; Huang et al., 2021; Suruga et al., 2022), *Grifola frondosa* (Huang et al., 2021; Suruga et al., 2022), *Hericiium erinaceus* (Wong et al., 2009; Huang et al., 2021), *Hypsizygus marmoreus* (Huang et al., 2021; Angelini et al.,

2023), *Inonotus obliquus* (Suruga et al., 2022), *Morchella esculenta* (Balan et al., 2010; Kalyoncu et al., 2010), *Morchella* sp. (Wang et al., 2020), *Laetiporus sulphureus* (Prasad et al., 2015; Suruga et al., 2022), *Lentinula edodes* (Cheung et al., 2003; Kalyoncu et al., 2010; Turło et al., 2010; Reis et al., 2012b; Jiamworanunkul, 2019; Huang et al., 2021; Suruga et al., 2022), *Lyophyllum shimeji* (Suruga et al., 2022), *Pleurotus djamor* (Kalyoncu et al., 2010; Mishra et al., 2013), *P. eryngii* (Reis et al., 2012b; Mishra et al., 2013; Souilem et al., 2017; Börühan et al., 2021; Huang et al., 2021). Ми не акцентували увагу на порівнянні рівня антиоксидантної активності, оскільки відсоток інгібування вільних радикалів досліджених грибів з результатами інших дослідників, відрізняється, а їх порівняння унеможлиблюється через можливий вплив різних факторів: умов культивування грибів, використання різних методів приготування екстракту, використання різної кількості екстракту досліджуваних грибів, а також концентрації стабільного радикала DPPH.

Загалом варто зазначити, що відсоток інгібування вільних радикалів культуральною рідиною та екстрактів міцелію досліджених видів не корелював між собою, за винятком трьох видів (*Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius* та *Trametes versicolor*). Це спостереження узгоджується з іншими подібними дослідженнями (Heleno et al., 2012; Jiamworanunkul, 2019; Börühan et al., 2021; Regeda et al., 2021). Так, раніше було встановлено, що міцелій *Ganoderma lucidum* має вищу здатність поглинати радикали DPPH порівняно з культуральною рідиною (Heleno et al., 2012). Культуральні рідини *Schizophyllum commune*, *Lentinus polychrous*, *Ganoderma lucidum* показали кращі результати активності поглинання радикалів DPPH, ніж їх міцелій, на відміну від *Lentinula edodes* та *Lentinus squarrosulus* (Jiamworanunkul, 2019). Тоді як Regeda et al. (2021) виявили, що інгібування DPPH було значно вищим екстрактами міцелію всіх досліджених семи видів *Pholiota* порівняно з їх культуральними рідинами. Екстракти міцелію двох штамів *Xylaria polymorpha* та *X. longipes* мали сильнішу антиоксидантну активність порівняно з культуральною рідиною, відповідно до даних Atamanchuk & Bisko (2023). Такі результати підкреслюють важливість дослідження

внутрішньоклітинних і позаклітинних метаболітів макроміцетів для визначення їх повного антиоксидантного потенціалу.

Водночас, ряд авторів визначили майже однакові значення поглинання DPPH міцелієм і культуральною рідиною *Pleurotus eryngii* та *Suillus belini* (Soulem et al., 2017) *Fomes fomentarius*, *Lenzites betulina*, *Trametes hirsuta*, двох грибів білої гнилі та неідентифікованих ізолятів (Börühan et al., 2021), що узгоджується з нашими результатами для *Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius* та *Trametes versicolor*. Це може бути зумовлено високою концентрацією поліфенольних сполук, флавоноїдів та інших антиоксидантів, що накопичуються в клітинах міцелію під час культивування.

Для розуміння впливу метаболітів макроміцетів на набуття антиоксидантної активності був використаний кореляційний тест Пірсона (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Коефіцієнти кореляції (r) між вмістом фенольних сполук, полісахаридами і антиоксидантною активністю досліджених грибів

Коефіцієнт кореляції (r)				
DPPH/ міцелій	DPPH/ культуральна рідина	DPPH/ фенольні сполуки	DPPH/ ендополісахариди	DPPH/ екзополісахариди
0,6614	0,01191	0,1192	0,1415	-0,2129

Відповідно до шкали Evans (1996), вміст фенольних сполук достовірно сильно корелював ($r = 0,661$) з інактивацією DPPH у міцелії грибів, проте було встановлено дуже слабкий зв'язок у культуральній рідині ($r = 0,119$). Також встановлено наявність слабкої кореляції ($r = 0,141$) між антиоксидантною активністю і вмістом ендполісахаридів. Отже, результати підкреслюють провідну роль фенольних сполук у забезпеченні антиоксидантної активності екстрактів грибів, тоді як вплив ендполісахаридів є менш значущим і, як у випадку екзополісахаридів, навіть негативним. Позитивна кореляція між вмістом

фенольних сполук і DPPH узгоджується для міцелію *Xylaria polymorpha* і культуральної рідини *X. longipes* (Atamanchuk & Bisko, 2023).

Для виявлення закономірностей та взаємозв'язків між кількісно визначеними сполуками (фенольними сполуками, полісахаридами) та антиоксидантною активністю досліджених видів грибів також було застосовано аналіз головних компонент (Principal Component Analysis, PCA) (рис. 4.14).

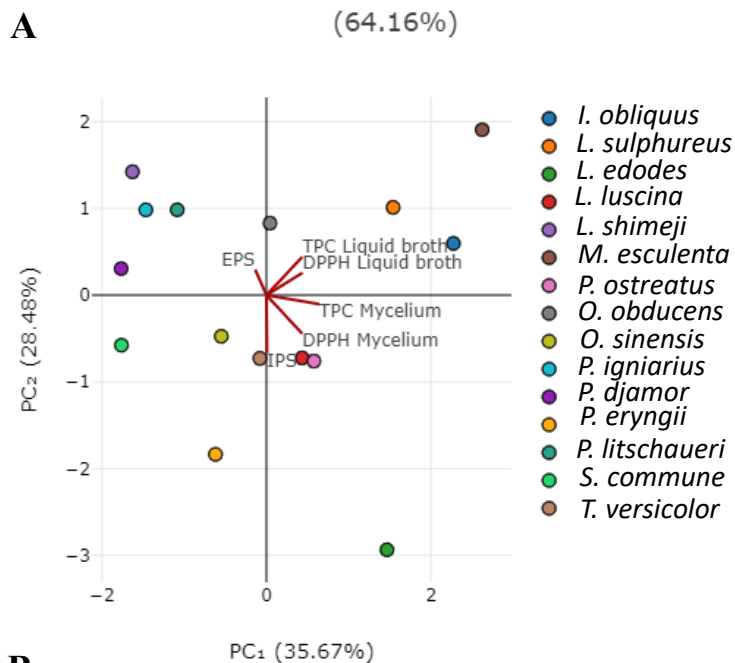
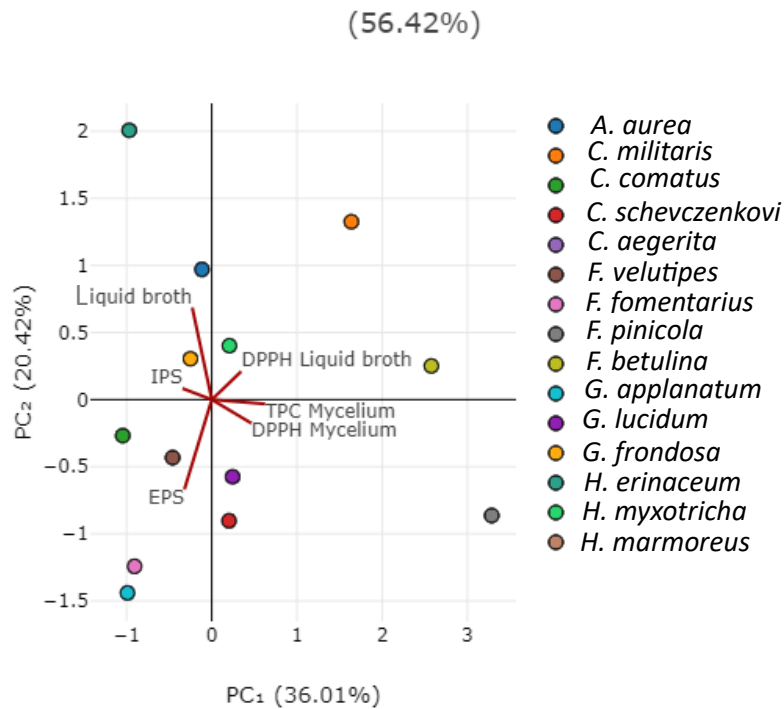
Перші дві головні компоненти (PC1 і PC2) пояснюють 56,4 % загальної дисперсії (рис. 4.14 А), що забезпечує суттєве відображення структури даних. Результати PCA підкреслюють наявну мінливість у наборі даних і дають змогу ідентифікувати ключові фактори, які визначають спостережувані тенденції. Більш чіткий поділ спостерігався вздовж горизонтальної осі PC2: фенольні сполуки та ендopolісахариди зосереджені в першому квадранті, тоді як екзopolісахариди – в третьому.

Фенольні сполуки, кількісно визначені у культуральній рідині, а також ендopolісахариди продемонстрували високі позитивні навантаження на обох компонентах. Це корелювало з активністю поглинання DPPH у культуральній рідині, що свідчить про їх значну роль у проявленій антиоксидантній активності. Ці змінні чітко відокремлюють *Hohenbuehelia myxotricha*, *Grifola frondosa*, *Auriporia aurea* та *Cordyceps militaris* від інших видів грибів, що вказує на ключову роль фенолів у визначеній антирадикальній активності.

Дещо інша картина спостерігається на рис. 4.14 В, де загальна дисперсія становить 64,2 %, що свідчить про те, що значна частка мінливості набору даних пояснюється цими компонентами. Перша головна компонента (PC1) пояснює 35,7 % загальної мінливості, а друга (PC2) – 28,5 %. На відміну від рис. 4.16 А, на рис. 4.14

В спостерігається більш виражене розділення аналізованих зразків, причому перша головна компонента (PC1) пояснює 35,7 % дисперсії. На цьому рисунку активність поглинання DPPH та результати вмісту фенольних сполук для зразків культуральної рідини 15 видів знаходяться в II квадраті, тоді як аналогічні

показники для зразків міцелію розташовані в IV квадраті. Це вказує на існування певних закономірностей у розподілі даних між цими двома групами.



B

Рис. 4.14. Оцінка антиоксидантної активності (DPPH), вмісту фенольних сполук (TPC), ендо- та екзополісахаридів (IPS і EPS відповідно) макроміцетів за аналізом головних компонент (PCA)

Види, розташовані в II квадраті демонструють вищі значення DPPH, і вмісту фенольних сполук порівняно з видами, розташованими в інших квадратах. Це підтверджується результатами, де *Morchella esculenta* виділяється як вид із найвищим значенням фенольних сполук. Інші види, згруповані в II квадраті, також характеризуються вищими значеннями цих показників порівняно зі зразками міцелію. Зразки міцелію, розташовані в IV квадраті, демонструють зв'язок між вмістом фенольними сполуками, активністю поглинання DPPH для видів *Lepista luscina*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum commune* та вмістом ендополісахаридів, виділених з міцелію.

Ці розділення, представлені на рис. 4.14 А і 4.14 В, надають цінну інформацію про взаємозв'язок між фенольними сполуками, полісахаридами та антиоксидантною активністю в аналізованих видах. Вони припускають, що всі 30 досліджених видів мають різні профілі з точки зору антиоксидантною активності, вмісту фенолів і полісахаридів залежно від їх розташування в квадратах.

Загалом можна зробити висновок, що існує сильна кореляція між фенолами, які є найперспективнішими антиоксидантними сполуками грибів, та активністю поглинання DPPH. Серед полісахаридів, екзополісахариди не демонструють сильного групування зі змінними антиоксидантною активності, за винятком ендополісахаридів, для яких виявлено кореляцію. Відсутність групування екзополісахаридів вказує на їх слабкий зв'язок із антиоксидантною активністю у досліджених видах. Результати аналізу головних компонент для оцінки антиоксидантною активності, вмісту фенольних сполук та полісахаридів узгоджуються із закономірностями кореляції, визначеними за коефіцієнтом Пірсона.

Отримані результати свідчать про наявний антиоксидантний потенціал 30 видів грибів, оскільки їх міцелій та культуральна рідина є потенційними джерелами природних антиоксидантів. Такі результати підкреслюють важливість дослідження внутрішньоклітинних і позаклітинних метаболітів макроміцетів для визначення їх загального антиоксидантного потенціалу. Вивчення та оцінка

біологічної активності значної кількості видів, і особливо дослідження маловивчених видів грибів, надає нову інформацію про антиоксидантну активність грибів, що потенційно розширює сферу їх застосування. Вперше встановлено антиоксидантну активність *Auriporia aurea*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Oxyporus obducens*. Вперше підтверджено наявність антиоксидантної активності в міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*, незважаючи на те, що попередні дослідження зосереджувалися лише на антиоксидантних властивостях їх плодових тіл. Серед досліджених видів міцелій *Lentinula edodes* та *Fomitopsis pinicola* продемонстрували найвищий потенціал поглинання вільних радикалів (до 90 %), що робить їх першочерговими кандидатами для подальшого вивчення як природних джерел антиоксидантів.

Таким чином, отримані результати створюють основу для майбутніх наукових розробок і можливого практичного застосування макроміцетів в нутрицевтиці, підкреслюючи їх потенціал як джерел біологічно активних сполук із вираженими антиоксидантними властивостями.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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>

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>

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>

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)

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>

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>

Круподьорова, Т., & Барштейн, В. Патент на корисну модель 140724. Київ: Державне патентне відомство України.

Барштейн, В., **Круподьорова, Т.,** Забейда О., & Зайченко Т. Патент на корисну модель 121324. Київ: Державне патентне відомство України.

Kruporodova, 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 «Астрая».

Krupodorova, T., Kizitska, T., Sevendik, M., Barshteyn, V. (2023). *Competition between selected macromycetes and some harmful microorganisms*, Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні аспекти мікробіології, вірусології та біотехнології у воєнний та післявоєнний час» («Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in war and post-warperiod»). Київ: D.K. Zabolotny institute of microbiology and virology of the National academy of sciences of Ukraine.

Круподьорова, Т., Барштейн, В., Ратушняк, В., Покас, О. (2021). *Індукція лаказної активності при сумісному культивуванні грибів*, Матеріали I Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції: «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології». Харків: НФаУ.

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.

Круподьорова, Т., Барштейн, В., Покас, О. (2019). *Антифунгальна активність деяких базидієвих грибів*, Матеріали III Міжнародна наукова конференція з дистанційною участю «Сьогодення біологічної науки». Суми: ФОП Цьома С.

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

Круподьорова, Т., Кізіцька, Т., Бейко, Н., Барштейн, В. (2018). *Антифунгальна активність макроміцетів проти Penicillium spp. та Rhizopus spp.*, Матеріали II Міжнародної наукової конференції «Сьогодення біологічної науки». Суми: ФЦП Цьома С.

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».

Круподьорова, Т., Барштейн, В., Забейда, О., Покас, О. (2016). *Антибактеріальна активність макроміцетів*, Матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». Харків: НФаУ.

Сніхівська, М., Зайченко, Т., **Круподьорова, Т.** (2015). *Дослідження антибіотичних властивостей грибів*. Матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-й річниці від дня народження Олександра Флемінга. Київ: НТУУ «КПІ».

Круподьорова, Т., Барштейн, В., Забейда, О., Покас, О. (2015). *Скринінг макроміцетів на антибактеріальну активність*, Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії». Харків: НФаУ.

РОЗДІЛ 5

БІОКОНВЕРСІЯ МАКРОМІЦЕТАМИ ВІДХОДІВ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ОЛІЙНО-ЕКСТРАКЦІЙНОГО ВИРОБНИЦТВА

В основі пріоритетних напрямів сучасних біотехнологій є вивчення можливості біоконверсії відходів для ефективного використання біоресурсів шляхом їх безвідходної переробки. Актуальною проблемою залишається утилізація відходів, зокрема харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва. Ці відходи містять ще певну кількість невикористаних біологічно активних речовин. Утилізація відходів вирішує як екологічну проблему, так і проблему ефективного використання біоресурсів шляхом безвідходної переробки рослинної сировини. Головною передумовою біоконверсії відходів є пошук ефективних об'єктів здатних до біотрансформації різної сировини. Макроміцети, особливо базидієві гриби, відрізняються надзвичайно потужним ферментними комплексами, здатними до активного руйнування складних компонентів субстратів до простих молекул. Разом з цим, з точки зору економічності та ефективності процесу утилізації відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва, і зважаючи на значне видове різноманіття лікарських грибів, актуальним на сьогодні залишається пошук нових, дешевих субстратів і проведення скринінгу видів грибів здатних їх утилізувати. У рамках дослідження здатності грибів до біоконверсії відходів харчової промисловості було здійснено скринінг потенційних субстратів з метою визначення найбільш економічно вигідних варіантів для їх вирощування. Дослідження проведенні у порівнянні з ростом на контрольному середовищі – ГПД на 14 добу глибинного культивування без переміщування.

5.1. Ріст макроміцетів на відходах макаронного виробництва та кондитерської промисловості

Обсяги макаронного виробництва в Україні за останні роки зазнали значних змін. Виробництво макаронів зменшується через кілька факторів,

включаючи вторгнення Росії, які призвели до втрати важливих виробничих потужностей. Наприклад, Сімферопольська та Донецька макаронні фабрики до анексії займали значну частку ринку. Незважаючи на це, макарони залишаються важливим продуктом в Україні. Близько 96,5 % населення регулярно споживає макаронні вироби різних видів (<https://koloro.ua/ua/blog/issledovaniya/issledovaniemakaronnogorynkaukrainy.html>).

І при промисловому виробництві макаронних виробів неминуче утворюються відходи, обсяг яких може варіювати від 3 до 12 % (<https://www.italianfoodtech.com/pasta-scrap-recovery-system/>). Наші результати показали значний потенціал макроміцетів для трансформації відходів макаронних виробів у цінну міцеліальну біомасу. Найкращі показники синтезу міцеліальної біомаси були отримані на крихті та подрібненій вермішелі, макроміцети утворювали біомасу від $2,1 \pm 0,1$ до $34,8 \pm 0,3$ г/л (рис. 5. 1). Рідке поживне середовище на основі крихти стимулювало ріст 19 видів (63,3 % досліджених видів), тоді як середовище з подрібненою вермішеллю було кращим для росту 5 видів (16,6 % досліджених видів): *Cyclocybe aegerita*, *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Lepista luscina*, *Morchella esculenta* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Деякі види, такі як *Coprinus comatus*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus djamor* і *Trametes versicolor*, синтезували однакову кількість міцелію на обох цих відходах. Найменшу кількість міцеліальної біомаси утворювали *Grifola frondosa* (≤ 5 г/л) та *Fomitopsis pinicola* (6–8 г/л). Низька продуктивність міцеліальної біомаси *G. frondosa* і *F. pinicola* на відходах макаронного виробництва, ймовірно, зумовлена специфічними ферментативними вимогами та адаптаційними особливостями цих видів до інших типів органічних субстратів.

Як правило, макаронні вироби в основному складаються із вуглеводів (приблизно 70–75 %), а основним компонентом є крохмаль та дрібні частинки цукрів і харчових волокон (Gull et al., 2018). Отримані результати узгоджуються із нашими попередніми висновками (Krupodorova et al., 2014a), що всі досліджені макроміцети продукують фермент амілазу, яка здатна розщеплювати крохмаль до простіших цукрів, таких як мальтоза, і в кінцевому підсумку – до глюкози для

отримання енергії. Слід зазначити, що відходи макаронного виробництва виявилися хорошим субстратом для виробництва молочної кислоти шляхом ферментації *Bacillus coagulans* A559 (López-Gómez et al., 2022).

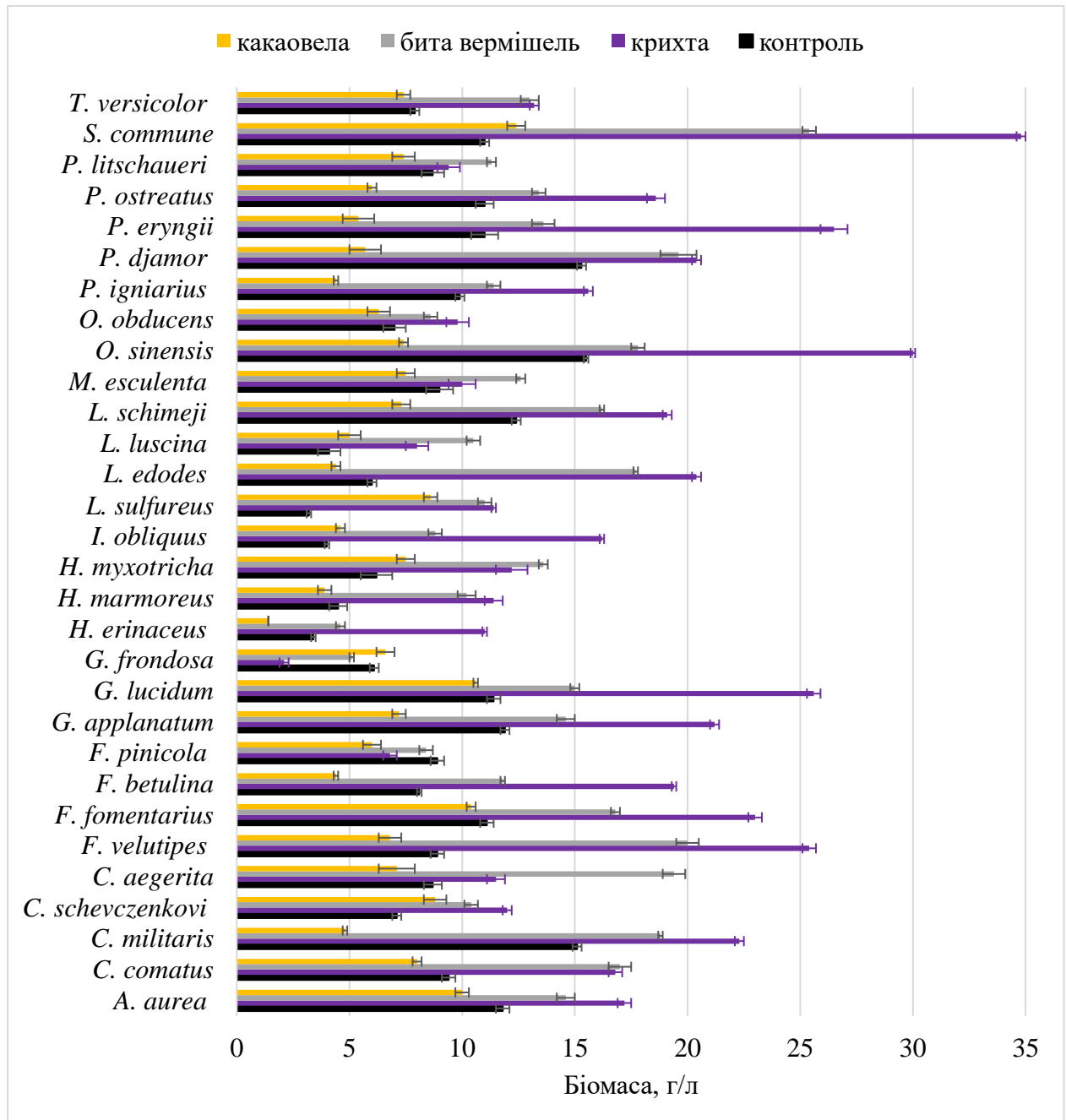


Рис. 5.1. Вплив відходів харчового виробництва на ріст макроміцетів

Найгірші результати щодо утворення міцеліальної біомаси (від $1,4 \pm 0,0$ до $12,4 \pm 0,4$ г/л) було отримано при культивуванні макроміцетів на какаоовелі – побічному продукті виробництва какао. Какаоовела це подрібнена зовнішня

частина какао-бобів (оболонка лущиння бобів какао), видалена після обсмажування. Це побічний продукт шоколадної промисловості, що становить 10–17 % какао-бобів (Rojo-Poveda et al., 2019). Однак присутність порошку какаовели в рідкому середовищі сприяла росту *Crinipellis schevczenkovi*, *Grifola frondosa*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Laetiporus sulphureus* та *Schizophyllum commune*, порівняно з контрольним середовищем.

Незважаючи на здатність макроміцетів певних видів рости в рідкому середовищі на основі какаовели, загальний вихід міцеліальної біомаси залишався низьким. Такі результати можна пояснити необхідністю наявності чотирьох пуриндеградуючих ферментів для розщеплення уронових кислот – основних моносахаридів шкаралупи какао (Younes et al., 2023). Хоча було показано, що додавання відходів какао (какао-бобів, какао-шкаралупи) рекомендується для культивування видів *Pleurotus* методом твердофазної ферментації (Idowu et al., 2009; Mudakir et al., 2014; Zhou et al., 2022).

В цілому, ріст грибів обумовлений видоспецифічними вимогами для росту кожного конкретного гриба. Види грибів, які належать до одного роду *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* також з різною інтенсивністю засвоювали досліджені відходи.

За результатами досліджень ефективного продукування міцеліальної біомаси (≥ 20 г/л) встановлено, що декілька видів грибів демонструють високі показники зростання на відходах макаронного виробництва, що свідчить про їхній значний біоконверсійний потенціал. Серед активних деструкторів борошна виділяються ксилотрофні базидієві гриби: *Flammulina velutipes*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor* та *P. eryngii*. Ентомофільні сумчасті гриби *Cordyceps militaris* та *Ophiocordyceps sinensis* також показали високий рівень продукування міцеліальної біомаси, незважаючи на їх специфічну екологічну нішу.

Окремо слід відзначити ксилотрофний базидієвий гриб *Schizophyllum commune*, який виявив високу здатність засвоювати як борошно, так і бити

вермішель. Це підкреслює його універсальність і пристосованість до цих субстратів, що робить його перспективним видом для промислового культивування.

Отримані позитивні результати щодо утворення міцеліальної біомаси більшості досліджених видів грибів дозволяють рекомендувати відходи макаронного виробництва як поживні компоненти для субстратів у культивуванні грибів. Відходи макаронного виробництва можуть слугувати як самостійними монокомпонентами поживних середовищ або як додатковими компонентами для створення комбінованих субстратів для твердофазного і глибинного культивування макроміцетів. Їх використання сприятиме зниженню виробничих витрат і підвищенню рентабельності біотехнологічних процесів, забезпечуючи економічно вигідне вирощування грибів у промислових умовах.

5.2. Ріст макроміцетів на відходах борошномельного виробництва

Обсяги борошномельного виробництва в Україні демонструють значний потенціал, навіть незважаючи на складні економічні та соціальні умови. Виробництво борошна першою десяткою найбільших українських виробників зросло з 511 тис. тонн у 2021 році до 592,7 тис. тонн у 2022 році (<https://elevatorist.com/novosti/15975-opublikovano-reyting-naybilshih-virobnykiv-boroshna-u-2022-rotsi>). З урахуванням загальних обсягів виробництва борошна в Україні, які складають сотні тисяч тонн на рік, можна очікувати, що обсяги відходів будуть значними. Наприклад, якщо виробляється 1 мільйон тонн борошна, то обсяги відходів (висівки, мучка та ін.) можуть складати від 150 тисяч до 250 тисяч тонн. Обсяги відходів борошномельного виробництва можуть суттєво відрізнятись залежно від типу технологічного процесу, якості сировини, та ступеня очищення зерна. Основні типи відходів у борошномельному виробництві включають висівки, мучки, зернову оболонку, та інші фракції, які не входять до складу кінцевого продукту – борошна.

Різні зернові субстрати активно використовуються як компоненти поживних середовищ для вирощування грибів та виробництва посівного міцелію (Mohankumar & Savitha, 2017; Kumar et al., 2020; Aditya et al., 2022; Thakur et al., 2023). Це спонукало нас оцінити здатність досліджених грибів до біоконверсії висівок та дерті (борошна грубого помелу злакових культур). Діапазон накопичення міцеліальної біомаси макроміцетів становив від $5,1 \pm 0,5$ до $23,0 \pm 0,8$ г/л (рис. 5.2).

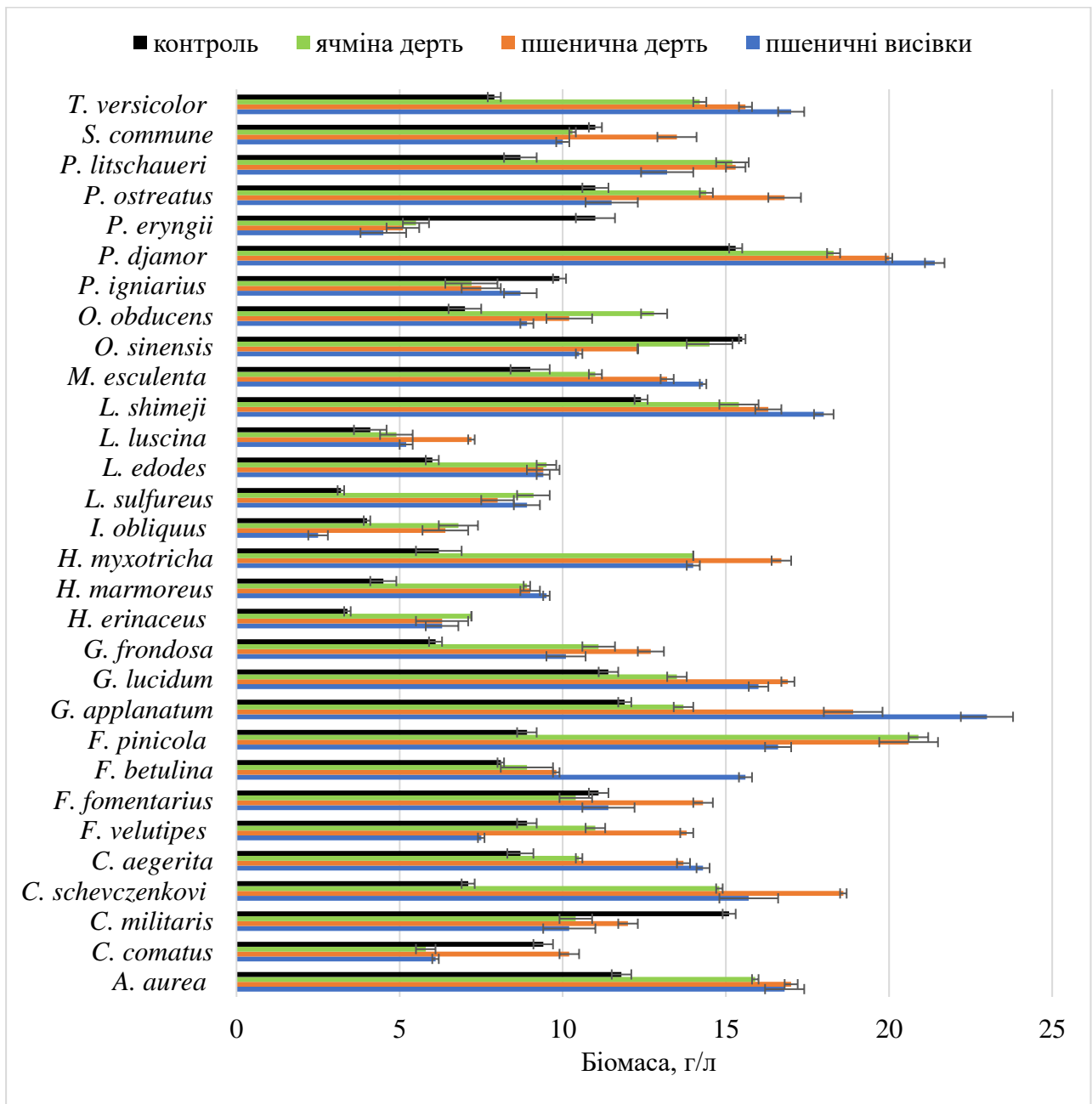


Рис. 5.2. Вплив відходів борошномельного виробництва на ріст макроміцетів

Значну кількість міцеліальної біомаси (≥ 20 г/л) було отримано для *Fomitopsis pinicola* на рідких середовищах на основі пшеничної та ячмінної дерті, для *Ganoderma applanatum* – на пшеничних висівках, для *Pleurotus djamor* – на пшеничних висівках та пшеничній дерті. Пшенична дерть сприяла росту 10 видів грибів (30 % досліджених видів), тоді як пшеничні висівки – 8 видів (26,7 % досліджених видів). Згідно з отриманими результатами, макроміцети, такі як *F. pinicola* та *Pseudospongipellis litschaueri*, виявили однакову здатність до засвоєння пшеничної та ячмінної дерті, що свідчить про їх подібні вимоги до складу поживних середовищ. Водночас *Auriporia aurea* демонструвала рівну ефективність використання як пшеничної дерті, так і пшеничних висівок, що може бути пов'язано з здатністю гриба ефективно використовувати вуглеводи, що містяться в цих субстратах. Особливо варто відзначити *Hericium erinaceus*, *Lentinula edodes* та *Laetiporus sulphureus*, які продукують однакову кількість міцеліальної біомаси на різних середовищах. Це може свідчити про їх високу екологічну пластичність та здатність адаптуватися до різних типів поживних субстратів без значних змін у рівні продуктивності. З іншого боку, для *Pleurotus eryngii* було зафіксовано найменшу кількість міцеліальної біомаси (≤ 5 г/л), що може бути зумовлено специфічними вимогами цього виду до складу субстрату та його здатності до засвоєння певних поживних речовин.

Позитивні результати синтезу міцеліальної біомаси на середовищах з грубими борошняними відходами (дертями) були прогнозовані, оскільки крохмаль є основним компонентом борошна і, відповідно, добре засвоюється грибами. Наше спостереження також узгоджується з іншими дослідженнями (Frantz et al., 2018; Paludo et al., 2023), в яких показана можливість використання побічних продуктів помелу пшениці як потенційних субстратів для продукування α -амілази базидієвими видами грибів. Отримані нами результати для *Cordyceps militaris*, *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor* значно вищі за показники росту на відходах III категорії, аспіраційні відходи ячменю та хлібній крихті ВАТ

«Київмлин» (Київ, Україна) за аналогічних умов культивування (Іванова та ін., 2012).

Дослідження ефективності продукування міцелію макроміцетами показало, що лише кілька видів демонструють високі показники утворення біомаси (≥ 20 г/л) на субстратах, отриманих з відходів борошномельного виробництва. Зокрема, для *Fomitopsis pinicola* відзначено інтенсивний ріст міцелію при використанні ячмінної та пшеничної дерті, що свідчить про здатність цього виду засвоювати складні полісахариди, такі як крохмаль і целюлоза, присутні у цих субстратах. *Ganoderma applanatum* і *Pleurotus djamor* також продемонстрували високу продуктивність міцелію на пшеничних висівках, що може бути пов'язано з багатим хімічним складом цього відходу, який включає клітковину, білки та мікроелементи, необхідні для росту грибів.

З огляду на отримані результати, пшеничні висівки та дерть можна рекомендувати як перспективні компоненти поживних середовищ для культивування макроміцетів. Їх використання можливе як у монокомпонентних середовищах, так і в складі комбінованих субстратів для твердофазного і глибинного культивування макроміцетів. Це сприятиме зниженню вартості виробництва міцелію та оптимізації процесів біоконверсії органічних відходів, що має важливе значення для біотехнологічних та екологічних програм.

5.3. Ріст макроміцетів на відходах олійно-екстракційного виробництва

Олійно-жирова галузь харчової промисловості України є однією з найбільших, обсяг реалізованої продукції протягом 2020–2022 рр. становив 233,857 млн грн (Андреев, 2024). Основою олійно-екстракційного виробництва є процес екстракції попередньо очищеного та перемеленого насіння олійних культур органічними розчинниками або рідкою вуглецевою кислотою. Іншим способом отримання олій є холодне пресування. Побічним продуктом цих виробництв є шроти, які характеризуються високим вмістом протеїну і низьким

рівнем жиру (до 1 %), та макухи (жмихи) (до 8 % жиру). Крім високого вмісту білків (35–50 %), цінність шротів обумовлена: присутністю деякої кількості неорганічних елементів (6–7 %); наявністю фосфоровмісних речовин та значної кількості вітамінів групи В. Важливим є також здатність шротів до тривалого зберігання без погіршення якості за умови підтримання належних умов зберігання – відповідних: вологості, температури. На виробництвах найбільше залишається соняшникового, льняного, соєвого, рапсового, бавовняного шротів. Зростання споживчого попиту на екзотичні та лікувально-профілактичні олії сприяє розширенню асортименту шротів. Серед них особливе місце займають шроти, отримані з плодів шипшини, насіння амаранту, гарбуза, розторопші, зародків пшениці, вівса, насіння рижю, гірчиці, плодів волоського горіха, кедрового горіха, арахісу та інші. За звичай, ці відходи використовують для виробництва комбікормів тварин та птиці. На наш погляд, шроти можуть бути економічно вигідними, дешевими комплексними поживними середовищами завдяки своїй поживній цінності, а також, як одночасне джерело декількох вуглеводів, так і азоту. Ми вперше використали цю продукцію як моносубстрати для оцінки можливості росту 30 досліджених видів макроміцетів. Усі досліджені види грибів росли з різною інтенсивністю на відходах олійно-екстракційного виробництва (рис. 5.3–5.5).

На шротах з плодів шипшини, насіння гарбуза, льону та розторопші було зафіксовано незначні показники накопичення біомаси грибів, за винятком *Lyophyllum shimeji*, який продемонстрував результати в межах від 1,5 до 15,7 г/л (рис. 5.3). Це свідчить про те, що більшість досліджених грибів не проявляли високої ефективності засвоєння живильних речовин, які містяться в цих субстратах. Проте, ріст певних видів грибів на шротах був кращим за контрольне середовище (ГПД): 14 видів активніше утворювали біомасу на шроті льону, 11 – на шроті гарбуза, 7 – на шроті розторопші і шипшини. Найкращий рівень біоконверсії субстрату, зокрема шроту льону, був встановлений для *L. shimeji* та *Pleurotus ostreatus*, з досягненням показників 30,0 % та 26,2 % відповідно. Це свідчить про високу ефективність цих видів грибів у перетворенні живильних

речовин шроту льону на міцеліальну біомасу. Важливим є також факт встановлення альтернативних субстратів для видів із середньою швидкістю росту, таких як *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa* та *Laetiporus sulphureus*, що відкриває можливості для їх культивування на різних відходах харчового виробництва. У літературі існує лише епізодичні відомості щодо використання макух і шротів для культивування грибів у глибинній культурі. Встановлено позитивний вплив обліпихової макухи на вихід міцелію *Inonotus obliquus* та продукцію екзополісахаридів (Beltrame et al., 2021).

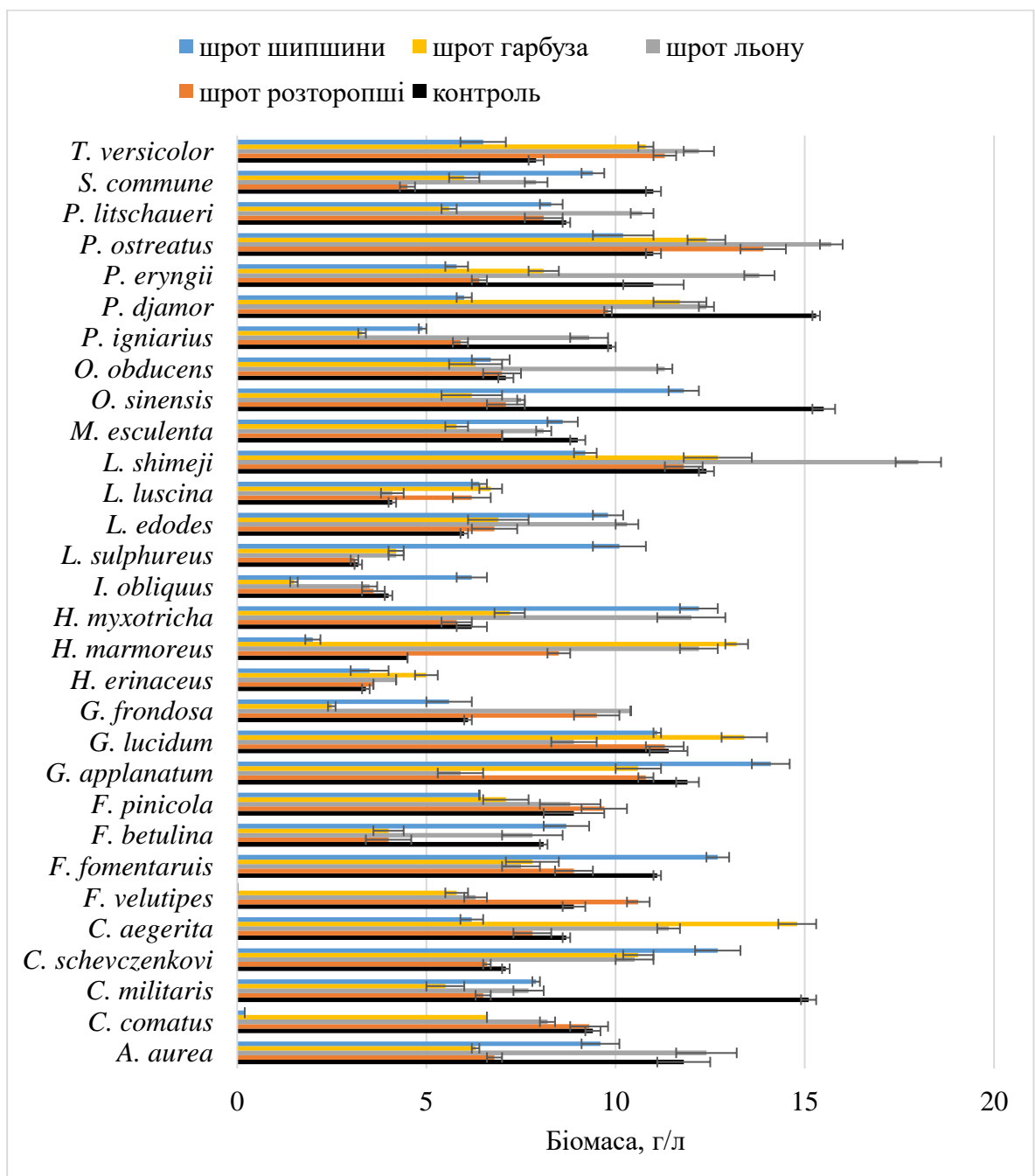


Рис. 5.3. Вплив відходів олійно-екстракційного виробництва на ріст грибів

Вищі показники росту міцелію спостерігалися на макусі рижію, ріпаку, соняшника та особливо шроті сої (рис. 5.4). Це зумовлено хімічним складом зазначених субстратів, які містять значну кількість азотовмісних сполук та олійних речовин. Азотисті речовини, такі як білки та амінокислоти, є важливими джерелами азоту, необхідного для синтезу білків і нуклеїнових кислот, що підтримує активний ріст міцелію.

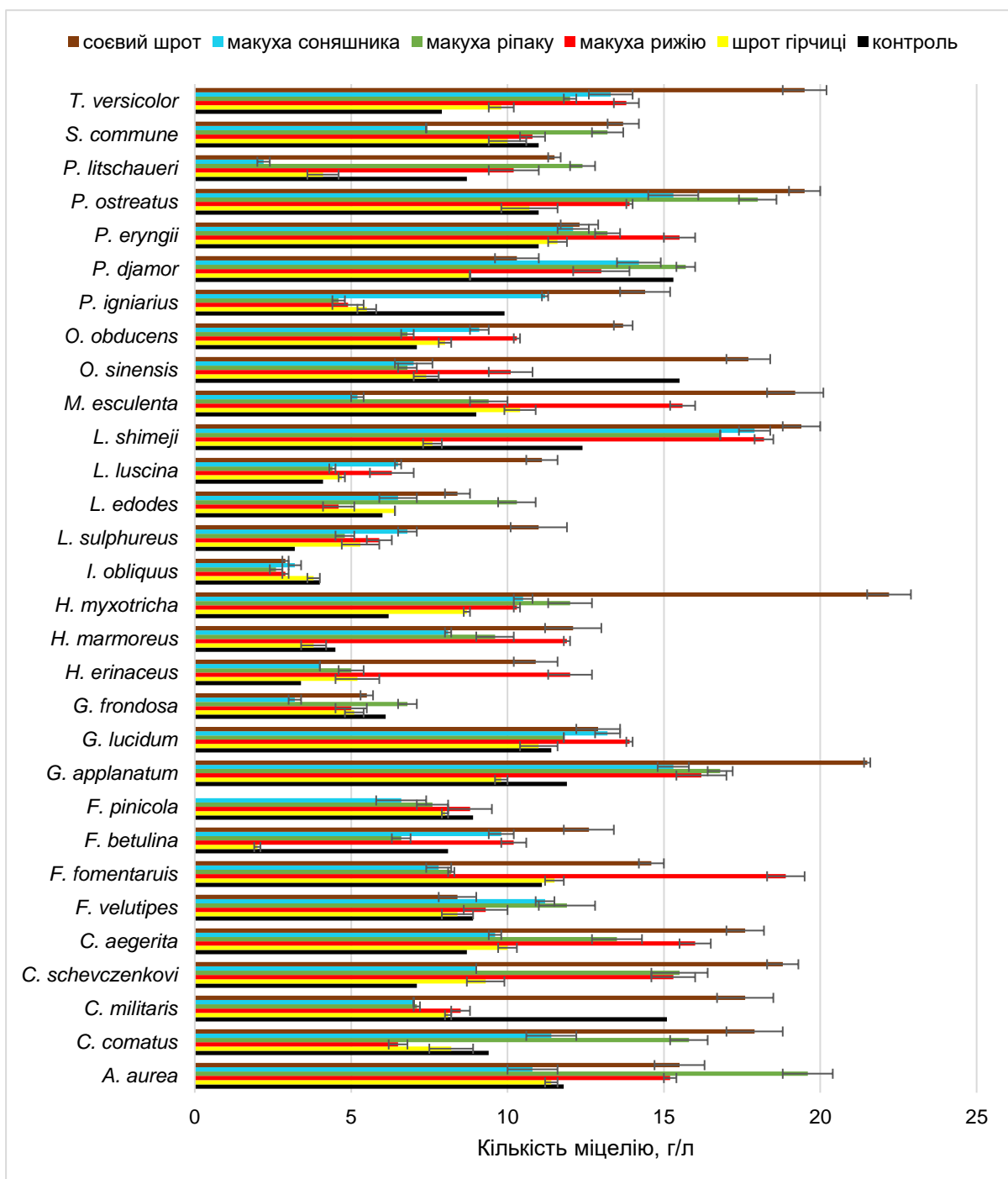


Рис. 5.4. Вплив відходів олійно-екстракційного виробництва на ріст грибів

Олійні компоненти забезпечують додаткову енергію через окиснення жирних кислот і сприяють утворенню клітинних мембран, необхідних для побудови нових клітин грибів. Соєвий шрот, з огляду на його високий вміст білків, незамінних амінокислот та олій, виявився найефективнішим субстратом для розвитку міцелію. Це пояснюється його збалансованим складом, що забезпечує комплексне живлення грибних культур, стимулюючи інтенсивний ріст і накопичення біомаси. Серед обраних субстратів, найкращі показники росту встановлено на соєвому шроті, кількість отриманої біомаси варіювала від 2,8 г/л до 22 г/л. Ефективно засвоювали соєвий шрот *Hohenbuehelia myxotricha* і *Ganoderma applanatum* з рівнем біоконверсії 38,3 та 37,0 %, відповідно. Максимальний показник біоконверсії макухи ріжюю встановлено для *Fomes fomentarius* (31,5 %), дещо менші значення мали *Ganoderma applanatum*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Auriporia aurea*, відповідно 27 %, 23,2 %, 23 %, 25,5 та 25,3 %. Активно засвоювали макуху ріпаку *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. ostreatus*, *G. applanatum*, *Coprinus comatus* та *A. aurea* з найкращим значення конверсії цього субстрату – 32,6 %. Високу здатність утилізувати макуху соняшника встановлено для *Lyophyllum shimeji*, *G. applanatum* та *P. ostreatus*. Ріст майже всіх грибів на шроті гірчиці був або на рівні контрольного середовища, або гірший за нього, за винятком *Hericium erinaceus*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula edodes*, *Oxyporus obducens* та *Trametes versicolor*, які утворювали дещо більше біомаси порівняно з ростом на середовищі ГПД. Це може свідчити про те, що зазначені види грибів мають високу адаптивність до складу шроту гірчиці, що дозволяє їм ефективно використовувати цей субстрат для росту.

Майже всі макроміцети демонстрували здатність утилізувати шрот насіння амаранту, ехінацеї та макуху виноградних кісточок з різним рівнем інтенсивності. Показники росту варіювали від $0,7 \pm 0,0$ г/л до $23,8 \pm 0,6$ г/л (рис. 5.5). Винятком стали наґрунтові види *Coprinus comatus*, *Lepista luscina* та *Morchella esculenta*, які не демонстрували позитивної тенденції накопичення

міцеліальної біомаси на мавиноградних кісточок, ймовірно, через її високий вміст поліфенольних сполук. Подібним чином, *Grifola frondosa* не змогла засвоїти шрот насіння амаранту, що, можливо, пов'язано з наявністю у субстраті біологічно активних речовин, які інгібують розвиток цього гриба.

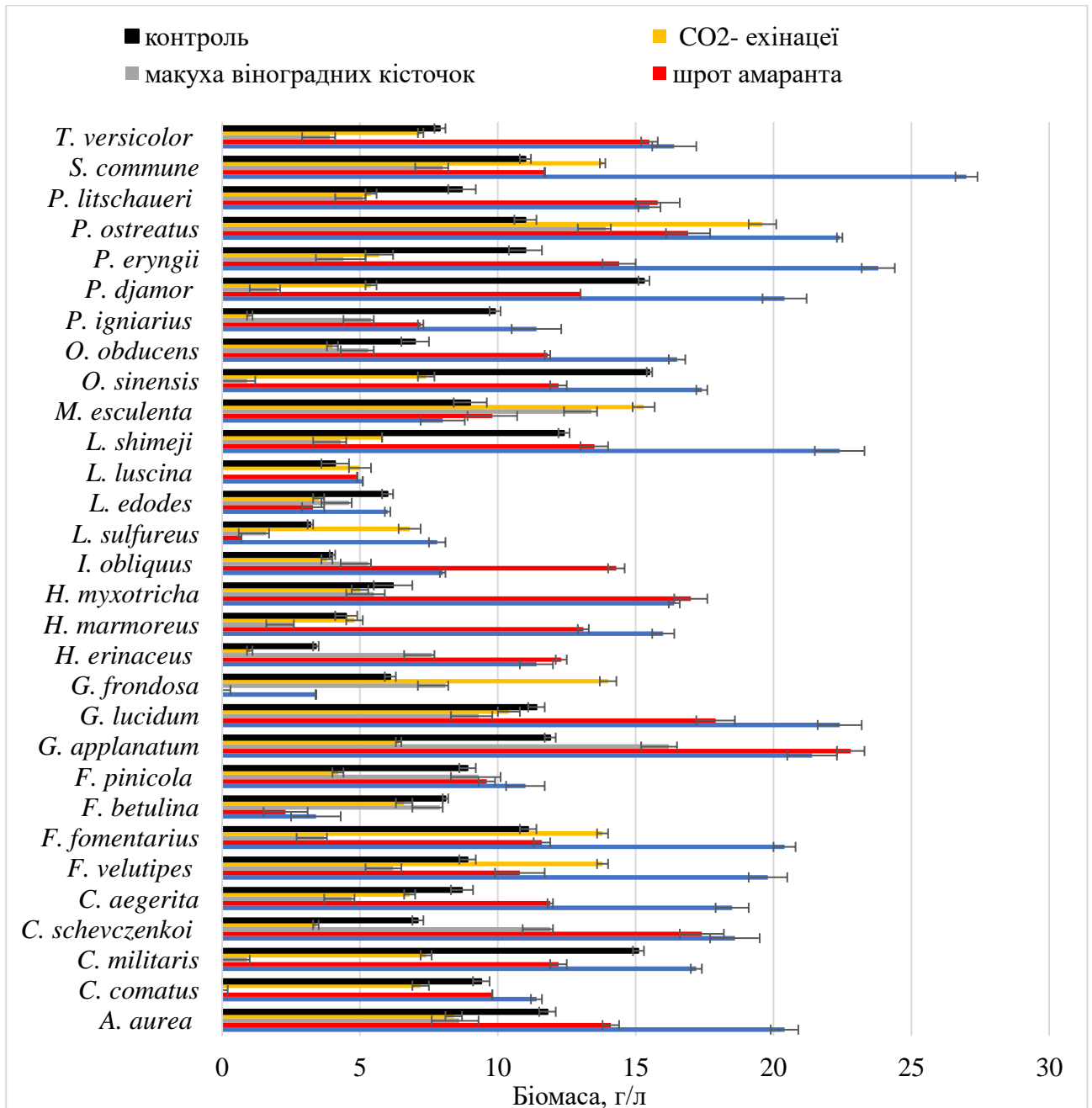


Рис. 5.5. Вплив відходів олійно-екстракційного виробництва на ріст грибів

Встановлено, що *Lepista luscina* продемонструвала найнижчу здатність до утилізації використаних субстратів, таких як шрот насіння амаранту, ехінацеї та

макуха виноградних кісточок. Накопичення міцеліальної маси не перевищувало 5 г/л, що суттєво поступається показникам інших досліджених макроміцетів. Низька продуктивність міцелію *L. luscina* може бути зумовлена кількома факторами. По-перше, хімічний склад зазначених субстратів може містити сполуки, які є важкими для засвоєння цим видом гриба. По-друге, можливий дефіцит специфічних поживних речовин або мікроелементів, необхідних для активного росту міцелію. Також слід враховувати ймовірну чутливість гриба до фенольних сполук та інших інгібіторів, що можуть бути присутніми в рослинних відходах.

Види *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune* та *Lyophyllum shimeji* були здатні синтезувати міцеліальну біомасу понад 20 г/л у середовищі на основі CO₂-шроту амаранту. Ефективність поживного середовища на основі насіння амаранту продемонстровано для твердофазного та глибинного культивування *Pleurotus ostreatus* (Hypercia et al., 2024).

Слід зазначити, що спосіб екстракції амаранту не впливав на синтез міцеліальної біомаси деяких видів грибів: *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Trametes versicolor*. Ці макроміцети утворювали однакову кількість міцеліальної біомаси на обох використаних амарантових шротах. Екстракція надкритичним вуглекислим газом є екологічно чистим методом екстракції з декількома значними перевагами: швидкий процес, який дозволяє отримувати високо очищені екстракти без використання токсичних розчинників, низькотемпературні умови роботи, легке вилучення розчиненої речовини та рециркуляція розчинника шляхом простої маніпуляції з температурою або тиском (Lang & Wai, 2001). Найкращі результати росту було отримано на відходах вуглекислотної екстракції (CO₂-шротах): CO₂-шроті амаранту для *Pleurotus eryngii* (23,8 ± 0,6 г/л) та CO₂-шротах амаранту та ехінацеї для *P. ostreatus* (16,9 ± 0,3 та 19,6 ± 0,5 г/л відповідно). Зазначимо, що амарантовий шрот є багатим джерелом легкозасвоюваних вуглеводів, які служать основним енергетичним

ресурсом для грибів, підтримуючи їх інтенсивний метаболізм. І висока ефективність використання амарантового шроту для отримання міцеліальної біомаси макроміцетів значною мірою пояснюється домінуванням у його складі крохмалю як основного вуглеводного компонента.

Незважаючи на те, що макуха виноградних кісточок та CO₂-шрот ехінацеї не забезпечили максимального росту жодного з досліджуваних видів грибів, для кількох видів було отримано кращі показники росту порівняно з контрольним середовищем. Це свідчить про те, що хоча ці субстрати не є оптимальними для всіх видів грибів, вони можуть бути ефективними для певних культур, забезпечуючи деякі переваги в рості завдяки специфічним поживним компонентам або умовам, які вони створюють. Макуха виноградних кісточок може бути альтернативним компонентом поживного середовища для *Crinipelis schevchenkovi* (11,9 ± 0,1 г/л), *Fomitopsis pinicola* (9,3 ± 0,8 г/л), *Ganoderma applanatum* (16,2 ± 0,3 г/л), *Hericium erinaceus* (7,6 ± 0,1 г/л) та *Inonotus obliquus* (5,3 ± 0,1 г/л), тоді як CO₂-шрот ехінацеї – для *Flamullina velutipes* (13,8 ± 0,2 г/л), *F. fomentarius* (13,8 ± 0,2 г/л), *Hypsizygus marmoreus* (4,8 ± 0,3 г/л), *Laetiporus sulphureus* (6,8 ± 0,3 г/л), *Lepista luscina* (5,0 ± 0,4 г/л), і *Schizophyllum commune* (13,8 ± 0,5 г/л). Крім того, обидва ці основи відходи були сприятливими для отримання міцеліальної біомаси *Grifola frondosa* (8,1 ± 0,1 та 14,0 ± 0,3 г/л), *Morchella esculenta* (13,4 ± 0,2 та 15,3 ± 0,4 г/л) та *Pleurotus ostreatus* (13,9 ± 0,2 та 19,6 ± 0,5 г/л).

З'ясована також можливість використання в якості субстратів шротів насіння зародків пшениці та вівса (рис. 5.6). Знежирені зародки пшениці – побічний продукт процесу виробництва відповідного масла, має відносно високий вміст білка (близько 35 %) і містить багато інших поживних інгредієнтів, таких як вуглеводи (близько 35 %), пігменти, мінерали і вітаміни. Вівсяний шрот, багатий вуглеводами (34,0 %) і білками (32,0 %). Всі досліджені види здатні були засвоювати такі субстрати, за винятком *Lentinula edodes*, який як відомо, не росте навіть на соломі вівса.

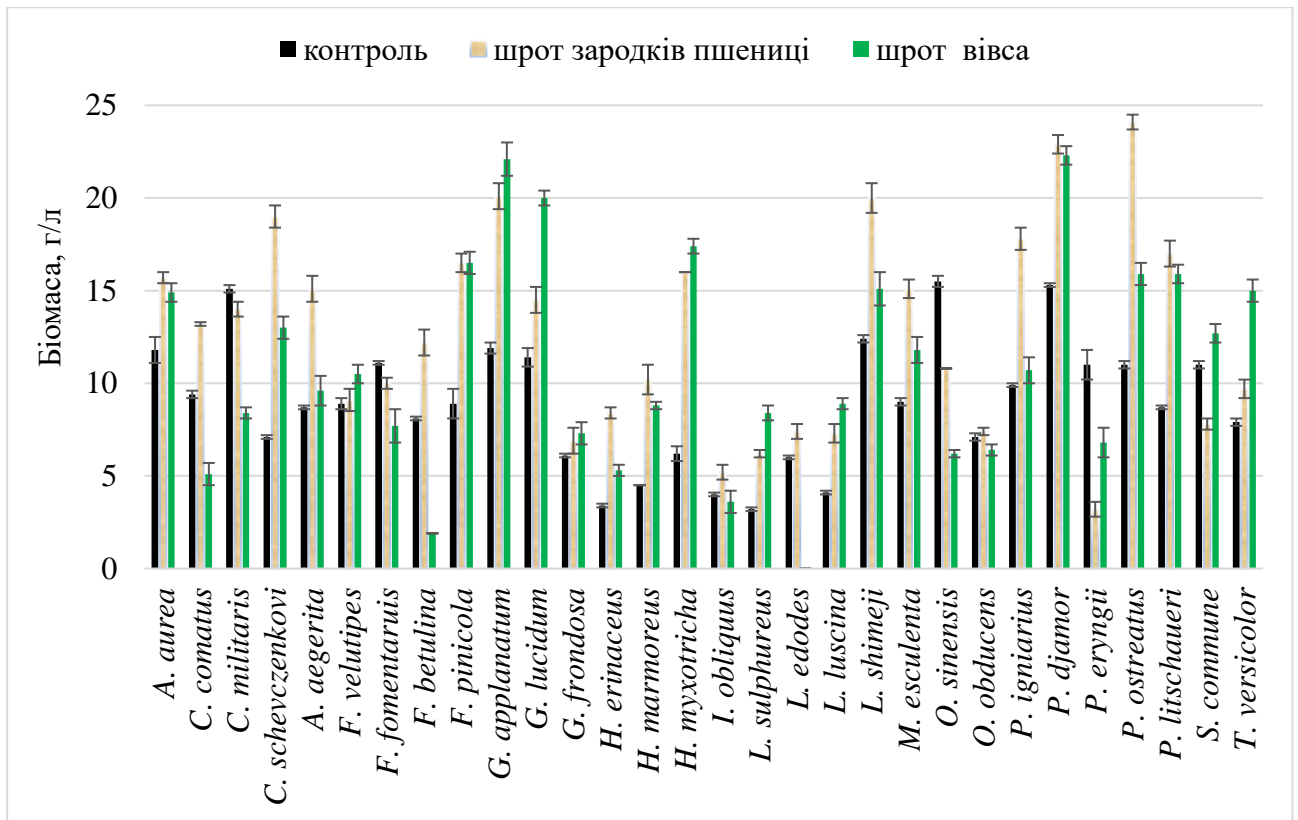


Рис. 5.6. Вплив шроту зародків пшениці та вівса на ріст грибів

Тринадцять видів грибів активно росли на шроті із зародків пшениці та вісім на шроті із насіння вівса. Максимальний рівень біоконверсії шроту пшениці (40 %) встановлено для *Pleurotus ostreatus*. Високий показник росту та біоконверсії цього виду гриба був передбачений нами, адже відомо, що для культивування та отримання посівного міцелію гливи здавна використовують як зерновідходи так і самі зерна пшениці. Для інших видів грибів, нами вперше встановлена можливість використання шротів злакових культур в якості монособстратів. Ефективність конверсії шроту зародків пшениці становила 33,3 % для *Pleurotus djamor* та понад 38 % для *Ganoderma lucidum*. Ефективність конверсії шроту насіння вівса складала 33,3 % для *G. lucidum* та понад 36 % для *G. applanatum* і *P. djamor*.

Загалом, проведено оцінку 20 різних відходів як монокомпонентів у поживних середовищах для вирощування міцелію 30 макроміцетів. Аналіз росту макроміцетів в контрольному середовищі та у відповідних відходах

дозволив встановити альтернативні середовища для росту кожного з досліджених видів грибів (рис. 5.7).

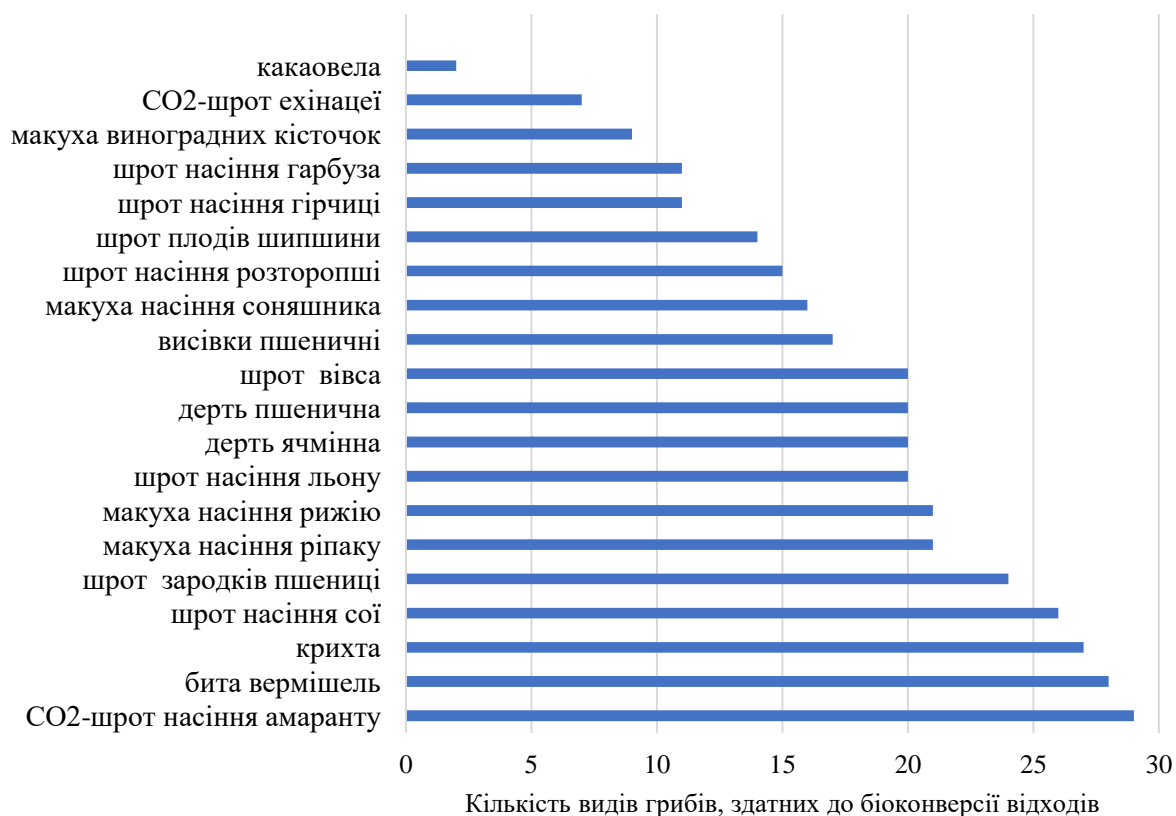
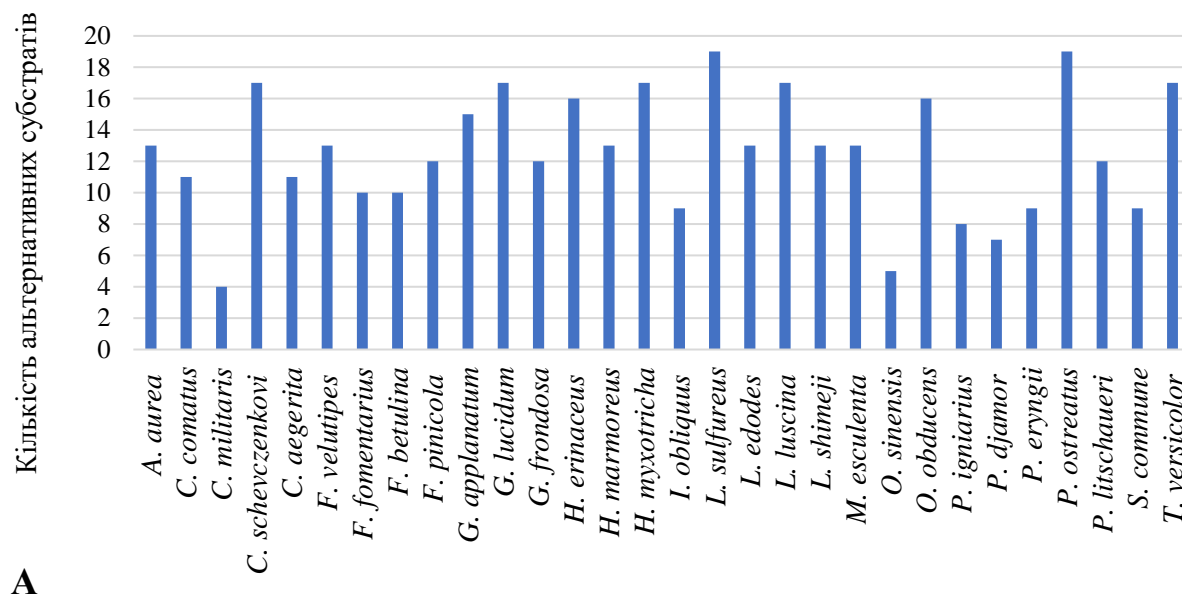


Рис. 5.7. Потенціал макроміцетів до біоконверсії відходів

Проведений аналіз здатності різних видів грибів до біоконверсії використаних відходів продемонстрував значні відмінності у їх ефективності. Вищий рівень здатності до утилізації відходів, продемонстрований *Pleurotus ostreatus* та *Laetiporus sulphureus*, вказує на їх перспективність у біотехнологічних процесах, що стосуються переробки органічних харчових відходів. Ці види демонструють високу адаптивність та швидке зростання на різних субстратах (рис. 5.7 А). До групи грибів з високою здатністю до утилізації широкого спектра органічних відходів (понад 17 типів) належать *Crinipellis schevchenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina* та *Trametes versicolor*. Отримані результати свідчать про перспективність досліджуваних видів грибів для біотехнологічних досліджень та розробки екологічно безпечних методів переробки органічних відходів. Подальша оптимізація умов культивування зазначених грибів може сприяти підвищенню ефективності біопереробки та розширенню їх застосування в промислових та сільськогосподарських системах. Результати досліджень підтверджують ефективність використання макухи та шроту як субстратів для культивування макроміцетів. Це є перспективним напрямом, що дозволяє не лише зменшити обсяги органічних відходів, але й отримати цінну біомасу грибів для харчової, фармацевтичної та біотехнологічної галузей. Зокрема, найкращі результати синтезу біомаси спостерігалися на відходах, багатих на крохмаль, що може обумовлено легким доступом до вуглеводів, необхідних для росту грибів. Отримані результати узгоджуються з нашими попередніми результатами (Krupodorova et al., 2014a), що всі досліджені макроміцети продукують фермент амілазу, яка здатна розщеплювати крохмаль до простіших цукрів, таких як мальтоза, і в кінцевому підсумку – до глюкози для отримання енергії. Водночас найбільшу універсальність продемонстрував СО₂-шрот амаранту, який здатні засвоювати різні види макроміцетів. Це свідчить про перспективність використання цього виду відходу як альтернативного субстрату для біотехнологічних процесів, спрямованих на отримання біомаси грибів.

Загалом, отримані дані свідчать про перспективність використання досліджених відходів як субстратів для культивування макроміцетів. Це дозволить знизити витрати на сировину, забезпечуючи економічно ефективний та екологічно безпечний процес. Застосування такого підходу створює основу для розробки інноваційних біотехнологічних процесів у виробництві харчових, фармацевтичних і косметичних продуктів на основі міцеліальної біомаси макроміцетів.

5.4. Штамоспецифічні особливості біоконверсії відходів харчової промисловості *Pleurotus ostreatus*

В аспекті біотехнології штамоспецифічність культур є критичним фактором, що впливає на ефективність та економічність біотехнологічних процесів. Різні штами одного виду грибів можуть демонструвати значні відмінності у таких характеристиках, як швидкість росту, продуктивність метаболітів, ефективність використання різних субстратів, а також здатність до адаптації до змінних умов середовища. З огляду на це, важливо встановити перспективні штами-продуценти з ефективними метаболічними процесами для забезпечення стабільності біотехнологічних виробництв, що сприятиме економічній вигідності та сталому розвитку індустрії.

Найбільш відомими їстівними видами грибів є види *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P. djamon*, *P. eryngii*). *P. ostreatus*, який добре росте *in vitro*, *in vivo*, має відносно короткий життєвий цикл і вважається модельним видом в таких дослідженнях, як деградація деревини, статевий розвиток, структура клітинної стінки, біоматеріали та генетичні дослідження (Nakazawa et al., 2024). Цей вид займає 2-ге місце за обсягами споживання у світі, особливо в Європі, Африці та країнах Азії (особливо в Індії, Південній Кореї, Китаї, Тайвані, Японії, Таїланді та В'єтнамі). Харчова цінність та біологічно-терапевтичний потенціал узагальнено у оглядах останніх років (Wal et al., 2023; Zhao et al., 2024). Плодові тіла *P. ostreatus*, міцеліальна біомаса, а також культуральна рідина є багатим

джерелом біологічно активних сполук з корисними терапевтичними властивостями: антидіабетичними, антимікробними, протипухлинними, противірусними, гіпохолестеринемічними, імуномодулюючими, пребіотичними, антиоксидантними, гіпотензивними тощо (Quiñónez-Martínez et al., 2022; Gafforov et al., 2023a). Дієта на основі міцелію *P. ostreatus* може підтримувати здоровий мікробіом кишечника і зменшити потребу в антибіотиках (Törös et al., 2023). Крім того, продукти з *P. ostreatus* привертають увагу вчених у всьому світі завдяки своїй природній оригінальності, мінімальним побічним ефектам та корисному впливу на здоров'я людини (Bulam et al., 2022). У останні десятиліття також *P. ostreatus* є одним з найпоширеніших видів для створення біокомпозитних матеріалів на основі грибного міцелію в сучасних екологічно чистих технологіях (Sydor et al., 2022) та для біоконверсії промислових відходів (Barshteyn et al., 2016). Все це свідчить про те, що виробництво міцелію *P. ostreatus* як перспективного нового безпечного, корисного для здоров'я продукту та його використання в різних галузях промисловості набуває все більшого поширення. У зв'язку з цим важливим є збільшення виходу отриманого міцелію та вивчення його корисної біологічної активності. Всебічне, комплексне, дослідження варіацій культуральних, морфологічних, фізіологічних, екологічних та генетичних властивостей штамів *P. ostreatus* сприятиме створенню відповідної бази для високоякісної селекції штамів, їх подальшого успішного впровадження та використання на комерційній основі.

Пошук оптимального поживного середовища для успішного вирощування грибів є одним з перших кроків для забезпечення їх ефективного та рентабельного використання в майбутньому. Швидкість вегетативного росту міцелію штамів *P. ostreatus* становила від $9,0 \pm 0,1$ до $15,0 \pm 0,8$ мм/добу залежно від використовуваного поживного середовища та штаму (рис. 5.8). Середовище КДА виявилось придатним для культивування всіх досліджених штамів, за винятком *P. ostreatus* 2460. Для останнього штаму середовище ГПДА продемонструвало кращі результати порівняно з іншими. Найповільніший ріст міцелію з усіх використаних штамів спостерігали на МЕА. Максимальну

швидкість росту встановлено для штаму *P. ostreatus* 2462 ($15,0 \pm 0,8$ мм/добу на КДА). Заслугує на увагу штам *P. ostreatus* 551 з досить широкою адаптацією до використаних середовищ завдяки здатності рости на чотирьох з п'яти агаризованих середовищ з однаковою швидкістю. Для інших культур також не було виявлено суттєвої різниці між ефективністю росту на різних середовищах: СА і ГПДА, а також ЧА і МЕА для штамів *P. ostreatus* 1685 і 2461; ЧА, СА і КДА для штаму 2460; ЧА і СА у випадку росту штаму 2462. Оскільки середовище ГПДА краще за інші підтримувало ріст для всіх використаних штамів, його було залучено як контрольне середовище на наступних етапах дослідження.

Порівняльний аналіз росту штамів *P. ostreatus* виявив диференційований характер росту культур на досліджених середовищах. Відмінності в рості міцелію штамів *P. ostreatus* можуть бути пов'язані з доступністю для них відповідних поживних речовин, насамперед джерел вуглецю, азоту, а також вітамінів, макро- і мікроелементів.

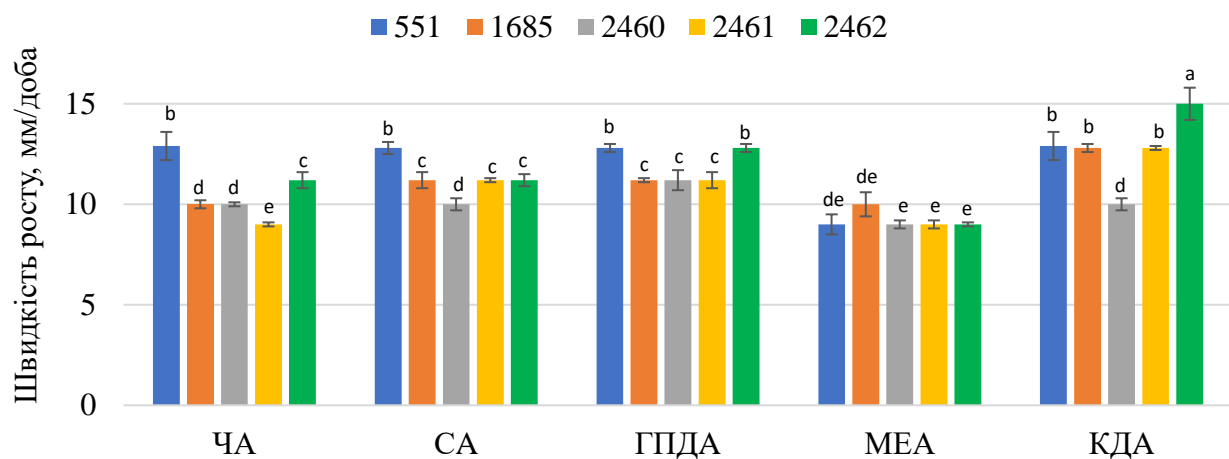


Рис. 5.8. Ріст штамів *Pleurotus ostreatus* на агаризованих середовищах: ЧА – агар Чапека, СА – сусло агар, ГПДА – глюкозо-пептонно-дріжджовий агар, МЕА – мальт-екстракт агар, КДА – картопляно-декстрозний агар

Проведене дослідження дозволило встановити сприятливі альтернативні агаризовані середовища для росту кожного штаму. Досліджені штами за ступенем більшої адаптивної здатності до однакового росту на використаних

поживних середовищах можна представити в наступному порядку: 2462 > 2460 > 2461 = 1685 > 551. Загалом, середовище ГПДА краще за інші підтримувало ріст усіх використаних штамів. Цей результат підтвердив попередні дані про здатність глюкози швидко катаболізуватися грибами для легкого виробництва клітинної енергії (Garraway & Evans, 1984). Однак найвища швидкість росту більшості штамів спостерігалася на середовищі КДА. Раніше було встановлено, що це середовище також найкраще підходить для росту міцелію інших штамів *P. ostreatus*, які вивчалися в різних дослідженнях (Hussain & Hussain, 2004; Hoa & Wang, 2015; Pant et al., 2020). На відміну від наших спостережень, найкращий ріст міцелію *P. ostreatus* спостерігали на MEA (Abdel Aziz et al., 2018; Phadke et al., 2020).

Можливість і ефективність використання природних відходів (як монооснови або як компонента рідкого живильного середовища) для підвищення врожайності міцелію *P. ostreatus* показано в окремих дослідженнях (Chechan et al., 2017; Vakratsas et al., 2023). Відомо, що для росту грибів необхідні вуглець, азот та неорганічні сполуки, і субстрати на основі природних відходів забезпечують культурам грибів доступ до поживних речовин, таких як протеїн, клітковина, азот, вітаміни та мінерали, проте, біодоступність цих речовин залежить від фізіолого-біологічних особливостей культур та їх здатності виділяти специфічні ферменти, що мають штам-специфічну залежність.

Для дослідження стимуляції виходу біомаси було обрано використання натуральних попередньо досліджених шротів, оскільки ці субстрати здатні забезпечити сприятливі умови для росту макроміцетів, а також можуть бути екологічно безпечними та економічно вигідними. Вихід міцелію досліджених культур коливався від $8,7 \pm 0,7$ до $36,5 \pm 0,2$ г/л, залежно від штаму та поживного середовища (рис. 5.9), контролем було ГПД середовище. Виявлено значний вплив 9 рідких середовищ на основі відходів на ріст міцелію всіх штамів *P. ostreatus*. Серед однокомпонентних основ, шрот зародків пшениці найкраще забезпечували ріст усіх досліджуваних штамів *P. ostreatus*. Це можна пояснити високим вмістом цінних речовин, таких як вуглеводи, білки та мікроелементи, у цих субстратах,

які сприяють ефективному розвитку міцелію. Інші моносубстрати не мали значного позитивного впливу на ріст усіх штамів, однак їх використання в поєднанні з іншими субстратами сприяло посиленню ріст стимулюючого ефекту. Це свідчить про важливість комбінування різних природних основ для створення оптимальних умов для розвитку грибів. Зокрема, комбіноване застосування CO₂-шроту амаранту та відходів битої вермішелі дозволило досягти найкращих результатів, значно збільшивши вихід біомаси. Таке поєднання субстратів могло забезпечити синергію поживних компонентів, що сприяє більш ефективному поглинанню необхідних речовин і стимулює біосинтетичні процеси. У комбінації з крихтаю, що підвищує пористість і аерацію середовища, ці субстрати створюють оптимальні умови для росту та розвитку *P. ostreatus*, що підтверджується високими показниками біомаси на комбінованих середовищах.

Максимальну кількість біомаси продукував штам 2462 на більшості використаних середовищ. Штам 2460 також добре засвоював досліджені середовища (рис. 5.9).

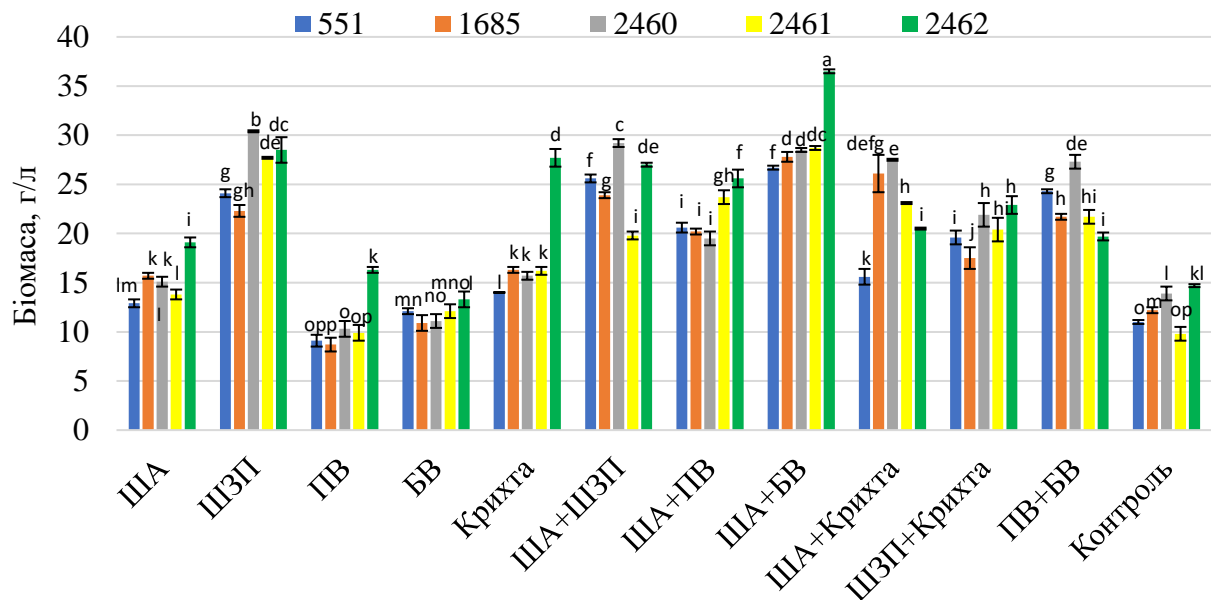


Рис. 5.9. Вплив рідких середовищ на основі відходів на ріст міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus*. Середовища: ША – CO₂-шрот амаранту; ШЗП – шрот зародків пшениці; ПВ – пшеничні висівки; БВ – бита вермішель; Крихта – відходи макаронного виробництва; Контроль – ГПД середовище

Згідно з отриманими результатами, використання поживних середовищ, створених на основі комбінації природних відходів, дозволяє збільшити вихід міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus* у 2,2–2,9 рази порівняно з контрольними умовами. Це свідчить про високу ефективність таких середовищ для стимулювання росту грибів, що, ймовірно, пов'язано з покращенням харчових характеристик субстратів, які забезпечують оптимальні умови для метаболічних процесів. Комбінація різних природних відходів забезпечує більш збалансований набір поживних речовин, що сприяє активнішому розвитку міцелію та підвищенню загального виходу біомаси.

Безумовна наявність фізіолого-біологічних особливостей культур *P. ostreatus* визначає їх здатність до утилізації досліджених шротів та їх комбінацій, що проявляється у штамоспецифічності, залежно від специфічних метаболічних процесів та ферментативної активності кожного штаму. Особливо слід відзначити штам 2462, який, демонструючи максимальний ріст на твердому середовищі КДА, також показав найкращі результати продукції біомаси при вирощуванні на більшості досліджених рідких середовищ. Це вказує на його високу адаптаційну здатність та ефективність у використанні різних типів поживних середовищ, що є важливим аспектом для оптимізації біотехнологічних процесів. Штам 2462 може бути перспективним кандидатом для подальших досліджень і використання в біотехнологічних виробництвах, де потрібна висока продуктивність і стабільність росту.

Досліджені відходи можуть бути ефективною альтернативною основою для виробництва не лише міцеліальної біомаси але й посівного міцелію та маточної культури. Вони також можуть слугувати додатковими компонентами до субстратів для виробництва плодових тіл. Потенційне використання таких відходів як альтернативного середовища для виробництва міцелію заслуговує на подальше дослідження, зокрема в промислових умовах. Наше дослідження також вперше продемонструвало позитивний вплив відходів борошна амаранту в

комбінації з іншими субстратами на збільшення масового виробництва міцелію використаних штамів *P. ostreatus*.

Узагальнюючи результати проведених досліджень цього розділу, можна стверджувати, що харчові відходи та побічні продукти, отримані в процесі екстракції рослинних олій, є перспективними субстратами для культивування міцелію макроміцетів. Отримані експериментальні дані підтверджують значний біотехнологічний потенціал макроміцетів у перетворенні органічних відходів на цінний біоматеріал, зокрема міцелій, багатий на біологічно активні метаболіти. Особливу увагу приділено маловивченим відходам, які до наших досліджень не розглядалися як субстрати, що сприяло розширенню наукових уявлень про альтернативні джерела сировинної бази для культивування макроміцетів.

Таким чином, отримані результати відкривають перспективи для розвитку біотехнологічних методів утилізації харчових відходів з метою створення економічно доцільних та екологічно безпечних виробничих систем. Використання відходів як субстрату для культивування макроміцетів відповідає принципам замкнутого циклу економіки, сприяючи повторному використанню ресурсів, зменшенню обсягів відходів і підвищенню ефективності виробничих процесів. Впровадження концепції інтеграції міцелію грибів у систему переробки харчових відходів та відходів олійно-екстракційного виробництва сприятиме ефективному використанню природних ресурсів.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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>

Krupodorova, T., & Barshteyn, V. (2015). Alternative substrates for higher mushrooms mycelia cultivation. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 4(3), 339–347.

Круподьорова, Т., & Барштейн, В. (2012). Альтернативні субстрати для культивування лікарських та їстівних грибів. *Мікробіологія і біотехнологія*, 1(17), 47–56.

Круподьорова, Т., & Барштейн, В. Патент на корисну модель 63646. Київ: Державне патентне відомство України.

Барштейн В., **Круподьорова Т.**, Бісько Н., Іванова Т., & Трояновський-Зеленчук С. Патент на корисну модель 54524. Київ: Державне патентне відомство України.

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.

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.

Круподерова, Т., Барштейн, В.Ю. (2014). Біоконверсія відходів агропромислового комплексу вищими грибами та шляхи використання її продуктів. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу. *Ukrainian Biochemical Journal*. 86(5), (Suplement 2), 198-199.

Круподьорова, Т., Барштейн, В. (2010). *Утилізація відходів харчової промисловості макроміцетами*, Міжнар. Науково-практична конф. «Новітні досягнення біотехнології». Київ: «Мегапринт».

РОЗДІЛ 6

СО₂-ШРОТ АМАРАНТУ ЯК ПЕРСПЕКТИВНА ОСНОВА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МАКРОМІЦЕТІВ

Останніми роками спостерігається зростаючий інтерес до вирощування амаранту та використання продуктів його переробки (Ланиця, 2020; Овсієнко, 2022). Амарант (*Amaranthus* spp.) є унікальною рослиною, яка вирізняється невибагливістю до умов вирощування та високою біологічною цінністю (Гопцій та ін., 2022). Насіння амаранту містить значну кількість білків, сквалену, поліненасичених жирних кислот, вітамінів та мінералів, що робить його важливою сировиною для виробництва функціональних продуктів харчування, фармацевтичних і косметичних засобів (Lopez-Martinez & Ahmad, 2024).

Після видобутку амарантової олії залишається макуха або шрот, який має унікальний хімічний склад і все частіше використовується в харчовій промисловості, зокрема для виробництва дієтичних добавок. Зростання попиту на амарантову олію на глобальному рівні зумовлене її цінними властивостями, а також розширенням асортименту продуктів (Sayed-Ahmad et al., 2022), що містять цей інгредієнт.

Збільшення обсягів виробництва амарантової олії призводить до накопичення значних кількостей макухи та шроту, що відкриває нові можливості для їхньої подальшої переробки та використання. Це стимулює наукові дослідження, спрямовані на вивчення макухи та шроту амаранту як джерела цінних поживних і біоактивних компонентів. Одночасно сучасні біотехнологічні розробки активно зосереджені на пошуку ефективних субстратів для культивування макроміцетів з метою отримання біомаси з біологічно активними сполуками. У цьому контексті дослідження хімічного складу шроту амаранту після вуглекислотної екстракції як основи субстрату та вивчення біологічної активності міцелію, культивованого на ньому, мають важливе наукове й практичне значення.

6.1. Склад CO₂-шроту амаранту

Враховуючи високі показники накопичення біомаси макроміцетами на CO₂-шроті амаранту (*Amaranthus hybridus*, сорт «Ультра») досліджено його якісний та кількісний склад у порівнянні з відходами макаронного виробництва (крихтаю, битою вермішелью), які також забезпечували високі показники росту макроміцетів (табл. 6.1–6.3).

Таблиця 6.1

Загальний хімічний склад основ субстратів

Показник %	CO ₂ -шрот амаранту	Крихта	Бита вермішель
Білок, %	17,0 ± 0,2	12,0 ± 0,1	14,0 ± 0,3
Ліпіди, %	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,2
Вуглеводи (крохмаль), %	57,0 ± 0,4	79,0 ± 1,6	75,0 ± 1,7
Цукри, %	2,1 ± 0,2	1,8 ± 0,4	2,5 ± 0,6
Клітковина, %	1,0 ± 0,1	0,1 ± 0,2	3,7 ± 0,4
Вологість, %	12,0 ± 0,2	15,0 ± 0,3	16,0 ± 0,1
Зола, %	3,0 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2
Вітамін В ₁ , мг/г	0,48 ± 0,1	0,14 ± 0,1	0,17 ± 0,2
Вітамін В ₂ , мг/г	-	-	0,04 ± 0,1
Вітамін В ₄ , мг/г	-	сліди	52,4 ± 0,4
Вітамін В ₅ , мг/г	-	-	0,3 ± 0,1
Вітамін В ₆ , мг/г	-	-	0,15 ± 0,0
Вітамін В ₉ , мг/г	-	-	19,0 ± 0,2
Вітамін В ₁₂ , мг/г	0,12 ± 0,0	-	-
Вітамін С, мг/%	46,8 ± 0,4	-	-
Вітамін А, мг/г	сліди	-	-
α- токоферол, мг/г	-	-	1,5 ± 0,7
Сквален, %	сліди	-	-

Насамперед привертає увагу очевидна біологічна цінність CO₂-шроту амаранту, який має кращий загальний хімічний склад (табл. 6.1). Виявлено наявність як макро- так і мікроелементів, загалом 15 хімічних елементів (табл. 6.2). Серед досліджених субстратів, крихта мала найбільшій загальний та хімічний склад, проте містила більший відсоток крохмалю та середні значення

незамінних амінокислот. Бита вермішель за загальних та хімічним складом, займає проміжне положення серед досліджених субстратів.

Таблиця 6.2

Вміст хімічних елементів в субстратах, мг/кг

Хімічний елемент	CO ₂ -шрот амаранту	Крихта	Бита вермішель
Cd	-	-	-
Pb	-	-	-
As	-	-	-
Be	-	-	-
Ni	-	1,2 ± 0,1	-
Co	10,1 ± 0,2	-	-
Cr	2,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	-
Mo	2,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	-
Cu	20,02 ± 0,3	4,0 ± 0,3	-
Zn	30,0 ± 0,1	-	0,5 ± 0,1
Ti	600,6 ± 50,5	2,1 ± 0,0	-
V	2,4 ± 0,0	1,1 ± 0,2	-
Bi	1,0 ± 0,1	-	-
Ce	200,9 ± 0,3	-	-
La	100,7 ± 0,2	-	-
Ba	100,5 ± 0,4	-	-
Zr	60,2 ± 0,3	-	-
K	10,0 ± 0,9	80,0 ± 0,8	120 ± 0,5
Ca	5,0 ± 0,7	5,0 ± 0,3	17,5 ± 0,2
Mg	-	-	0,42 ± 0,4
P	10000,9 ± 170,5	-	77,0 ± 0,9
Na	-	-	2,0 ± 0,1
S	-	-	68,7 ± 0,8
Fe	-	-	1,5 ± 0,3
I	-	-	1,0 ± 0,2

Відзначимо наявність слідів сквалену в шроті амаранту. Сквален відіграє роль попередника в біосинтезі стеролів, які є структурними компонентами клітинних мембран грибів і забезпечують їх структурну цілісність (Lou-Bonafonte et al., 2018).

Ключовим критерієм для біотехнологічного використання шроту амаранту є високий вміст білків, включаючи незамінні амінокислоти (табл. 6.3). Білкові

сполуки забезпечують основні потреби грибів у азоті, необхідному для синтезу ферментів і структурних компонентів клітинних стінок.

Таблиця 6.3

Амінокислотний склад субстратів, % від загальної кількості

Амінокислота	СО ₂ -шрот амаранту	Крихта	Бита вермішель
Лізин	5,9 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,2 ^b	1,9 ± 0,3 ^b
Гістидин	2,5 ± 0,0 ^a	2,1 ± 0,1 ^b	2,4 ± 0,4 ^{ab}
Аргінін	8,7 ± 0,0 ^a	3,1 ± 0,0 ^b	1,8 ± 0,2 ^c
Аспарагінова кислота	9,5 ± 0,2 ^a	4,9 ± 0,1 ^b	3,8 ± 0,6 ^c
Треонін	4,0 ± 0,4 ^a	2,7 ± 0,2 ^b	2,4 ± 0,5 ^b
Серін	7,9 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,0 ^b	3,5 ± 0,6 ^c
Глутамінова кислота	22,4 ± 0,0 ^c	36,1 ± 0,5 ^b	44,8 ± 0,7 ^a
Пролін	3,5 ± 0,3 ^c	15,3 ± 0,4 ^b	16,8 ± 0,2 ^a
Гліцин	9,6 ± 0,1 ^a	3,5 ± 0,1 ^b	3,3 ± 0,3 ^b
Аланін	4,5 ± 0,0 ^a	3,2 ± 0,1 ^b	2,7 ± 0,5 ^b
Цистін	2,0 ± 0,0 ^a	1,5 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,4 ^{ab}
Валін	2,3 ± 0,1 ^c	3,7 ± 0,2 ^a	3,2 ± 0,1 ^b
Ізолейцин	2,1 ± 0,2 ^b	3,2 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,3 ^b
Лейцин	5,7 ± 0,0 ^b	6,6 ± 0,1 ^a	5,4 ± 0,4 ^b
Тирозин	3,7 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,0 ^c	1,9 ± 0,1 ^b
Фенілаланін	4,3 ± 0,0 ^c	4,6 ± 0,1 ^{ab}	4,8 ± 0,2 ^a
Метіонін	1,4 ± 0,7 ^a	1,4 ± 0,0 ^a	1,6 ± 0,1 ^a
Σ ₁ незамінних амінокислот	31,0	22,7	19,4
Σ ₂ замінних амінокислот	69,0	77,3	80,6
Σ ₁ /Σ ₂	0,44	0,29	0,24

Примітка: різними літерами позначено статистично значущі відмінності в межах ряду ($p \leq 0,05$)

Завдяки особливостям технологічного процесу вуглекислотної екстракції насіння амаранту, отриманий побічний продукт СО₂-шрот зберігає майже весь комплекс водорозчинних вітамінів, мікроелементів і, що найважливіше, білків. Вміст цінних компонентів визначає його високий біологічний потенціал як субстрату для культивування грибів різних екологічних груп. Хімічний склад СО₂-шроту амаранту включає широкий спектр біологічно активних сполук, таких як незамінні амінокислоти, ліпіди, та мікроелементи, що створюють

сприятливі умови для розвитку грибного міцелію. Його здатність підтримувати ріст грибів обумовлена вмістом поживних речовин, які можуть бути використані як джерела енергії та структурних компонентів клітин.

Таким чином, шрот амаранту після вуглекислотної екстракції можна вважати новим альтернативний монокомпонентом або додатковою складовою поживного середовища для культивування макроміцетів, з подальшим їх використанням у харчової, фармацевтичної та косметичної продукції. У цьому контексті дослідження біологічної активності міцелію, культивованого на шроті амаранту, має важливе наукове та практичне значення.

6.2 Аналіз хімічного складу відібраних видів їстівних та лікарських грибів, культивованих на CO₂-шроті амаранту

Один із ключових напрямів сучасних досліджень у галузі харчових технологій пов'язаний із пошуком додаткових джерел біологічно активних речовин, здатних підвищити харчову цінність і функціональні властивості продуктів. Виробництво грибних білків привернуло значну увагу наукової спільноти та промисловості завдяки своєму потенціалу для вирішення глобальних проблем продовольчої безпеки, сталого розвитку та охорони довкілля (Li et al., 2023). У цьому контексті макроміцети привертають особливу увагу як перспективні об'єкти для отримання харчового протеїну, есенціальних амінокислот, ненасичених жирних кислот, полісахаридів, вітамінів, а також мікро- та макроелементів. Для подальших досліджень були відібрані гриби *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune*, які відомі своїми лікувальними властивостями, часто входять до складу дієтичних добавок та активно росли на CO₂-шроті амаранту. Вивчення макроміцетів як джерела альтернативних білкових продуктів є актуальним у контексті зростаючого попиту на екологічно чисті та стійкі харчові ресурси (Martínez-Burgosa et al., 2024).

Протеїн є одним із найважливіших компонентів харчової цінності продуктів, визначаючи їхню поживну цінність та функціональні властивості. Оцінка вмісту білка у більшості харчових продуктів базується на визначенні вмісту загального нітрогену, який перераховують на загальний чи сирий протеїн із використанням коефіцієнтів 6,25 або 4,38. Однак, у випадку макроміцетів стандартний коефіцієнт 6,25 може бути завищеним через наявність значної кількості небілкових азотовмісних сполук, зокрема хітину та сечовини, що можуть становити до 50 % від загального азоту. Зважаючи на це, а також на середній рівень перетравлюваності білка макроміцетів на рівні 70 %, доцільним є використання коригованого коефіцієнта 4,38. Застосування цього підходу дозволило отримати більш точні дані щодо вмісту сирого протеїну у досліджених зразках грибною біомаси. Максимальні значення сирого протеїну було зафіксовано у міцеліальній біомасі *Pleurotus ostreatus*, однак високі показники також відзначено для *Schizophyllum commune* (табл. 6.4). Ці результати показали вищу концентрацію білка в досліджуваних зразках порівняно з іншими дослідженнями (Mizuno, 1999; Cheung, 2008; Liang et al., 2009). *Ophiocordyceps sinensis* демонстрував незначну різницю у вмісті сирого протеїну між міцеліальною біомасою та ліофілізованою культуральною рідиною.

Таблиця 6.4

Сирий протеїн у міцеліальній біомасі грибів та їх культуральній рідині, % на абсолютно суху речовину

Зразок	Вид гриба		
	<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Schizophyllum commune</i>
Міцелій	28,9 ± 0,1 ^c	48,4 ± 0,3 ^a	45,4 ± 0,5 ^b
Культуральна рідина	24,5 ± 0,2 ^b	25,7 ± 0,2 ^b	29,1 ± 0,1 ^a

Примітка: різними літерами позначено статистично значущі відмінності в межах ряду ($p \leq 0,05$).

Вміст протеїну в міцелії *S. commune* був удвічі більшим порівняно з культивуванням на хлібній крихті (Ivanova et al., 2015) і на середовищі з відпрацьованим зерновим екстрактом після пивоваріння (Pilafidis et al., 2024).

Протеїновий склад дослідженого штаму *P. ostreatus* перевищував вміст у міцелії *P. ostreatus* LGAM 1123, вирощеного за різних концентрацій ксилози (Bakratsas et al., 2023), а також у міцелії *P. ostreatus* 152, культивованому як у синтетичному середовищі, так і в природному середовищі з додаванням екстракту торфу (Manu-Taqaiah & Martin, 1987). Отримані результати також перевищують показники, зафіксовані після лазерного опромінення міцелію шести штамів *P. ostreatus* (Reshetnyk, 2020), при вирощуванні різних штамів *P. ostreatus* на сироватці (Wu & Hansen, 2009), у випадку використання зернового екстракту після пивоваріння (Pilafidis et al., 2024) і оптимізованого поживного середовища на основі насіння амаранту (Martínez-Burgosa et al., 2024). Водночас культивування *P. ostreatus* LGAM у напівсинтетичному середовищі поступається нашим результатам, проте встановлення оптимальних умов культивування дозволило отримати протеїн на рівні наших значень (Bakratsas et al., 2023).

Амінокислотний склад міцелію та культуральної рідини грибів було досліджено з метою оцінки білкового потенціалу досліджених видів. Отримані результати свідчать про те, що міцелій грибів мав аналогічний набір амінокислот, як і культуральна рідина (табл. 6.5). Білки досліджених макроміцетів характеризуються збалансованим амінокислотним складом, до якого входять важливі незамінні амінокислоти, зокрема лізин, лейцин, валін, ізолейцин, треонін, метіонін і фенілаланін.

Дослідження амінокислотного складу білків досліджених видів виявило наявність 17 амінокислот, серед яких домінували аспарагінова (6,3–14,2 %) та глутамінова (15,4–19,1 %) кислоти. В інших дослідженнях кількість виявлених амінокислот у міцелії *P. ostreatus* також становила 17 (Manu-Taqaiah & Martin, 1987), *S. commune* – 17 (Ivanova et al., 2015), *O. sinensis* (Bakratsas et al., 2023).

Аналіз амінокислотного складу міцелію та культуральної рідини макроміцетів показав значні видоспецифічні відмінності у якісному складі окремих амінокислот (табл. 6.5). У складі білків усіх досліджених видів було виявлено сім незамінних амінокислот. За нашими даними, міцелій і культуральна рідина *O. sinensis* містять максимальну кількість лізину (8,4 % та 6,3 %, відповідно).

відповідно). Лізин є незамінною амінокислотою, необхідною для росту та розвитку кісткової тканини у дітей, сприяє засвоєнню кальцію, підтримці азотного балансу в організмі та підтримці оптимальної маси тіла. Він також відіграє важливу роль у синтезі антитіл, гормонів і ферментів, а також необхідний для продукування колагену і відновлення тканин (Cynober, 2004).

Таблиця 6.5

Амінокислотний склад грибів, вирощених на CO₂-шроті, % від загальної кількості

Амінокислота	Вид гриба					
	<i>O. sinensis</i>		<i>P. ostreatus</i>		<i>S. commune</i>	
	М	КР	М	КР	М	КР
Лізин	8,4 ± 0,0 ^a	6,3 ± 0,0 ^b	5,2 ± 0,2 ^c	4,5 ± 0,0 ^d	4,2 ± 0,0 ^d	3,7 ± 0,0 ^e
Гістидин	3,0 ± 0,0 ^c	2,3 ± 0,1 ^d	5,0 ± 0,0 ^b	2,3 ± 0,1 ^d	5,8 ± 0,1 ^a	4,5 ± 0,0 ^b
Аргінін	5,1 ± 0,1 ^c	4,5 ± 0,0 ^d	5,9 ± 0,2 ^b	6,8 ± 0,1 ^a	5,3 ± 0,2 ^c	3,2 ± 0,2 ^e
Аспарагінова кислота	6,3 ± 0,0 ^d	9,1 ± 0,5 ^c	14,2 ± 0,3 ^a	10,2 ± 0,2 ^b	12,2 ± 0,1 ^a	10,8 ± 0,2 ^b
Треонін	7,2 ± 0,1 ^a	7,8 ± 0,2 ^a	5,7 ± 0,3 ^b	5,0 ± 0,0 ^c	6,3 ± 0,2 ^b	4,7 ± 0,0 ^c
Серин	6,7 ± 0,0 ^c	9,1 ± 0,1 ^c	8,2 ± 0,2 ^c	8,7 ± 0,0 ^c	8,5 ± 0,0 ^c	13,4 ± 0,0 ^a
Глутамінова кислота	17,5 ± 0,0 ^c	16,3 ± 0,2 ^c	15,4 ± 0,0 ^d	19,1 ± 0,4 ^a	16,5 ± 0,1 ^b	17,4 ± 0,1 ^b
Пролін	7,0 ± 0,0 ^a	4,0 ± 0,0 ^c	2,6 ± 0,1 ^e	4,1 ± 0,1 ^c	1,8 ± 0,0 ^f	3,5 ± 0,2 ^d
Гліцин	6,6 ± 0,0 ^c	9,3 ± 0,1 ^b	8,2 ± 0,0 ^c	10,1 ± 0,1 ^b	8,5 ± 0,4 ^c	13,6 ± 0,0 ^a
Аланін	8,7 ± 0,0 ^a	7,1 ± 0,2 ^b	6,4 ± 0,0 ^c	5,2 ± 0,1 ^d	7,7 ± 0,0 ^a	5,2 ± 0,0 ^d
Цистин	1,5 ± 0,0 ^{ab}	1,5 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,2 ^b	1,8 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^b	0,9 ± 0,0 ^c
Валін	3,3 ± 0,0 ^a	3,4 ± 0,1 ^a	3,6 ± 0,0 ^a	2,9 ± 0,0 ^b	2,8 ± 0,0 ^b	2,7 ± 0,0 ^b
Ізолейцин	3,6 ± 0,0 ^a	3,9 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,1 ^c	2,7 ± 0,1 ^b	2,9 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,0 ^c
Лейцин	6,5 ± 0,0 ^b	6,5 ± 0,1 ^b	6,5 ± 0,4 ^{ab}	6,7 ± 0,0 ^a	6,6 ± 0,2 ^{ab}	5,3 ± 0,0 ^c
Тирозин	3,2 ± 0,0 ^d	4,1 ± 0,0 ^a	3,5 ± 0,4 ^b	3,5 ± 0,2 ^b	3,4 ± 0,0 ^c	3,8 ± 0,1 ^b
Фенілаланін	3,9 ± 0,0 ^b	3,6 ± 0,1 ^c	3,5 ± 0,1 ^c	4,6 ± 0,0 ^a	3,9 ± 0,0 ^b	2,9 ± 0,0 ^d
Метіонін	1,5 ± 0,0 ^c	1,2 ± 0,0 ^d	2,4 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,0 ^b	2,3 ± 0,1 ^a	2,3 ± 0,0 ^a
∑ ₁ незамінних амінокислот	32,0	32,3	29,5	32,2	29,7	30,8
∑ ₂ замінних амінокислот	68,0	67,7	70,5	67,8	70,3	69,2
∑ ₁ /∑ ₂	0,47	0,48	0,42	0,47	0,42	0,44

Примітка: М- міцелій, КР- культуральна рідина; різними літерами позначено статистично значущі відмінності в межах ряду ($p \leq 0,05$)

O. sinensis також характеризується найвищим вмістом треоніну та ізолейцину порівняно з міцелієм і культуральною рідиною *P. ostreatus* та

S. commune. Треонін є незамінною амінокислотою, яка відіграє ключову роль у підтриманні білкового балансу в організмі. Він сприяє синтезу колагену та еластину, важливих для здоров'я шкіри, а також у поєднанні з аспарагіною кислотою та метіоніном запобігає розвитку жирової дистрофії печінки (Cunober, 2004).

Вміст валіну був найвищим (3,6 %) у міцелії *P. ostreatus*. Підвищений рівень цієї незамінної амінокислоти також виявлено в міцелії та культуральній рідині *O. sinensis* (табл. 6.5). Валін відіграє важливу роль у метаболізмі м'язів, сприяє відновленню та росту тканин, підтримує азотний баланс в організмі, а також допомагає регулювати рівень цукру та забезпечувати енергетичний обмін. Також може допомогти у запобіганні розпаду м'язових білків, що може статися після важкої стресової травми (Cunober, 2004).

Слід зазначити, що всі досліджені види характеризуються високим вмістом незамінної амінокислоти лейцину (табл. 6.5). Лейцин відіграє важливу роль у регуляції рівня цукру та енергетичного балансу в крові, стимулює вироблення гормону росту, сприяє загоєнню ран, а також забезпечує ріст і відновлення м'язової тканини (Cunober, 2004).

Найвищий вміст незамінної амінокислоти фенілаланіну (4,6 %) було виявлено в культуральній рідині *P. ostreatus* (табл. 6.5). Міцелій *O. sinensis* і *S. commune* мав однаковий рівень фенілаланіну. Ця амінокислота відіграє важливу роль у функціонуванні нервової системи та сприяє покращенню настрою. В організмі фенілаланін перетворюється на тирозин, який є попередником для синтезу двох ключових нейромедіаторів – дофаміну та норадреналіну, що підвищують рівень пильності та когнітивні функції (Cunober, 2004).

Вміст метіоніну був незначним у міцелії і культуральній рідині *O. sinensis*, тоді як у міцелії та культуральній рідині *S. commune* та *P. ostreatus* його рівень був значно вищим (табл. 6.2). Метіонін – це сірковмісна незамінна амінокислота, яка відіграє важливу роль у розщепленні жирів, запобігаючи їх накопиченню в стінках артерій. Вона сприяє підтриманню здоров'я травної системи та

виведенню важких металів з організму. Метіонін також є ключовим елементом процесу метилювання, у якому метильні групи додаються до різних сполук для сприяння детоксикації. Завдяки вмісту сірки, ця амінокислота виступає потужним антиоксидантом, нейтралізуючи вільні радикали та знижуючи оксидативний стрес (Cynober, 2004).

Серед замінних амінокислот у культуральних рідинах, як і в міцелії грибів, виявлено домінування глютамінової кислоти (табл. 6.5), максимальна концентрація якої спостерігається в культуральній рідині *P. ostreatus*. Глутамін не лише служить попередником для синтезу білків, а й є важливим проміжним продуктом у багатьох метаболічних шляхах (Andlauer, 2002). Дослідження на тваринах і клінічні випробування свідчать про позитивний вплив глютаміну на підвищення імунної функції (Cynober, 2004).

Міцелій *P. ostreatus* та *S. commune* містив удвічі більше аспарагінової кислоти порівняно з міцелієм *O. sinensis* (табл. 6.5). Аспарагінова кислота відіграє ключову роль у циклі лимонної кислоти (циклі Кребса), що є основним метаболічним шляхом для вироблення клітинної енергії. Завдяки цьому вона здобула репутацію засобу для підтримки енергетичного обміну та лікування хронічної втоми. Крім того, аспарагінова кислота сприяє виведенню з клітин надлишку токсичних речовин, зокрема аміаку, який негативно впливає на мозок, нервову систему та печінку (Cynober, 2004).

Максимальну концентрацію проліну мав міцелій *O. sinensis* (табл. 6.5). Пролін необхідний для синтезу колагену та формування хрящової тканини. Він сприяє підтриманню гнучкості м'язів і суглобів, а також зменшує в'ялість і зморшки, які виникають внаслідок ультрафіолетового опромінення та природного старіння шкіри (Cynober, 2004).

Останнім часом значна увага приділяється замінній амінокислоті аргініну через її потенційні імуностимулюючі властивості. У низці клінічних досліджень було показано, що додавання аргініну асоціюється з посиленням клітинної імунної відповіді, підвищенням активності фагоцитозу та підтриманням функції Т-клітин (Cynober, 2004). Хоча рівень аргініну в міцелії досліджених грибів

залишався стабільним, його концентрація в культуральній рідині варіювала. Максимальний вміст аргініну зафіксовано в культуральній рідині *P. ostreatus* (табл. 6.5).

Вміст цистину був незначним для всіх досліджених видів грибів (табл. 6.5). Ця кислота є найважливішою сірковмісною сполукою, оскільки вона є єдиною метаболічною точкою входу відновленої сірки в клітинний метаболізм у більшості організмів і необхідна для біосинтезу сірковмісних сполук, таких як L-метіонін, тіамін, біотин, коензим А. Цистин відіграє вирішальну роль у формуванні білків, їх збірці та стабільності завдяки утворенню дисульфідних зв'язків (Cunober, 2004).

Слід зазначити, що культуральна рідина досліджених грибів містила більше незамінних амінокислот, зокрема серину та гліцину, ніж їх міцелій. Найвищий вміст серину було виявлено у *O. sinensis*, а гліцину – у *S. commune* (табл. 6.5). Серин є важливою амінокислотою для підтримки як фізичного, так і психічного здоров'я, забезпечуючи належне функціонування мозку та центральної нервової системи. Він сприяє синтезу фосфоліпідів, необхідних для побудови клітинних мембран, а також бере участь у процесах функціонування РНК і ДНК, метаболізмі жирів і жирних кислот, формуванні м'язової тканини та підтримці імунної системи. Гліцин необхідний для синтезу м'язової тканини та перетворення глюкози на енергію. Він також підтримує здоров'я центральної нервової та травної систем. Окрім того, останні дослідження свідчать про його антиоксидантні властивості, що можуть забезпечувати захист організму від деяких видів раку (Cunober, 2004).

Дослідження показали, що білки міцелію та культуральної рідини *P. ostreatus*, а також міцелію *S. commune* мають однаковий рівень співвідношення суми замінних і незамінних амінокислот (табл. 6.5). Найвищий показник цього співвідношення зафіксовано в міцелії *O. sinensis*.

Важливим компонентом грибної клітини є сирий жир, до складу якого входять основні класи ліпідних компонентів, зокрема вільні жирні кислоти, моно-, ди- та тригліцериди, стероли, етери та фосфоліпіди. Було встановлено, що

під час культивування досліджених видів грибів на поживному середовищі в міцеліальній масі накопичується більша кількість сирого жиру порівняно з культуральною рідиною (табл. 6.6). Найвищий вміст сирого жиру мав *S. commune*. Водночас результати аналізу ліпідного складу ліофілізованих культуральних рідин усіх досліджених грибів отримані вперше.

Таблиця 6.6

Сирий жир міцеліальної біомаси грибів, г/100 г грибів

Зразок	Вид гриба		
	<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Schizophyllum commune</i>
Міцелій	6,51 ± 0,18 ^b	5,14 ± 0,15 ^c	8,37 ± 0,20 ^a
Культуральна рідина	3,85 ± 0,14 ^c	4,16 ± 0,19 ^b	4,98 ± 0,11 ^a

Примітка: різними літерами позначено статистично значущі відмінності в межах ряду ($p \leq 0,05$)

Біологічна цінність біомаси грибів значною мірою визначається складом ліпідів. У міцелії *O. sinensis*, *P. ostreatus* та *S. commune* було ідентифіковано 10 жирних кислот, тоді як у культуральних рідинах цих грибів – 12 жирних кислот (табл. 6.7). Відмінності у вмісті окремих жирних кислот між досліджуваними видами були незначними, що свідчить про подібні метаболічні особливості ліпідного обміну цих грибів.

Жирнокислотний склад досліджених нами видів грибів як за якісними, так і кількісними показниками перевищував результати попередніх досліджень. Так, Manu-Tawiah & Martin (1987) виявили лише чотири жирні кислоти в міцелії *P. ostreatus*. Ivanova et al. (2015) встановили наявність 11 жирних кислот у міцелії *S. commune*, проте їх якісний склад був менш різноманітним порівняно з нашими даними. У міцелії та культуральній рідині досліджуваних грибів виявлено два класи поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) – омега-3 та омега-6, які є важливими компонентами людського раціону. Ці кислоти є ключовими структурними елементами фосфоліпідних клітинних мембран, що забезпечують їх функціональну цілісність. Склад фосфоліпідів впливає на такі характеристики

мембран, як плинність та проникність для інших молекул, а також забезпечує оптимальні умови для роботи мембранних ферментів і рецепторів, сприяючи ефективній передачі сигналів. Крім того, омега-3 та омега-6 ПНЖК конкурують між собою за ферменти, відповідальні за синтез ейкозаноїдів (Davis & Kris-Etherton, 2003).

Таблиця 6.7

Жирнокислотний склад ліпідів грибів, % до суми жирних кислот

Найменування кислоти	Вид гриба					
	<i>O. sinensis</i>		<i>P. ostreatus</i>		<i>S. commune</i>	
	М	КР	М	КР	М	КР
Мірістинова	0,36	0,44	0,39	0,34	0,57	0,45
Пентадеканова	1,54	0,21	1,47	0,27	1,29	0,23
Пальмітинова	16,43	20,33	16,7	18,30	17,61	20,14
Пальмітолеїнова	0,33	0,33	0,81	0,39	0,22	0,20
Гептадеканова	0,46	0,75	0,37	0,45	0,56	0,27
Гептадеценева	0,41	0,22	0,30	0,15	0,30	0,28
Стеаринова	2,98	2,89	1,60	1,72	1,35	2,51
Олеїнова	24,15	25,12	10,47	16,32	21,13	32,54
Лінолева	52,26	48,63	67,41	61,09	55,75	42,43
Ліноленова	1,08	0,26	0,48	0,32	1,22	0,22
Арахінова	-	0,51	-	0,45	-	0,60
Бегенова	-	0,31	-	0,20	-	0,13
\sum_1 ненасичені	77,82	74,34	79,17	78,12	78,32	75,39
\sum_2 насичені	22,18	25,66	20,83	21,88	21,68	24,61
\sum_1/\sum_2	3,5	2,89	3,8	3,57	3,6	3,06

Примітка: М- міцелій, КР- культуральна рідина

Аналіз жирнокислотного складу досліджених видів грибів показав 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 (табл. 6.7). Такий високий рівень лінолевої кислоти підкреслює перспективність використання грибів як джерела есенціальних жирних кислот з потенційними корисними властивостями для здоров'я людини.

Вміст мононенасиченої олеїнової кислоти становив від 24,15 до 47 % у міцелії та від 16,32 до 32,54 % у культуральній рідині. Найвищий рівень

мононенасичених жирних кислот зафіксовано у міцелії та культуральній рідині *P. ostreatus*, хоча різниця з іншими видами грибів була незначною (табл. 6.7). Ці результати узгоджуються з даними інших досліджень (Manu-Tawiah & Martin, 1987). Серед насичених жирних кислот домінувала пальмітинова кислота, вміст якої у міцелії становив від 16,43 до 18,06 %, а у культуральній рідині – від 18,30 до 20,33 %. Відзначимо, що вміст олеїнової кислоти у культуральних рідинах *P. ostreatus* та *S. commune* був майже вдвічі нижчим, ніж у відповідних зразках міцелію. Це свідчить про можливу специфіку метаболізму жирних кислот у різних частинах біомаси досліджуваних грибів, що заслуговує на подальше вивчення. Переважання ненасичених жирних кислот над насиченими в ліпідах деяких грибів підтверджується іншими дослідженнями (Mizuno, 1999; Ivanova et al., 2015). Відзначимо також, що вміст ліпідів, кількісний та якісний склад міцелію *S. commune* значно перевищує показники отримані при культивуванні цього штаму на хлібній крихті (Ivanova et al., 2015).

Таким чином, результати дослідження амінокислотного та жирнокислотного складу глибинного міцелію та культуральної рідини досліджених видів їстівних і лікарських грибів свідчать про їхню значну біологічну цінність. З огляду на безвідходну та екологічно чисту переробку вторинних природних ресурсів, отримані дані підтверджують високу ефективність використання CO₂-шроту амаранту як субстрату для вирощування грибів. Результати порівняльного аналізу амінокислотного складу міцелію та культуральної рідини свідчать про вищу якість білків у *Ophiocordyceps sinensis* та *Schizophyllum commune*, а також про кращий амінокислотний профіль у *Pleurotus ostreatus*. Разом з цим, у досліджених грибах виявлено високий вміст ненасичених жирних кислот, серед яких максимальна концентрація поліненасичених жирних кислот зафіксована в *P. ostreatus*. З огляду на отримані показники вмісту амінокислот і жирних кислот, доцільним є комбіноване використання міцелію та культуральної рідини зазначених грибів як перспективних джерел протеїнів та ліпідів для харчової та біотехнологічної промисловості.

6.3. Біосинтетична та сорбційна активність *Pleurotus ostreatus*, культивованого на харчових відходах

Біомаса міцелію *Pleurotus ostreatus* також привертає значну увагу завдяки своїм широким можливостям застосування у харчовій промисловості (Hamsa et al., 2023). Цей вид характеризується високим вмістом протеїнів, полісахаридів та інших біологічно активних речовин, а також має виражену терапевтичну мультиактивність, зокрема проявляє антимікробні, противірусні, протипухлинні, антиоксидантні, гіперглікемічні, протизапальні, гепатопротекторні, гіпохолестеремічні та імуномодулювальні властивості (Waktola & Temesgen, 2020). З огляду на зазначені властивості, *P. ostreatus* є об'єктом численних досліджень, спрямованих на отримання біомаси та полісахаридів, а також вивчення їх біологічної активності (Kim et al., 2002; Elisashvili et al., 2004; Sarangi et al., 2006; Gern et al., 2008; Tüllez-Tüllez et al., 2008; Lim et al., 2009; Refaie et al., 2009; El-Enshasy 2010; Mshandete & Mgonja, 2009; Papaspyridi et al., 2010; Adebayo-Tayo et al., 2011; Saskiawan, 2011; Elisashvili, 2012b; Salvador et al., 2012; Silva et al., 2012; Vamanu 2012; Maftoun et al., 2013; Petre & Petre 2013; Bakratsas et al., 2023, 2024).

Попри значний обсяг наукових публікацій, питання використання відходів різного походження для культивування *P. ostreatus* у рідких живильних середовищах висвітлено лише в обмеженій кількості робіт (Mshandete & Mgonja, 2009; Salvador et al., 2012; Petre & Petre 2013; Bakratsas et al., 2023, 2024). Встановлено, що відходи соняшника можуть слугувати джерелом вуглецю для продукування полісахаридів цього гриба (Salvador et al., 2012), а екстракти відходів маніюки, ямсу, картоплі, рогозу та подорожника позитивно впливають на накопичення його біомаси та екзополісахаридів (Mshandete & Mgonja, 2009). Крім того, суміші відходів виноробства та пшеничних висівок забезпечували високий вихід біомаси таких базидіоміцетів, як *P. ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* (Petre & Petre 2013). Продемонстровано перспективи використання винного осаду як ідеального субстрату для отримання лакази та

високобілкової біомаси (Vakratsas et al., 2023). Це свідчить про наявність інтересу дослідників до цієї тематики, але також вказує на необхідність подальших досліджень для встановлення можливостей застосування органічних відходів у біотехнологічних процесах культивування макроміцетів.

Враховуючи високу біологічну ефективність, невибагливість до умов культивування та здатність розкласти різні органічні субстрати культуру гриба *P. ostreatus* 551 обрано для подальших етапів дослідження. Попередні експерименти показали, що цей штам демонструє активний ріст та інтенсивний біосинтез міцелію на 19 з 20 досліджених нами органічних відходах, що підтверджує його універсальність та потенціал для використання у біотехнологічних процесах. Що і обумовило наступний етап роботи – культивування *P. ostreatus* 551 на шроті зародків пшениці, CO₂-шроті амаранту та макусі ріпаку (рис. 6.1). Встановлено, що рівень утворення біомаси *P. ostreatus* на цих альтернативних субстратах значно перевищує показники, наведені в науковій літературі (Kim et al., 2002; Elisashvili et al., 2004; Tüllez-Tüllez et al., 2008; Lim et al., 2009; Mshandete & Mgonja, 2009; Adebayo-Tayo et al., 2011; Saskiawan 2011; Salvador et al., 2012; Silva et al., 2012; Vamanu 2012; Maftoun et al., 2013; Petre & Petre 2013), за винятком досліджень Gern et al. (2008) та Vamanu (2012), Vakratsas et al. (2023, 2024). Подібні результати отримані Paraspyridi et al. (2010) за оптимізованих умов глибинного культивування штаму *P. ostreatus* ATHUM 4438.

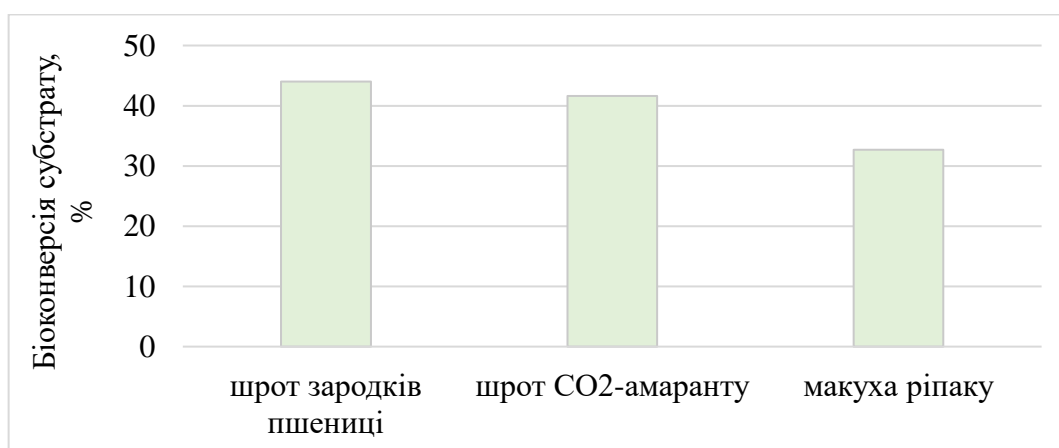


Рис. 6.1. Біологічна ефективність використання субстратів міцелієм *P. ostreatus*

Для забезпечення максимального накопичення біомаси *P. ostreatus* були визначені оптимальні концентрації органічних відходів у відібраних субстратах (рис. 6.2): 70 г/л для шроту зародків пшениці та CO₂-шрот амаранту і 60 г/л для макухи ріпаку. Ці концентрації використовували для культивування гриба з метою отримання біомаси для подальших біохімічних і фізико-хімічних досліджень. Отриманий висушений міцелій *P. ostreatus* 551, вирощений на запропонованих альтернативних поживних середовищах за оптимальної концентрації, відрізнявся за кольором (рис. 6.3), що може свідчити про варіації у складі пігментів та інших метаболітів, утворених грибом.

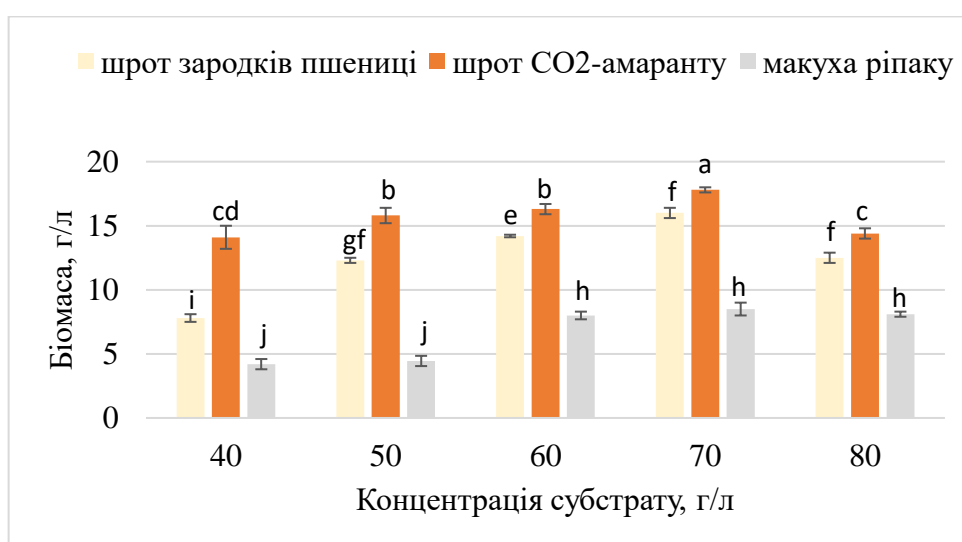


Рис. 6.2. Вплив концентрації субстратів на синтез міцелію *P. ostreatus*



Рис. 6.3. Біомаса *P. ostreatus*, отримана на різних середовищах культивування: шроті зародків пшениці (А), CO₂-шроті амаранту (В), макусі ріпаку (С)

Важливими компонентами клітинної стінки грибів є структурні полісахариди та хітин, які відіграють ключову роль у забезпеченні міцності клітинної стінки та біологічної активності. У ході дослідження було проаналізовано вміст полісахаридів у біомасі *P. ostreatus*, отриманій на різних поживних середовищах (табл. 6.8).

Таблиця 6.8

Вміст ендopolісахаридів в біомасі та екзopolісахаридів у культуральній рідині при вирощування *P. ostreatus* на різних субстратах

Полісахариди	Шрот зародків пшениці	СО ₂ -шрот амаранту	Макуха ріпаку
Ендopolісахариди, %	4,2 ± 0,3 ^a	3,5 ± 0,1 ^b	3,5 ± 0,3 ^b
Екзopolісахариди, г/л	3,0 ± 0,1 ^a	3,3 ± 0,5 ^a	2,2 ± 0,4 ^b

Примітка: різними літерами позначено статистично значущі відмінності в межах ряду ($p \leq 0,05$)

Ці результати узгоджуються з даними щодо наявності екзopolісахаридів, отриманими Mshandete & Mgonja (2009). Вміст полісахаридів у біомасі *P. ostreatus*, визначений у наших дослідженнях, відповідає даним, наведеним у роботах Adebayo-Tayo et al. (2011). Одержані показники переважають більшість результатів щодо вмісту полісахаридів, зазначених у даних літератури (Kim et al., 2002; Elisashvili, 2004, 2012; El-Enshasy et al., 2009; Mshandete & Mgonja, 2009; Salvador et al., 2010; Papaspyridi et al., 2010; Maftoun et al., 2013). Водночас, рівень полісахаридів у штаммах *P. ostreatus* PB281009 (Vamanu, 2012) та *P. ostreatus* DSM 1833 (Gern et al., 2008) перевищує показники, отримані в нашому дослідженні, що може бути обумовлено генетичними особливостями цих штамів, відмінностями у методах культивування та складі використаних живильних середовищ.

Однією з ключових біологічних властивостей грибів, яка обумовлює їх широке застосування як лікувально-профілактичних цілях так і для біоочищення, зокрема стічних вод, є здатність до сорбції іонів важких металів. Ця властивість зумовлена наявністю в клітинних стінках хітин-глюканових комплексів, що забезпечують високу ємність сорбції завдяки численним

функціональним групам (гідроксильним, амінним та карбоксильним), здатним зв'язувати токсичні метали.

Наступним етапом нашого дослідження було оцінка сорбційної активності біомаси *P. ostreatus* важких металів: Pb^{2+} , Hg^{2+} і Cd^{2+} . Вивчено вплив типу субстрату культивування на здатність гриба накопичувати зазначені метали. Результати дослідження продемонстрували суттєві відмінності у загальному рівні накопичення іонів Pb^{2+} , Cd^{2+} і Hg^{2+} у біомасі *P. ostreatus*, вирощеній на різних субстратах (табл. 6.9). Це може бути пов'язано як з різним вмістом сорбційно-активних компонентів у клітинних стінках грибів, так і з можливими відмінностями в структурі та фізико-хімічних властивостях субстратів, які впливають на накопичення металів.

Таблиця 6.9

Сорбційна активність *P. ostreatus* важких металів, мг/г

Досліджуваний зразок	Pb (II)	Cd (II)	Hg (II)
Біомаса <i>P. ostreatus</i> , отримана на шроті зародків пшениці	40,0 ± 0,3	66,5 ± 0,4	35,5 ± 0,1*
Біомаса <i>P. ostreatus</i> , отримана на CO ₂ -шроті амаранту	32,9 ± 0,2*	71,0 ± 0,5*	20,5 ± 0,2
Біомаса <i>P. ostreatus</i> , отримана на макусі рапсу	39,6 ± 0,3	66,0 ± 0,2	20,5 ± 0,4

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Спільним для всіх досліджених зразків *P. ostreatus* є найкраща здатність зв'язувати іони Cd^{2+} , незалежно від типу субстрату, на якому був вирощений гриб. Найвища сорбційна активність щодо цього металу була зафіксована для біомаси *P. ostreatus*, отриманої на CO₂-шроті амаранту. Це свідчить про те, що субстрат культивування може значно впливати на здатність міцелію гриба до сорбції важких металів, хоча в окремих випадках показники сорбційної активності можуть бути схожими, зокрема щодо сорбції ртуті (табл. 6.9).

Сорбція важких металів біомасою *P. ostreatus* зростає в порядку $Hg^{2+} < Pb^{2+} < Cd^{2+}$. Сорбційна активність іонів ртуті та свинцю біомасою *P. ostreatus* була близькою до такої для міцелію іншого їстівного гриба *Agaricus bisporus* (Meglar

et al., 2007), та вищою за показники, отримані для міцелію делікатесного виду *Volvariella volvacea* (Purkayastha et al., 1992).

Таким чином, аналіз отриманих даних свідчить про кореляцію між складом поживного середовища та здатністю *Pleurotus ostreatus* продукувати ендо- та екзополісахариди, а також проявляти сорбційну активність. Результати експериментів з використанням сухої біомаси *P. ostreatus* підтвердили наявність у неї властивостей, характерних для сорбентів, що обґрунтовує можливість її використання для елімінації важких металів.

6.4. Вплив культивування на СО₂-шроті амаранту на антибактеріальну активність макроміцетів

Антибіотична активність макроміцетів є важливим об'єктом досліджень через їх здатність синтезувати широкий спектр біологічно активних речовин. Ці сполуки мають потенціал для створення нових антибіотиків, особливо з огляду на проблему антибіотикорезистентності. Встановлено, що умови культивування, зокрема і склад поживного середовища, впливають на рівень синтезу макроміцетами біологічно активних сполук з антибактеріальною активністю (Hasegawa et al., 2005; Vieira et al., 2008; Mwita et al., 2010; Khardziani et al., 2020). Отже, пошук складу поживного середовища є важливим підходом для посилення антибіотичної активності макроміцетів.

Були проведені дослідження антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини отриманих після культивування на середовищі з СО₂-шротом амаранту. Антибактеріальну активність у екстрактах міцелію та/або культуральної рідини було виявлено у 20 досліджених видів макроміцетів, що становить 67 % від загальної кількості (табл. 6.10).

Таблиця 6.10

Антибактеріальна активність макроміцетів

Види грибів	Діаметр зон пригнічення росту, мм					
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 65388	
	М	КР	М	КР	М	КР
<i>A. aurea</i>	–	–	–	–	–	–
<i>C. militaris</i>	–	–	–	–	–	–
<i>C. aegerita</i>	–	14,5 ± 0,5	–	–	–	–
<i>C. comatus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>C. schevczenkovi</i>	–	11,5 ± 0,3	–	11,5 ± 0,4	–	–
<i>I. obliquus</i>	–	–	11,5 ± 0,6	12,0 ± 0,0	11,4 ± 0,6	10,8 ± 0,4
<i>F. velutipes</i>	–	–	–	–	–	–
<i>F. fomentarius</i>	–	–	–	–	–	–
<i>F. betulina</i>	10,0 ± 0,0	19,0 ± 0,9*	10,0 ± 0,0	20,0 ± 0,8*	–	13,8 ± 1,2
<i>F. pinicola</i>	15,5 ± 0,9*	12,7 ± 1,0	13,6 ± 0,4*	12,8 ± 0,7	–	21,8 ± 0,8*
<i>G. applanatum</i>	–	10,5 ± 0,5	–	–	–	10,5 ± 0,5
<i>G. lucidum</i>	10,0 ± 0,0	–	13,0 ± 0,9	11,5 ± 0,5	10,0 ± 0,0	–
<i>G. frondosa</i>	–	14,5 ± 0,5	–	14,0 ± 2,0	–	11,5 ± 0,5
<i>H. erinaceus</i>	–	14,0 ± 1,1	–	–	–	10,5 ± 0,5
<i>H. myxotricha</i>	–	19,0 ± 1,0*	–	10,0 ± 0,0	–	15,0 ± 1,0*
<i>H. marmoreus</i>	–	12,0 ± 0,4	–	–	–	14,0 ± 1,0
<i>L. sulphureus</i>	–	14,3 ± 0,4	–	14,6 ± 0,7	–	11,2 ± 0,9
<i>L. edodes</i>	14,0 ± 1,0	III	11,5 ± 0,5	12,5 ± 0,5	–	19,5 ± 0,5
<i>L. luscina</i>	–	11,5 ± 0,5	–	11,0 ± 0,0	10,5 ± 0,4	15,0 ± 1,0
<i>L. shimeji</i>	–	–	–	–	–	–
<i>M. esculenta</i>	10,6 ± 0,4	–	10,3 ± 0,7	–	–	14,1 ± 0,9
<i>O. obducens</i>	–	–	11,5 ± 0,5	–	10,5 ± 0,5	10,5 ± 0,5
<i>C. sinensis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. igniarius</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. djamor</i>	–	–	–	19,0 ± 1,0*	–	11,5 ± 0,5
<i>P. eryngii</i>	10,0 ± 0,0	–	–	–	–	–
<i>P. ostreatus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. litschaueri</i>	–	–	–	–	–	11,0 ± 0,5
<i>S. commune</i>	–	–	–	–	–	–
<i>T. versicolor</i>	11,5 ± 0,5	–	–	–	22,0 ± 2,0	11,4 ± 0,7

Примітка: М – міцелій; КР – культуральна рідина; III – повне пригнічення росту бактерій; «–» – відсутність антибактеріальної активності; * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Досліджені види макроміцетів умовно поділено на дві групи. До першої групи належать 14 видів, антибактеріальна активність яких виявлялася на різних середовищах, зокрема: *Cyclocybe aegerita*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Lentinula edodes*, *Lepista luscina*, *Morchella esculenta*, *Oxyporus obducens*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*. Це

свідчить про їхню метаболічну пластичність та адаптивний потенціал. Ці види здатні синтезувати антибактеріальні сполуки незалежно від типу середовища, що вказує на широкий спектр ферментативних систем і регуляторних механізмів. Це дозволяє грибам ефективно використовувати різні джерела поживних речовин для утворення біологічно активних метаболітів. Стабільна антибактеріальна активність на різних середовищах вірогідно може свідчити про те, що відповідні гени вторинного метаболізму постійно експресуються, навіть за змін умов культивування. Здатність до продукції антибактеріальних речовин у різних умовах може бути еволюційною перевагою, оскільки такі види здатні адаптуватися до різноманітних екологічних ніш і ефективно конкурувати з іншими мікроорганізмами. Види з такою здатністю є перспективними для промислових біотехнологій, оскільки їх продуктивність може залишатися високою навіть за використання альтернативних дешевших живильних середовищ.

До другої групи віднесено види, антибактеріальна активність яких проявлялася лише на певних середовищах. Зокрема, на середовищі ГПД активність виявлено у *Cordyceps militaris*, *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Phellinus igniarius*, *Pleurotus ostreatus*, тоді як на середовищі з CO₂-шротом амаранту – у *Inonotus obliquus*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *Pseudospongipellis litschaueri*. Таким чином, зміна середовища культивування сприяла посиленню антибактеріальної активності у 23,3 % досліджених видів макроміцетів, що свідчить про їх метаболічну активність залежну від середовища культивування.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що культуральна рідина демонструє вищу антибактеріальну активність порівняно з міцелієм. Водночас спостерігається значне підвищення антибактеріальної активності міцелію на середовищі з CO₂-шротом амаранту (рис. 6.4).

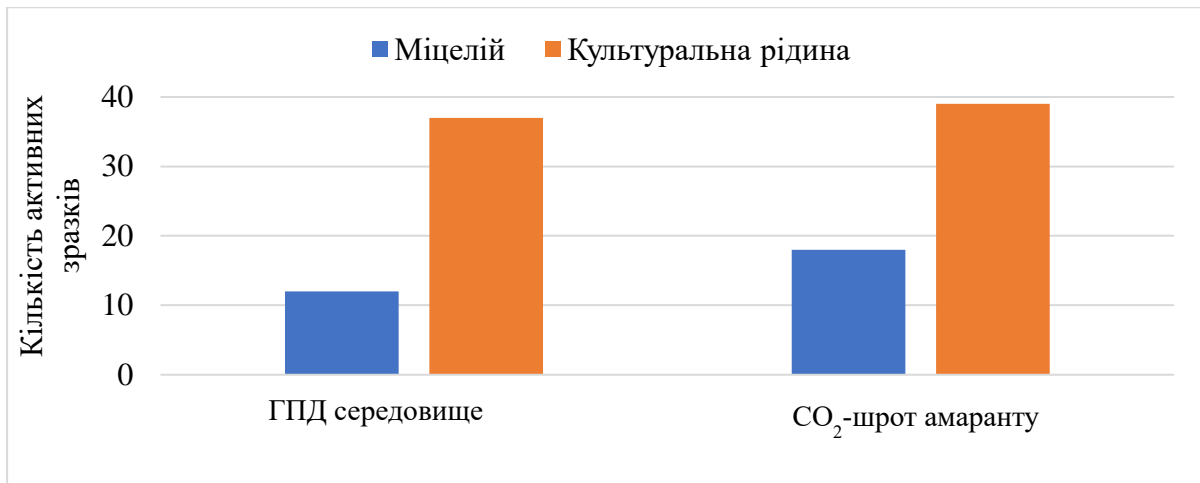


Рис. 6.4. Вплив поживного середовища на антибактеріальну активність міцелію грибів та їх культуральної рідини

Порівняльний аналіз отриманих даних виявив позитивний вплив CO₂-шроту амаранту на рівень антибактеріальної активності, що оцінювався за діаметром зон пригнічення росту бактерій (рис. 6.5). Відзначено покращення середньої антибактеріальної активності, що проявлялося формуванням зон затримки росту розміром від 10 до 20 мм для всіх трьох тестових штамів бактерій.

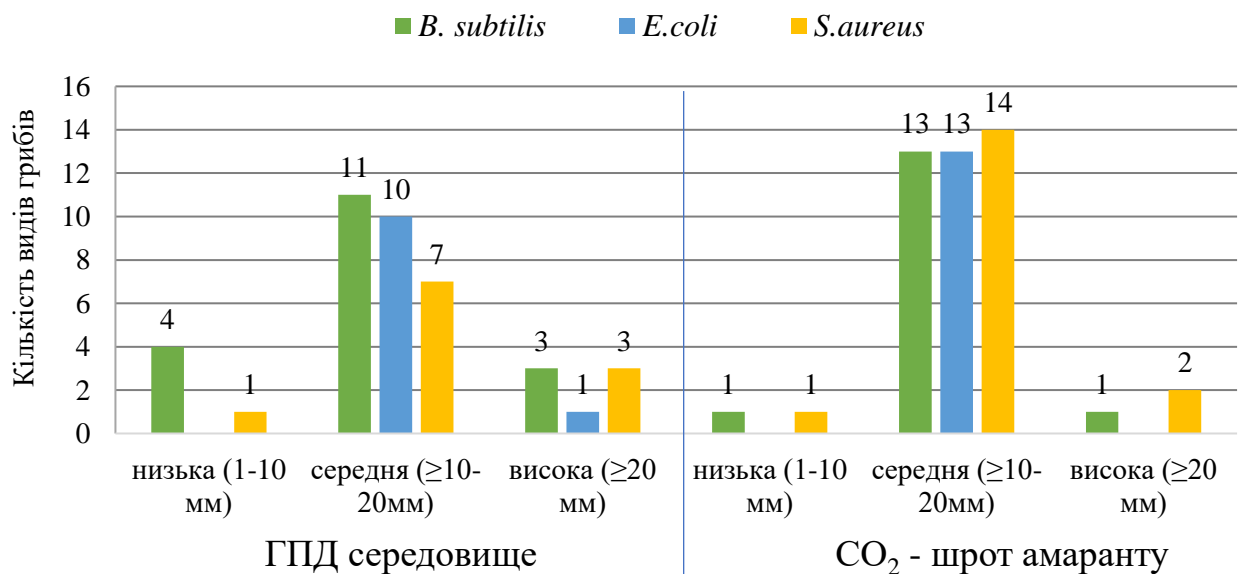


Рис. 6.5. Рівень антибактеріальної активності за діаметром зон пригнічення росту бактерій (мм) в залежності від середовища культивування

Використання запропонованого альтернативного середовища культивування суттєво вплинуло на видовий розподіл макроміцетів, дозволивши виділити три умовні групи залежно від спектра їх антибактеріальної дії (рис. 6.6):

1. Гриби з широким спектром активності, міцелій та/або культуральна рідина яких інгібували ріст усіх трьох тест-бактерій. До цієї групи залишився належати *Fomitopsis pinicola*, а також були включені *F. betulina*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinus edodes*, *Lepista luscina*, *Laetiporus sulphureus*, *Morchella esculenta*.

2. Гриби з вибірковою активністю, екстракти яких пригнічували ріст двох із трьох тест-бактерій. У цій групі залишився *Hypsizygus marmoreus*, а також увійшли *Crinipellis schevczenkovi*, *Inonotus obliquus*, *Ganoderma applanatum*, *Ophiocordyceps obducens*, *Pleurotus djamor*, *Trametes versicolor*.

3. Гриби з вузьким спектром активності, активність яких була спрямована лише проти однієї з тест-бактерій. У цій групі залишився *Schizophyllum commune*, а також були додані *Cyclocybe aegerita* та *Pseudospongipellis litschaueri*.

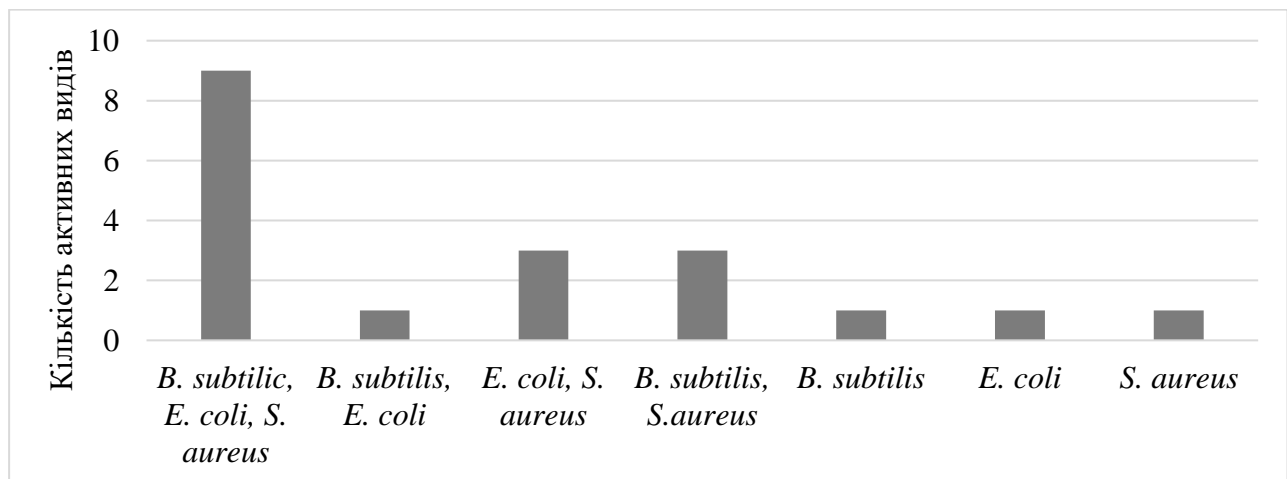


Рис. 6.6. Спектр антибактеріальної активності макроміцетів

Таким чином, дослідження впливу поживного середовища на основі CO₂-шроту амаранту на антибактеріальну активність культур макроміцетів виявило низку важливих аспектів. По-перше, відбулося збільшення видового

різноманіття макроміцетів, здатних проявляти антибактеріальну активність, що свідчить про позитивний вплив поживного середовища на їх біосинтетичний потенціал. По-друге, було зафіксовано суттєву зміну видового розподілу макроміцетів залежно від спектра їх антибактеріальної дії, що дозволило виокремити три умовні групи за рівнем активності. По-третє, середня антибактеріальна активність культур значно зросла, про що свідчить формування зон затримки росту тестових бактерій розміром від 10 до 20 мм. Виявлені позитивні властивості CO₂-шроту амаранту свідчать про його значний потенціал як основи для створення поживних середовищ, що сприятиме підвищенню продуктивності культивування макроміцетів з антибактеріальною активністю.

6.5. Протівірусна активність міцелію 10 видів макроміцетів

Профілактика та лікування вірусних захворювань залишаються актуальними проблемами сучасної медицини. Вірус грипу є однією з глобальних інфекцій з регулярними широкомасштабними епідеміями або пандеміями, що призводить до високої смертності в усьому світі. Щороку в усьому світі реєструється приблизно 1 мільярд випадків, з яких від 3 до 5 мільйонів є важкими випадками, що призводить до 290 000 до 650 000 смертельних випадків, пов'язаних із грипом (Iuliano et al., 2018).

Віруси типу А є найбільш вірулентні патогени людини серед трьох типів грипу і викликають найважчий перебіг хвороби. Підраховано, що загалом 18 500 лабораторно підтверджених смертей було спричинено пандемією грипу А (H1N1) у період з квітня 2009 року по серпень 2010 року, проте очевидно, що оцінки респіраторної та серцево-судинної смертності, пов'язаної з цією пандемією, були в 15 разів вищими, ніж зареєстровані лабораторно підтверджені смертності (Dawood et al., 2012).

Захворювання, що передаються статевим шляхом є ще однією глобальною проблемою охорони здоров'я. У всьому світі багато людей інфіковані вірусом

простого герпесу типу 2 (ВПГ-2), яка може викликати рецидивні болючі виразки на геніталіях. Крім того, ВПГ-2 є потенційно смертельним для новонароджених (Corey et al., 1988) і може сприяти передачі вірусу імунодефіциту людини (Holmberg et al., 1988). У березні 2020 року ВООЗ та її партнери опублікували дослідження, згідно з яким близько 5% населення світу (187 мільйонів людей) у 2016 році перенесли принаймні один епізод виразкової хвороби геніталій, спричиненої герпесом (Looker et al., 2020). Більшість цих епізодів були спричинені ВПГ-2, який може часто повторюватися протягом багатьох років. Підкреслимо, що віруси грипу та герпесу завжди були і залишатимуться в найближчі роки глобальною проблемою для світової системи охорони здоров'я та громадського здоров'я у всьому світі. Тому, важливість пошуку ефективних противірусних препаратів, у тому числі природного походження (Aly et al., 2011), очевидна та вкрай актуальна.

За результатами аналізу літератури, патентних досліджень та скринінгу накопичення біомаси досліджених макроміцетів було відібрано для вивчення антивірусної активності 10 видів грибів (*Auriporia aurea*, *Flammulina velutipes*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus eryngii*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*), культивованих 14 днів на CO₂-шроті амаранту за умов поверхневого росту при температурі 26±2 °С. Першочергово, встановлено цитотоксичні дози зразків грибів (максимально переносна концентрація (МПК). Для визначення МПК біомаси з грибів використовували клітини MDCK та RK-13 та виявлено аналогічний цитопатичний ефект (табл. 6.11) МПК на рівні 25,0 мг/мл встановлена для чотирьох видів *A. aurea*, *F. fomentarius*, *F. velutipes*, *T. versicolor*. Екстракти з біомаси інших грибів, зокрема двох їстівних грибів *P. eryngii* та *L. edodes*, мали більшу токсичність (табл. 6.11).

Таблиця 6.11

Цитотоксичність екстрактів міцелію макроміцетів до клітин

MDCK та RK-13, мг/мл

гриби	MDCK клітини							RK-13 клітини						
	50	25	12,5	6,2	3,1	1,55	0,77	50	25	12,5	6,2	3,1	1,55	0,77
C	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>A. a</i>	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>F. f</i>	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>F. v</i>	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>G. l</i>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<i>L. e</i>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<i>L. s</i>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<i>P. e</i>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<i>P. o</i>	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>S. c</i>	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>T. v</i>	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Примітка: 0/10 – відсутність цитотоксичного ефекту; 10/10 – цитопатичний ефект (повна дегенерація моноклітинного шару); C – CO₂-шрот амаранту 60 г/л дистильованої води; *A. a* – *Auriporia aurea*, *F. f* – *Fomes fomentarius*, *F. v* – *Flammulina velutipes*, *G. l* – *Ganoderma lucidum*, *L. e* – *Lentinula edodes*, *L. s* – *Lyophyllum shimeji*, *P. e* – *Pleurotus eryngii*, *P. o* – *Pleurotus ostreatus*, *S. c* – *Schizophyllum commune*, *T. v* – *Trametes versicolor*

Отримані екстракти грибів і можуть бути віднесені до групи малотоксичних сполук природного походження. Загалом, низька токсичність міцелію досліджених видів грибів, отримана нами в проведених дослідженнях може бути пов'язана з природним використаним субстратом – шротом амаранту після CO₂ екстракції. Вплив поживного середовища культивування на рівень МПК був раніше встановлений для зразків культуральної рідини *T. versicolor* 353 (Тітова та ін. 2015). Міцеліальна маса *T. versicolor*, отримана на CO₂-шроті амаранту мала значно нижчі показники МПК, ніж культуральна рідина цього штаму, після культивування на молочній сироватці (МПК 0,28–1,60 мг/см³) чи комплексному поживному середовищі (МПК 0,90–3,60 мг/см³).

Була досліджена антивірусна активність базидієвих грибів на експериментальних моделях вірусів грипу H1N1 штаму А/ФМ/1/47 (спричинені Іспанським грипом 1918 р. та Свинячим грипом 2009 р) *in vitro*. Встановлено, що екстракт міцелію 9 із 10 досліджених видів грибів проявив протигрипозну активність (табл. 6.12).

Таблиця 6.12

Антивірусна активність екстрактів міцелію в культурі клітин МДСК (перещеплювана культура клітин нирки собаки), інфікованої вірусом грипу (H1N1) штаму А/ФМ/1/47

Макроміцети	МТС (мг/мл)	EC ₅₀ (мг/мл)	ХТІ (МТС/EC ₅₀)
<i>Auriporia aurea</i>	25	0,62	40,32
<i>Flammulina velutipes</i>	25	1,25	20,00
<i>Fomes fomentarius</i>	25	0,62	40,32
<i>Ganoderma lucidum</i>	0,2	0,077	80,50
<i>Lentinula edodes</i>	1,55	0,077	20,12
<i>Lyophyllum shimeji</i>	3,1	0,62	5,0
<i>Pleurotus eryngii</i>	1,55	50	0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	12,5	2,5	6,0
<i>Schizophyllum commune</i>	12,5	0,62	20,16
<i>Trametes versicolor</i>	25	0,077	324,67

Примітка: EC₅₀ – напівмаксимальна ефективна концентрація; МТС – максимально переносима концентрація

Встановлено, що екстракти міцелію грибів *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor* пригнічували репродукцію вірусу грипу в дозах 0,62; 1,25; 0,077 мг/мл на 4,0; 5,0; 6,0 lg ID₅₀. Виявлено високі значення хімотерапевтичного індексу (ХТІ) грибів *G. lucidum*, *T. versicolor*, 80,5 та 324,67, відповідно. Для видів *A. aurea*, *F. fomentarius* та *L. shimeji*, встановлена протигрипозна активність вперше. Водорозчинні і екстраговані метанолом речовини, виділені із карпофорів *G. lucidum* показали раніше активність проти вірусу грипу А/Equine/2/Майами/1/63, але терапевтичний індекс дорівнював нулю (Ео et al., 1999). На противагу цьому, наше дослідження виявило високе

значення терапевтичного індексу (80,5) для міцелію *G. lucidum* проти штаму вірусу грипу А/ФМ/1/47 (H1N1).

Досліджено антивірусну активність базидієвих грибів на експериментальних моделях вірусу герпесу 2-го типу, штам ВН (найчастіше викликає генітальні проблеми) *in vitro*. Екстракти міцелію 4 видів грибів (*Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*) із 10 досліджених, проявили виражену протигерпетичну активність в розведеннях 0,155; 0,62; 0,077 мг/мл (табл. 6.13).

Таблиця 6.13

Антивірусна активність екстрактів міцелію грибів в культурі клітин РК-13 (клітини нирки кролика), інфікованих вірусом герпесу 2-го типу

Макроміцети	МТС (мг/мл)	EC ₅₀ (мг/мл)	ХТІ (МТС/EC ₅₀)
<i>Auriporia aurea</i>	25	0,155	161,29
<i>Flammulina velutipes</i>	25	0	0
<i>Fomes fomentarius</i>	25	0,62	40,32
<i>Ganoderma lucidum</i>	6,2	0	0
<i>Lentinula edodes</i>	1,55	0	0
<i>Lyophyllum shimeji</i>	3,1	0	0
<i>Pleurotus eryngii</i>	1,55	0	0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	12,5	0,155	80,64
<i>Schizophyllum commune</i>	12,5	0	0
<i>Trametes versicolor</i>	25	0,077	324,67

Примітка: EC₅₀ – напівмаксимальна ефективна концентрація; МТС – максимально переносима концентрація

Інгібування репродукції вірусу герпесу 2 типу була на рівні 2,0 – 6,0 lg ID₅₀ (табл. 6.14). Найбільші показники хіміотерапевтичного індексу мали *Auriporia aurea* (161,29) та *Trametes versicolor* (324,67). Активність проти вірусу герпесу 2-го типу встановлена для видів *A. aurea* та *Fomes fomentarius* вперше. Отримані нами дані свідчать також про достатньо високу протигерпетичну активність міцелію *Pleurotus ostreatus* з терапевтичним індексом 80,64 (табл. 6.13) та індексом нейтралізації 2,5 lg (табл. 6.14) на відміну від інших результатів (Amoros et al., 1997), в яких показана відсутність протигерпетичної активності для плодових тіл

P. ostreatus у культурі клітин. І навпаки, міцелій *Ganoderma lucidum* не проявив протигерпетичної дії в наших дослідженнях, на відміну від результатів на клітини Vero із застосуванням полісахарид-білкових комплексів, виділених з плодових тіл *G. lucidum* та міцелію, в тому числі АРВР (активність щодо ВПГ-2 штам 233) (Oh et al., 2000) і протеоглікану (активність щодо ВПГ-2 G штам АТСС VR-734) (Liu та ін., 2004). Терапевтичний індекс для міцелію *A. aurea*, *P. ostreatus* і *T. versicolor* були значно вище в наших дослідженнях, ніж в аналогічних експериментах з *G. lucidum* міцелій проти HSV-2 (Oh et al., 2000; Liu et al., 2004).

Таблиця 6.14

Антивірусна активність грибів

Зразки	вірус грипу H1N1, штам А/FM/1/47		вірус герпесу 2-го типу, штам ВН	
	Інфекційність вірусу (тітр) (ID ₅₀ в lgTCID ₅₀ /мл)	Індекс нейтралізації (ID ₅₀ контроль – ID ₅₀ експер.), lg	Інфекційність вірусу (тітр) ID ₅₀ в lgTCID ₅₀ /мл)	Індекс нейтралізації (ID ₅₀ контроль – ID ₅₀ експер.), lg
Субстрат	6,0	0	6,0	0
<i>A. aurea</i>	4,0	2,0	4,0	2,0
<i>F. fomentarius</i>	4,0	2,0	3,0	3,0
<i>F. velutipes</i>	2,0	4,0	6,0	0
<i>G. lucidum</i>	2,0	4,0	6,0	0
<i>L. edodes</i>	3,0	3,0	6,0	0
<i>L. schimeji</i>	3,0	3,0	6,0	0
<i>P. eryngii</i>	2,0	4,0	6,0	0
<i>P. ostreatus</i>	3,0	3,0	3,5	2,5
<i>S. commune</i>	1,0	5,0	6,0	0
<i>T. versicolor</i>	0	6,0	0	6,0
Контроль (вірус)	6,0	-	6,0	-

Противірусну активність грибів оцінюють дослідники за допомогою різних показників, зокрема індексу нейтралізації (Amoros et al., 1997) та терапевтичного індексу (Ео et al., 1999; Oh et al., 2000; Liu et al., 2004; Cardoso et al., 2011). Наші результати свідчать, що показник індексу нейтралізації не корелює з величиною терапевтичного індексу (таблиці 6.14). Цього слід було

очікувати, оскільки терапевтичний індекс – співвідношення мінімальної ефективної дози хіміотерапевтичного індексу до максимальної переносимої дози, і це співвідношення може бути дуже малим (навіть якщо показник індексу нейтралізації великий).

Наші результати показують також протигерпетичну активність міцелію *Trametes versicolor*, на відміну від інших досліджень з плодовими тілами цього виду (Amoros et al., 1997). Ці дані узгоджуються з результатами інших досліджень. Так, у клінічному випробуванні вживання харчової добавки на основі міцеліальної біомаси *T. versicolor* зменшувало частоту і навіть припиняло появу спалахів ВПГ-2 у вагітних (French, 2007). Зазначимо, що у проведеному нами дослідженні, *T. versicolor* мав вищий терапевтичний індекс (324.67) серед досліджених грибів. Хоча в іншому дослідженні (Тітова та ін., 2015) культуральна рідина цього ж штаму *T. versicolor* не проявила вірусінгібуючого ефекту відносно до вірусу герпесу людини першого антигенного типу (ВПГ-1) штаму УС та вірусу везикулярного стоматиту (ВВС) штаму Індіанадо ВПГ-1 та ВВС.

Слід зазначити, що ефективні дози міцелію *Pleurotus ostreatus* та *Auripora aurea* для нейтралізації вірусу простого герпесу типу 2 (ВПГ-2) були значно нижчими порівняно з дозами, необхідними для пригнічення вірусу грипу А. Це свідчить про вищу протівірусну активність грибів щодо ВПГ-2. Зокрема, протигерпетична активність міцелію *P. ostreatus* перевищувала активність проти вірусу грипу в 13 разів, тоді як для *A. aurea* цей показник був у чотири рази вищим. На відміну від цього, терапевтичні індекси міцелію *Fomes fomentarius* та *T. versicolor* залишалися однаковими для обох вірусів, що може свідчити про універсальний механізм протівірусної дії цих видів грибів. Така стабільність терапевтичних індексів вказує на широкий спектр біологічної активності зазначених макроміцетів, потенційно зумовлений наявністю полісахаридів, фенольних сполук та інших біологічно активних речовин у їх складі.

Загалом, такі відмінності можуть бути викликані видовою специфічністю грибів, різними біологічно активними речовинами, механізмами протівірусної активності. Інгібування вірусної реплікації з високою ефективністю, ймовірно,

відбувається завдяки дії біологічно активних сполук, що містяться в екстрактах грибів, які наприкінці реплікаційного циклу пригнічують синтез вірусних білків. За даними літератури (Claus-Desbonnet et al., 2022) полісахариди, екстраговані з їстівних та лікарських грибів, можуть безпосередньо пригнічувати вірус до зараження або пригнічувати віруси шляхом втручання на декількох етапах життєвого циклу вірусу (прикріплення, проникнення, відщеплення оболонки вірусу, реплікації, транскрипції, трансляції). Протигрипозний ефект біологічно активних речовин грибів, зокрема полісахаридів, також може бути зумовлений їх імуномодуючою дією (Lee et al., 2014; Chun et al., 2021).

Результати проведених експериментальних досліджень *in vitro* демонструють високий рівень противірусної активності екстрактів досліджених видів грибів щодо моделей вірусів грипу та герпесу. Вперше отримано наукові дані про потенційні лікувальні властивості *Auriporia aurea*, зокрема його активність проти вірусу грипу та ВПГ-2. Для видів *A. aurea*, *Flammulina velutipes*, *Lyophyllum shimeji* та *Pleurotus eryngii* вперше встановлено антивірусну активність щодо вірусу грипу, а для *A. aurea* ще й вперше виявлено протигерпетичний ефект.

З-поміж досліджених зразків найбільш перспективним для створення лікувальних та профілактичних засобів, дієтичних добавок є міцелій *Trametes versicolor*. Високий терапевтичний індекс цього гриба (324,67) свідчить про його значний противірусний потенціал. Важливо, що встановлена для нього цитотоксична доза (максимально переносна концентрація) є досить високою і становить 25,0 мг/мл, що підвищує безпечність його використання в біотехнологічних розробках.

Отримані результати свідчать про перспективність використання шроту амаранту після CO₂-екстракції, як субстрату для культивування грибів, з метою отримання цінної біологічно активної біомаси макроміцетів. Це може бути підґрунтям для створення замкнених біотехнологічних циклів, що сприяють безвідходному виробництву та знижують собівартість кінцевої продукції на основі міцеліальної біомаси грибів. Таким чином, поєднання біотехнологічних

підходів і використання міцелію грибів із доведеними протівірусними властивостями відкриває нові перспективи для створення інноваційних продуктів із високою доданою вартістю.

6.6. Протипухлинна активність міцелію *Auriporia aurea* та *Trametes versicolor*

Однією з найнебезпечніших сучасних хвороб, що характеризується неконтрольованим ростом і поширенням аномальних клітин, що призводить до смерті, є рак. За даними ВООЗ, рак є однією з основних причин смертності у всьому світі, у 2020 році він спричинив майже 10 мільйонів смертей (World Health Organization. Cancer. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>). Прогнозується, що до 2030 року ця цифра зросте до 13,1 мільйона (Torre et al., 2015).

Найпоширенішими видами раку є рак легенів, молочної залози, товстої кишки, шкіри та крові (Weiss, 2021). Пошук сполук, здатних вибірково впливати на ракові клітини або пригнічувати пухлинні процеси, залишається одним із найпріоритетніших напрямів сучасної онкології. Водночас розробка методів лікування з мінімальними побічними ефектами залишається серйозною проблемою для медицини. Побічна дія як традиційних, так і інноваційних протиракових препаратів обумовлює необхідність пошуку нових терапевтичних підходів. Особлива увага приділяється методам, здатним стимулювати імунну систему до активної боротьби з пухлинами, що відкриває перспективи створення ефективніших і безпечніших протиракових засобів.

Протиракова терапія може передбачати застосування натуральних препаратів, отриманих із грибів, особливо тих, що мають виражені цитотоксичні властивості та характеризуються мінімальними побічними ефектами. Завдяки наявності біологічно активних сполук, таких як полісахариди, терпеноїди та фенольні похідні, гриби демонструють протипухлинну активність, стимулюючи імунну систему та пригнічуючи ріст пухлинних клітин. Фунготерапія раку є

невід'ємною частиною традиційної медицини багатьох культур протягом століть. Використання грибів для підтримки здоров'я та лікування хвороб було широко поширене в азійській, європейській та південноамериканській медичних традиціях. Сучасні наукові дослідження підтверджують ефективність деяких видів грибів, що належать до родів *Agaricus*, *Antrodia*, *Albatrellus*, *Calvatia*, *Clitocybe*, *Cordyceps*, *Flammulina*, *Fomes*, *Inocybe*, *Inonotus*, *Ganoderma*, *Lactarius*, *Phellinus*, *Pleurotus*, *Russula* *Trametes*, *Schizophyllum*, *Suillus* та *Xerocomus* (Lena et al., 2021; Nowakowski et al., 2021; Panda et al., 2021; Park, 2022). Понад 50 видів грибів мають потенціал для отримання імуноцитокінів, які виявляють протиракову активність *in vitro* або в експериментах з тваринами (Panda et al., 2021). Кілька клінічних досліджень невеликої кількості грибів, зокрема *Lentinula edodes*, *Schizophyllum commune*, *Grifola frondosa*, *Trametes versicolor* демонструють позитивні ефекти лікарських грибів, включаючи зменшення несприятливих наслідків традиційної терапії, а також протипухлинну активність та імуномодуляцію (Park, 2022).

Погоджуючись із позицією дослідників (Lindequist et al., 2005) щодо існування кореляції між противірусною та протипухлинною активністю базидієвих грибів, для подальших досліджень *in vivo* було відібрано два види грибів: *Auriporia aurea* та *Trametes versicolor*, які виявили найвищу антивірусну активність під час попередніх досліджень. Наступним етапом роботи було проведення серії експериментів щодо протипухлинної активності грибів на моделі карциноми Герена. Використовували водні екстракти та суспензії міцелію зазначених видів грибів, культивованих 14 діб за поверхневого культивування на середовищі з CO₂-шротом амаранту. Такий підхід дозволяє оцінити їх біологічний потенціал, зокрема вплив на ріст пухлинних клітин та імунну відповідь організму. Вибір саме цих форм препаратів (водні екстракти та суспензії міцелію) обумовлений їх природною біодоступністю, можливістю стандартизації та широкими перспективами використання у фармакологічних розробках.

Введення водних екстрактів та суспензій міцелію грибів тваринам з карциномою Герена зумовлювало зменшення приросту розмірів пухлини порівняно з контрольною групою (рис. 6.7).

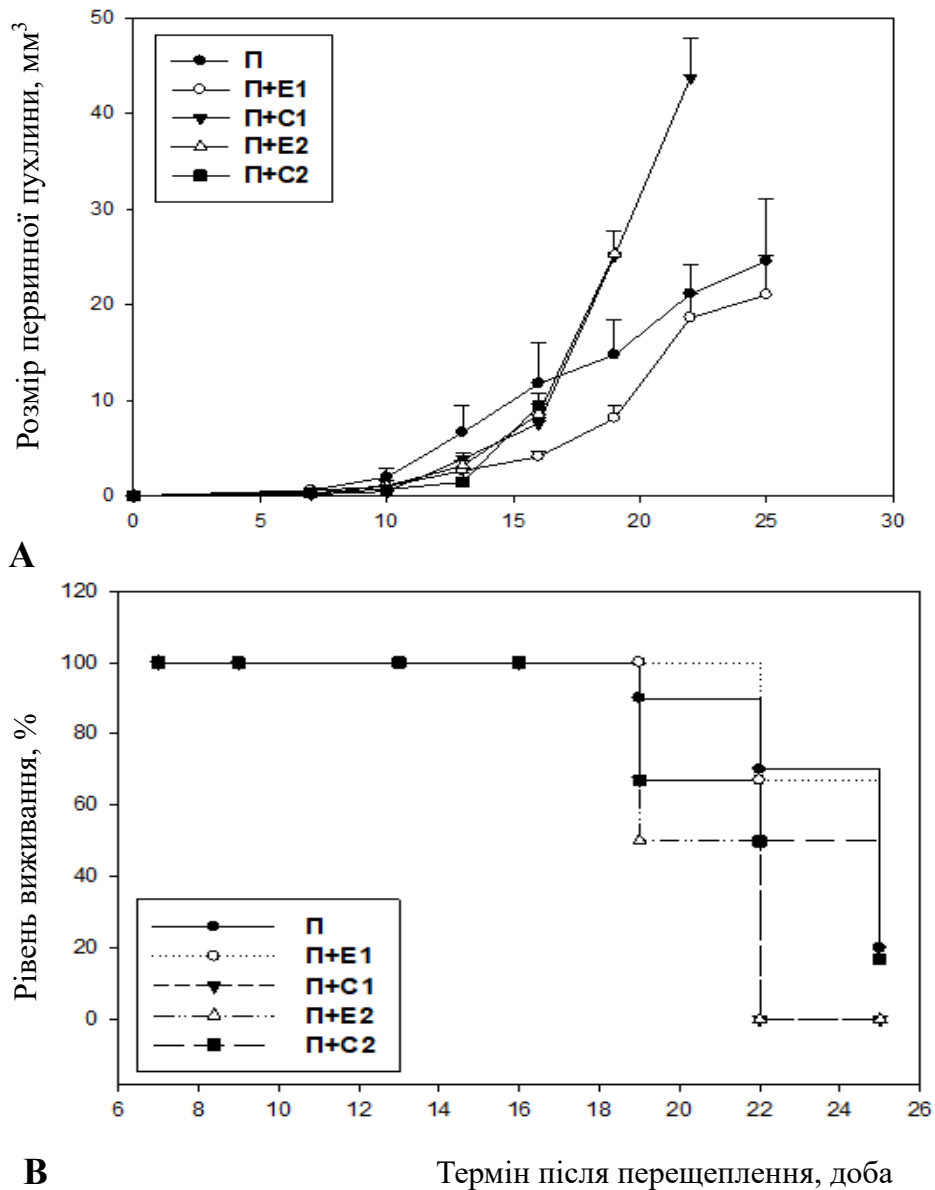


Рис. 6.7. Темпи росту первинної пухлини карциноми Герена (А) та виживання тварин-пухлиноносіїв (Б)

Примітка (тут і надалі): П – тварини з перещепленою карциномою Герена
 П+E1 – тварини з перещепленою карциномою Герена, які отримували екстракт міцелію гриба *Trametes versicolor*; П+C1 – тварини з перещепленою карциномою Герена, які отримували суспензію міцелію гриба *T. versicolor*; П+E2 – тварини з перещепленою карциномою Герена, які, отримували екстракт міцелію гриба

Auriporia aurea; П+С2 – тварини з перещепленою карциномою Герена, які отримували суспензію міцелію гриба *A. aurea*

Однак цей ефект спостерігався лише в період активного росту пухлини – з 7-ї по 16-ту добу після перещеплення карциноми Герена. Отримані результати можуть бути пов'язані з початковою фазою дії біологічно активних речовин грибного міцелію, які, ймовірно, впливають на процес проліферації пухлинних клітин або стимулюють імунну відповідь організму, обмежуючи розвиток новоутворення.

На 16-ту добу дослідження, яка відповідає періоду активного росту злоякісного новоутворення, розміри пухлин у всіх експериментальних групах були меншими порівняно з контрольною групою. Найбільше зниження розмірів пухлин спостерігалось у тварин, яким вводили водний екстракт міцелію *T. versicolor*: розміри первинної пухлини на 16-ту добу після перещеплення карциноми Герена були на 65 % меншими порівняно з контрольною групою (рис. 6.8 А). Застосування суспензії міцелію *T. versicolor*, водного екстракту та суспензії міцелію *A. aurea* також сприяло зменшенню розмірів пухлин на 36 %, 27 % і 20 % відповідно. Ці результати свідчать про можливість використання грибних екстрактів для обмеження росту злоякісних новоутворень.

Введення водного екстракту міцелію *T. versicolor* супроводжувалося найнижчим рівнем летальності серед тварин експериментальних груп протягом усього дослідного періоду (21 доба). Водночас цей підхід не сприяв збільшенню тривалості життя тварин з карциномою Герена. Навпаки, тривале введення суспензії міцелію *T. versicolor* (група П+С1) та водного екстракту і суспензії міцелію *A. aurea* (групи П+Е1, П+Е2) спричиняло передчасну загибель 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 дані свідчать про можливий токсичний ефект або імуносупресивну дію тривалого введення зазначених препаратів, що потребує подальшого дослідження.

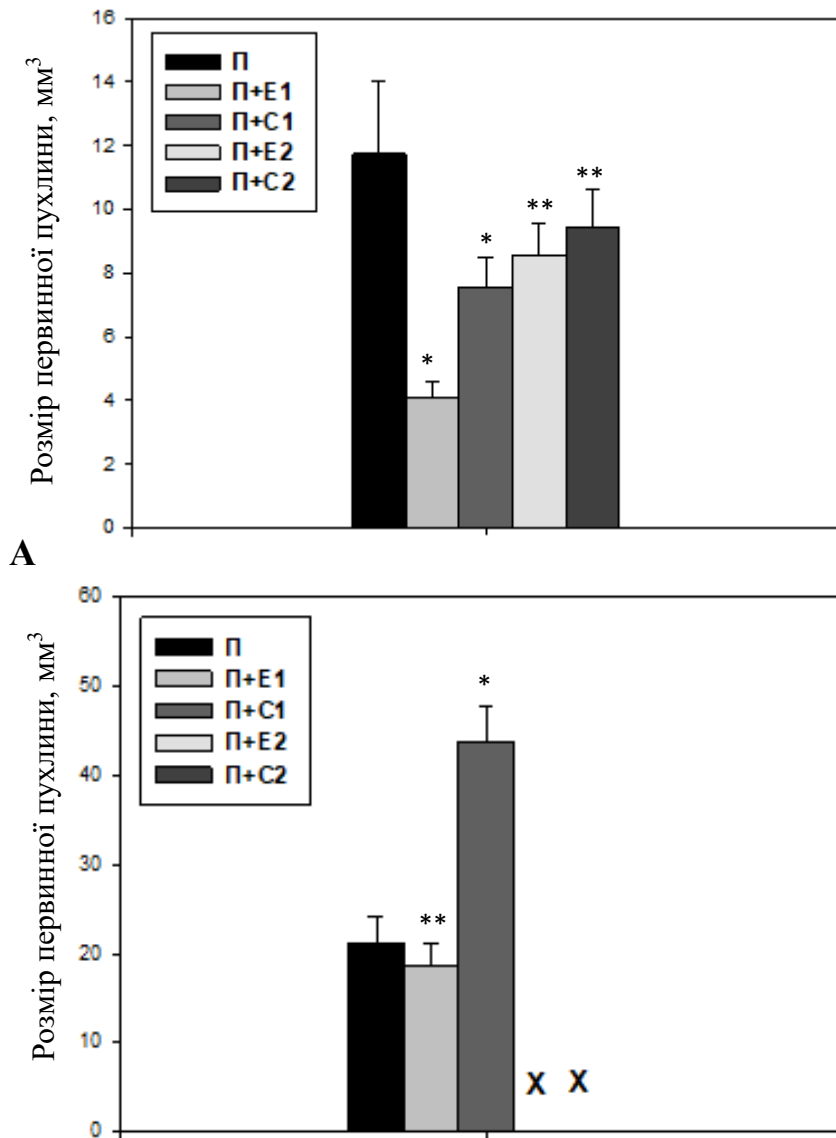


Рис. 6.8. Розміри первинної пухлини у тварин у період активного росту карциноми Герена (А, 16-а доба) та на термінальних етапах її росту (В, 22 доба).

Примітка: X – немає показників у даній групі внаслідок 100 % летальності у цей період експерименту; – $p < 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою

Тривале застосування суспензії міцелію гриба *A. aurea* супроводжувалося значним зростанням розмірів пухлини у термінальні періоди її розвитку (22-га доба), які вдвічі перевищували відповідні показники контрольної групи (рис. 6.8 В). Це негативно вплинуло на тривалість життя тварин даної групи, яка виявилася нижчою за аналогічні показники контрольних тварин (рис. 6.7).

Отримані результати можуть пояснюватися надмірною стимуляцією імунної системи під впливом грибних глюканів. Постійне «підстьобування»

імунної системи може призводити до її дезорієнтації та функціонального виснаження, особливо в умовах обмеженого пулу активних імуніцитів. Це підкреслює необхідність попередньої оцінки імунного статусу організму перед застосуванням імуностимулюючих препаратів на основі грибів. Таким чином, використання грибних екстрактів є доцільним лише за умови наявності задовільної імунограми тварин.

Результати проведених досліджень показали, що введення водного екстракту *T. versicolor* на іншій моделі раку має певний протипухлинний ефект (рис. 6.9).

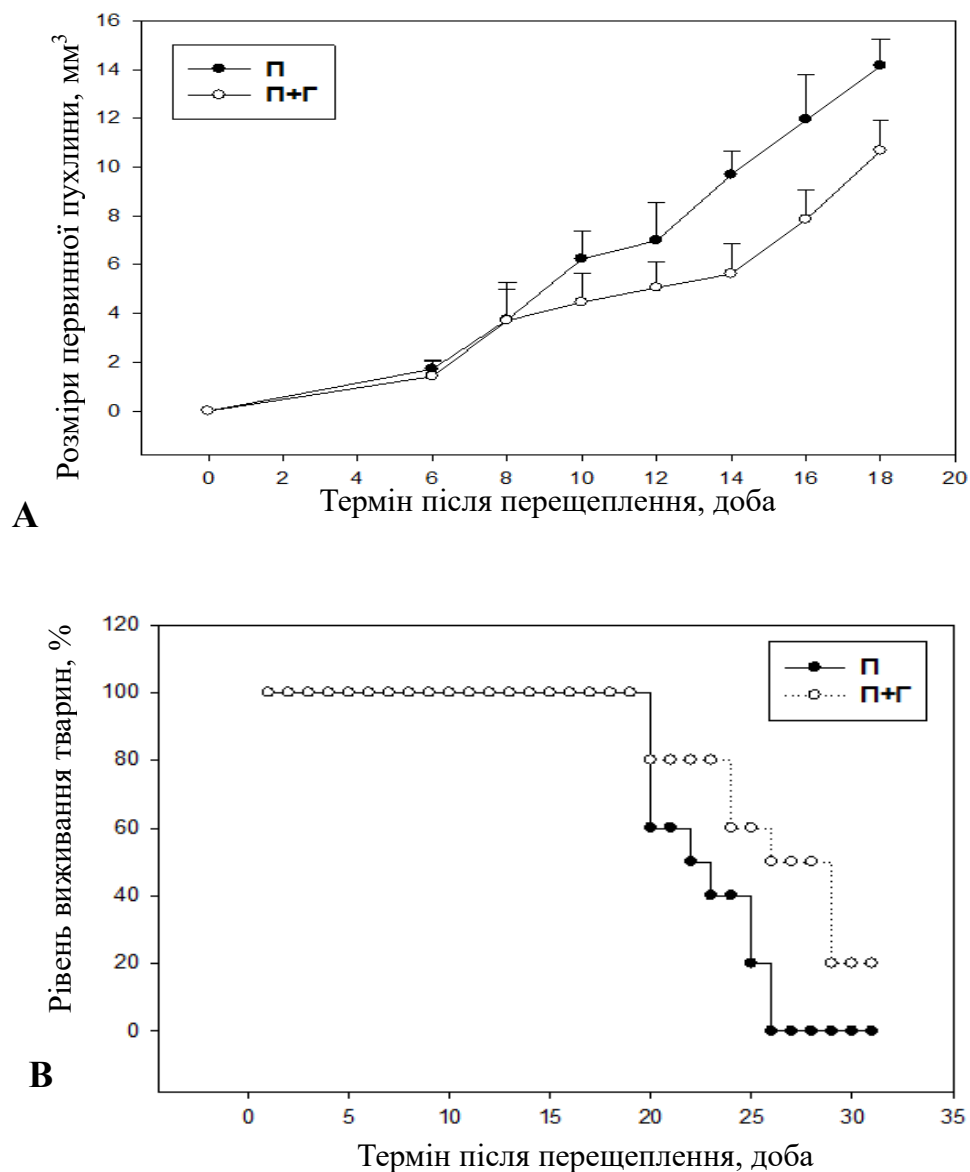


Рис. 6.9. Темпи росту первинної пухлини карциноми Льюїса (А) та рівень виживання мишей при рості пухлини (В)

Примітка (тут і надалі): П – тварини з перещепленою карциномою Льюїса; П+Г – тварини з перещепленою карциномою Льюїса, які, починаючи з 7 доби після перещеплення, щоденно отримували перорально 200 мкл водного екстракту міцелію гриба *T. versicolor*

Зокрема, починаючи з 10 доби після перещеплення карциноми Льюїса (3 доба після початку введення препарату) і до кінця експерименту, розміри первинної пухлини тварин дослідної групи були меншими на 30 % порівняно з показниками тварин контрольної групи (рис. 6.9 А). Показники тривалості життя дослідних тварин змінювалися синхронно відносно показників контрольної групи та майже не відрізнялися від них (рис. 6.9 В).

Однак варто зазначити, що до 20 % особин-пухлиноносіїв у групі, яка отримувала водний екстракт міцелію *T. versicolor*, залишалися живими навіть після 26-ї доби експерименту. Водночас 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. Виявлена тенденція заслуговує на подальше вивчення для встановлення механізмів дії активних компонентів гриба та їхнього впливу на онкологічний процес.

У період активного росту пухлини (18-та доба після перещеплення, 10-та доба після початку введення препарату) між показниками розмірів первинної пухлини в дослідній і контрольній групах спостерігалася статистично достовірна відмінність. Однак зменшення розмірів пухлини становило лише 24 %, що не дає підстав стверджувати про наявність вираженого протипухлинного ефекту препарату (рис. 6.10).

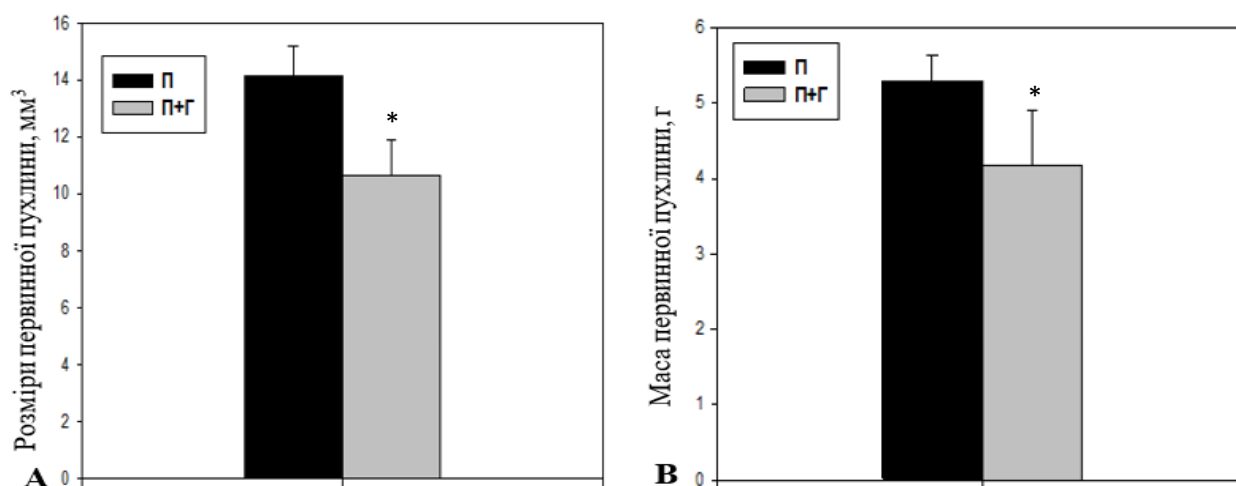


Рис. 6.10. Середній розмір (А) та маса (В) первинної пухлини карциноми Льюїса в мишей в період активного росту пухлини; * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою

Отримані дані можуть свідчити про початковий вплив активних компонентів водного екстракту міцелію *T. versicolor* на пухлинний процес, проте виявлений ефект є обмеженим. Це вказує на необхідність продовження досліджень із використанням вищих доз препарату, комбінованих терапевтичних підходів або тривалішого періоду спостереження для оцінки його потенційної протипухлинної активності. Частота метастазування у тварин обох груп становила 100 %, що свідчить про високу агресивність пухлинної моделі. Водночас у тварин дослідної групи спостерігалось статистично достовірне зниження кількості метастазів на 45 % порівняно з контрольною групою (рис. 6.11 А). Крім того, метастази в дослідній групі мали значно менші розміри (рис. 6.11 В, С).

На відміну від тварини контрольної групи, де виявлялась значна кількість злитих метастатичних вузлів, у тварин дослідної групи виявлялись переважно поодинокі метастази, що може свідчити про уповільнення їхнього розвитку або обмеження інвазивності пухлинних клітин під впливом водного екстракту міцелію *T. versicolor*. Ці результати демонструють потенційний вплив активних компонентів препарату на процес метастазування, зокрема зменшення поширення та обмеження росту вторинних пухлин.

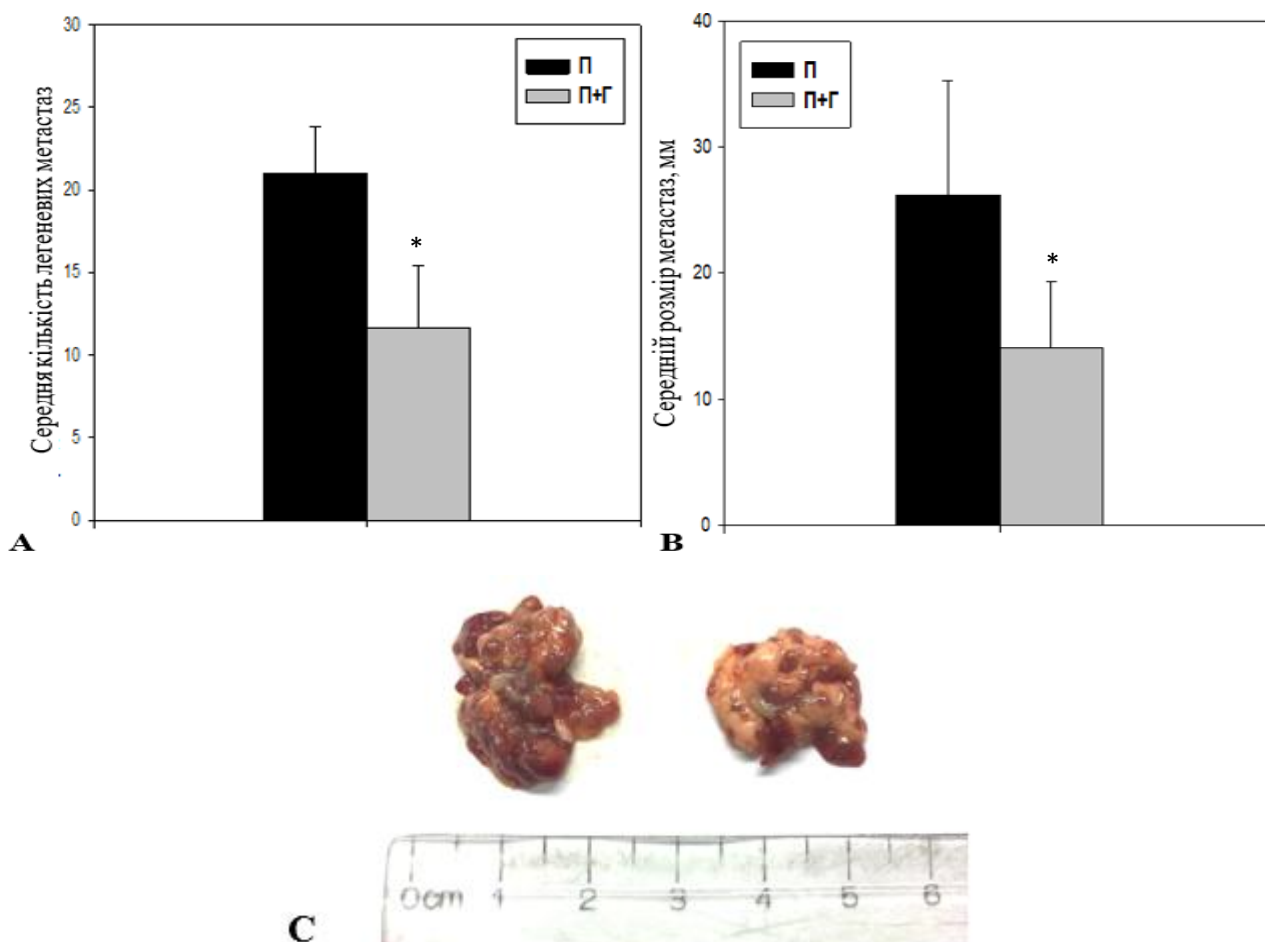


Рис. 6.11. Морфологічні показники метастазування карцином Льюїса у легнях мишей в період активного росту пухлини: **А** – середня кількість легневих метастазів; **В** – середній розмір легневих метастазів; **С** – репрезентативна мікрофотографія метастазів карциноми Льюїса у легнях тварин контрольної (ліворуч) та дослідної (праворуч) груп; * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою

Отже, отримані результати досліджень не дозволяють стверджувати про наявність значного протипухлинного та антиметастатичного ефектів при застосуванні даного режиму та дози введення препарату. Водночас, введення досліджуваного препарату призводило до появи *lag*-періоду у темпах росту злоякісного новоутворення та меншої вираженості показників росту карциноми Льюїса, що спонукає до пошуку та модифікації режимів введення даного препарату.

Аналіз можливих механізмів протипухлинної активності міцелію досліджуваних грибів свідчить про потенційну імуномодулюючу дію їхніх біоактивних компонентів. Виявлений вплив водних екстрактів дозволяє припустити, що полісахариди та полісахаридно-протеїнові комплекси, наявні у складі екстрактів, можуть відігравати ключову роль у стимуляції імунної системи. Ці речовини здатні активувати макрофаги, природні кілери (NK-клітини) та інші ефекторні клітини імунітету, сприяючи підвищенню протипухлинної резистентності організму.

Крім того, імуномодулювальні полісахариди можуть взаємодіяти з рецепторами клітин вродженого імунітету, такими як Toll-подібні рецептори (TLR), запускаючи сигнальні шляхи, що спричиняють продукцію цитокінів та стимуляцію імунної відповіді. Подальші дослідження можуть допомогти деталізувати механізми дії цих комплексів, що сприятиме розробці нових протипухлинних терапевтичних засобів на основі грибних екстрактів.

Дослідження показали, що біомаса *Trametes versicolor*, вирощена на комплексному середовищі, демонструє виражену імуностимулюючу дію. Зокрема, було зафіксовано підвищення функціональної активності клітин фагоцитарної системи та збільшення продукції ендogenous інтерферону, що свідчить про активацію як вродженого, так і набутого імунітету (Тітова та ін., 2015).

Ці результати узгоджуються з раніше виявленими властивостями грибних полісахаридів, які здатні активувати фагоцити, стимулювати синтез цитокінів та модулювати клітинні імунні реакції. Таким чином, біомаса *Trametes versicolor* може розглядатися як перспективне джерело імуномодуляторів з потенціалом для розробки протипухлинних та противірусних препаратів. У клінічних та доклінічних випробуваннях протипухлинна активність цього трутовика обумовлена, першочергово, полісахаридами на основі β -глюкану – полісахаропептидна фракція (PSP) та полісахаридна фракція, відома як крестин (PSK) (Fisher & Yang 2002; Cui & Chisti, 2003; Chang et al., 2017). Загалом, для виділених з *T. versicolor* полісахаридних, полісахарид-пептидних і полісахарид-

протеїнофих фракцій ряд дослідників (Mao et al., 1996; Ooi & Liu, 2000; Standish et al., 2008) пов'язують механізми дії з їх можливим прямим цитотоксичним ефектом (пригнічення процесу неконтрольованого зростання ракових клітин), а також з їх імуномодуючими властивостями. Ефект стимуляції проявляється у вигляді проліферації і активації моноцитів і макрофагів. Імуно-фармакологічною мішенню глюканів є клітини системи мононуклеарних фагоцитів (СМФ). Первинними акцепторами глюканів є купферовські клітини печінки, макрофаги селезінки, легенів, кісткового мозку, перитонеальні макрофаги. Розпізнавання високомолекулярних нерозчинних beta-D-глюканів, що запускають альтернативний шлях активації системи комплементу (група білків сироватки крові, що складається з протеаз та їхніх активаторів, є важливою частиною гуморального імунітету хребетних тварин) клітинами СМФ людини і мишей, відбувається завдяки існуванню на поверхні мембран цих клітин рецепторів beta-D-глюканів. 1-3;1-6-beta-D-глюкани активують клітини СМФ як прямим шляхом, так і через систему комплементу. Продукти активації обох систем, діючи через відповідні рецептори, втягують в запально-імунний процес все більшу кількість мононуклеарних фагоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів, лімфоцитів, тучних клітин і тромбоцитів. Ці продукти забезпечують мобілізацію, кооперацію і регуляцію клітинних процесів імунної відповіді. Глюкани стимулюють Т-лімфоцити із збільшенням рівня лімфокинів (клітинних медіаторів, таких як ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-10, ІЛ-12), TNF (пухлинний некроз-фактор) та інтерферону.

За результатами проведених експериментів встановлено наявність протипухлинної активності водного екстракту міцелію базидієвих грибів *Trametes versicolor* та *Auriporia aurea*. Вперше встановлено протипухлинну активність для міцелію *A. aurea*, що значно розширює можливості пошуку нових біологічно активних речовин природного походження. Варто зазначити, що міцелій обох грибів був вирощений на поживному середовищі з використанням шроту амаранту, який є багатим джерелом білків, вітамінів, мінералів та біологічно активних сполук. Використання цього субстрату могло сприяти

накопиченню у міцелії біологічно активних речовин, включаючи полісахариди, полісахаридно-протеїнові комплекси, фенольні сполуки та інші метаболіти з імуномодулюючими й протипухлинними властивостями.

Порівняльний аналіз показав, що водні екстракти міцелію продемонстрували вищу протипухлинну активність порівняно з суспензіями біомаси. Це може бути зумовлено тим, що екстрагування біологічно активних речовин у водне середовище полегшує їх засвоєння організмом тварин та покращує біодоступність активних компонентів. Зокрема, щоденне введення водного екстракту міцелію *Trametes versicolor* тваринам з карциномою Льюїса, починаючи з 7-ої доби після перещеплення пухлини, спричиняло зниження темпів росту первинної пухлини на 24 % та зменшення частоти легневих метастазів на 45 %. Ймовірно, це можна пояснити активацією клітин фагоцитарної системи, стимуляцією продукції ендogenous інтерферону та посиленням протипухлинного імунітету, зумовленим дією полісахаридів типу β -глюканів.

У випадку карциноми Герена водний екстракт міцелію *Trametes versicolor* знижував темпи росту пухлини на 65 % у період її активного розвитку, проте цей ефект не поширювався на термінальні стадії пухлинного процесу. Водночас тривалість життя 20 % тварин з цієї групи збільшувалася до 35-ої доби експерименту. Отримані результати можуть свідчити про індивідуальні реакції організму на введення грибних біоактивних речовин, потенційно пов'язані з підвищенням стійкості до пухлинного процесу через активацію протипухлинного імунітету або гальмуванням проліферації пухлинних клітин. Це підкреслює перспективність подальших досліджень щодо механізмів дії водного екстракту міцелію *Trametes versicolor* у боротьбі зі злоякісними новоутвореннями.

Отримані результати свідчать про значний терапевтичний потенціал міцелію базидієвих грибів, зокрема вирощеного на амарантовому шроті. Це середовище забезпечує оптимальні умови для біосинтезу протипухлинних метаболітів, що робить такі гриби перспективним джерелом нових природних

терапевтичних засобів. Вивчення механізмів їх дії, хімічного складу активних компонентів та можливостей промислового виробництва може сприяти створенню ефективних препаратів для онкологічної терапії, здатних покращити результати лікування, зменшити тяжкість ускладнень і підвищити якість життя пацієнтів.

6.7. Ранозагоювальна активність міцелію *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*

Очікується, що світовий ринок засобів для догляду за шкірою та ранами досягне 25,98 мільярдів доларів США до 2025 року (Avinash, 2025). Зростаючий попит на продукти для догляду за шкірою та ранами на ринку зумовлений, перш за все, збільшенням кількості хворих на цукровий діабет та підвищення обізнаності щодо догляду та лікування ран. Важливим напрямом сьогодення для України та сучасної біомедичної науки в цілому є розробка інноваційних перев'язувальних матеріалів, що забезпечують контроль мікрофлори рани, створюючи оптимальні умови для загоєння та стимулювання процесів регенерації тканин та запобіганню розвитку ускладнень, таких як інфекції, хронічні виразки або некроз тканин. У пацієнтів із пораненнями своєчасне і правильне лікування ран сприяє зниженню ризику розвитку сепсису та інших небажаних наслідків, що може суттєво вплинути на прогноз і тривалість реабілітації (Ibarz et al., 2024). Відомо, що різні синтетичні продукти для лікування ран можуть викликати токсичні побічні ефекти (Bennett et al., 2024). Сучасні підходи включають використання біоактивних матеріалів, антимікробних покриттів, біоінженерних тканин, а також застосування факторів росту, стовбурових клітин та інших інноваційних регенеративних технологій (Tatarusanu et al., 2023; Ansari & Darvishi, 2024; Yadav et al., 2024). Інтеграція передових технологій у лікування ран має позитивно вплинути на ефективність терапії та підвищення якості життя пацієнтів, тому пошук макроміцетів з ранозагоювальною активністю було наступним нашим етапом досліджень.

Потенційно перспективними є макроміцети, які демонструють антибактеріальні, протизапальні та регенеративні властивості. Встановлено, що екстракти плодових тіл базидієвих видів, зокрема *Agaricus bisporus*, *A. blazeiis*, *A. sylvaticus*, *Auricularia auricula*, *Calvatia gigantean*, *Daldinia concentrica*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *G. praelongum*, *Hericium erinaceus*, *Lentinula edodes*, *Lycoperdon echinatum*, *L. pusillum*, *Phallus impudicus*, *Phellinus gilvus*, *Pisolithus arhizus*, *Pleurotus sapidus*, *Sparassis crispa*, *Tremella fuciformis* (Sharifi-Rad et al., 2020), *Cantharellus cibarius* (Nasiry et al., 2017), *Phallus indusiatus* (Nazir et al., 2021), покращують загоювання ран.

Для проведення досліджень, спрямованих на визначення ранозагоювальної активності грибів, було відібрано два види: *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*. Вибір першого виду обумовлений його популярністю серед дослідників завдяки численним експериментальним підтвердженням терапевтичних властивостей, включно з ранозагоювальною активністю (Wang et al., 2024). Другий вид, *C. schevczenkovi*, навпаки, залишається малодослідженим.

Обидва види демонструють інтенсивний ріст як на агаризованих, так і на рідких живильних середовищах, що свідчить про їхню пластичність і здатність адаптуватися до різних умов культивування. В експериментальних умовах гриби активно росли на 17 із 20 досліджених субстратів, серед яких максимальний ріст забезпечував амарантовий шрот після CO₂-екстракції.

Результати цього дослідження показали, що досліджувані гриби мають різний потенціал терапевтичної активності (рис. 6.12). Ранозагоювальна дія водних екстрактів міцелію обох грибів була оцінена за допомогою висічної моделі загоювання ран (Verma et al., 2019). Цей метод забезпечує стандартизовану оцінку регенераційних процесів, дозволяючи вивчити вплив грибних екстрактів на швидкість закриття ранової поверхні, утворення грануляційної тканини та епітелізацію.

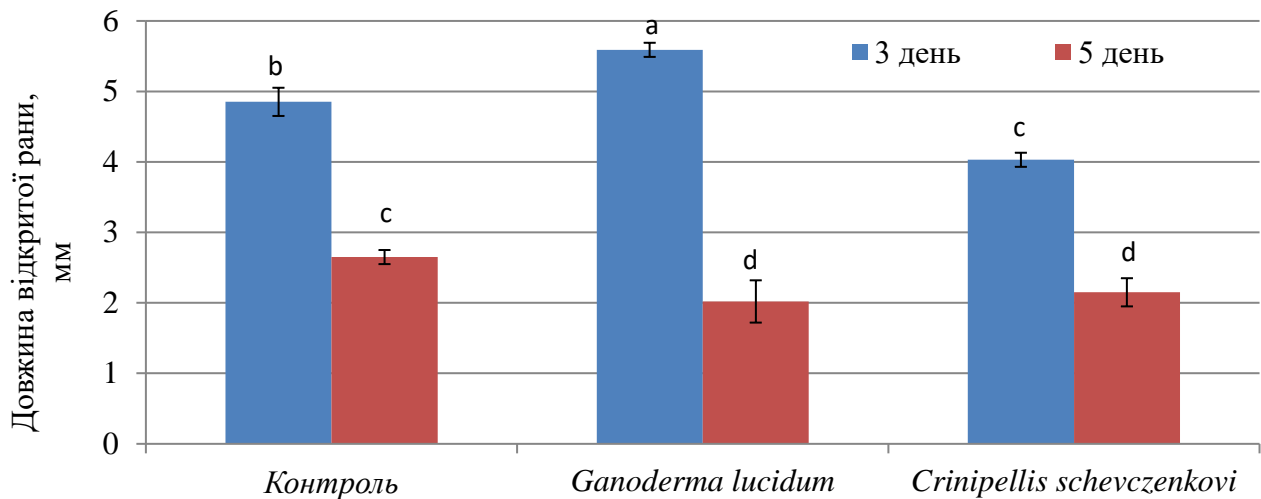


Рис. 6.12. Вплив водних екстрактів міцелію грибів на довжину відкритих ран шкіри

Застосування водних екстрактів міцелію обох видів грибів *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi* спричинило розвиток запального процесу у рановій ділянці, що підтверджено морфологічними змінами (рис. 6.13 А, В). Зокрема, введення екстракту міцелію *G. lucidum* у фазі запалення призвело до збільшення розміру рани, імовірно, через активацію імунної відповіді та посилення місцевого запалення.

Гістологічні дослідження підтвердили наявність запального процесу на клітинному рівні. У зразках тканин спостерігалось значне накопичення нейтрофілів та лімфоцитів у зоні ушкодження (рис. 6.13 С), що є типовою ознакою гострого запалення. Поверхня ран на третій день була покрита тонким шаром епітелію, який містив велику кількість лімфоцитів та ексудату, утворюючи струп (рис. 6.13 D). Це свідчить про активацію клітинного імунітету, спрямованого на боротьбу з потенційною інфекцією та очищення ранової поверхні. Хоча загоєння відбувалося, структура грануляційної тканини залишалася пухкою та набряклогою, що може вказувати на активацію ангіогенезу та інтенсивну клітинну проліферацію. Регенеративний валик по краях рани був слабо вираженим, але спостерігалось підвищення щільності грануляційної тканини на межі ранової поверхні (рис. 6.13 Е, F). Під шаром грануляційної тканини виявлялася значна кількість жирових клітин, що може бути наслідком

підвищеного кровопостачання та метаболічної активності в зоні ушкодження. На п'ятий день дослідження рани, оброблені екстрактом міцелію, були вкриті тонким шаром багатошарового плоского епітелію з ознаками ороговіння (рис. 6.13 G, H), що свідчить про активацію процесів епітелізації. Важливо зазначити, що ранові поверхні у дослідних групах були повністю закриті вже на шостий день експерименту (рис. 6.13 I, J), тоді як у контрольній групі цей процес завершувався лише на восьмий день.

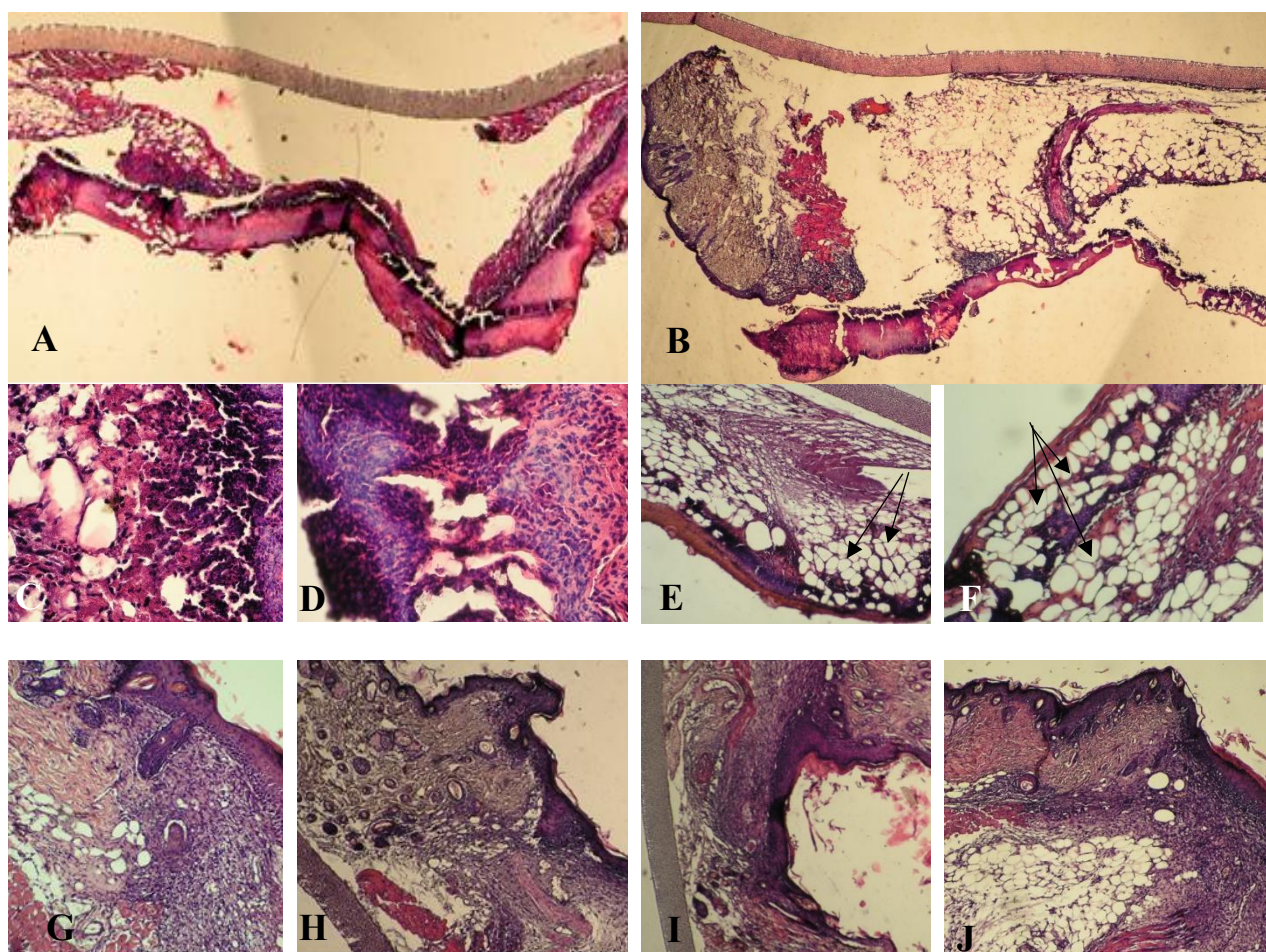


Рисунок 6.13. Гістологічне дослідження впливу водних екстрактів грибів на процес загоєння ран шкіри: запальний процес при застосуванні *G. lucidum* (A) та *C. schevczenkovi* (B); накопичення нейтрофілів і лімфоцитів (C) ексудат, що містить лімфоцити (D) велика кількість жирової тканини при застосуванні *G. lucidum* (E) та *C. schevczenkovi* (F); грануляційна тканина тонкого шару багатошарового плоского ороговілого епітелію за дії *G. lucidum* (G) та *C. schevczenkovi* (H); закрыта рана після застосування екстрактів *G. lucidum* (I) та *C. schevczenkovi* (J). Bar: A, B – 40 мкм; C, D, G – 200 мкм; E, F H, I, J – 100 мкм.

Відомо, що *Ganoderma lucidum* є одним з найвідоміших лікарських грибів серед з *Ganoderma* sp., має величезний потенціалом терапевтичного застосування та викликає високу зацікавленість дослідників, включаючи вивчення процесу загоювання ран (Hung et al., 2001, 2004; Gao et al., 2004; Tie et al., 2012; Cheng et al., 2013; Gupta et al., 2014; Lin et al., 2014). Дослідження із загоювання ран, були проведені раніше із плодовими тілами видів роду *Ganoderma*. Ефект прискорення загоювання ран шкіри був встановлений для *G. praelongum* (Hung et al., 2004).

У нашому дослідженні було виявлено гострий локальний запальний алергічний ефект водного екстракту міцелію *Ganoderma lucidum*, що відрізняється від результатів Gupta et al. (2014). У їхньому дослідженні вивчали ефективність загоєння ран шкіри за допомогою водного екстракту з плодового тіла цього гриба, не виявивши подібних небажаних реакцій. Однак наші результати узгоджуються з висновками Hung et al. (2001), які спостерігали подібний запальний ефект при застосуванні плодового тіла близького виду *G. tsugae*. Розбіжності між отриманими даними можуть пояснюватися відмінностями в джерелі дослідженого матеріалу (плодові тіла, міцелій), умовами культивування та методами екстракції. Міцелій, вирощений на амарантовому CO₂-шроті, може мати відмінний хімічний склад через накопичення специфічних біологічно активних речовин, включаючи імуномодулюючі полісахариди та фенольні сполуки, здатні викликати локальну імунну відповідь. Незважаючи на зростаючу кількість досліджень, присвячених ранозагоювальній активності грибів, механізми, що лежать в основі цього процесу, залишаються недостатньо з'ясованими. Більшість наукових робіт вказує на ключову роль полісахаридів, які містяться у грибах, у стимулюванні загоєння ран (Sharifi-Rad, 2020). Зокрема, дослідження Cheng (2013) показало, що полісахариди, екстраговані з плодового тіла *G. lucidum*, сприяють прискоренню загоєння ран у діабетичних щурів шляхом активації проліферації та міграції фібробластів – клітин, які відіграють центральну роль у синтезі міжклітинного матриксу та формуванні грануляційної тканини. Крім того, Tie et

al. (2012) продемонстрували, що екстракти цього гриба стимулюють ангиогенез, тобто утворення нових кровоносних судин, а також пригнічують окислювальний стрес, знижуючи рівень вільних радикалів, що можуть пошкоджувати тканини та перешкоджати процесам регенерації. Імуномодулююча активність полісахаридів *G. lucidum* також може відігравати важливу роль, опосередковано стимулюючи гуморальну ланку імунітету (Lai et al., 2010). Це сприяє виділенню протизапальних цитокінів, які забезпечують контроль над запальною реакцією та підтримують регенерацію тканин. Таким чином, аналіз даних літератури свідчить про багатофункціональну природу грибних полісахаридів, які діють через декілька клітинних і молекулярних механізмів, забезпечуючи комплексний вплив на процеси загоювання ран.

Результати дослідження показали, що водні екстракти міцелію *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*, культивованого на CO₂-шроті амаранту, проявляють виражену ранозагоювальну активність. Їх застосування стимулювало утворення грануляційної тканини, прискорювало епітелізацію та сприяло повному закриттю ран на 6-й день лікування, що було швидшим, ніж у контрольній групі. Зазначимо, що для *C. schevczenkovi* наявність такого терапевтичного ефекту встановлено вперше. Виявлено, що екстракти активували проліферацію фібробластів і формування нових кровоносних судин, забезпечуючи прискорене загоєння. Водночас спостерігалася помірна запальна реакція з накопиченням нейтрофілів і лімфоцитів у ділянках обробки екстрактами, що свідчить про активацію місцевої імунної відповіді.

Таким чином, використання водних екстрактів міцелію *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*, вирощених на середовищі з CO₂-шротом амаранту, може стати основою для розробки ефективних природних засобів з ранозагоювальною активністю. Однак необхідно враховувати можливість запальних реакцій та слід ще адаптувати дозування залежно від стану імунної системи організмів для мінімізації побічних ефектів. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на визначення специфічних біологічно активних

молекул, на оптимізацію їх дозування та визначення точного механізму їх дії для лікування шкірних ушкоджень і хронічних ран.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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>

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>

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>

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>

Барштейн, В., & **Круподьорова, Т.** (2015). Якісний і кількісний склад вуглекислотного екстракту амаранту та відходу екстракції – шроту. *Наукові доповіді НУБіП України*, 8(57).

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.

Москалюк О., Пешук Л., Гащук О., **Круподьорова Т.**, & Липка Х. Патент на корисну модель 101443. Київ: Державне патентне відомство України.

Москалюк О., Пешук Л., Гащук О., **Круподьорова Т.**, & Липка Х. Патент на корисну модель 101441. Київ: Державне патентне відомство України.

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».

Круподьорова, Т., Шмараков, І., Барштейн, В., Борщовецька, В., Кетца, О., Марченко М. (2015). *Противухлинна активність водного екстракту мицелію *Trametes versicolor* (L.) Lloyd*, Тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції «Новітні досягнення біотехнології та нанобіотехнології». Київ: «Мегапринт».

Krupodorova, T., Rybalko, S., Barshteyn, V. (2014). *Antiherpetic activity of Basidiomycetes mycelia in cell culture*, Матеріали IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології». Харків: НФаУ.

Круподерова, Т., Барштейн, В.Ю. (2014). Біоконверсія відходів агропромислового комплексу вищими грибами та шляхи використання її продуктів. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу. *Ukrainian Biochemical Journal*. 86(5), (Suplement 2), 198-199.

Пешук, 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 «Інтертехнодрук».

Peshuk, L., Haschuk, 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.

Круподьорова, Т., Барштейн, В., Пешук, Л., Гащук, О. (2013). *Біомаса *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., культивована на шротах 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».

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.

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.

РОЗДІЛ 7

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ МАКРОМІЦЕТІВ З МЕТОЮ ПІДВИЩЕННЯ ЇХ БІОСИНТЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Біосинтетична активність макроміцетів значною мірою залежить від умов їхнього культивування *in vitro*, що визначає рівень продукції біологічно активних сполук. Параметри умов культивування, такі як джерела вуглецю та азоту, рН, температура, аерація та наявність специфічних індукторів чи стимуляторів, впливають на фізіологічний стан міцелію, швидкість росту та накопичення вторинних метаболітів та метаболічні шляхи грибів. Зміна цих факторів може модулювати вторинний метаболізм, що визначає кількість та якість синтезованих сполук. З огляду на зростаючу потребу в нових природних метаболітах, дослідження живильних потреб базидіоміцетів є актуальним і перспективним. Встановлення оптимальних умов живлення сприятиме підвищенню продуктивності та якості отриманих біологічно активних речовин макроміцетів сприятиме як розкриттю їхнього біотехнологічного потенціалу, так і виявленню нових можливостей їх майбутнього використання у біотехнології, медицині, сільському господарстві та харчовій промисловості.

7.1. Встановлення живильних потреб *Lentinula edodes* та *Fomitopsis betulina* оптимальних для росту та набуття антибактеріальної активності

Сучасні дослідження базидіоміцетів спрямовані на визначення оптимальних умов культивування для підвищення синтезу біологічно активних речовин, зокрема антибактеріальних метаболітів. На основі результатів попередніх досліджень було обрано два ксилотрофних види, які продемонстрували найвищу антибактеріальну активність. До них належать їстівний лікарський гриб *Lentinula edodes* (синонім: *Lentinus edodes*) та умовно їстівний лікарський гриб *Fomitopsis betulina* (синонім: *Piptoporus betulinus*). Обидва види відомі своїми лікувальними властивостями, зокрема здатністю

синтезувати біологічно активні сполуки з антибактеріальними та антиоксидантними властивостями, що зумовлює їхній потенціал для використання у фармакологічних та біотехнологічних застосуваннях. *Lentinula edodes* є найвідомішим видом, який використовували як об'єкт для дослідження функціональних властивостей та виділення чистих сполук для фармацевтичного застосування (Finimundy et al., 2014). Відомості стосовно вегетативного росту *Fomitopsis betulina* та утворення метаболітів в культурі досить обмежені. Встановлення оптимальних живильних потреб є ключовим етапом для підвищення біосинтетичного потенціалу цих грибів у промислових і лабораторних умовах.

Відомо, що розвиток міцелію грибів залежить від температурних умов, оскільки температура безпосередньо впливає на біохімічні процеси, які забезпечують життєдіяльність грибів. Оптимальний діапазон температур визначається особливостями метаболізму грибних клітин, мембранних структур та активністю ферментативних систем. Встановлено ріст міцелію *F. betulina* та *L. edodes* у температурному діапазоні 24–30 °С. Зазначені види базидіоміцетів належать до групи мезофільних організмів, які характеризуються оптимальним ростом за помірних температур. Для *L. edodes* та *F. betulina* цей діапазон зазвичай становить від 15 до 40 °С. У таких умовах забезпечується максимальна швидкість росту міцелію та синтез біологічно активних метаболітів, що є критично важливим для дослідження їхніх фармакологічних властивостей, зокрема антибактеріальної та антиоксидантної активності. Температура 26–28 °С виявилася оптимальною для росту досліджених видів грибів (рис. 7.1). Подібні результати встановлено для двох штамів *L. edodes*, що продукували максимум біомаси за температури 25 °С при глибинному культивуванні (Song et al., 1987; Osman, 2009). Така ж температура виявилась кращою для радіального росту *L. edodes* на агаризованому середовищі (Khan et al., 1991). При стаціонарному культивуванні *L. edodes* протягом 24 днів оптимальною була температура 20 °С (Hasegawa et al., 2005). Температура 25 °С також виявлена оптимальною для росту трьох штамів (Dresch et al., 2015).

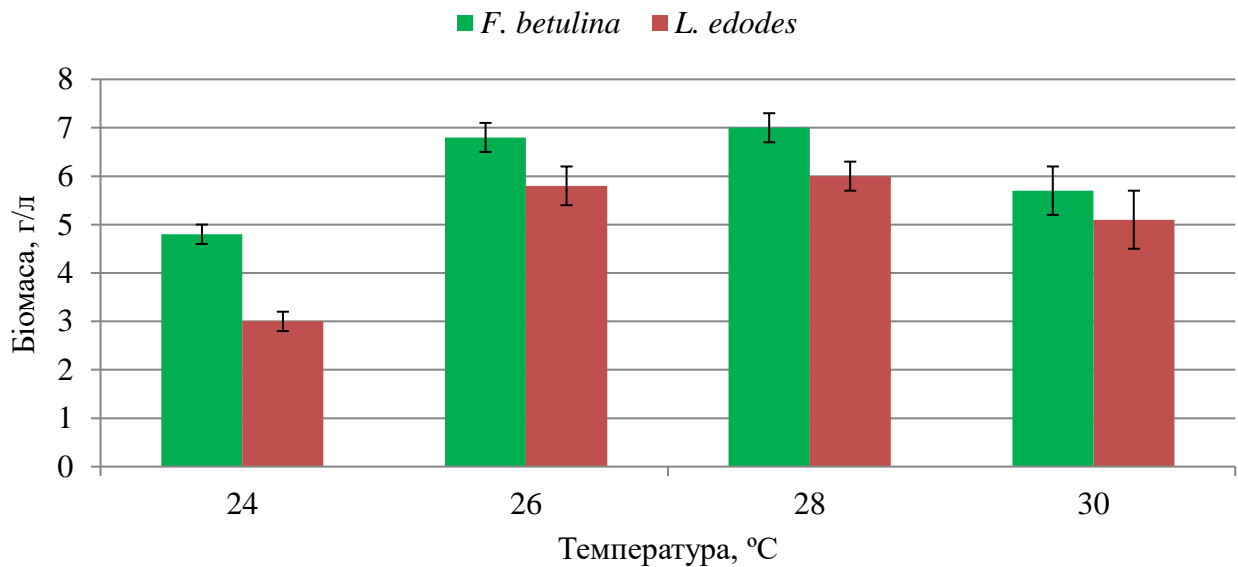


Рис. 7.1. Вплив температури культивування на ріст *F. betulina* та *L. edodes*

Здатність синтезувати міцелій є одним з основних показників, що характеризують продуктивність та життєздатність грибних культур. Цей параметр відображає здатність гриба до активного розмноження, що має важливе значення як у природних екосистемах, так і в промислових біотехнологічних процесах. Враховуючи статистичні похибки експериментів, 14 доба культивування є оптимальною для отримання максимальної кількості міцеліальної біомаси досліджених видів грибів (рис. 7.2). Відзначимо, отриманий нами вихід біомаси був вище, ніж у інших дослідженнях при глибинному культивуванні штамів *L. edodes*: після 5 днів 1 г/л (Kim et al., 2002), після 20 днів приблизно 3,5 мг / мл та 5,0 мг/мл (Hasegawa et al., 2005), після 21 дня 262 мг/мл (Tan & Moore, 1992), та при стаціонарній культурі (без перемішування): 4,3 мг/мл після 24 днів (Khan, 2002), 163 мг/мл після 28 днів (Tan & Moore, 1992). Лише кількість біомаси *L. edodes* була вищою за наші результати при використанні середовища з тирсою та кругового шейкера протягом 7 та 14 днів (Rudic & Dvornina, 2001). Зауважимо, що глибинне культивування (стаціонарна культура) у порівнянні з іншими методами має певні суттєві економічні переваги: нижча вартість, простіше реалізується процес культивування та, часто, продуктивність вища. Слід зазначити, що в окремому

дослідженні (Hasegawa et al., 2005) не було виявлено антибактеріальної активності культурального фільтрату *L. edodes* після глибинного культивування. Це може свідчити про специфічну залежність синтезу біологічно активних метаболітів від умов культивування, зокрема доступу до кисню, структури міцелію та фізико-хімічних параметрів середовища. Таким чином, культивування без перемішування може бути кращим вибором для промислового отримання антибактеріальних метаболітів певних видів.

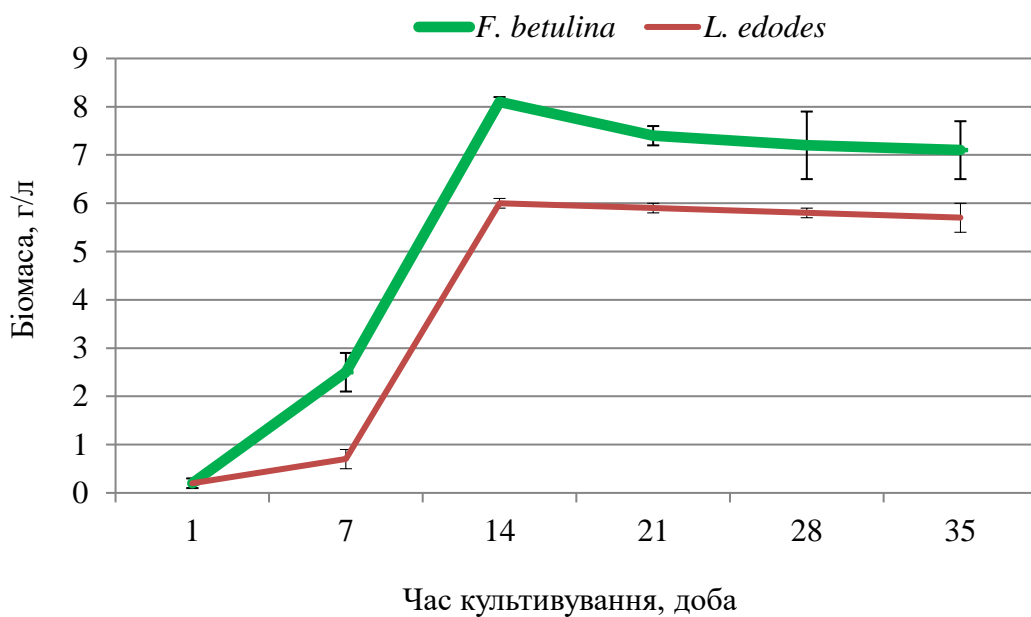


Рис. 7.2. Вплив тривалості культивування на ріст *F. betulina* та *L. edodes*

Загалом, антибактеріальна активність культуральної рідини обох досліджених видів грибів, *F. betulina* та *L. edodes*, виявилася більш вираженою порівняно з активністю їх міцелію (табл. 7.1, 7.2). Це може бути зумовлено вищою концентрацією біологічно активних сполук, що продукуються у культуральне середовище в процесі росту грибів. Отримані результати свідчать про потенціал використання культуральної рідини як джерела антибактеріальних речовин для подальших біотехнологічних досліджень.

Таблиця 7.1

**Вплив тривалості культивування на антибактеріальну активність
*F. betulina***

Доба культивування	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
7	14,8 ± 0,5	–	16,3 ± 0,5	–	19,0 ± 2,0	–
14	III	–	III	–	III	–
21	14,0 ± 0,9	–	20,0 ± 0,6*	–	III	11,5 ± 0,5
28	16,0 ± 0,6	13,3 ± 1,2	15,3 ± 0,3	12,5 ± 0,9	20,0 ± 0,0*	15,2 ± 0,9
35	17,7 ± 1,4*	–	16,0 ± 0,7	–	19,0 ± 0,6	–

Примітка (тут і надалі): «–» відсутність активності; КР – культуральна рідина; М – міцелій; «**III**» – повне інгібування росту культур (≥ 25 мм в діаметрі); * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Таблиця 7.2

Вплив тривалості культивування на антибактеріальну активність *L. edodes*

Доба культивування	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
7	12,0 ± 0,0*	–	–	–	11,8 ± 0,3*	–
14	III	–	III	–	III	–
21	III	–	III	–	III	–
28	III	–	III	20,0 ± 0,9*	III	–
35	III	III	III	III	III	III

Найвища антибактеріальна активність зразків *F. betulina* встановлена на 14 добу культивування (табл. 7.1). Антибактеріальна активність культуральної рідини *L. edodes* поступово зростала в період від 14 до 35-ї доби культивування (табл. 7.2). Вперше значну антибактеріальну активність було зафіксовано на 14-ту добу інкубації, що свідчить про початок синтезу біологічно активних сполук. Максимальна активність спостерігалася між 20-ю та 24-ю добами культивування в умовах стаціонарного культивування. Водночас у

культуральних фільтратах, отриманих в умовах аерації, антибактеріальна активність була відсутня (Hasegawa et al., 2005). Це вказує на вплив умов культивування на синтез антибактеріальних метаболітів, зокрема на значення кисневого режиму в процесі біосинтезу. Однаковий рівень антибактеріальної активності міцелію *Leucoraxillus giganteus* в залежності від джерела азоту встановлено на 15 та 60 дні культивування (Barros et al., 2014). Екзополісахарид, отриманий з культуральної рідини *Pleurotus ostreatus* показав високу активність проти бактерій після 15 днів вирощування (Sadik & Barakat, 2014). З огляду на те, що 14-та доба культивування виявилася оптимальною для росту міцелію та формування антибактеріальної активності обох досліджуваних видів грибів *F. betulina* та *L. edodes*, цей період було обрано для проведення подальших експериментів. Встановлений термін забезпечує достатню кількість біомасу та максимальну концентрацію біологічно активних сполук у культуральній рідині.

Обидва види грибів демонстрували схожу реакцію на досліджені рівні рН щодо накопичення біомаси та синтезу антибактеріальних метаболітів. Оптимальні значення рН сприяли максимальному росту міцелію та підвищенню концентрації біологічно активних сполук у культуральній рідині. Це вказує на важливість контролю кислотно-лужного балансу середовища культивування для досягнення максимальної продуктивності культур.

Отримані результати узгоджуються з результатами інших досліджень щодо здатності різноманітних видів грибів рости у широкому діапазоні значень рН. Загальновідомо, що кислотність поживного середовища в межах рН 5,0–6,5 є сприятливою для росту базидіоміцетів. Однак результати досліджень показали, що оптимальним для утворення міцелію досліджених видів є більш кисле середовище з рН 3,5–4,0 (рис. 7.3). Водночас максимальна антибактеріальна активність культуральної рідини обох видів грибів була зафіксована при рН 5,5 (табл. 7.3, 7.4). Це свідчить про диференційований вплив кислотності середовища на процеси росту та біосинтезу вторинних метаболітів, що вимагає оптимізації умов культивування залежно від поставленої наукової чи біотехнологічної мети.

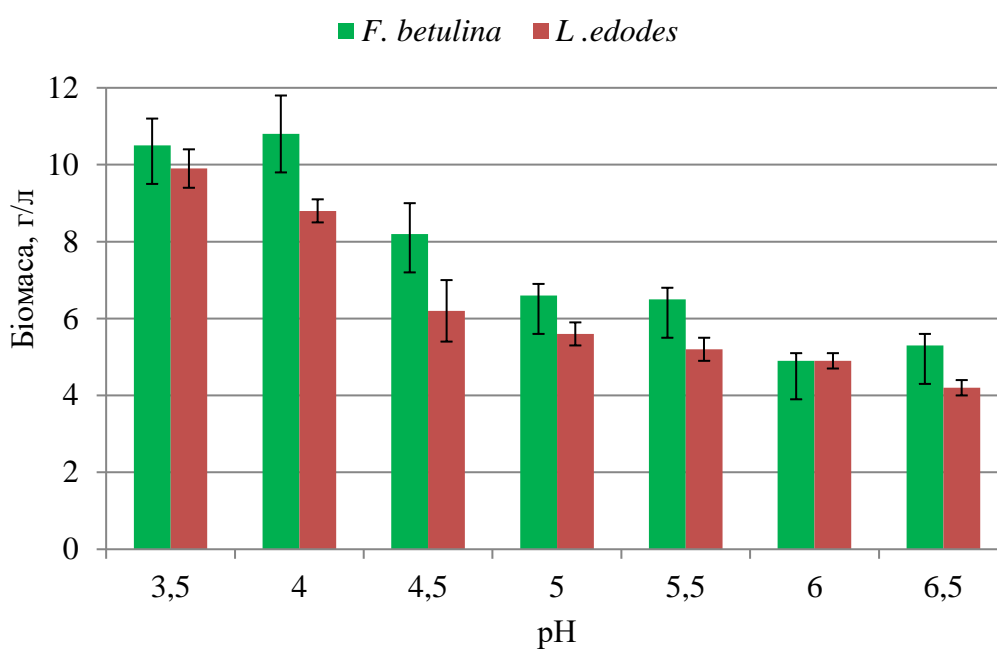


Рис. 7.3. Вплив кислотності поживного середовища на ріст *F. betulina* та *L. edodes*

Таблиця 7.3

Вплив кислотності поживного середовища на антибактеріальну активність *F. betulina*

pH	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
3,5	11,0 ± 0,4	–	12,5 ± 0,9	–	11,5 ± 0,5	–
4,0	10,3 ± 0,3	–	10,8 ± 0,3	–	18,3 ± 0,8*	–
4,5	10,7 ± 0,5	–	10,3 ± 0,3	–	12,5 ± 1,0	–
5,0	11,5 ± 0,9	–	10,8 ± 0,5	–	12,8 ± 0,6	–
5,5	III	–	18,3 ± 0,6*	–	III	–
6,0	III	–	14,2 ± 0,6*	–	20,7 ± 0,7*	–
6,5	III	–	–	–	III	–

Таблиця 7.4

Вплив кислотності поживного середовища на антибактеріальну активність***L. edodes***

рН	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
3,5	10,8 ± 0,3	–	12,0 ± 0,7	–	11,2 ± 0,5	–
4,0	10,7 ± 0,3	–	10,8 ± 0,3	–	13,8 ± 0,8	–
4,5	10,0 ± 0,8	–	10,3 ± 0,3	–	11,6 ± 0,5	–
5,0	10,5 ± 0,5	–	10,5 ± 0,5	–	12,8 ± 0,6	–
5,5	13,0 ± 1,0*	–	15,2 ± 0,8*	–	18,5 ± 0,7*	–
6,0	13,5 ± 1,1*	–	14,2 ± 0,6*	–	12,7 ± 0,3	–
6,5	13,5 ± 0,5*	–	14,0 ± 1,01*	–	10,5 ± 0,5	–

Hasegawa et al. (2005) відзначали рН 5,0 як оптимальну для набуття антибактеріальної активності *L. edodes*. Цей оптимум є досить близьким для деяких раніше проведених досліджень (Komemushi et al., 1995; Lomberh et al., 2002). Hasegawa et al. (2005) відмічають кислотність рН 3,0–3,5 сприятливу для росту міцелію, але краща антибактеріальна активність *L. edodes* встановлена при рН 4,5. Komemushi et al. (1995) відзначали рН 4,0 як оптимальну для росту *L. edodes*. Для росту іншого штаму *L. edodes* бажаним був рН 4,3–4,8 (Kim et al., 2002). На противагу, Osman et al. (2009) спостерігали максимальний міцеліальний ріст *L. edodes* при рН 7,0. Оптимальне значення рН на рівні 3,2 встановлено для *F. betulina* при поверхневому культивуванні (Lomberh et al., 2002).

Варто зазначити, що після завершення процесу культивування *F. betulina* та *L. edodes* спостерігалось значне зниження рівня рН живильного середовища з початкового значення 5,5 до 3,0. Це явище може бути пов'язане з накопиченням органічних кислот у процесі метаболізму грибів, зокрема в результаті активного розщеплення вуглеводів. Зниження рН може також сприяти стабілізації деяких антибактеріальних метаболітів, забезпечуючи підвищену біологічну активність культуральної рідини. Таким чином, контроль і моніторинг змін рН є важливими факторами при оптимізації умов культивування для отримання цільових

біологічно активних сполук. Такий встановлений нами кислотний рівень рН узгоджується з результатами інших дослідників: встановлено значення рН від 3,4 до 3,8 для росту *L. edodes* на різних рідких середовищах (Okeke et al., 1994; Hasegawa et al., 2005; Anike et al., 2015).

У живленні вищих базидієвих грибів основну роль відіграють сполуки вуглецю, які забезпечують два ключові метаболічні процеси: синтез структурних компонентів клітини та енергетичний обмін шляхом окислення (Rigoulet et al., 2020). Гриби здатні засвоювати різні форми сполук вуглецю, включаючи моносахариди, дисахариди та полісахариди.

Універсальним джерелом вуглецю є глюкоза, яка легко розщеплюється навіть при слабкому окисленні, забезпечуючи швидке надходження енергії для життєдіяльності клітини (Liu, 2022). Експериментальні дослідження показали, що для синтезу біомаси *F. betulina* найбільш ефективними джерелами вуглецю були целюлоза, сахароза та глюкоза, тоді як для *L. edodes* найкращими виявилися глюкоза та целюлоза (рис. 7.4). Це свідчить про видоспецифічні відмінності у використанні джерел вуглецю, що слід враховувати при розробці поживних середовищ для культивування цих грибів.

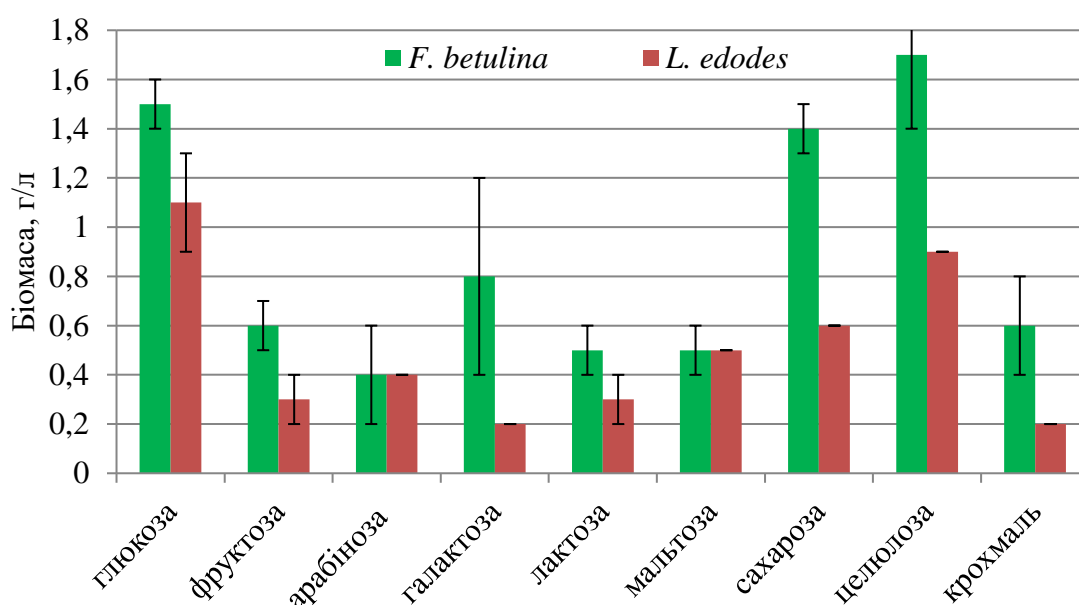


Рисунок 7.4. Вплив джерел вуглецю на ріст *F. betulina* та *L. edodes*

Різні джерела вуглецю сприяли максимальному утворенню міцелію *L. edodes*: глюкоза (Song et al., 1987), фруктоза (Osman et al., 2009), крохмаль (Khan et al., 1994), рисові висівки (Hasegawa et al., 2005), патока (Tan & Moore, 1992). Близький вид *L. tuber-regium* краще засвоював декстрозу (Manjunathan & Kaviyaran, 2011).

Дослідження показали, що активність *F. betulina* більшою мірою залежала від джерела вуглецю порівняно з *L. edodes* (табл. 7.5, 7.6). Зокрема, додавання галактози сприяло підвищенню антибактеріальної активності *F. betulina* (табл. 7.5), тоді як целюлоза виявилася найбільш ефективним джерелом вуглецю для *L. edodes* (табл. 7.6). Різниця в ефективності джерел вуглецю для *F. betulina* та *L. edodes* може бути пов'язана з їхніми фізіологічними та метаболічними особливостями. Ймовірно, *F. betulina*, має ферментні системи, здатні ефективно метаболізувати прості цукри, такі як галактоза, що стимулює синтез антибактеріальних метаболітів. У той же час, *L. edodes* є лігнінолітичним грибом, який краще адаптований до розщеплення складних вуглеводів, таких як целюлоза, через свою ферментну активність, орієнтовану на полімерні субстрати. Це пояснює різницю в продуктивності антибактеріальних метаболітів обох видів. Відповідні оптимальні джерела вуглецю використали в подальших експериментах.

Таблиця 7.5

Вплив вуглецевого живлення на антибактеріальну активність *F. betulina*

Джерело вуглецю	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
контроль	–	–	–	–	–	–
глюкоза	–	–	11,7 ± 0,3	–	–	–
фруктоза	–	–	12,0 ± 0,2	–	–	–
арабіноза	–	10,5 ± 0,3	–	11,0 ± 0,0	–	11,8 ± 0,5
галактоза	15,0 ± 0,4*	–	III	–	11,8 ± 0,6	14,4 ± 0,4*
лактоза	12,3 ± 0,3	–	10,8 ± 0,5	–	–	–
мальтоза	13,0 ± 1,0	13,0 ± 0,9*	–	–	–	13,0 ± 0,9*
сахароза	13,7 ± 1,8	–	–	–	11,0 ± 0,7	12,0 ± 0,7
целюлоза	–	–	–	–	–	–
крохмаль	–	11,0 ± 0,4	10,5 ± 0,5	–	13,0 ± 0,9*	–

Таблиця 7.6

Вплив вуглецевого живлення на антибактеріальну активність *L. edodes*

Джерело вуглецю	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
контроль	–	–	–	–	–	–
глюкоза	–	–	–	–	–	–
фруктоза	–	–	18,0 ± 0,0*	–	13,0 ± 0,7	–
арабіноза	11,5 ± 0,5*	–	–	–	13,3 ± 0,9	–
галактоза	–	–	–	–	–	–
лактоза	–	–	17,3 ± 1,4*	–	–	–
мальтоза	–	–	III	–	–	–
сахароза	–	–	–	–	–	–
целюлоза	III	15,5 ± 0,5*	III	19,0 ± 0,4*	III	–
крохмаль	–	–	–	–	–	–

Концентрація галактози не мала істотного впливу на синтез міцелію *F. betulina* (рис. 7.5А). Вірогідно, галактоза може слугувати джерелом вуглецю, забезпечуючи ріст міцелію, але її концентрація могла досягти рівня насичення, після якого додаткове підвищення вже не впливало на біомасу. Водночас її збільшення сприяло значному підвищенню антибактеріальної активності в екстракті гриба (табл. 7.7). Максимальна біомаса *L. edodes* та рівень антибактеріальної активності були отримані за наявності 25 г/л целюлози в середовищі культивування (рис. 7.5 В).

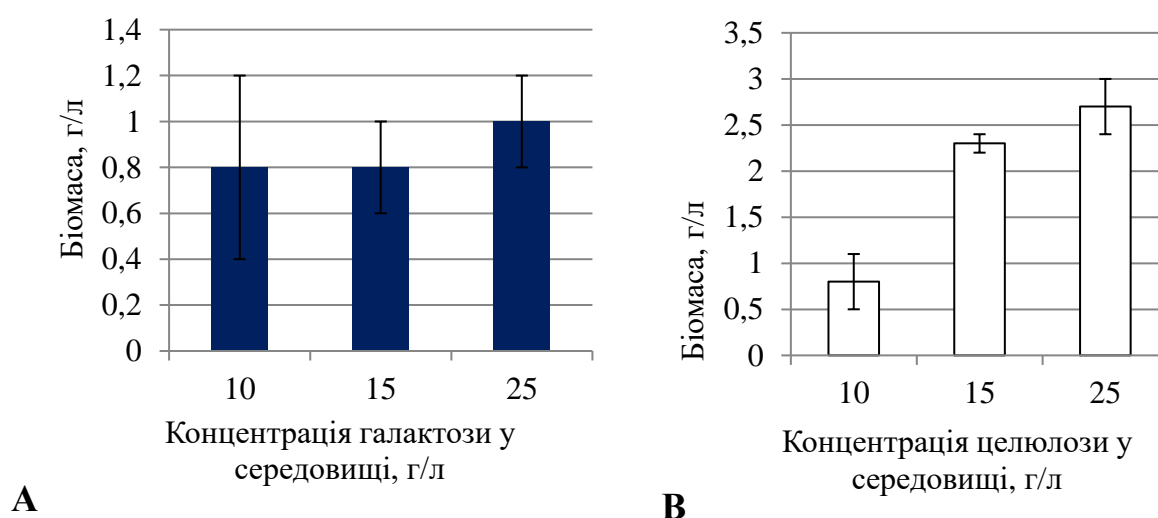


Рис. 7.5. Вплив концентрації галактози та целюлози на ріст *F. betulina* (А) і *L. edodes* (В) відповідно.

Таблиця 7.7

Вплив концентрації галактози на антибактеріальну активність *F. betulina*

Концентрація галактози, г/л	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
10	15,1 ± 0,7*	–	III	–	12,4 ± 0,3*	13,8 ± 0,6*
15	13,3 ± 0,9	–	–	–	11,0 ± 0,0	–
25	14,5 ± 0,7	–	–	–	–	–

Таблиця 7.8

Вплив концентрації целюлози на антибактеріальну активність *L. edodes*

Концентрація целюлози, г/л	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
10	III	14,0 ± 0,3*	III	18,5 ± 0,5*	III	–
15	–	–	19,2 ± 0,7*	–	–	–
25	–	–	13,0 ± 0,6*	–	–	–

Азотовмісні сполуки є ключовими компонентами білків, що утворюють основу протоплазми та відіграють важливу роль в обміні речовин грибів. Оскільки гриби не здатні фіксувати атмосферний азот, вони засвоюють його лише з неорганічних солей або органічних сполук. У цьому дослідженні аспарагін виявився найефективнішим джерелом азоту для утворення біомаси обох видів грибів (рис. 7.6). Сульфат амонію краще забезпечував ріст *F. betulina*, тоді як *L. edodes* краще реагував на нітрат амонію, що свідчить про різні потреби в азоті цих видів. Аналогічний ефект впливу амонію нітрату встановлено для *L. squarrosulus* (Anike et al., 2015). В іншому дослідженні, хлорид амонію забезпечував максимальний ріст *L. edodes* при глибинному культивуванні (Song et al., 1987). Khan et al. (1991) відзначили вирішальний вплив сечовини для міцеліального росту *L. edodes*. Надання переваги певному джерелу азоту для росту штамів *L. edodes* є штамоспецифічною ознакою: LC202 краще засвоював дріжджовий екстракт, LC2141 – NaNO_3 (Osman et al., 2009). Загалом, надання переваги органічному джерелу азоту встановлено і для інших базидієвих видів:

Auricularia auricular (Luo, 1993), *L. subnudus* (Kadiri & Fasidi, 1994), *L. tuberregium* (Manjunathan & Kaviyaran, 2011), *Pleurotus tuberregium* (Fasidi & Olorunmaiye, 1994), *P. ostreatus* (Nwokoye et al., 2010), *Tricholoma terreum* (Kibar & Peksen, 2011).

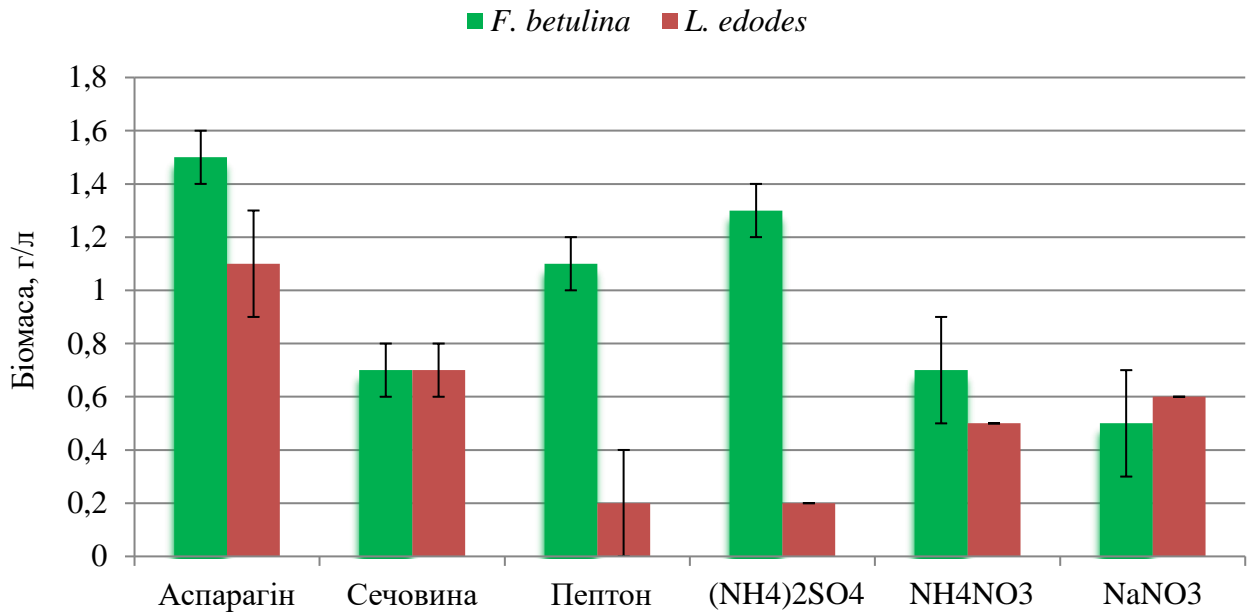


Рис. 7.6. Вплив джерел азоту на ріст *F. betulina* та *L. edodes*

Аналіз впливу джерел вуглецю та азоту на *F. betulina* і *L. edodes* свідчить про суттєві відмінності в їхньому метаболізмі. Це вказує на специфічні адаптації цих видів до різних джерел живильних речовин, що може бути пов'язано з їхніми ферментативними системами та екологічними нішами. В цілому, активність *F. betulina* виявилась більш хаотично залежною від джерел вуглецю порівняно з *L. edodes*. Джерела азоту не мали жодного впливу на активність міцелію *L. edodes*. Слід відзначити стабільну дію культуральної рідини *L. edodes* по відношенню до *Bacillus subtilis* (не залежно від джерела азоту). Встановлено, що пептон сприяв набуттю антибактеріальної активності *F. betulina* (табл. 7.9), а NH₄NO₃ – *L. edodes* (табл. 7.10). Ці джерела азоту використали в подальших експериментах. На ріст *F. betulina* не виявлено суттєвого впливу пептону при його внесенні від 1,5 до 4,5 г/л (рис. 7.7 А). Проте, додавання 1,5 та 3,0 г/л пептону стимулювало антибактеріальну активність *F. betulina* (табл. 7.11).

Збільшення кількості нітрату амонію прямо пропорційно впливало на ріст *L. edodes* (рис. 7.7 В). Набуттю антибактеріальної активності культуральною рідиною *L. edodes* сприяло наявність нітрату амонію у кількості 0,5–1,0 г/л (табл. 7.12). В іншому дослідженні дифосфат амонію $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$ збільшував антибактеріальну активність міцелію *Leucoraxillus giganteus* (Barros et al., 2007). Антибактеріальна активність екстракту корпофорів *Coprinus cinereus* покращувалася лише після додавання курячого гною в різних концентраціях (від 5 до 25 %) (Mwita et al., 2010).

Таблиця 7.9

Вплив джерел азоту на антибактеріальну активність *F. betulina*

Джерело нітрогену	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
Контроль	–	–	–	–	–	–
Аспарагін	–	–	11,7 ± 0,3	–	–	–
Сечовина	–	14,3 ± 1,2*	–	–	16,3 ± 0,8*	14,5 ± 0,5
Пептон	18,3 ± 1,8*	–	15,5 ± 1,6*	–	20,8 ± 1,3*	–
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	–	–	–	–	–	–
NH_4NO_3	10,5 ± 0,3	13,0 ± 0,4*	10,3 ± 0,3	11,0 ± 0,0	12,0 ± 0,0*	–
NaNO_3	15,5 ± 0,5*	–	11,5 ± 0,5	–	–	–

Таблиця 7.10

Вплив джерел азоту на антибактеріальну активність *L. edodes*

Джерело нітрогену	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
Контроль	–	–	–	–	–	–
Аспарагін	III	–	III	–	–	–
Сечовина	15,0 ± 0,0*	–	III	–	–	–
Пептон	–	–	III	–	10,7 ± 0,3	–
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	–	–	III	–	–	–
NH_4NO_3	III	–	III	–	10,0 ± 0,5	–
NaNO_3	III	–	III	–	–	–

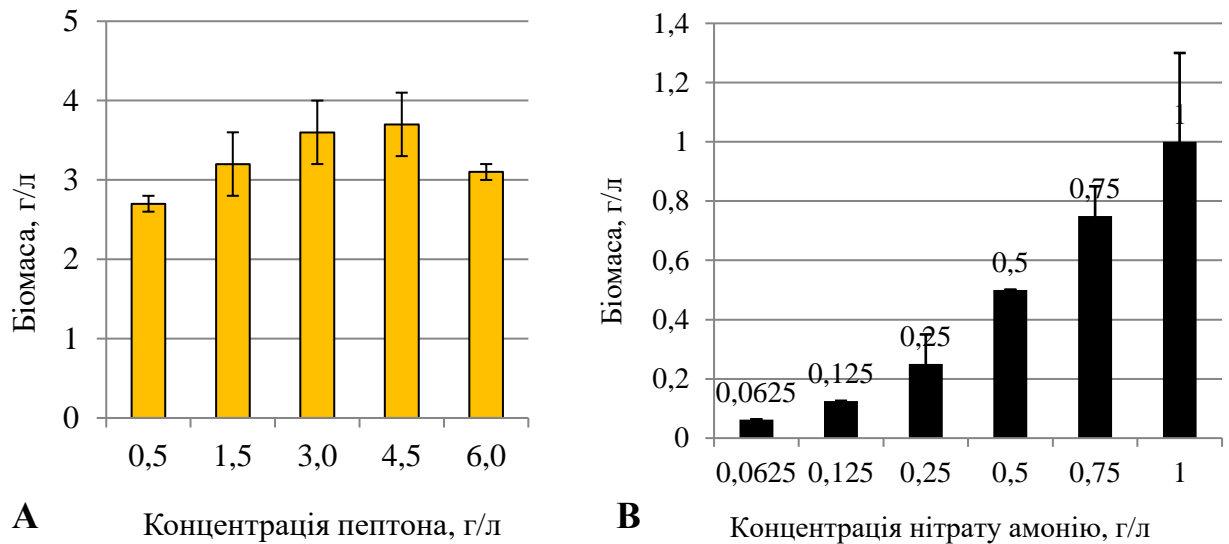


Рисунок 7.7. Вплив концентрації пептону (А) на ріст *F. betulina* та нітрату амонію на ріст *L. edodes* (В), відповідно.

Таблиця 7.11

Вплив концентрації пептону на антибактеріальну активність *F. betulina*

Концентрація пептону, г/л	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	KP	M	KP	M	KP	M
0,5	14,7 ± 1,8	–	12,5 ± 0,5	–	14,7 ± 0,9	–
1,5	15,0 ± 0,7	–	18,2 ± 1,7*	–	20,0 ± 1,1*	–
3,0	15,8 ± 1,2*	–	15,4 ± 0,9	–	18,0 ± 1,8	–
4,5	12,5 ± 0,6	–	11,2 ± 0,4	–	11,0 ± 0,6	–
6,0	12,5 ± 0,6	–	11,7 ± 0,9	–	–	–

Таблиця 7.12

Вплив концентрації нітрату амонію на антибактеріальну активність *L. edodes*

Концентрація нітрат амонію, г/л	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	KP	M	KP	M	KP	M
0,0625	21,7 ± 2,0	–	21,7 ± 1,4	–	22,5 ± 1,7	–
0,125	III	–	21,6 ± 2,0	–	21,3 ± 1,8	–
0,5	III	–	III	–	III	–
0,75	III	–	III	–	III	–
1,0	III	–	III	–	III	–

Встановлено, що набуття антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини *F. betulina* і *L. edodes* значною мірою залежало від основи поживного середовища культивування (табл. 7.13). Аналогічна тенденція була виявлена при глибинному культивуванні *Pleurotus citrinopileatus* і *Tricholoma crassum* (Chomcheon et al., 2013). Слід зазначити, що у досліджених нами видів спостерігається тенденція до вищої активності культуральної рідини грибів порівняно з їхньою міцеліальною біомасою.

Таблиця 7.13

Вплив живильного середовища культивування на антибактеріальну активність міцелію грибів та їх культуральних рідин

Види грибів		Зона пригнічення росту (мм)								
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633			<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 65388		
		МС	ШЗП	МР	МС	ШЗП	МР	МС	ШЗП	МР
<i>L. edodes</i>	М	-	-	-	12,5±0,4	-	-	-	-	-
	КР	-	-	13,5±0,2*	-	-	15,0±0,4	14,0±0,4*	-	12,5±0,6*
<i>F. betulina</i>	М	-	-	-	-	-	-	-	18,2±0,6*	-
	КР	12,8±0,5	-	11,7±0,3*	-	-	-	12,5±0,5*	10,3±0,3*	10,0±0,0*

Примітка: «-» відсутність активності; МС – макуха сої; ШЗП – шрот зародків пшениці; МР – макуха ріпаку

Враховуючи кращу антибактеріальну активність *F. betulina* для подальших досліджень було обрано цей вид. Дослідження глибинного культивування *F. betulina* показало, що максимальне утворення біомаси спостерігалось на 15-ту добу (рис. 7.8), тоді як пікова антибактеріальна активність – на 13-ту добу (табл. 7.14). Однак, порівняння з культивуванням за статичних умов (максимальний ріст та активність на 14-ту добу при концентрації 8 г/л) свідчить про економічну недоцільність глибинного культивування з перемішуванням через вищий ризик контамінації та складність технологічного процесу, оскільки різниця у добах культивування зовсім не суттєва. Це обґрунтовує вибір культивування за статичних умов як ефективнішої стратегії для потенційно промислового культивування *F. betulina*.

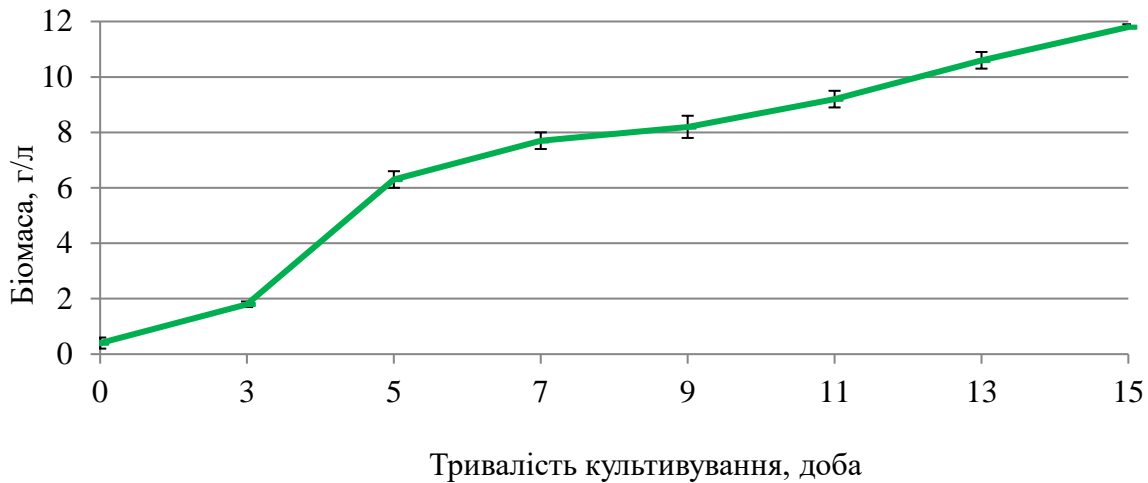


Рис. 7.8. Динаміка росту *F. betulina* при глибинному культивуванні на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі

Таблиця 7.14

Вплив тривалості глибинного культивування на антибактеріальну активність *F. betulina* за умови постійного переміщення

Доба культивування	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65388	
	КР	М	КР	М	КР	М
3	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–
7	11,5 ± 0,4	–	–	11,5 ± 0,5	–	–
9	10,0 ± 0,5	–	–	10,0 ± 0,5*	–	–
11	11,0 ± 0,6	–	–	12,2 ± 0,5	–	13,5 ± 1,0*
13	15,4 ± 0,4*	–	20,0 ± 0,7	23,0 ± 0,8*	–	22,3 ± 0,4*
15	12,0 ± 0,6	–	–	14,9 ± 0,8*	–	–

Одним із перспективних методів підвищення продуктивності грибів є індукований мутагенез, який сприяє створенню штамів із покращеними біосинтетичними властивостями. Серед різних мутагенів ультрафіолетове (УФ) світло виявляється найбільш доступним і ефективним інструментом. Мутагенний ефект УФ-випромінювання пов'язаний зі збудженням електронів у молекулах ДНК, що призводить до утворення точкових мутацій і структурних змін генетичного матеріалу.

Проведено серію експериментів з потенційно перспективним видом *F. betulina*, відібраним за результатами попередніх експериментів. Наші результати показали, що опромінення не впливало на морфологічні характеристики *F. betulina*, зокрема на тип міцеліального росту, колір або запах. Незмінність цих параметрів свідчить про стійкість гриба до умов опромінення, що може бути важливим для подальших біотехнологічних застосувань, де стабільність морфології є ключовим фактором. Це також вказує на потенційну можливість використання опромінення як стимулятора біосинтезу без шкоди для основних характеристик культури.

Максимальний ріст міцелію *F. betulina* було зафіксовано при 15-хвилинному впливі УФ-опромінення з дозою 0,85 кДж/см² (табл. 7.15). Це свідчить про стимулюючий ефект УФ-опромінення на міцеліальний ріст, незалежно від стадії розвитку культури. Можливо, короткочасне УФ-опромінення активує захисні механізми та синтез регуляторних сполук, які сприяють посиленню росту. Відсутність суттєвих відмінностей у біомасі за інших доз вказує на адаптаційну здатність гриба до умов опромінення.

Таблиця 7.15

Вплив тривалості ультрафіолетового опромінення *F. betulina* на синтез біомаси

Тривалість опромінення, хв	Кількість біомаси, г/л	
	Опромінення на 3-тю добу росту	Опромінення на 10-ту добу росту
0 (контроль)	3,2 ± 0,1	
5	3,3 ± 0,1	2,9 ± 0,3
15	3,6 ± 0,0*	3,7 ± 0,3*
30	3,3 ± 0,0	3,2 ± 0,1
45	3,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1
60	3,3 ± 0,1	2,6 ± 0,2

Основною складністю при порівнянні результатів досліджень (з метою корекції часу опромінення для збільшення росту грибів) є відсутність єдиного протоколу дослідження, в тому числі з використанням різної відстані між

УФ-лампю і об'єктом дослідження, довжини хвилі, загальної потужності випромінювання і доз опромінення. Тим не менш, наші висновки загалом погоджуються з деякими іншими дослідженнями. Опромінення протягом 20 хвилин показало найкращий ріст *Pleurotus columbinus* (El-Fallal et al., 2013). У інших дослідженнях було встановлено, що зі збільшенням тривалості опромінення, зростання міцелію *Pleurotus* spp. затримувалося (Ravishankar et al., 2006; Sharma & Sharma, 2014). Міцелій УФ-мутантного штаму *Pleurotus*, отриманий методом протопластного злиття, був не тільки значно швидшим у рості, але і більшим за розміром, ніж батьківські штами (Aswini et al., 2014). Також було відмічено, що у всіх трьох використаних середовищах спостерігалися варіації швидкості росту міцелію індукованих ультрафіолетом мутантів *Lentinus subnudus* (Majolagbe et al., 2013).

За результатами опромінення встановлено різні рівні антибактеріальної активності від 10,2 мм в діаметрі зони інгібування до повного пригнічення росту досліджених бактерій (табл. 7.16). Опромінення викликало зниження дії культуральної рідини *F. betulina* проти грампозитивних бактерій у порівнянні з контрольною величиною. Разом з цим, антибактеріальна активність культуральної рідини *F. betulina* по відношенню до *B. subtilis* зменшувалася зі збільшенням часу впливу. Найвища дія проти *S. aureus* виявлена після 5 хв випромінювання (0,28 кДж/см² доза опромінення), а потім також знижувалася. Було відмічено, що антибактеріальна активність культуральної рідини *F. betulina* проти *E. coli* порівняно з контролем, значно зростає і найбільша дія виявлена після опромінення протягом 15 хв (0,85 кДж/см² доза опромінення).

У літературі наведено епізодичні приклади аналогічних експериментів. Однак дослідження впливу УФ-опромінення на антибактеріальну активність *Ingoldiella hamata* показало його позитивний ефект при малих дозах: інгібування грампозитивних (*B. subtilis* і *S. aureus*) і грамнегативних культур (*E. coli* і *E. aerogenes*) максимально збільшувалися після 5 хв і 10 хв опромінення УФ відповідно (Sridhar, 2012). Виділені екзополісахариди з штамів *Pleurotus*

pulmonarius і *P. ostreatus*, які піддаються УФ-випромінюванню, також різною мірою інгібували ріст *E. coli* і *S. aureus* (Banlangsawan et al., 2016).

Таблиця 7.16

Вплив тривалості ультрафіолетового опромінення (на початку росту культури) на антибактеріальну активність культуральної рідини *F. betulina*

Тривалість опромінення, хв	Діаметр пригнічення росту бактерій, мм		
	<i>E. coli</i> АТСС 25922	<i>B. subtilis</i> АТСС 6633	<i>S. aureus</i> АТСС 65388
0 (контроль)	-	III	III
5	16,0 ± 4,0	16,0 ± 4,0*	III
15	22,1 ± 1,8*	15,5 ± 1,3*	18,0 ± 2,1*
30	16,8 ± 1,3	11,5 ± 0,8	12,8 ± 0,4
45	10,2 ± 0,7*	11,5 ± 0,9	14,0 ± 1,0
60	18,7 ± 1,7*	10,0 ± 0,0*	19,0 ± 1,0*

Примітка: «-» – відсутність інгібування, КР – культуральна рідина, М – міцелій

Результати проведених досліджень дозволили з'ясувати фізіологічні особливості культивування *Fomitopsis betulina* та *Lentinula edodes*, виявивши суттєві відмінності у їхніх метаболічних потребах та біосинтетичній активності. Встановлено, що *F. betulina* демонструє значну пластичність завдяки здатності ефективно метаболізувати прості вуглеці, зокрема галактозу, та набувати антибактеріальні метаболіти під впливом УФ-опромінення незалежно від стадії росту. Важливою особливістю стало визначення оптимальних джерел азоту: аспарагін сприяв максимальному утворенню біомаси обох видів, тоді як пептон стимулював антибактеріальну активність *F. betulina*, а нітрат амонію – *L. edodes*. Ці результати підкреслюють різні метаболічні стратегії видів, зумовлені специфічними ферментативними системами. Дослідження показали, що оптимальний рівень рН для росту міцелію становив 3,5–4,0, тоді як найвища антибактеріальна активність спостерігалася за рН 5,5. Це свідчить про необхідність контролю кислотності середовища для забезпечення максимального синтезу метаболітів.

Таким чином, результати проведених досліджень створюють наукову основу для розробки технологічних підходів для отримання природних антибактеріальних препаратів з використанням *F. betulina* та *L. edodes*. Виявлені особливості росту, потреби в джерелах вуглецю та азоту, а також ефективність УФ-опромінення як стимулятора біосинтезу дозволяють оптимізувати процес культивування цих видів. Це відкриває можливості для впровадження інноваційних біотехнологічних процесів у фармацевтичній та агропромисловій галузях, спрямованих на створення ефективних та екологічно безпечних препаратів.

7.2. Ріст, антиоксидантна активність та вміст фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lentinula edodes* в залежності від поживного середовища та екстрагента

Скринінг залишається ключовою стратегією та базовим підходом у пошуку перспективних видів грибів. За результатами дослідження антиоксидантної активності та вмісту фенольних сполук ми відібрали для подальших досліджень *Fomitopsis pinicola* та *Lentinula edodes*, міцелій яких мав найбільшу здатність знешкоджувати вільні радикали. Ріст обраних видів грибів оцінювали за біомасою (рис. 7.9), при цьому спостерігали певні відмінності в накопиченні міцеліальної біомаси. Оцінка біомаси є ключовим етапом для подальших процесів ферментації та виробництва, оскільки цей показник відображає потенціал і промислову життєздатність кожного виду. Зокрема, середовище ГПД сприяло кращому росту обох видів порівняно з середовищем Сабуро. Незалежно від поживного середовища *F. pinicola* синтезував більше біомаси ($8,5 \pm 0,2$ і $6,7 \pm 0,3$ г/л), ніж *L. edodes*. Порівняно з нашими результатами, Choi et al. (2007) встановили вихід біомаси на рівні 7,9 г/л і 10,4 г/л для *F. pinicola* до і після оптимізації умов культивування, відповідно. Різні умови культивування *L. edodes* демонструють значну варіабельність отриманої біомаси: від 2,75 до 6,88 г/л (Feng et al., 2010) та від 2,5 до 10,5 г/л (Bisko et al., 2020).

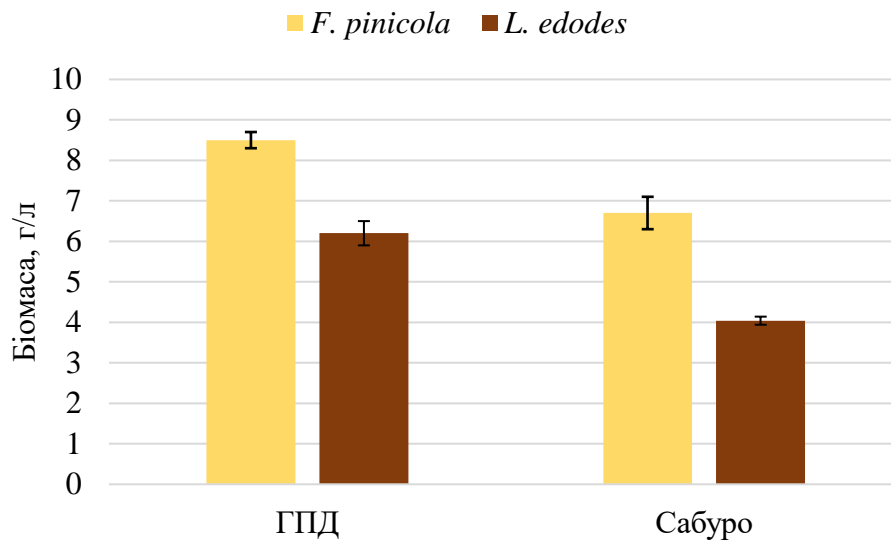


Рис. 7.9. Вплив поживного середовища культивування на ріст грибів

На основі наших результатів, *F. pinicola* має перевагу над *L. edodes* завдяки своїй більшій здатності синтезувати біомасу на обох поживних середовищах. Ми використовували два різних поживних середовища: напівсинтетичне ГПД і складне середовище Сабуро, яке є більш органічним. Посилений ріст обох грибів на середовищі ГПД можна пояснити кількома факторами, зокрема біодоступністю та засвоєнням джерел вуглецю та азоту в поживному середовищі, їх співвідношенням та наявністю мінеральних компонентів. Добре відомо, що глюкоза швидко розщеплюється і легко постачає клітинну енергію грибам (Garraway & Evans, 1984), що узгоджується з результатами численних досліджень різних базидієвих видів грибів (Krupodorova et al., 2021b). Різниця у формуванні біомаси, ймовірно, також пов'язана з впливом компонентів поживного середовища на метаболічні шляхи грибів (Flores et al., 2022). У попередніх дослідженнях також повідомлялося, що певні мінеральні елементи, такі як магній і калій, які входять до складу ГПД, також стимулюють ріст міцелію (Jonathan & Fasidi, 2001; Petre & Teodorescu, 2009; Włodarczyk et al., 2020).

На прикладі *F. pinicola* та *L. edodes* було визначено вплив поживного середовища та типу екстрагента на рівень їх антиоксидантної активності (рис. 7.10). Усі використані розчинники екстрагували антиоксидантні сполуки,

здатні інактивувати стабільний радикал DPPH. Однак найвищий рівень інгібування DPPH (90 %) спостерігався в MeOH-екстракті міцелію *F. pinicola*, вирощеного на середовищі Сабуро. Порівняно з нашими результатами, Jiamworanunkul (2019) отримав нижчі значення (від $31,42 \pm 0,40$ до $53,37 \pm 0,44$ %) інгібування DPPH у метанол-етилацетатному екстракті міцелію *L. edodes*. Слід зазначити, що різниця між екстрактами міцелію обох макроміцетів, отриманими за допомогою EtOAc, MeOH, H₂O та 70 % EtOH після культивування на середовищі ГПД, виявилася незначною порівняно з екстрактами, отриманими з міцелію, вирощеного на середовищі Сабуро. Вірогідно склад екстрактів міцелію, вирощеного на середовищі ГПД, був відносно стабільним незалежно від використаного екстрагента. На відміну від цього, у середовищі Сабуро відбулися більш виражені зміни складу екстрактів залежно від обраного розчинника. Це може свідчити про різну біосинтетичну активність міцелію на цих середовищах або про різну здатність екстрагентів вилучати біоактивні сполуки в умовах, створених в середовищі Сабуро.

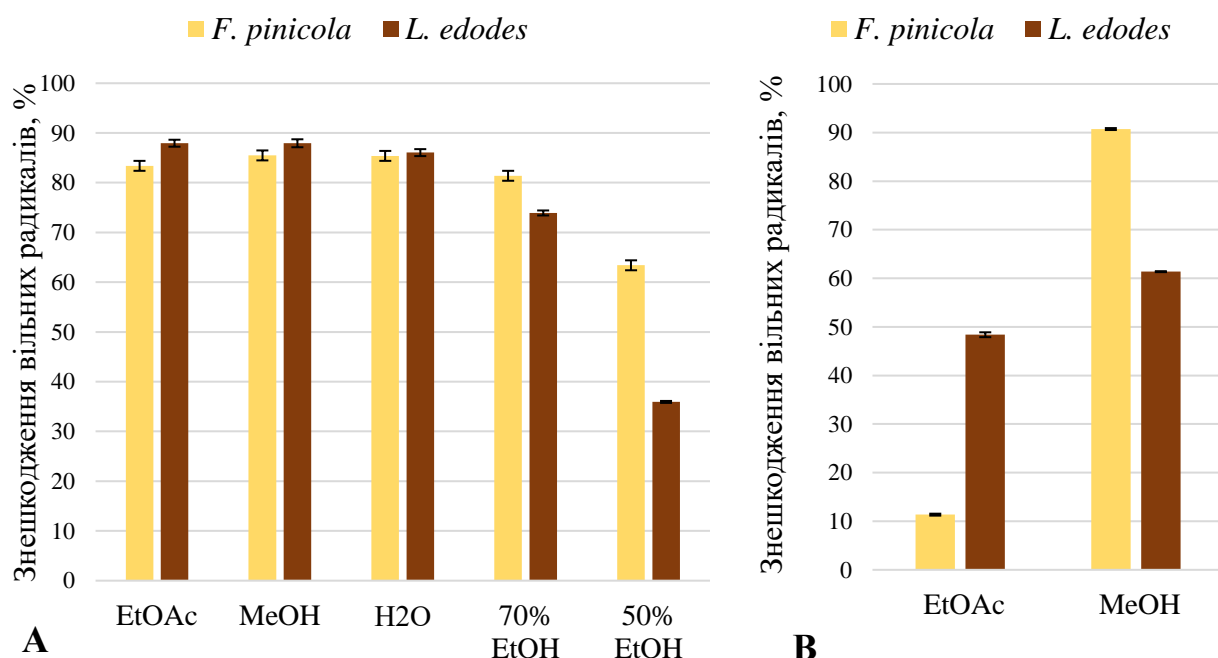


Рис. 7.10. Вплив живильного середовища ГПД (А) і Сабуро (В) та екстрагента на рівень антиоксидантної активності грибів

Наскільки нам відомо, наявність антиоксидантної активності міцелію *F. pinicola* встановлено нами вперше. Однак антиоксидантну активність етанольних та метанольних екстрактів плодових тіл *F. pinicola* було раніше виявлено в роботах Onar et al. (2016) та Kozarski et al. (2024), відповідно. За даними різних досліджень, антиоксидантну активність міцелію *L. edodes* визначали у різних екстрактах, отриманих за допомогою метанолу (Turło et al., 2010; Reis et al., 2012b), води (Kalyoncu et al., 2010; Turło et al., 2010), етанолу (Kalyoncu et al., 2010; Suruga et al., 2022), хлороформу (Kalyoncu et al., 2010), метанолу з наступною екстракцією етилацетатом (Jiamworanunkul, 2019). Kalyoncu et al. (2010) зазначили, що етанол є кращим екстрагентом порівняно з хлороформом і водою, тоді як Turło et al. (2010) спостерігали вищі результати з метанолом порівняно з водою.

Загалом, середовище ГПД продемонструвало кращу здатність стимулювати антиоксидантну активність у міцелії порівняно з середовищем Сабуро. Вірогідно, поживне середовище ГПД створювало умови, які сприяли більш активному синтезу антиоксидантних сполук у міцелії досліджених макроміцетів. Можливими причинами можуть бути вищий вміст живильних речовин, сприятливіший рН або інші фізико-хімічні властивості ГПД, які підтримували метаболічні процеси, пов'язані з виробленням біоактивних речовин. Вплив середовища культивування на прояв антиоксидантної активності було встановлено і в інших дослідженнях (Barros et al., 2008; Dulay et al., 2016; Rebbapragada & Kalyanaraman, 2016; Souilem et al., 2017; Darsih et al., 2019; Jiamworanunkul, 2019; Flores et al., 2022). Це може бути пов'язано з оптимальними умовами культивування, які забезпечує певне середовище, сприяючи накопиченню біологічно активних сполук з антиоксидантними властивостями.

Вплив джерел вуглецю в поживному середовищі на антиоксидантну активність також вивчався (Barros et al., 2008). Так, вища антиоксидантна активність міцелію *Leucoraxillus giganteus* спостерігалася при використанні глюкози як джерела вуглецю, тоді як нижча антиоксидантна активність була

виявлена при використанні манітолу. Етилацетатні екстракти міцелію *Volvariella volvacea* та *Schizophyllum commune* показали різний відсоток інгібування DPPH залежно від рідкого середовища, але ефект кокосової води був порівнянний з ефектом картопляно-декстрозного бульйону (Dulay et al., 2016). Подібну ефективність метанольних екстрактів *Pleurotus eryngii* та *Suillus belinii* щодо радикала DPPH спостерігали на твердих середовищах (КДА та неповне середовище Меліна-Норкранса), на відміну від більш значних відмінностей у результатах інактивації DPPH, виявлених при використанні цих рідких середовищ (Souilem et al., 2017). Картопляно-декстрозний дріжджовий бульйон був більш придатним, ніж бульйон Чапека-Докса і бульйон з солодовим екстрактом для інактивації DPPH міцелієм *Xylaria feejeensis* (Rebbapragada and Kalyanaraman, 2016). Сахарозний бульйон дріжджового екстракту підтримував інгібування DPPH етилацетатними екстрактами міцелію *S. commune*, *Lentinus polychrous* порівняно з бульйоном солодового екстракту, картопляно-декстрозним бульйоном, тоді як мальт екстрактне середовище було більш придатним для *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* і *Lentinus squarrosulus* (Jiamworanunkul, 2019). Метанольні екстракти *Ganoderma lucidum*, отримані після культивування на картопляно декстрозному середовищі, показали кращий антиоксидантний ефект порівняно з результатами, отриманими на природному середовищі з цукрової кукурудзи (Darsih et al., 2019).

Слід зазначити, що метод визначення антиоксидантної активності також відіграє важливу роль у формуванні результатів. Зокрема, антиоксидантна активність 24 ізолятів *Pleurotus* було проаналізовано за допомогою тестів DPPH та ABTS (Flores et al., 2022). При цьому для деяких зразків культуральне середовище не впливало на результати тесту DPPH, тоді як у тесті ABTS середовище культивування завжди мало суттєвий вплив на отримані показники. Результати, отримані Flores et al. (2022), також свідчать про видоспецифічну особливість міцелію видів *Pleurotus* набувати антиоксидантної активності залежно від живильного середовища та методу дослідження антиоксидантної активності.

Аналіз даних літератури і наші дослідження підкреслюють важливість вибору поживного середовища для максимального синтезу антиоксидантних метаболітів під час культивування макроміцетів.

Феноли відіграють одну з ключових ролей у нейтралізації вільних радикалів та захисті від оксидативного стресу (Rudrapal et al., 2022; Martinez-Burgos et al., 2024). Це також може означати, що феноли відіграють важливу роль у стратегіях адаптації та виживання організму (Morales-Vargas et al., 2024).

Відомо, що різні фактори мають вплив на синтез біологічних сполук, що і обумовило наш наступний етап дослідження. Як і передбачалося, було встановлено вплив поживного середовища та типу екстрагента на вміст фенольних сполук у міцелії *F. pinicola* та *L. edodes* (рис. 7.11). Вищий вміст фенольних сполук на рівні $40,00 \pm 0,60$ мг ЕГК/г, $38,00 \pm 0,10$ мг ЕГК/г та $37,80 \pm 0,10$ мг ЕГК/г виявлено в міцелії *L. edodes*, вирощеному на ГПД та екстрагованому водою, водно-етанольним розчином та метанолом, відповідно. Максимальний вміст фенольних сполук ($38,53 \pm 0,40$ мг ЕГК/г) у міцелії *F. pinicola* отримано в метанольному екстракті при культивуванні на середовищі Сабуро.

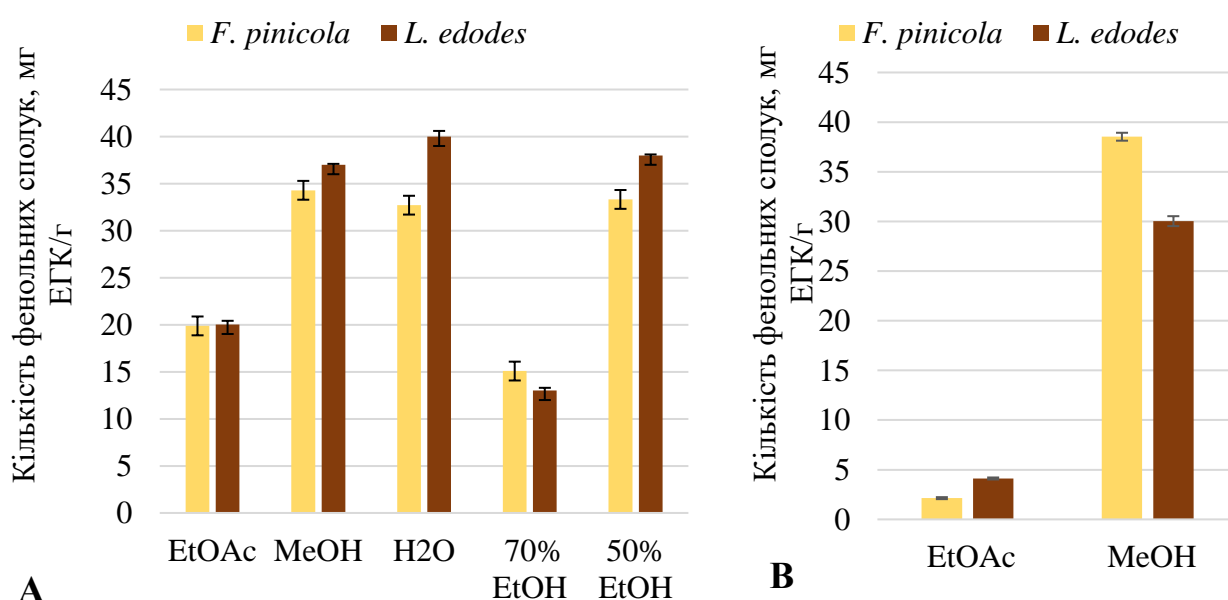


Рис. 7.11. Вплив живильного середовища ГПД (А) і Сабуро (В) та екстрагента на вміст фенольних сполук грибів

Раніше у плодових тілах *F. pinicola* виявлено значно вищі рівні фенольних сполук $133,1 \pm 6,2$ мг/г (Kozarski et al., 2024), $1278,0 \pm 2,9$ мг ЕГК/г та $313,2 \pm 5,8$ мг ЕГК/г (Onar et al., 2016). Нещодавно у плодових тілах *F. pinicola* було ідентифіковано ванілін та різні фенольні кислоти, зокрема галову, елагову, протокатехову, п-гідроксибензойну, сирінгову та хлорогенову (Kozarski et al., 2024).

Ефективність екстракції фенольних сполук безпосередньо залежить від вибору екстрагента, що обумовлено різною полярністю розчинників та їх селективністю до вилучення біологічно активних речовин, зокрема фенольних сполук. Можливість визначення фенольних сполук у міцелії *L. edodes* з використанням різних розчинників узгоджується з іншими дослідженнями. Нижчі рівні фенольних сполук у міцелії *L. edodes* встановлено на рівні: $12,53 \pm 0,30$ мг ЕГК/г у метанольному екстракті (Reis et al., 2012b) $10,0 \pm 0,15$, і $13,98 \pm 0,3$ мг/г – у водному та метанольному екстрактах міцелію *L. edodes* (Turło et al., 2010), від 0,619 до 0,773 мг ЕГК/100 г (Jimenez et al., 2023). Порівняно з нашими результатами, Jiamworanunkul (2019) відмічав вищий вміст фенольних сполук ($43,80 \pm 0,38$ мг ЕГК/г) в етилацетатних екстрактах міцелію *L. edodes*, отриманих після росту в середовищі з мальт екстрактом, і нижчі ($12,09 \pm 0,69$ і $19,0 \pm 0,13$ мг ЕГК /г) – у картопляно-декстрозному середовищі та у середовищі дріжджовим екстрактом, відповідно. У міцелії *L. edodes* було ідентифіковано кілька фенольних кислот, включаючи протокатехову кислоту та п-гідроксибензойну кислоту (Reis et al., 2012b), а також гомогентизинову, гентизинову та кавову кислоти (Vamanu et al., 2018).

Вплив середовища культивування на вміст фенольних сполук було продемонстровано в попередніх дослідженнях для інших видів макроміцетів. Культивування на картопляно-декстрозно-дріжджовому середовищі виявилось найкращим для визначення фенольних сполук в метанольному екстракті міцелію *Xylaria feejeensis* у порівнянні з картопляно-декстрозним середовищем, середовищем Чапека-Докса, і середовищем на основі солодового екстракту (Rebbaragada & Kalyanaraman, 2016). Максимальні рівні фенольних сполук були

визначені в міцелії *Ganoderma lucidum* і *Lentinus squarrosulus* на середовищі з мальц екстрактом, тоді як картопляно декстозне середовище і середовище з дріжджовим екстрактом були оптимальними для *L. polychrous* і *Schizophyllum commune*, відповідно (Jiamworanunkul, 2019).

Для оцінки взаємозв'язку між вмістом фенольних сполук та антиоксидантною активністю було проведено кореляційний аналіз за методом Пірсона (табл. 7.17). Відповідно до шкали Evans (1996), наші результати показали дуже сильний ($r = 0,892$) і сильний ($r = 0,714$) кореляційний зв'язок у міцелії обраних видів *F. pinicola* і *L. edodes*, відповідно.

Таблиця 7.17

Коефіцієнт кореляції (r) між вмістом фенольних сполук і антиоксидантною активністю міцелію грибів

Вид гриба	Коефіцієнт кореляції
<i>F. pinicola</i>	0,8924
<i>L. edodes</i>	0,7143

На відміну від наших даних, кореляції між цими двома показниками не було виявлено в екстрактах міцелію *Agaricus bisporus*, *Armillaria mellea*, *Auricularia auricula-judae*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinus tigrinus*, *Lycoperdon pyriforme*, *Phellinus linteus*, *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, *Polyporus arcularius*, *Russula brevipes*, *Schizophyllum commune*, *Sparassis crispa*, *Spongipellis unicolor* (Prasad et al., 2015) та *Ganoderma tuberculosum* (Campi et al., 2023).

Таким чином, результати дослідження підтвердили суттєвий вплив видоспецифічних особливостей, умов культивування та типу екстрагента на антиоксидантну активність і вміст фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lentinula edodes*. Це підкреслює критичну роль зазначених факторів у визначенні антиоксидантних властивостей та ефективності вилучення біологічно активних метаболітів. Особливий інтерес становить менш вивчений вид *F. pinicola*, який продемонстрував вищу здатність до синтезу біомаси на обох

поживних середовищах порівняно з *L. edodes*. Така здатність є важливим показником для майбутніх досліджень з ферментації та промислового культивування, оскільки забезпечує високу продуктивність біомаси. Ці результати відкривають нові перспективи для використання *F. pinicola* як потенційного джерела природних антиоксидантів.

7.3. Визначення живильних потреб *Fomitopsis pinicola* оптимальних для росту, вмісту фенольних сполук та набуття антиоксидантної активності міцелію

За результатами проведеного нами скринінгу, найбільшу антиоксидантну активність проявив міцелій *Fomitopsis pinicola*. Цей вид привертає увагу вчених завдяки різноманітним біологічним сполукам (ферментам, глікозидам, гетерогліканам, тритерпенам, полісахаридам, поліфенолам, стероїдам) та їх похідним, які мають корисні ефекти, про що свідчать огляди Bishop (2020), Zahid et al. (2020), Gafforov et al. (2023b).

Одним з актуальних напрямів досліджень є вивчення антиоксидантного потенціалу *F. pinicola*. Значна антиоксидантна активність плодових тіл *F. pinicola* була встановлена різними методами у численних дослідженнях (Choi et al., 2007b; Hao et al., 2016; Onar et al., 2016; Sevindik et al., 2017; Angelini et al., 2018; Nie et al., 2019a; Zhang et al., 2023; Kozarski et al., 2024). Полісахариди, виділені з міцелію *F. pinicola* та культуральної рідини, також обумовлюють антиоксидантну активність (Choi et al., 2007b).

Контрольовані умови культивування можуть впливати на ріст гриба та продукування метаболітів. Однак ріст міцелію *F. pinicola*, а також біосинтез метаболітів у культуральній рідині досі залишаються мало вивченим. Вплив умов культивування на ріст *F. pinicola* (Dresh et al., 2015; Choi et al., 2007a; Du et al., 2020), продукцію екзополісахаридів (Choi et al., 2007a) та ендоглюканази (Gu & Park, 2013) досліджували шляхом глибинного культивування. Метою даного дослідження було оцінити вплив умов культивування на ріст *F. pinicola* та

встановити можливість збільшення антиоксидантної активності та загального вмісту фенольних сполук за рахунок умов культивування.

Встановлено різницю в біосинтетичній активності *F. pinicola* за досліджених температур інкубації (рис. 7.12). Найвище значення знешкодження вільних радикалів DPPH ($78,2 \pm 0,9$ %) виявлено за температури 30 °С, тоді як температура інкубації 20 °С була сприятливою для синтезу біомаси ($8,5 \pm 0,3$ г/л) та фенольних сполук ($11,0 \pm 0,6$ мг ЕГК/г). Під час культивування рН залишався на одному рівні. Оптимальна температура 20 °С для росту *F. pinicola* узгоджуються з результатами Choi та ін. (2007a). Dresh та ін. (2015) виявили, що оптимальна температура для росту колоній *F. pinicola* залежала від штаму: 25 °С була ідеальною для восьми штамів, тоді як 32 °С – для двох штамів. Du et al. (202) відзначили температуру 31 °С як кращу для росту *F. pinicola*. Оптимальна температура 30 °С виявилася придатною для підвищення антиоксидантної активності та синтезу фенольних сполук у міцелії *Xylaria feejeensis* (Rebbapragada & Rajagopal, 2016), що узгоджується з нашими результатами.

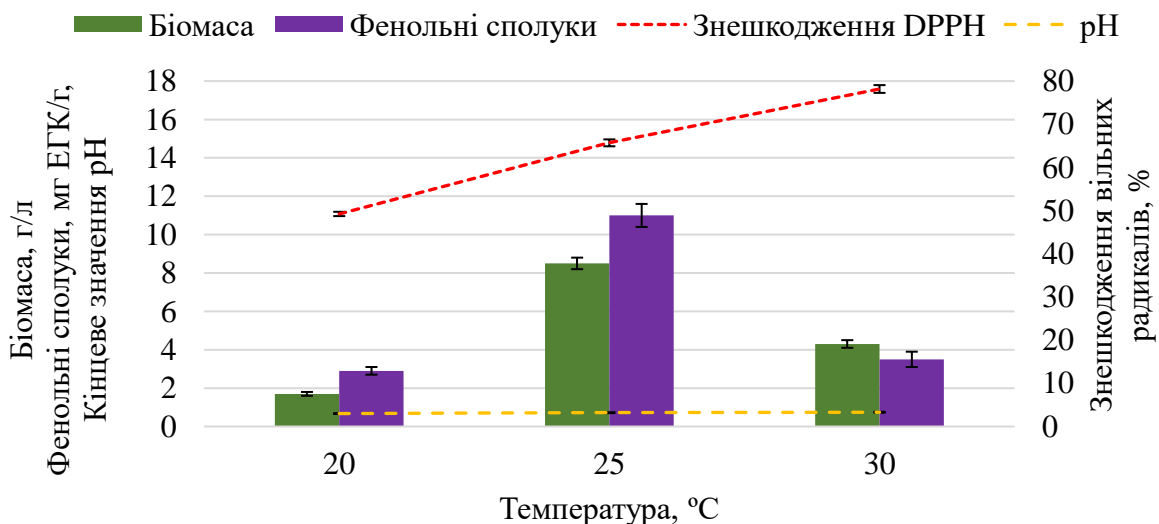
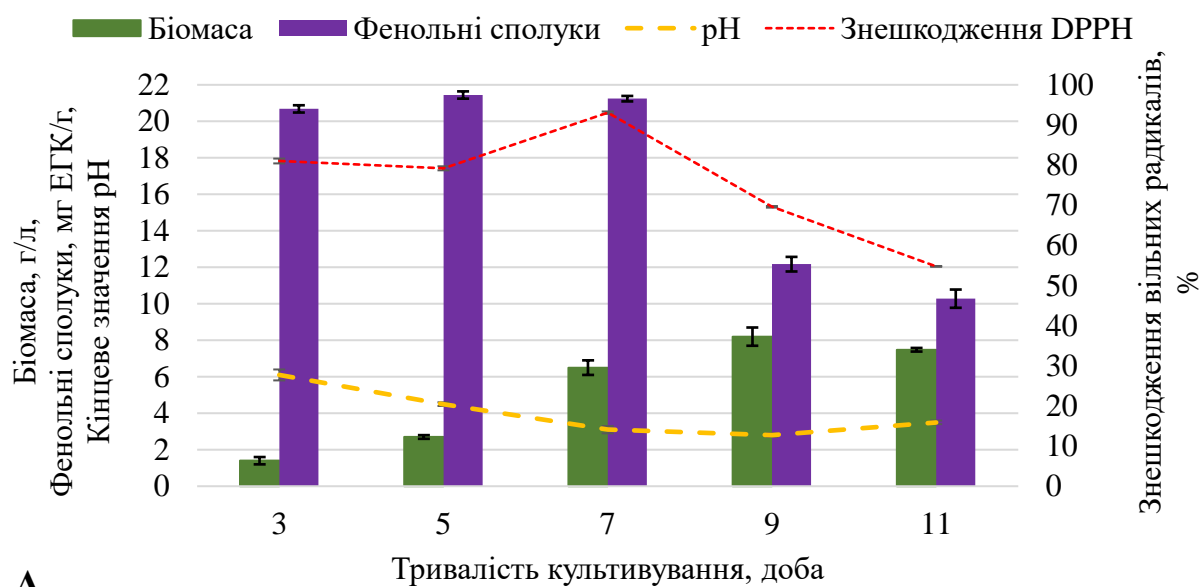
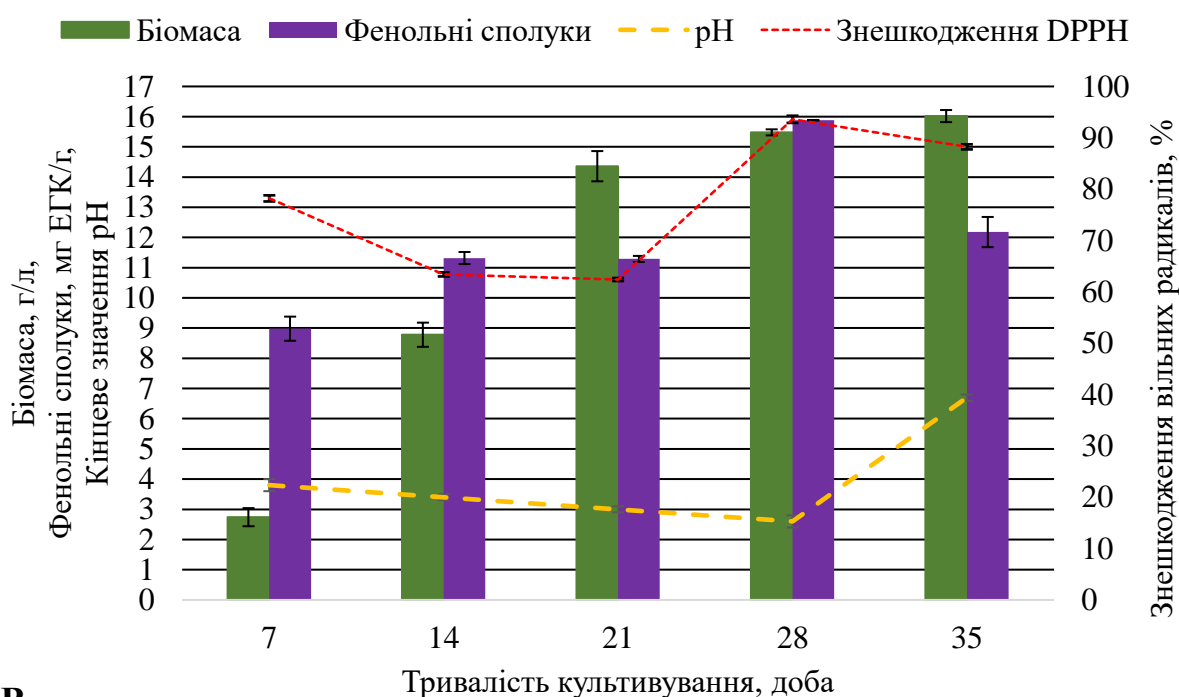


Рис. 7.12. Вплив температури інкубації на продукцію біомаси, фенольних сполук та антиоксидантну активність *Fomitopsis pinicola*

Виявлено певну різницю у біосинтетичній активності *F. pinicola* за умов струшування (перемішування) та статичних умов у динаміці росту (рис. 7.13).



А



В

Рис. 7.13. Вплив тривалості інкубації на продукцію біомаси, фенольних сполук та антиоксидантну активність *F. pinicola* за умов перемішування (А) та за статичних умов (В) культивування

Найбільшу кількість міцеліальної біомаси спостерігали на 9 добу культивування, тоді як 7 доба інкубації була оптимальною для найкращого поглинання вільних радикалів, а максимальний синтез фенольних сполук

встановлено на 5 та 7 добу без достовірної статистичної різниці в умовах струшування (рис. 7.13 А). Під час росту гриба змінювався рН поживного середовища (рис. 7.13 А, В). Діапазон зміни кінцевого рН поживного середовища за умов струшування та в статичних умовах був подібним, але мінімальне значення рН було виявлено на 9 добу (рН 2,8) при вирощуванні на шейкері та на 28 добу (рН 2,6) – у статичних умовах.

Виявлений значний вплив тривалості інкубації на вміст фенольних сполук та антиоксидантну активність міцелію *F. pinicola* за умов перемішування та статичного культивування, можна пояснити кількома ключовими факторами, такими як доступність кисню, розподіл живильних речовин, напруга зсуву, щільність клітин та фаза росту. Перемішування прискорює дію цих факторів, що призводить до більш ранніх піків активних форм кисню, тоді як статичні умови призводять до повільнішого, але тривалішого зростання продукції антиоксидантів. Культивування за статичних умов може краще імітувати природне середовище існування грибів, що потенційно може призвести до утворення сполук, які не синтезуються або утворюються в менших кількостях у порівнянні з умовами перемішування. Було показано, що статичне культивування та тривалий період культивування (20 діб) були більш придатним для прояву антиоксидантної активності, а також для синтезу фенольних сполук *Xylaria feejeensis* (Rebbapragada & Rajagopal, 2016).

Морфологія міцелія *F. pinicola* суттєво відрізнялася під час глибинного культивування залежно від наявності чи відсутності перемішування, і ці зміни потрібно враховувати при розробці технологічних процесів культивування. В умовах струшування ми спостерігали ріст *F. pinicola* у вигляді компактних сферичних кульок (пелет), що склалися з скупчень гіф різного розміру (від 0,1 до 0,5 мм у діаметрі) залежно від тривалості культивування (рис. 7.14 А–С). Утворення дрібних фрагментів може бути корисним для рівномірного доступу живильних речовин і кисню, що підвищує ефективність росту та метаболізму міцелію. У статичних умовах *F. pinicola* утворювала однорідний за текстурою та

консистенцією міцеліальний мат біло-кремового кольору, з опушеним міцелієм, утвореним повітряними гіфами на поверхні рідкого середовища (рис. 7.14 D).

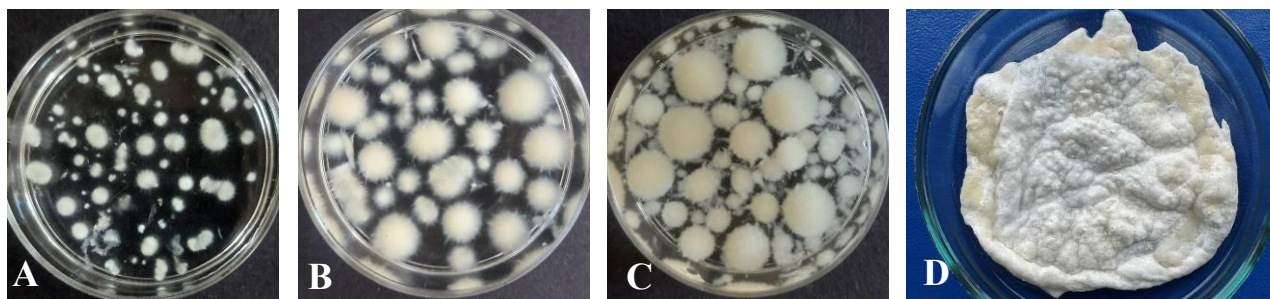


Рис. 7.14. Морфологія міцелію *F. pinicola* за умов перемішування на 3 (A), 7 (B), 11 (C) добу та в статичних умовах на 28 добу росту (D), bar = 1 cm (A, B, C), 2 cm (D)

Морфологія колоній *F. pinicola* на агаризованих середовищах представлена в літературі (Purnomo et al., 2020). Вивчення морфології колоній грибів у глибинній культурі має важливе значення, оскільки навіть незначні зміни в морфології грибів, як відомо, призводять до значних коливань виходу продукту, що може вплинути на масообмін і змішування (El Enshany, 2022). Також необхідно підтримувати певну морфологічну структуру, щоб оптимізувати виробництво бажаних метаболітів (Hamedi et al., 2012; Lueangjaroenkit et al., 2018). Наскільки нам відомо, це перша робота, що описує морфологію росту *F. pinicola* у вигляді пелет та міцеліального мату в умовах глибинного культивування. Це типові морфології для росту макроміцетів в умовах струшування та в статичних умовах, відповідно. Спостереження за цими відмінностями дає уявлення про те, як фактори навколишнього середовища, такі як доступність кисню та дифузія поживних речовин, впливають на ріст грибів. Струшування сприяє кращому насиченню киснем і рівномірному розподілу поживних речовин у культуральному середовищі (Lueangjaroenkit et al., 2018; Büchs, 2001), тоді як статичні умови можуть призвести до обмеження доступу кисню, особливо в глибоких частинах міцеліального мату. Морфологічні відмінності у відповідь на ці умови допомагають зрозуміти, як гриби

адаптуються до змін у доступності кисню та живильних речовин, що має вирішальне значення для оптимізації промислових процесів ферментації.

Виявлено значний вплив джерел вуглецю на досліджені показники біосинтетичної активності *F. pinicola*. Ксилоза забезпечувала максимальне знешкодження DPPH ($89,91 \pm 0,5 \%$) та синтез фенольних сполук ($16,55 \pm 0,4$ мг ЕГК/г), тоді як найкращу біомасу ($4,0 \pm 0,3$ г/л) було отримано при використанні галактози (рис. 7.15). Подібний біосинтетичний потенціал (синтез біомаси та фенольних сполук) гриба спостерігався при використанні фруктози, декстрази та галактози. Кінцевий рН змінювався в межах від 2,8 до 3,1. На відміну від наших результатів, глюкоза визначена як оптимальне джерело вуглецю для росту *F. pinicola* у дослідженнях Choi et al. (2007b), крохмаль – у експериментах Du et al. (2020), а декстроза сприяла набуттю антиоксидантної активності *X. feejeensis* (Rebbapragada & Rajagopal, 2016), що вказує на видоспецифічні живильні потреби та фізіологію грибів.

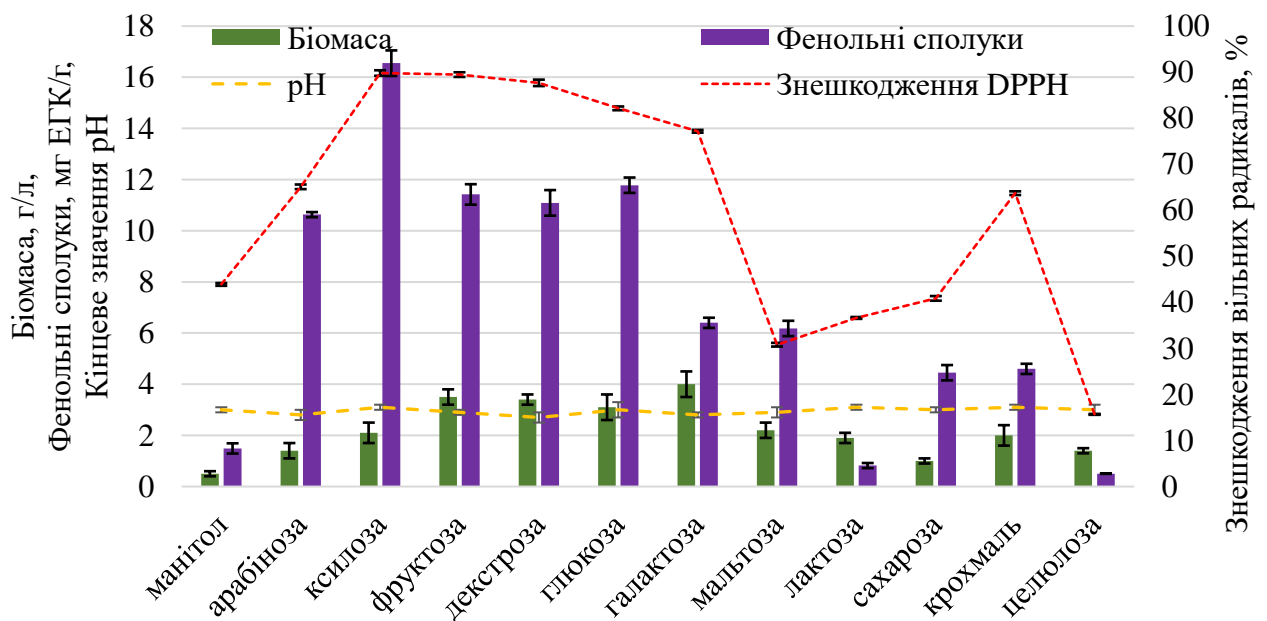


Рис. 7.15. Вплив джерел вуглецю на продукцію біомаси, синтез фенольних сполук та антиоксидантну активність *Fomitopsis pinicola*

Виявлено також значний вплив джерел азоту на досліджені показники біосинтетичної активності. Пептон виявився придатним для найкращої інактивації вільного радикала DPPH (90,42 ± 0,5 %) і синтезу фенольних сполук (17,41 ± 0,5 мг ЕГК/г), тоді як максимальна біомаса (4,0 ± 0,3 г/л) була відмічена при використанні дріжджового екстракту (рис. 7.16). Кінцевий рН змінювався в дуже близьких межах від 2,7 до 2,9. Дріжджовий екстракт також був оптимальним для росту *F. pinicola* (Choi et al., 2007a).

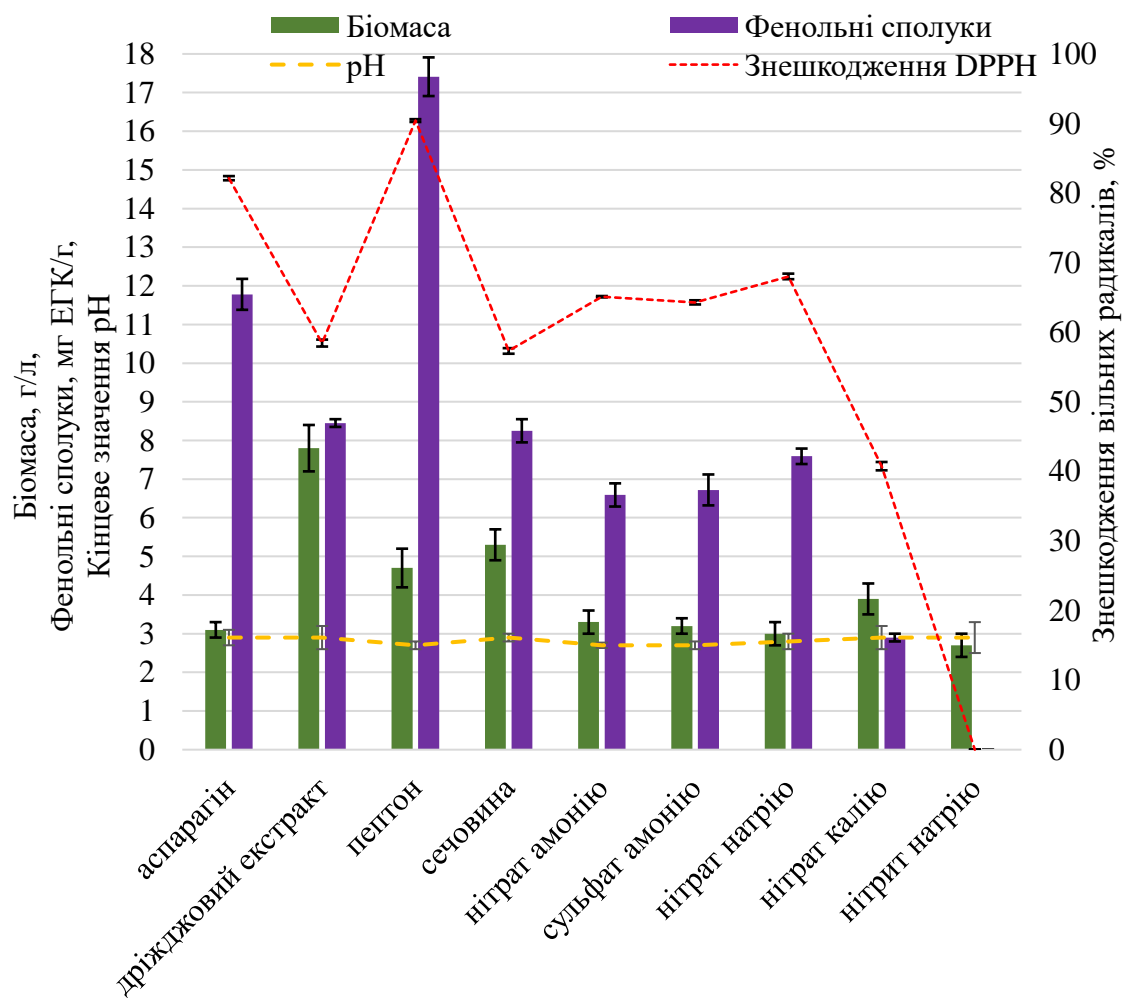


Рис. 7.16. Вплив джерел азоту на продукцію біомаси, фенольних сполук, антиоксидантну активність *Fomitopsis pinicola*

Гриб був здатний рости і виявляв біосинтетичну активність метаболітів у широкому діапазоні значень рН від 2,5 до 7,5 (рис. 7.17). Слід зазначити, що досліджений *F. pinicola* демонстрував високий біосинтетичний потенціал у кислотному діапазоні. Дуже низький рН 2,5 був оптимальним для антиоксидантної активності ($91,61 \pm 0,2 \%$), синтезу фенольних сполук ($31,92 \pm 0,5$ мг ЕКГ/г), а також для продукування біомаси ($10,5 \pm 0,5$ г/л). Кінцевий рН змінювався несуттєво від 2,6 до 3,6.

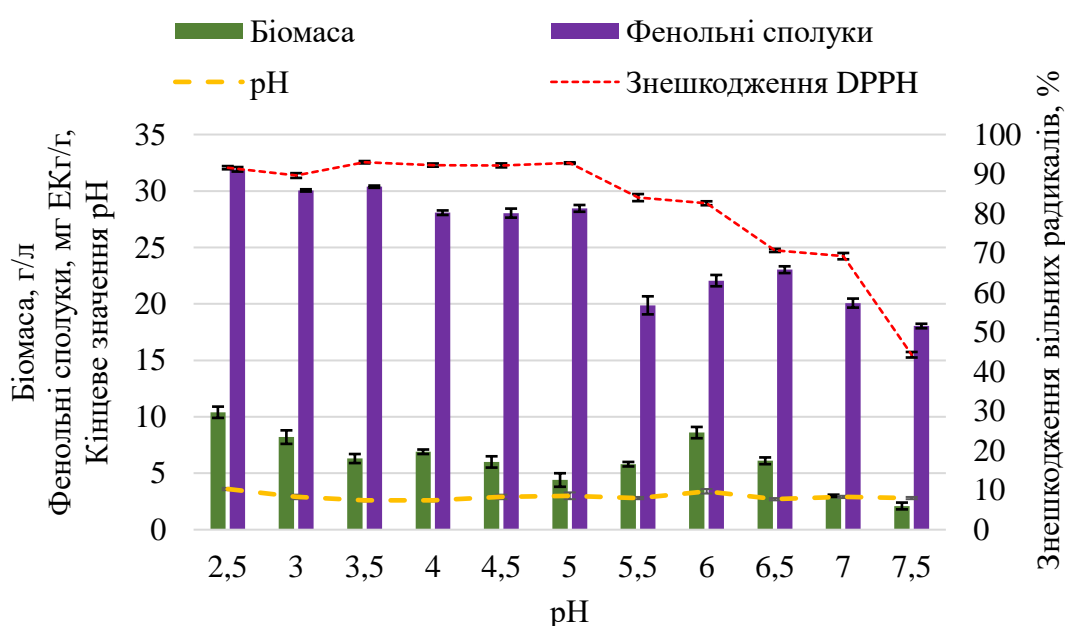


Рис. 7.17. Вплив початкового рН на продукцію біомаси, синтез фенольних сполук, антиоксидантну активність *Fomitopsis pinicola*

Слід зазначити, що діапазон рН від 2,5 до 5,0 сприяв найвищому рівню фенольних сполук та антиоксидантної активності міцелію *F. pinicola*. Біосинтез фенольних сполук у грибів відбувається за участю специфічних ферментів, зокрема фенілаланінаміакліаза, який є ключовим у фенілпропаноїдному шляху (Hyun et al., 2011). Діапазон рН від 2,5 до 5,0 може забезпечити ідеальні умови для ефективного функціонування цих ферментів, що призводить до збільшення виробництва фенольних сполук, які можуть бути більш активними. Розчинність

і стабільність фенольних сполук може залежати від рН (Friedman & Jürgens, 2000). Кислі рівні рН можуть сприяти вищій ефективності екстракції та накопиченню фенолів у міцелії, підвищуючи їхню здатність поглинати вільні радикали та проявляти антиоксидантну активність. За кислих умов гриб може зазнавати підвищеного окислювального стресу, що спонукає до вироблення антиоксидантів як захисного заходу. Це може пояснити, чому і рівень фенолу, і рівень антиоксидантної активності досягають піку в цьому діапазоні рН. Різні антиоксидантні механізми, такі як перенесення атомів водню або перенесення одного електрона, можуть бути більш або менш ефективними залежно від рН (Xie et al., 2018). Кислий діапазон рН може сприяти специфічному механізму (ймовірно, найбільш ефективному перенесенню електронів), який *F. pinicola* використовує для свого антиоксидантного захисту, що призводить до вищої активності. Відомо, що *F. pinicola* росте на хвойній деревині, яка може створювати кисле середовище через розкладання органічних речовин і наявність кислих сполук, таких як таніни. Можливо, гриб еволюційно пристосувався до росту та синтезу вторинних метаболітів у таких кислих умовах, що відображає його природну екологічну нішу.

У дослідженнях Choi et al. (2007a) та Du et al. (2020) діапазон рН 5,5–6,5 та рН 6,0, відповідно, були придатними для синтезу біомаси *F. pinicola*. Однак дослідження Choi et al. (2007a) було обмежене діапазоном рН від 4,0 до 8,0 протягом чотирьох днів, тоді як наше дослідження охоплювало ширший діапазон рН і більшу тривалість. На відміну від наших досліджень, за рН 6,0 антиоксидантна активність *X. feejeensis* була найвищою (Rebbapragada & Rajagopal, 2016).

За результатами наших досліджень було встановлено деякі відмінності в оптимальних параметрах культивування, необхідних для росту гриба, синтезу фенольних сполук та накопичення антиоксидантної активності у *F. pinicola*. Загалом цей факт можна пояснити різними біологічними та екологічними вимогами до кожного з процесів. Ці процеси взаємопов'язані, але часто вимагають різних умов для досягнення максимального ефекту. Кожен процес має

свої оптимальні параметри, оскільки вони відображають різні метаболічні стани гриба. Оптимальні умови для росту грибів спрямовані на максимізацію біомаси шляхом забезпечення ідеальних умов культивування, які підтримують швидкі та ефективні клітинні процеси. На відміну від цього, оптимальні умови для виробництва метаболітів, які мають біологічну активність, часто включають індукування стресових реакцій, обмеження живильних речовин та специфічні екологічні сигнали, які запускають синтез вторинних метаболітів.

Подібність оптимальних значень рН і температури для росту грибів і утворення фенольних сполук, а також відмінності в антиоксидантній активності можна пояснити специфічними біохімічними і фізіологічними факторами, що беруть участь у кожному з цих процесів. Продуктивний ріст грибів і утворення поліфенолів вимагають однакових оптимальних умов рН і температури, ймовірно, через взаємопов'язані метаболічні шляхи, активність ферментів і клітинний гомеостаз (Añazco et al., 2023). На відміну від цього, значення рН і температури, необхідні для прояву антиоксидантної активності міцелію *F. pinicola*, можуть бути зумовлені специфічною стабільністю, реакційною здатністю та окисно-відновною поведінкою антиоксидантних сполук, а також необхідністю ефективно взаємодіяти з активними формами кисню (Hunyadi, 2019).

Для розуміння взаємодії між різними параметрами дослідження, зокрема для оцінки потенційної кореляції між біомасою, вмістом фенольних сполук та антиоксидантною активністю *F. pinicola* використали Коефіцієнт Пірсона (r). Результати показали позитивний зв'язок у всіх досліджах (табл. 7.18). Дуже сильна кореляція ($r = 0,80-0,95$) була виявлена між фенольними сполуками і антиоксидантною активністю за більшості досліджених умов, включаючи варіації джерел вуглецю та азоту, статичні умови та умови струшування, а також рН. Біомаса також показала сильну кореляцію за вмістом фенольних сполук за певних умов, таких як температура і статичне культивування.

Таблиця 7.18

Коефіцієнт кореляції (r) між біомасою, фенольними сполуками та антиоксидантною активністю *F. pinicola*

Кореляція	Температура	Джерела живлення		рН	Культивування	
		вуглець	Азот		ста-тичне	струшу-вання
Біомаса/Фенольні сполуки	0,9486	0,4916	0,2919	0,6281	0,8445	0,1703
Біомаса/Анти-оксидантна активність	0,4513	0,6731	0,1713	0,6522	0,7143	0,4447
Фенольні сполуки/ Антиокси-дантна активність	0,1456	0,8451	0,8937	0,8002	0,9334	0,9531

Встановлена сильна кореляція вказує на те, що фенольні сполуки, ймовірно, є основними чинниками антиоксидантної активності в системі. Аналогічне спостереження було описано в іншому дослідженні (Atamanchuk & Bisko, 2023). Феноли відіграють одну з ключових ролей у нейтралізації вільних радикалів та захисті від оксидативного стресу. Крім того, стійка кореляція за різних умов може відображати вроджену біологічну стратегію, коли організми збільшують виробництво фенолів у відповідь на екологічний стрес (наприклад, зміни в доступності поживних речовин або рН). Це також означає, що феноли відіграють важливу роль у стратегіях адаптації та виживання організмів.

Наступним кроком наших досліджень було створення умов, що сприяють продукуванню вторинних метаболітів. Результати коригування умов культивування з урахуванням трьох факторів: температури, джерела вуглецю та рН – продемонстрували ефективність такого підходу. Аналіз однофакторного впливу дозволив встановити ключові параметри, необхідні при культивуванні *F. pinicola* для оптимізації росту, синтезу фенольних сполук та антиоксидантної активності. Зокрема, заміна глюкози в поживному середовищі на ксилозу, зниження початкового рН до 3,5 та культивування гриба при 30°C, як з

перемішуванням, так і без нього, значно підвищило вихід фенольних сполук при збереженні високого рівня антиоксидантної активності (табл. 7.19). Отримані дані свідчать про потенціал збільшення виробництва фенольних сполук у 2,25 і 2,23 рази за умов струшування і статичних умов, відповідно, при збереженні високого рівня активності. Остаточні висновки можна буде зробити після моделювання з усіма факторами та експериментального підтвердження ефективності моделі.

Таблиця 7.19

Вплив ключових умов культивування на антиоксидантну активність та вміст фенольних сполук

Умови культивування (30 °С, ксилоза, рН 3,5)	Фенольні сполуки, мг ЕГК/г	Знешкодження вільних радикалів, %
7 днів за умов перемішування	48,3 ± 0,67*	93,13 ± 0,40
28 днів за умов статички	37,0 ± 0,59	92,00 ± 0,21

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Були отримані нуклеотидні послідовності ITS (Internal Transcribed Spacer) регіону рибосомальної ДНК *F. pinicola* та внесені до міжнародної бази даних GenBank (номер реєстрації у GenBank – PQ 184654). Відкритий доступ до генетичної інформації про культуру сприятиме в перспективі стандартизації інформації про генетичні характеристики грибів, а також дослідженню функціональних генів, які відповідають за біохімічні процеси та продукцію біологічно активних сполук.

Отримання міцелію макроміцетів з корисними властивостями передбачає підбір правильних штамів, налаштування умов вирощування та застосування сучасних біотехнологічних методів. Здатність досліджуваного штаму *Fomitopsis pinicola* рости, продукувати фенольні сполуки та проявляти антиоксидантну активність за всіх експериментальних умов (окрім використання нітриту натрію) підкреслює його значний біотехнологічний потенціал для синтезу цінних вторинних метаболітів. Ріст, синтез фенолів та антиоксидантна активність

міцелію *F. pinicola* визначаються складним взаємозв'язком між генетично детермінованими властивостями гриба, включаючи його адаптивні можливості та фізіологічні механізми життєдіяльності. Дослідження підкреслює важливість фізико-хімічних умов культивування міцелію *F. pinicola* для продукування біомаси та фенолів з антиоксидантними властивостями.

Розуміння балансу між різними параметрами культивування є важливим для оптимізації вирощування *F. pinicola*. Контроль параметрів культивування дає можливість регулювати метаболічні та біохімічні процеси гриба, допомагаючи досягти балансу в отриманні оптимальної кількості біомаси та набутті високої антиоксидантної активності фенольних сполук. Цей баланс є критично важливим для майбутніх перспектив біотехнологічного, медичного та промислового застосування, де потрібне стабільне виробництво біологічно активних сполук. Наявність сильної кореляції між фенольними сполуками і антиоксидантною активністю за різних умов культивування є обґрунтованою і відкриває значні можливості для біотехнологічних застосувань. Якщо виробництво фенолу є ключовим фактором, що визначає антиоксидантну активність, гена інженерія або селекція можуть бути спрямовані на покращення шляхів біосинтезу фенолу. Це може призвести до створення організмів або культур з цінними антиоксидантними властивостями, корисними у різних галузях. Крім того, здатність прогнозувати антиоксидантну активність на основі вмісту фенольних сполук у різних умовах може призвести до більш стандартизованої та стабільної якості продукції, що має вирішальне значення для комерційного застосування.

7.4. Встановлення живильних потреб *Hohenbuehelia tuxotricha* для росту, набуття антимікробної та антиоксидантної активностей

За результатами попередніх досліджень, з наукової точки зору, інтерес представляє вид *Hohenbuehelia tuxotricha*, який належить до роду *Hohenbuehelia* Schulzer, і є відносно невеликим за поширенням родом, в якому відомо близько 40 видів (Kirk et al., 2008). Наразі загальна кількість назв видів,

представлених у цьому роді, становить 198 (<http://www.indexfungorum.org>; дата доступу: 16 грудня 2024 р.), а в MycoBank налічується 224 записи таксонів (<http://www.mycobank.org/>; дата доступу: 16 грудня 2024 р.). Основна увага була приділена таксономічному та філогенетичному аналізу видів *Hohenbuehelia* на основі морфологічних та молекулярних даних (Thorn et al., 2000; Koziak et al., 2007; Mentrída, 2016; Lubian et al., 2018; Bijeesh et al., 2019). На противагу цьому, лише деякі культуральні характеристики та ріст міцелію *H. petaloides* досліджували *in vitro* (Yoo et al., 2001; Zhu et al., 2007). Крім того, встановлено, що види *Hohenbuehelia* володіють різними терапевтичними властивостями. Водні та етанольні екстракти *Hohenbuehelia* sp. пригнічують ріст бактерій *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та грибів *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces cerevisiae* (Bala et al., 2012). Полісахариди, виділені з *Hohenbuehelia serotina*, мають антиоксидантну (Li et al., 2015, 2017), антипроліферативну (Zhang et al., 2014; Li et al., 2015, 2017) та радіопротекторну активність (Li et al., 2015). Виділені з культуральних рідин *H. grisea* біологічно активні сполуки, такі як 4-гідроксиплеврогризеїн, плевротин та його похідні (лейкоплевротин, дигідроплевротинова кислота), виявили противірусну та антимікробну активності (Sandargo et al., 2018). Korkmaz et al. (2024) встановили різну біологічну активність у екстрактах плодових тіл *H. petaloides*: антибактеріальну проти *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* та *Micrococcus luteus*, антиоксидантну, цитотоксичну проти різних ліній ракових клітин. Також повідомлялося про виробництво біоетанолу з використанням *Hohenbuehelia* sp. (штам ZW-16) (Liang et al., 2012).

Нематофагічну активність продемонстрували *H. grisea* (Reale, 2018), *H. portegna*, *H. paraguayensis*, *H. mastrucata* (Lubian et al., 2018). Одним з рідкісних видів *Hohenbuehelia* є *H. myxotricha*, морфологія та мікроанатомія якого була вивчена (Angeli & Scandurra, 2012) на основі матеріалу з Палермо (Сицилія). Дослідження цього гриба дуже обмежені. На сьогоднішній день нами виявлено вміст позаклітинних ферментів (Krupodorova et al., 2014), альтернативні субстрати для культивування міцелію (Krupodorova & Barshteyn, 2015) та

антибактеріальну активність міцелію і культуральної рідини (Krupodorova et al., 2016). Зважаючи на інтенсивні таксономічні та терапевтичні дослідження *Hohenbuehelia* sp., існує брак знань щодо морфології, росту та терапевтичної активності міцелію *Hohenbuehelia* sp. Враховуючі відсутність інформації відносно культивування даного гриба в культурі, проведено серію експериментів щодо з'ясування особливостей його росту.

Вивчено вплив агаризованих середовищ на морфологію *Hohenbuehelia muxotricha* (рис. 7.18, табл. 7.20). Радіальний ріст, середня швидкість росту, текстура, колір, форма, поверхня, край, щільність міцелію та його зворотний колір були враховані як діагностичні макроморфологічні характеристики *H. muxotricha*, культивованого на різних середовищах (табл. 7.20). *H. muxotricha* демонструвала значний ріст на всіх використаних поживних середовищах, що свідчить про її здатність адаптуватися до широкого спектра умов культивування. Такий результат підкреслює потенціал цього гриба для досліджень, спрямованих на оптимізацію умов вирощування або промислове застосування. Однак найбільш придатним для росту міцелію *H. muxotricha* виявилось СА.

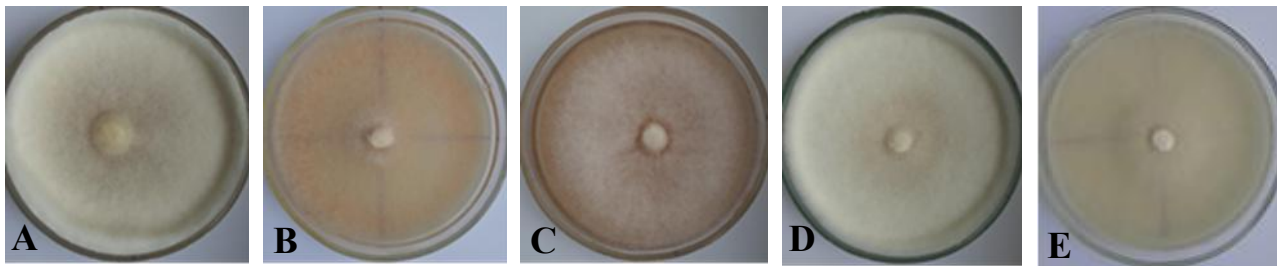


Рис. 7.18. Міцеліальні колонії *H. muxotricha* на 9 день культивування на різних середовищах: сусло-агар (А), картопляно-декстрозний агар (В), Мальц агар (С), глюкозо-пептон-дріжджовий агар (D), агар Чапека (Е).

Біометричні характеристики гіф, пряжок *H. muxotricha* та кристалів наведено на рис. 7.19. Міцелій незабарвлений, містить включення жиру. Вегетативний міцелій розгалужений, різної товщини від 2,5 мкм до 12,7 мкм, анастомозовані, з помітними пряжками (гігантські, поодинокі, парні, мутовчасті, овальні, мигдалеподібні), неправильними гіфальними петлями (міцеліальні

кільця або пастки) та кристалами. Ілюстрація гіфових петель вказує на те, що *H. myxotricha*, як і інші види *Hohenbuehelia*, такі як *H. grisea* (Reale, 2018), *H. portegna*, *H. paraguayensis*, *H. mastrucata* (Lubian et al., 2018), цілком можуть мати здатність до знищення нематод. Утворення кристалів оксалату кальцію є досить поширеним явищем у дереворуйнівних базидієвих видів, що може мати потенційне значення в оксалатно-карбонатному шляху (Guggiari et al., 2011). Тому деякі аспекти мікроскопічних характеристик міцелію *H. myxotricha* можуть бути корисними для розрізнення таксонів *Hohenbuehelia*, а також для контролю якості міцеліальних культур при культивуванні грибів.

Таблиця 7.20

Вплив поживного середовища на морфологію колоній та ріст *H. myxotricha*

Середовище	Характеристики міцелію					Ріст		
	текстура	колір	край	щільність	реверзум	міцеліальний ріст	Радіальний ріст, (мм/доба)	Середній ріст, (см/доба)
СА	повстиста	кремовий	рівний, притиснутий	5+	незмінний	рясний	18,2 ± 0,5*	2,2 ± 0,1*
КДА	пухнаста	білий	рівний, притиснутий	3+	світло-коричневий	звичайний	10,7 ± 0,3	1,5 ± 0,1
МЕА	пухнаста	білий	рівний, притиснутий	4+	незмінний	звичайний	8,8 ± 0,4*	1,3 ± 0,2
ГПДА	повстиста	кремовий	рівний, притиснутий	5+	незмінний	рясний	12,2 ± 0,2	1,8 ± 0,1*
ЧА	щовкоподібна	білий	рівний, притиснутий	+	незмінний	бідний	11,2 ± 0,1	1,5 ± 0,0

Примітка: СА – сусло агар, КДА – картопляно декстрозне середовище, МЕА – мальц екстракт, ГПДА – глюкозо-пептон-дріжджове середовище, ЧА – середовище Чапека. Щільність міцелію: дуже мізерна (+), мізерна (2+), помірна (3+), рясна (4+), дуже рясна (5+); * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

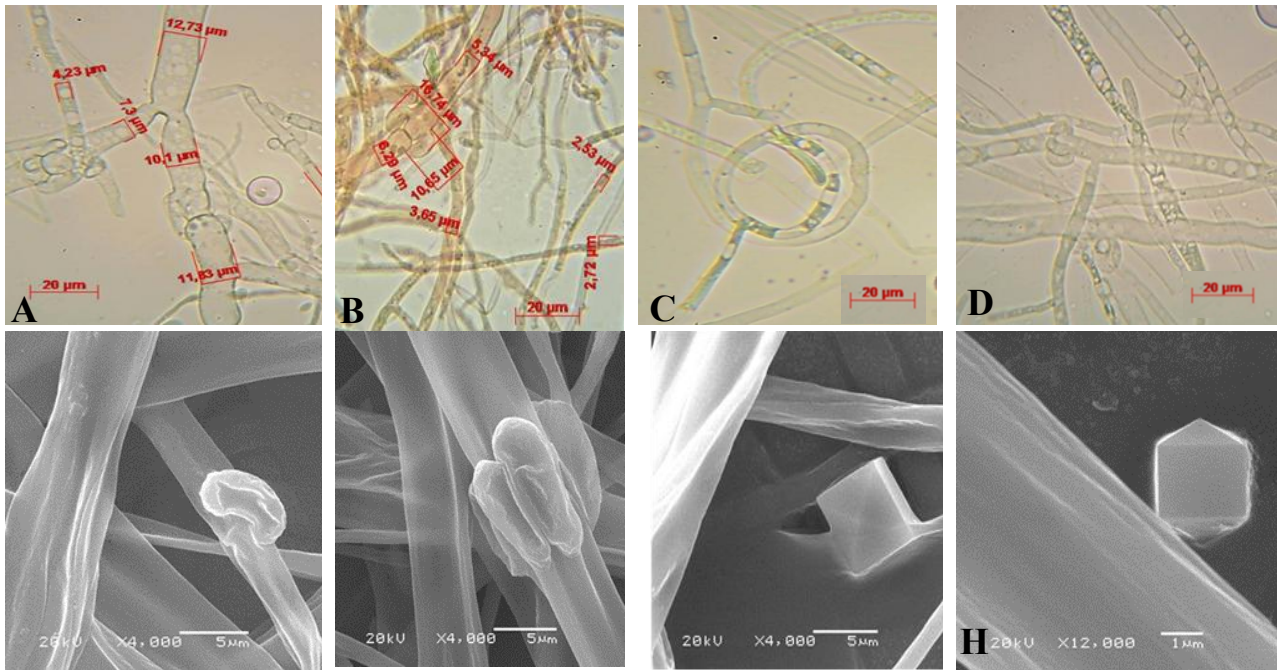


Рис. 7.19. Морфологія гіф *H. myxotricha*: біометричні характеристики гіф (А, В); гіфальні петлі (С); гіфальний ріст міцелію та пружки (D–F); кристали (G, H)

Умови росту можуть мати значний вплив на накопичення біомаси. Визначення оптимальної температури росту грибів є важливою відправною точкою для їх культивування *in vitro*. Гриб ріс за всіх досліджених температур (рис. 7.20). Температурні дослідження вказують на те, що *H. myxotricha* належить до мезофільних грибів. Найкращий ріст міцелію ($10,2 \pm 0,1$ г/л) спостерігався при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ця температура була оптимальною для *H. petaloides*, штам Нр 831 (Zhu et al., 2007). Однак для іншого штаму цього гриба КАСС 500040 *H. petaloides* максимальний ріст міцелію спостерігався при $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Yoo et al., 2001).

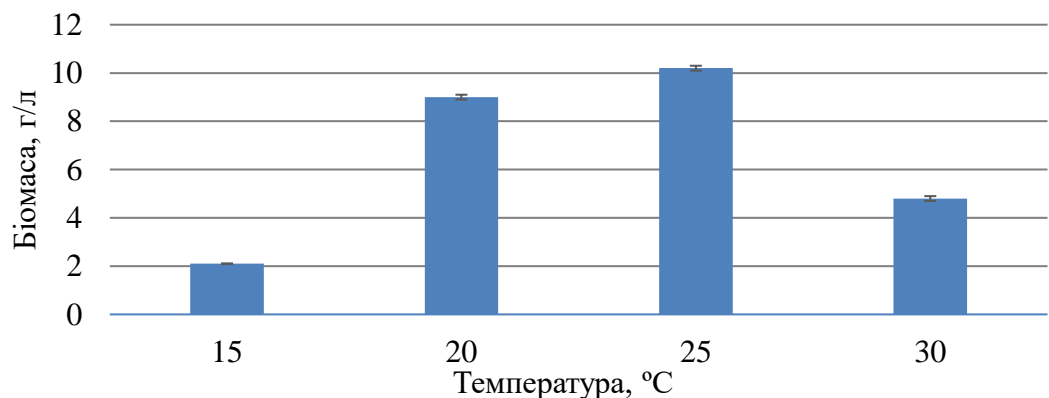


Рис. 7.20. Вплив температури інкубації на синтез біомаси *H. myxotricha*

Багато грибів, зокрема представники базидієвих видів, мають численні механізми, що дозволяють їм адаптуватися до змін рН середовища. Гриб продемонстрував здатність зростати в широкому діапазоні початкових рівнів рН (рис. 7.21), що свідчить про високу пластичність його метаболічних процесів. Оптимальний початковий рівень рН 4,5 забезпечував максимальний ріст міцелію цього гриба на рівні $11,6 \pm 0,0$ г/л. Для росту міцелію *H. petaloides* встановлено інші оптимальні рівні рН: 6,0 (Yoo et al., 2001) та 6,0–7,0 (Zhu et al., 2007).

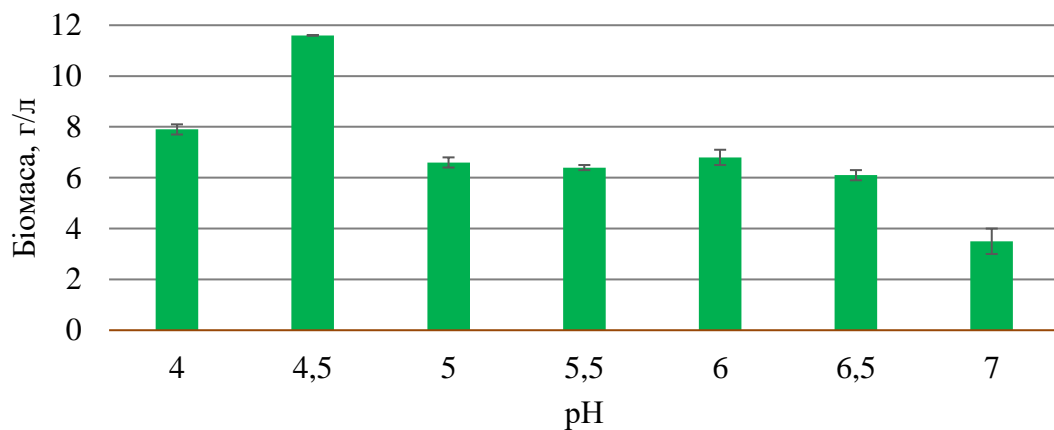


Рис. 7.21. Вплив кислотності середовища на синтез біомаси *H. myxotricha*

Визначення оптимальної тривалості інкубації є важливим етапом у дослідженні динаміки продукування біомаси, оскільки воно дозволяє встановити найбільш сприятливі умови для росту організму та максимізації його продуктивності. Вивчено вплив тривалості культивування на ріст гриба за умов його статичного культивування. Період інкубації 14 днів був оптимальним для найкращого росту міцелію ($9,4 \pm 0,3$ г/л) *H. myxotricha* (рис. 7.22). Слід зазначити, що рівень рН середовища культивування залишався стабільним на рівні 4,0 у період з 7-ї до 42-ї доби експерименту. Стабільність рівня рН протягом тривалого часу свідчить про здатність гриба підтримувати позаклітинне поживне середовище у межах оптимальних значень. Це може бути досягнуто через виділення органічних кислот, амоніаку або інших метаболітів, які компенсують зміни рН середовища, або через поглинання іонів із поживного середовища. Така

властивість є ключовою у фізіології грибів, оскільки забезпечує ефективний метаболізм і адаптацію до умов середовища культивування.

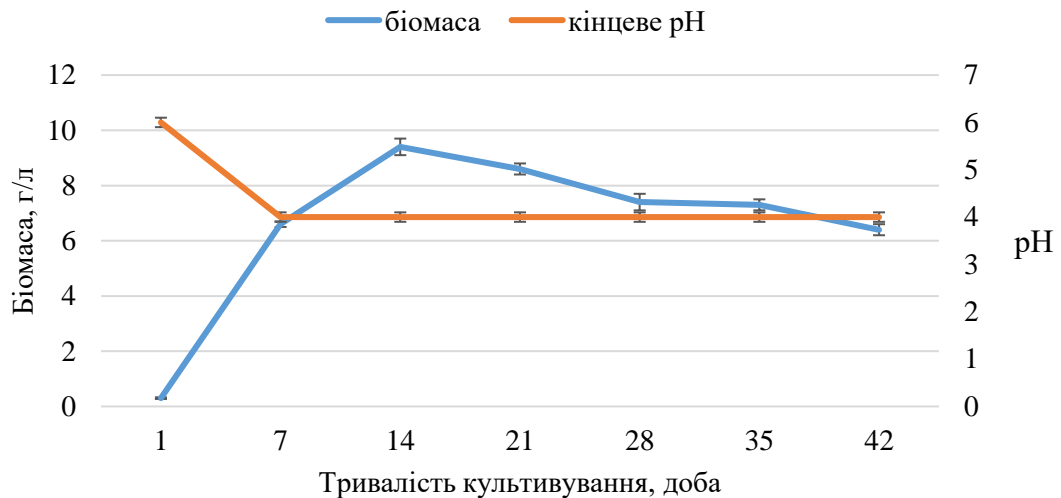


Рис. 7.22. Вплив тривалості культивування на синтез біомаси *H. myxotricha*

Загальновідомо, що джерела вуглецю є одними з ключових поживних компонентів, необхідних для росту грибів. Наявність у *H. myxotricha* розвиненого ферментативного комплексу сприяла ефективному засвоєнню всіх досліджуваних джерел вуглецю, хоча рівень їх засвоєння варіювався залежно від специфіки субстрату (рис. 7.23). Серед одинадцяти джерел вуглецю найкраще ріст міцелію *H. myxotricha* забезпечувала глюкоза ($4,7 \pm 0,1$ г/л), на другому місці – лактоза ($3,7 \pm 0,1$ г/л). Оптимальною концентрацією глюкози була 30 г/л, оскільки при подальшому її збільшенні в живильному середовищі ми не спостерігали статистично значущої різниці (рис. 7.24). Стимулюючий ефект глюкози можна пояснити її роллю як основного енергетичного субстрату та легкістю метаболізму цього моносахариду для швидкого забезпечення клітин енергією (Paraspyridi et al., 2010). Завдяки здатності глюкози розщеплюватися на простіші сполуки із вивільненням енергії навіть за умов слабого окислення, вона розглядається як універсальне джерело вуглецю. У той же час арабіноза, галактоза та маніт демонстрували найменшу ефективність як джерела вуглецю, що свідчить про їхню менш сприятливу участь у метаболічних процесах. Декстрин (10 %), фруктоза (10 %) і лактоза стимулювали більший ріст міцелію

H. petaloides (Yoo et al., 2001). Натрій карбоксиметилцелюлоза була найбільш сприятливою для росту іншого штаму *H. petaloides* (Zhu et al., 2007).

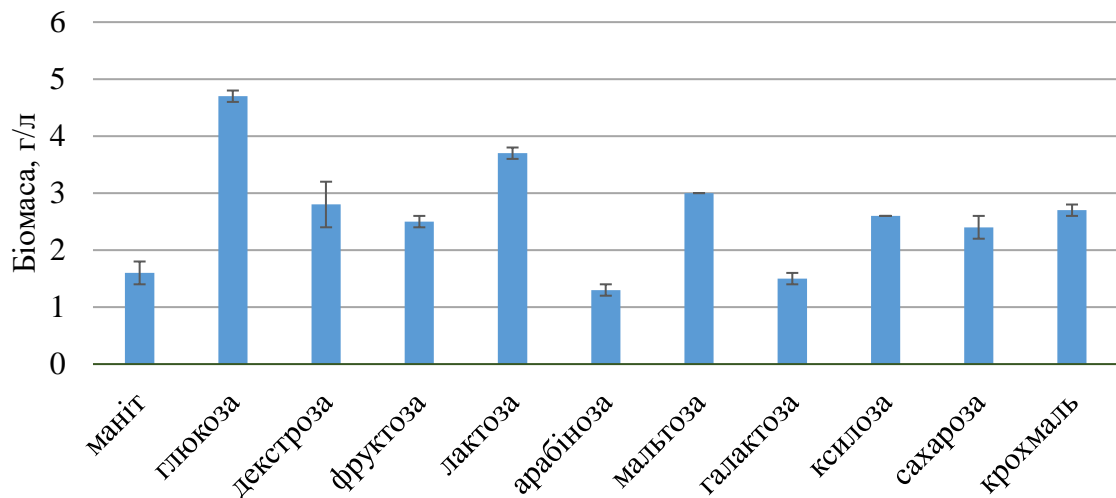


Рис. 7.23. Вплив вуглецевого живлення на ріст *H. muhotricha*.

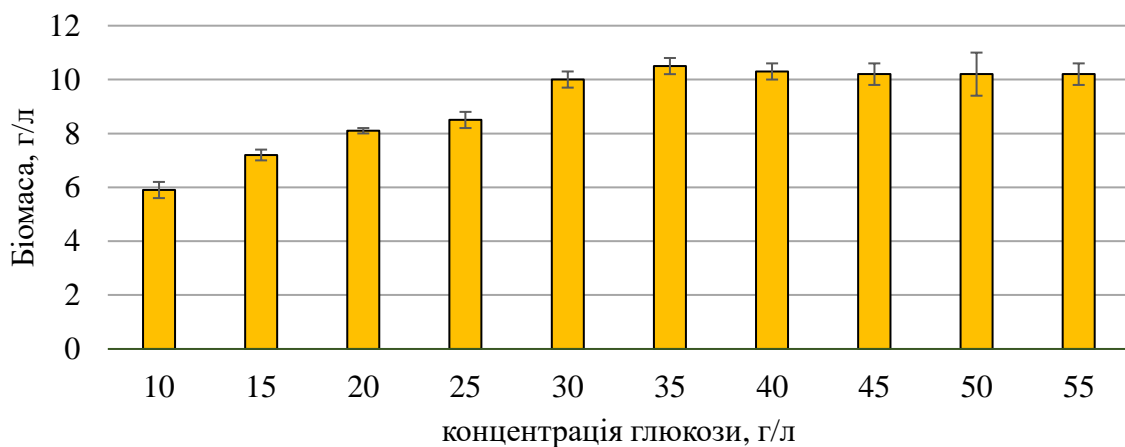


Рис. 7.24. Вплив концентрації глюкози на ріст *H. muhotricha*

Дослідження демонструє ключову роль джерел азоту у розвитку та рості грибів. Усі шість протестованих джерел азоту виявилися придатними для росту дослідженого гриба (рис. 7.25), хоча їх ефективність суттєво відрізнялася. Серед вивчених джерел найвищу продуктивність забезпечив дріжджовий екстракт, що сприяв формуванню міцеліальної біомаси на рівні $4,3 \pm 0,3$ г/л. Висока ефективність дріжджового екстракту пояснюється його багатокомпонентним складом, який включає амінокислоти, вуглеводи, білки, мінерали та вітаміни, забезпечуючи оптимальні умови для росту грибного міцелію. Дріжджовий

екстракт найкраще стимулював ріст міцелію *H. myxotricha* у концентрації 2 г/л (рис. 7.26). Загалом, органічні джерела азоту були більш придатними для росту *H. myxotricha*, ніж неорганічні. Триптон, соєвий екстракт, солодовий екстракт, а також дріжджовий екстракт (у концентрації 0,4 %) були сприятливими для росту міцелію *H. peloides* (Yoo et al., 2001). У той час як пептон був основним джерелом азоту, який підтримував найкращий ріст міцелію іншого штаму *H. peloides* (Zhu et al., 2007).

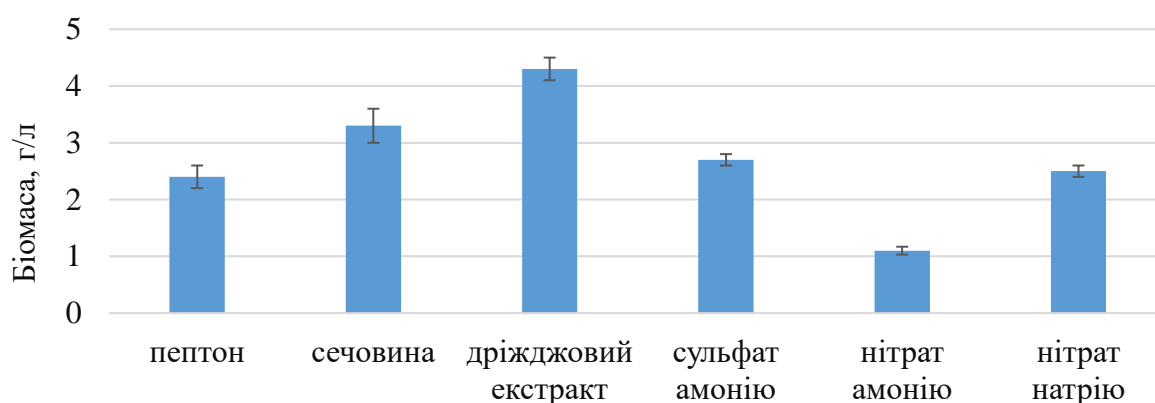


Рис. 7.25. Вплив джерел азоту на ріст *H. myxotricha*

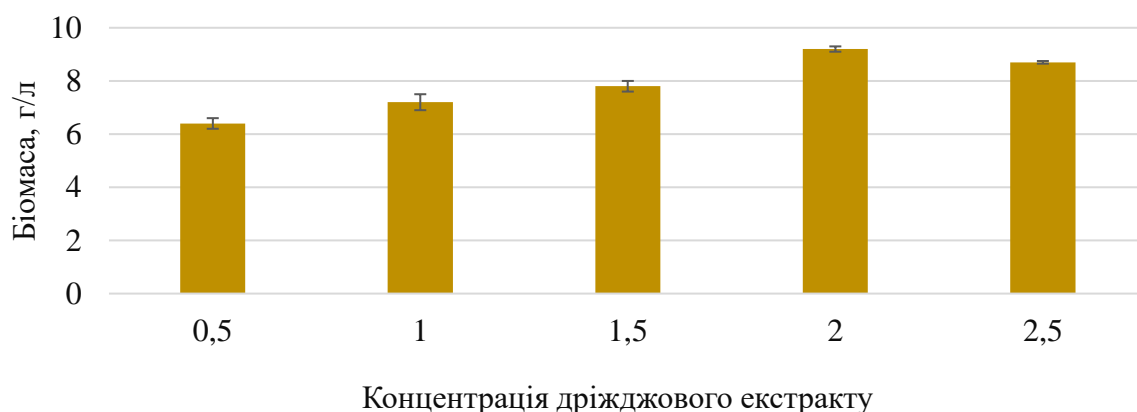


Рис. 7.26. Вплив концентрації дріжджового екстракту на ріст *H. myxotricha*

Зміна умов культивування може суттєво впливати на біосинтез цільових метаболітів. Період інкубації виявився критичним фактором у набутті антимікотичної активності *H. myxotricha* (рис. 7.27). Дослідження показало, що максимальна активність проти *Aspergillus niger* спостерігалася після 14 днів культивування, що свідчить про інтенсивний синтез антимікотичних сполук у цей період. Подовження інкубації до 21 доби сприяло максимальному

пригніченню росту *Pichia kudriavzevii* та штамів *Candida albicans* (315, 319, 17/138), що може бути пов'язано з накопиченням вторинних метаболітів із антимікотичною дією. Пригнічення росту *C. albicans* 311 встановлено на однаковому рівні (95 %) незалежно від тривалості культивування *H. tuxotricha*. Таке стабільне пригнічення росту *C. albicans* 311 може бути пояснене кількома факторами. Можливо, *H. tuxotricha* синтезує критичну концентрацію антимікотичних сполук на ранніх стадіях культивування, яка достатня для максимального пригнічення *C. albicans* 311. Разом з цим, антимікотичні речовини, які продукує *H. tuxotricha*, можуть бути стійкими в середовищі, зберігаючи свою активність протягом усього періоду культивування. Даний штам *C. albicans* може мати також підвищену чутливість до специфічних метаболітів, які продукуються на ранніх етапах розвитку *H. tuxotricha*, що забезпечує стабільний антимікотичний ефект. Не виключеним також є вірогідність того, що відбувається баланс між утворенням і деградацією активних речовин, підтримуючи їх ефективну концентрацію протягом усього періоду інкубації. Ці фактори можуть діяти як окремо, так і в комбінації, забезпечуючи постійну антимікотичну активність щодо *C. albicans* 311.

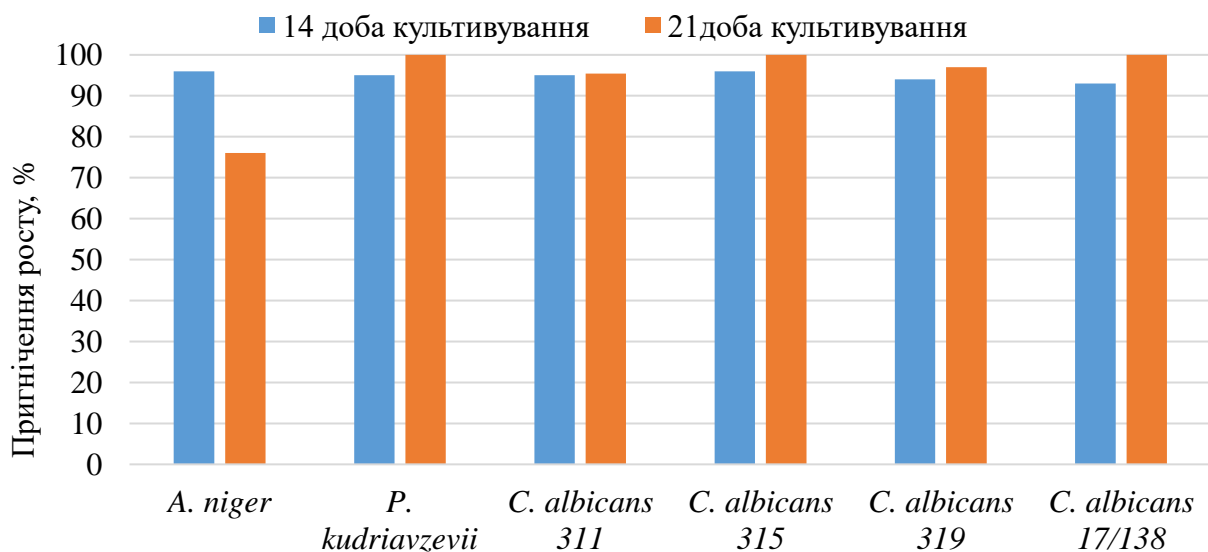


Рис. 7.27. Вплив тривалості культивування на антимікотичну активність *H. tuxotricha*

Наведене вище спостереження узгоджується з даними інших досліджень (Barakat & Sadik, 2014; Popova, 2015), в яких повідомляється, що антимікробна активність базидієвих грибів (*Cantharellus cibarius*, *Lentinus tigrinus*, *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *Pholiota lenta*, *Rhodocollybia maculate*) може варіювати залежно від тривалості їх культивування на різних стадіях розвитку.

Зміна джерел вуглецю суттєво впливала на продукцію антимікотичних вторинних метаболітів *H. tuxotricha* (рис. 7.28). Активність значно варіювала залежно від використаних джерел вуглецю, а відсоток інгібування коливався від 10 до 100 (рис. 7.28).

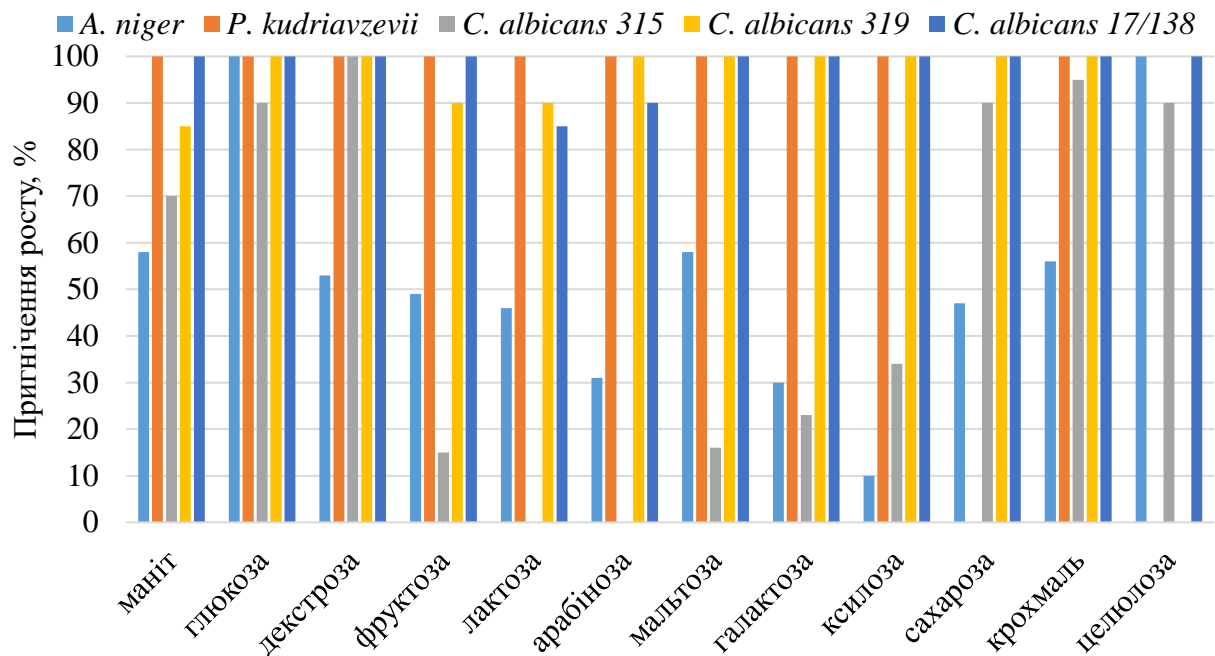


Рис. 7.28. Вплив джерел вуглецю на антимікотичну активність *H. tuxotricha*

Найвищу активність спостерігали при використанні глюкози, що може пояснюватися кількома причинами. По-перше, через швидке засвоєння глюкози. Глюкоза є легкодоступним і швидко метаболізованим вуглецевим джерелом, яке забезпечує максимальне виробництво енергії та метаболічних попередників для синтезу вторинних метаболітів. Можлива також індукція метаболічних шляхів. Глюкоза може стимулювати ключові біосинтетичні шляхи, пов'язані з утворенням антимікотичних сполук, тоді як складні полімери, такі як целюлоза, потребують додаткових ферментативних кроків, що може обмежувати синтез

активних сполук. Використання крохмалю і декстрази також сприяли ефективному пригніченню росту патогенних грибів, що може бути обумовлено метаболічною доступністю декстрази. Декстроза є простим вуглеводом, який легко засвоюється грибами, забезпечуючи швидке накопичення енергії та попередників для біосинтезу вторинних метаболітів. Важливим також є здатністю крохмалю до гідролізу. Крохмаль, хоч і є полісахаридом, може розкладатися ферментами *H. myxotricha* на глюкозу, що забезпечує стабільне джерело вуглецю протягом тривалого періоду культивування. Це створює сприятливі умови для пролонгованої продукції антимікотичних метаболітів. Обидва джерела вуглецю можуть активувати регуляторні шляхи, що стимулюють виробництво вторинних метаболітів. Декстроза швидко вмикає ці шляхи, а крохмаль підтримує їхню активність завдяки поступовому вивільненню глюкози. Разом з цим, присутність цих вуглеводів може створювати помірний осмотичний тиск у середовищі, що іноді активує стресові відповіді гриба, включаючи синтез антимікотичних сполук.

Слід зазначити, що ми не спостерігали активності проти *C. albicans* 319 у разі застосування целюлози та проти *P. kudriavzevii* при використанні целюлози та сахарози. Останнє може бути наслідком катаболітної репресії (Nair & Sarma, 2021). Деякі джерела вуглецю, наприклад сахароза, пригнічуючи продукцію вторинних метаболітів через пріоритетне використання глюкозного компонента. Слід також брати до уваги можливу селективну чутливість патогенів. Відсутність інгібування *C. albicans* 319 та *P. kudriavzevii* при використанні целюлози та сахарози може бути пов'язана з недостатнім накопиченням специфічних антимікотичних сполук, необхідних для пригнічення цих штамів. Виявлена необхідність підбору оптимальних джерел вуглецю для підвищення антимікробної активності узгоджується з попередніми повідомленнями (Barakat & Sadik, 2014; Porova, 2015). Мальтоза була оптимальною для пригнічення росту *A. niger* в експерименті з *Pleurotus ostreatus* (Barakat & Sadik, 2014). Пригніченню росту *Candida* sp. сприяла наявність у живильному середовищі глюкози та

фруктози у випадку культивування *Pleurotus ostreatus* (Barakat & Sadik, 2014) та *Cantharellus cibarius* (Ророва, 2015), відповідно.

Виявлено різний вплив джерел азоту на антимікотичну активність *H. myxotricha* (рис. 7.29), який може бути пояснений їх хімічним складом та здатністю задовольняти метаболічні потреби гриба. Зазначимо, що основними факторами є біодоступність азоту, рівень азоту та співвідношення вуглецю до азоту (C:N), тип азотовмісних сполук, індукція метаболічних шляхів та осмотичний ефект. Активність сильно варіювала залежно від наявності джерел азоту і відсоток інгібування коливався від 2 до 100, подібна залежність була виявлена раніше для глибинного культивування *Pleurotus ostreatus* (Vamanu, 2012).

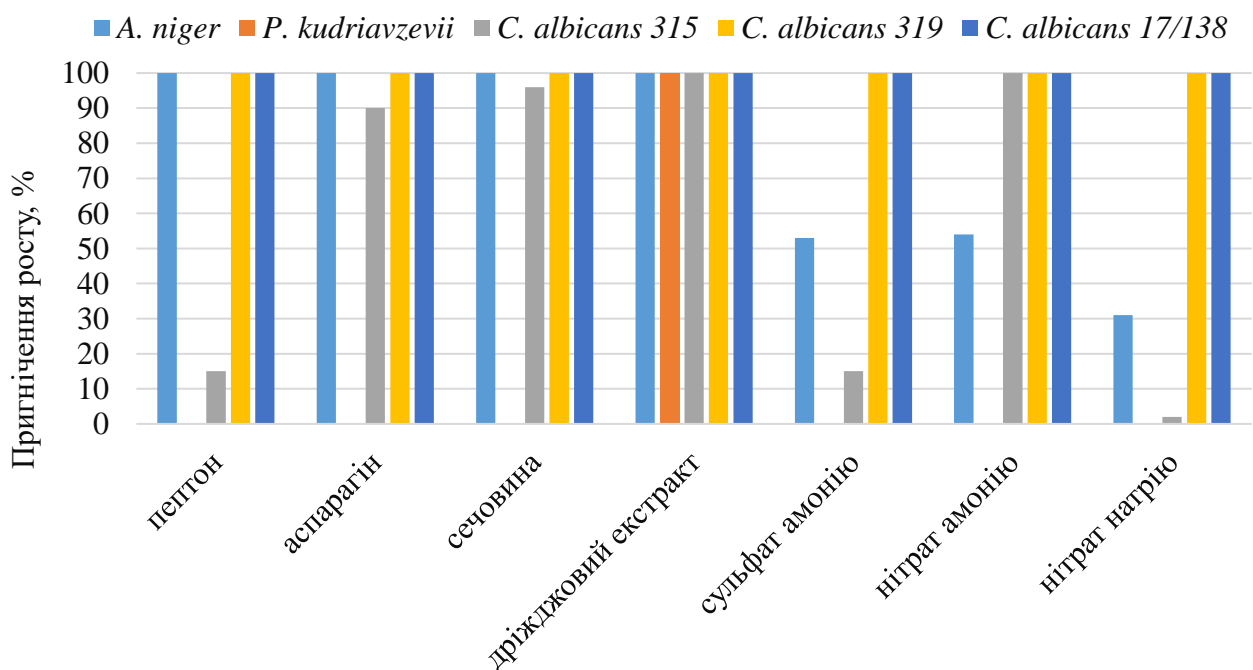


Рис. 7.29. Вплив джерел азоту на антимікотичну активність *H. myxotricha*

Встановлено, що *P. kudriavzevii* є найбільш вибагливим до джерел азоту серед досліджуваних патогенних грибів, що свідчить про складність його метаболічних потреб. У цьому контексті дріжджовий екстракт продемонстрував найвищу стимулюючу дію на антимікотичну активність *H. myxotricha* проти всіх тест-грибів. Ефективність дріжджового екстракту обумовлена його комплексним

складом та можливою стимуляцію біосинтезу. Дріжджовий екстракт містить широкий спектр біологічно активних речовин, таких як амінокислоти, вітаміни, пептиди та мінерали, які підтримують як первинний, так і вторинний метаболізм гриба. Його склад може індукувати виробництво антимікотичних метаболітів через активацію специфічних метаболічних шляхів. Аміачна селітра також добре сприяла пригніченню росту всіх штамів *C. albicans* за рахунок забезпечення легкодоступного азоту у формі нітрату та амонію, що підтримує інтенсивний ріст міцелію та продукцію антимікотичних речовин. Також, ефективність аміачної селітри проти всіх штамів *C. albicans* може бути пов'язана з індукцією специфічних вторинних метаболітів, які мають широкий антимікотичний спектр. Загалом, органічні джерела азоту виявилися більш придатними для набуття *H. tuxotricha* антимікотичної активності, ніж неорганічні азотні джерела. Органічні сполуки, такі як дріжджовий екстракт і пептон, більш ефективно підтримують антимікотичну активність *H. tuxotricha* через комплексну дію. Вони не лише забезпечують азот, але й містять ко-фактори, необхідні для ферментативних реакцій, що стимулюють утворення біологічно активних сполук. На відміну від цього, неорганічні джерела азоту є більш обмеженими за складом і зазвичай підтримують лише базовий ріст міцелію. Сульфат амонію показав найбільш виражену антимікробну дію міцелія *Pleurotus ostreatus* (Vamanu, 2013).

Антиоксидантні та антимікробні властивості грибів є важливими напрямками сучасних наукових досліджень завдяки їх потенційному застосуванню в медицині, харчовій промисловості та фармакології. Однак кореляція між цими двома типами біологічної активності залишається предметом дискусій через складність хімічного складу грибів і багатофакторний характер їх біологічної дії. Досліджено антимікробну активність EtOH-екстрактів міцелію *H. tuxotricha*, отриманих на різних живильних середовищах (табл. 7.21). Встановлені значення МІК зразків міцелію *H. tuxotricha* варіювали від 25 до 200 мкг/мл залежно від використаних патогенів. Отримані результати свідчать про те, що екстракт міцелію *H. tuxotricha* володіє ефективними

антимікробними сполуками з широким спектром дії проти досліджуваних патогенів, як грампозитивних, так і грамнегативних (грампозитивні: *S. aureus* (МІК 50 мкг/мл), *S. aureus* MRSA (МІК 50 мкг/мл), *E. faecalis* (МІК 100 мкг/мл), грамнегативні: *E. coli* (МІК 100–200 мкг/мл), *P. aeruginosa* (МІК 200 мкг/мл), *A. baumannii* (МІК 100 мкг/мл) та гриби: *C. albicans* (МІК 25–50 мкг/мл), *N. glabrata* (МІК 25 мкг/мл), *Pichia kudriavzevii* (МІК 25-50 мкг/мл). Активність проти *S. aureus* та *E. coli* також була відзначена для водних (75–100 % інгібування) та етанольних екстрактів (25–100 % інгібування) з плодових тіл *Hohenbuehelia* sp. (Bala et al., 2011). Дещо слабку активність (розмита/дуже розмита зона інгібування) щодо *S. aureus* зафіксовано для метанольних екстрактів культуральних рідин *H. mastrucata* (Suay et al., 2000). Гексановий екстракт *H. petaloides* пригнічував також ріст *S. aureus* (Korkmaz et al., 2024).

Таблиця 7.21

Мінімальна інгібуюча концентрація комерційних антибіотиків і етанольного екстракту міцелію *H. tuxotricha* при культивуванні на різних поживних середовищах, мкг/мл

Зразки	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Сабуро	50	50	100	200	200	100	25	25	25
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*

Наскільки нам відомо, це перше дослідження, яке демонструє антимікробну дію *Hohenbuehelia tuxotricha* проти *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* та *Nakaseomyces glabrata*.

Грамнегативні бактерії *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* з МІК 100 та 200 мкг/мл були менш чутливими до досліджуваного екстракту міцелію, ніж грампозитивні *S. aureus*, *S. aureus* MRSA з МІК 50 мкг/мл (табл. 7.21). Цю тенденцію можна пояснити структурною складністю клітинної стінки грамнегативних бактерій, яка є менш проникною (Walsh, 2003). Крім того, протимікотична дія етанольного екстракту міцелію *H. myxotricha* (значення МІК варіювало від 25 до 50 мкг/мл) була сильнішою порівняно з його антибіотичним потенціалом (значення МІК варіювало від 50 до 200 мкг/мл). Ця тенденція також була зафіксована в аналогічному експерименті з тими ж патогенами (*S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *C. albicans*, *N. glabrata* і *P. kudriavzevii*) для екстрактів плодового тіла *Cerrena unicolor* (Sevindik, 2018b). При цьому середовище культивування не впливало на антибіотичну активність, за винятком *E. coli*, і на відміну від антимікотичної активності, екстракт міцелію *H. myxotricha*, вирощений на середовищі Сабуро (МІК 25 мкг/мл для *C. albicans*, *N. glabrata*, *P. kudriavzevii*), був більш ефективним проти штамів грибів порівняно з результатами, отриманими на середовищі ГПД (МІК 50 мкг/мл для *C. albicans*, *P. kudriavzevii* і МІК 25 мкг/мл для *N. glabrata*). Виявлено, що антимікробна активність міцелію *H. myxotricha*, вирощеного на різних поживних середовищах, може змінюватися в залежності від використовуваного середовища. Раніше нами також було виявлено вплив вуглецевого складу поживного середовища на прояв антимікробної активності *Lentinula edodes* та *Fomitopsis betulina* (Krupodorova et al., 2019). Крім цього, аналогічна залежність встановлена і для *Pleurotus ostreatus* (Barakat & Sadik, 2014), *Cantharellus cibarius* (Popova, 2015).

Виявлено також вплив поживного середовища культивування на набуття антиоксидантної активності (табл. 7.22). Визначено значення TAS, TOS та OSI зразків міцелію *Hohenbuehelia myxotricha*, отриманих на середовищах Сабуро та ГПД. Встановлено, що міцелій, отриманий на середовищі Сабуро, має вищий показник TAS – $5,416 \pm 0,150$ ммоль/л, тоді як отриманий з міцелію, вирощеного

на середовищі ГПД, має вищі значення TOS ($2,623 \pm 0,157$ мкмоль/л) та OSI ($0,058 \pm 0,004$).

Таблиця 7.22

Антиоксидантний потенціал етанольного екстракту *H. tuxotricha*

Середовище	TAS (ммоль/л)	TOS (мкмоль/л)	OSI
Сабуро	$5,416 \pm 0,150^*$	$1,320 \pm 0,156^*$	$0,024 \pm 0,003^*$
ГПД	$4,549 \pm 0,136^*$	$2,623 \pm 0,157^*$	$0,058 \pm 0,004^*$

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Значення TAS (загальна антиоксидантна здатність) відображає сумарну кількість антиоксидантних сполук, що виробляються грибом. Значення TOS (загальний окислювальний статус) показує рівень окислювальних сполук, що утворюються в грибі під впливом навколишнього середовища, та відображає баланс між ендogenous окислювачами та антиоксидантами (Gürgen et al., 2020). Крім того, низький рівень окислювальних сполук, що утворюються в грибі, та надлишок ендogenous антиоксидантів призвели до того, що система антиоксидантного захисту була сильнішою (Sharifi-Rad et al., 2020). Як наслідок, значення OSI (індикатор окисного стресу) було низьким. У цьому контексті було визначено, що *Hohenbuehelia tuxotricha* має значний антиоксидантний потенціал. На основі отриманих результатів було зроблено висновок, що середовище Сабуро, порівняно з середовищем ГПД, є більш придатним для продукування метаболітів з антиоксидантними властивостями міцелієм *H. tuxotricha*. Раніше також було описано вплив джерел вуглецю на антиоксидантну активність базидієвих грибів (Barros et al., 2008; Barakat & Sadik, 2014; Zhang et al., 2015; Bai et al., 2020). Наскільки нам відомо, вперше було визначено значення TAS, TOS та OSI екстрактів міцелію *H. tuxotricha*.

Отримані результати свідчать про здатність *Hohenbuehelia tuxotricha* ефективно рости за різних умов культивування, демонструючи високу екологічну пластичність. Вперше проведено детальне дослідження культурально-морфологічних характеристик вегетативного міцелію цього гриба,

а також вивчено вплив основних живильних речовин на його ріст і синтез біологічно активних метаболітів. Встановлено, що умови вирощування суттєво впливають на морфологію колоній, інтенсивність росту міцелію та продукування антимікробних і антиоксидантних сполук.

Встановлено, що середовище ГПД сприяє синтезу антибіотичних сполук проти *Escherichia coli*, тоді як середовище Сабуро виявилось оптимальним для накопичення антиоксидантних метаболітів і формування протимікробних компонентів. Така диференціація біосинтетичних процесів підкреслює необхідність підбору специфічних умов культивування для досягнення максимального виходу цільових сполук.

Адаптивна здатність *Hohenbuehelia tuxotricha* до росту за широкого діапазону рН, температур та використання різноманітних джерел вуглецю й азоту забезпечує його конкурентоспроможність у природних та штучних середовищах. Це робить гриб перспективним об'єктом для біотехнологічного використання, включаючи виробництво природних антимікробних, антиоксидантних сполук і ферментів. Отримані результати відкривають можливості застосування *H. tuxotricha* для створення біологічно активних препаратів для сільського господарства та медицини. Подальші дослідження можуть сприяти оптимізації умов культивування та підвищенню ефективності використання цього гриба у промислових біотехнологіях.

7.5. Вплив гетероциклічних стимуляторів росту на ріст комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* та штамоспецифічні особливості біологічної активності культур

Використання стимуляторів росту є одним із перспективних напрямів підвищення продуктивності культивованих грибів, зокрема *Pleurotus ostreatus*. Цей вид є одним з найважливіших об'єктів промислового грибівництва завдяки його високій харчовій цінності, здатності до інтенсивного росту на різноманітних субстратах і значному вмісту біологічно активних речовин.

Вплив деяких регуляторів росту на розвиток вегетативного міцелію *P. ostreatus* вивчався на агаризованих середовищах (Vinklárková & Sladký, 1978, Заколесник, 2006; Кузнецова, 2011). Vinklárková & Sladký (1978) відзначили, що найкращий ріст *P. ostreatus* спостерігали на середовищах з 100 ppm індолілоцтової кислоти, 200 ppm гіберелінової кислоти та 200 ppm кінетину. Заколесник (2006) встановив, що регулятори росту, такі як фумар, гіберелінова кислота та гетероауксин, позитивно впливають на утворення примордіїв залежно від їх концентрації, але не діють однозначно на ріст міцелію *P. ostreatus* НК-35 (ІВК 551) на агаровому середовищі з кукурудзяним відваром. Кузнецова (2011) спостерігала позитивний вплив фумару (10^{-3} % і 10^{-4} %) і біогумату (10^{-2} %) на радіальну швидкість росту міцелію *P. ostreatus* НК-35 (ІВК 551), тоді як гетероауксин у концентрації 10^{-4} % пригнічував міцелій у фазі лінійного росту. Встановлена значна також роль регуляторів росту, таких як гіберелінова кислота, на ріст та врожайність *P. ostreatus* в глибинній культурі. Hong (1978) виявив збільшення росту *P. ostreatus* при додаванні гіберелінової кислоти, кінетину, індолілоцтової кислоти у дозах 10 ppm, 0,1, а також 0,01 ppm і 0,1 ppm, відповідно. Reddy et al. (2002) відмітили найкращий ріст *P. ostreatus* за використання індолілоцтової кислоти у дозі 5 ppm. Ці результати чітко вказують, що за певних концентрацій регулятори росту рослин можуть стимулювати ріст *P. ostreatus*.

Останнім часом синтетичні низькомолекулярні гетероциклічні сполуки, представлені похідними піридину, піримідину, піразолу та оксазолу, активно досліджуються завдяки їх високій ефективності за низьких концентрацій та відсутності токсичного впливу на клітини рослин і тварин, що забезпечує екологічну безпеку (Tsygankova et al., 2017; Pidlisnyuk et al., 2022; Tsygankova et al., 2022a,b, 2023a,b,c). Загалом, аналіз досліджень проведених з використанням Івіну, Метіуру та Каметуру на рослинах свідчить, що концентрації 10^{-5} , 10^{-6} та 10^{-7} М цих синтетичних регуляторів росту мали ріст стимулюючий ефект. Підкреслимо, гетероциклічні сполуки, що містять азот, сірку чи кисень, широко застосовуються як регулятори росту рослин, але їхній вплив на грибні культури

залишається невивченим. Відомо, що такі сполуки можуть виступати джерелом живлення або стимулювати фізіологічні процеси шляхом активації синтезу ферментів, регуляції обміну речовин і підвищення стійкості до стресових факторів.

Для дослідження стимуляції виходу біомаси *P. ostreatus* використали стратегію додавання гетероциклічних синтетичних регуляторів росту рослин. Штами *P. ostreatus* вирощували на ГПД середовищі (контроль) із додаванням синтетичних регуляторів росту рослин Метіур, Каметур та Івін (рис. 7.30–7.32). Вплив (позитивний, негативний або нейтральний) синтетичних регуляторів росту рослин на вихід біомаси культур змінювався залежно від штаму *P. ostreatus*, тривалості культивування та концентрації відповідної хімічної сполуки.

Додавання Метіуру в усіх досліджених концентраціях від 10^{-6} до 10^{-9} М призводило до збільшення виходу біомаси штаму *P. ostreatus* 1685; додавання Метіуру в концентрації 10^{-6} М сприяло збільшенню виходу біомаси штаму *P. ostreatus* 2460; додавання Метіуру в концентрації 10^{-9} М призводило до збільшення виходу біомаси штаму *P. ostreatus* 1685. Додавання Метіуру в концентрації 10^{-6} М стимулювало збільшення виходу біомаси *P. ostreatus* штаму 2460; додавання Метіуру в концентраціях 10^{-6} та 10^{-7} М сприяло збільшенню виходу біомаси *P. ostreatus* штаму 2461, а також додавання Метіуру в концентрації 10^{-9} М призводило до збільшення виходу біомаси *P. ostreatus* штаму 551 після культивування протягом 7 діб (рис. 7.30 А).

Усі досліджені концентрації Метіуру сприяли кращому росту штамів *P. ostreatus* 551 і 1685 після культивування протягом 14 (рис. 7.30 В) і 21 дня (рис. 7.30 С). Крім того, більш тривале культивування (21 доба) з додаванням Метіуру лише в концентрації 10^{-8} М позитивно впливало на ріст штаму *P. ostreatus* 2462 (рис. 7.30 С). Концентрації метіуру 10^{-7} , 10^{-8} та 10^{-9} М негативно впливали на ріст штаму *P. ostreatus* 2460 на 7-й день (рис. 7.30 А), тоді як концентрації 10^{-6} та 10^{-7} М пригнічували ріст цього ж штаму після 21 дня культивування (рис. 7.30 С). Усі досліджувані концентрації Метіуру знижували

ріст міцелію штамів 2460, 2461, 2462 на 14-й день культивування (рис. 7.30 В). У інших випадках (штам, концентрація Метіуру та тривалість культивування) виявлено нейтральний вплив Метіуру на ріст штамів *P. ostreatus*.

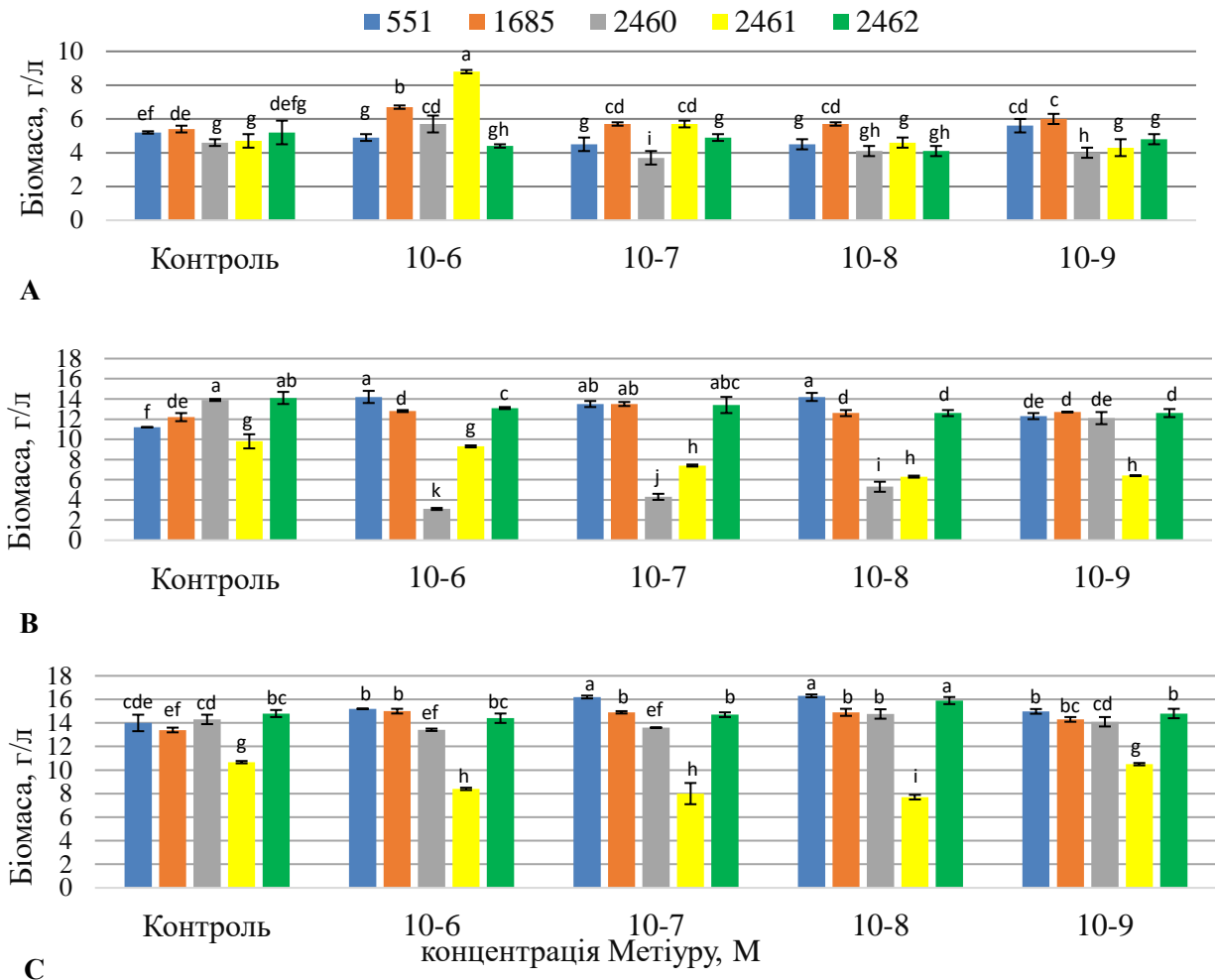


Рис. 7.30. Вплив Метіуру на ріст міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus* на 7 (А), 14 (В) та 21 (С) добу культивування

Додавання Каметуру в усіх концентраціях від 10^{-6} до 10^{-9} М підтримувало позитивно ріст штамів *P. ostreatus* 1685 і 2461; додавання Каметуру в концентрації 10^{-7} М стимулювало ріст штаму *P. ostreatus* 2460, додавання Каметуру в концентрації 10^{-8} М стимулювало ріст штамів *P. ostreatus* 551, 2460, 2461, відповідно, на 7-й день росту (рис. 7.31 А). Інші концентрації призводили до нейтрального впливу на культури після 1 тижня росту. Усі досліджувані концентрації Каметуру позитивно впливали лише на ріст штаму *P. ostreatus* 551, негативно - на ріст штамів *P. ostreatus* 2460, 2461 і нейтрально - на ріст штамів *P.*

ostreatus 1685 і 2462 після 14 днів експерименту (рис. 7.31 В). Більш тривале культивування (21 доба) призводить до росту штаму *P. ostreatus* 1685 за використання Каметуру в усіх досліджуваних концентраціях, штаму *P. ostreatus* 2462 за використання Каметуру в концентрації 10^{-7} М, штаму *P. ostreatus* 551 за використання Каметуру в концентрації 10^{-8} М, тоді як в інших випадках виявлено нейтральний ефект Каметуру (рис. 7.31 С).

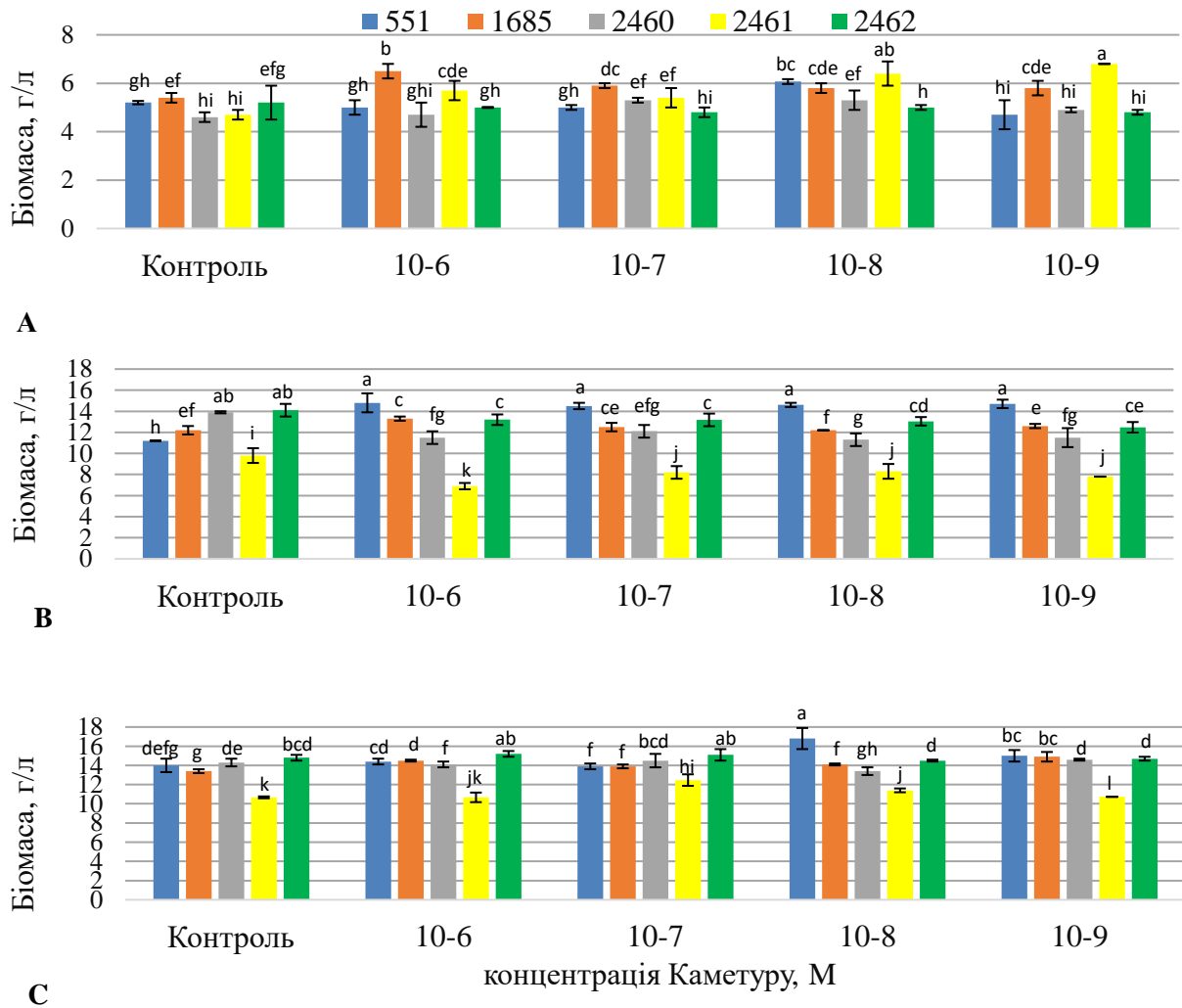


Рис. 7.31. Вплив Каметуру на ріст міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus* на 7 (А), 14 (В) та 21 (С) добу культивування

Додавання Івіну в усіх досліджуваних концентраціях призводило до збільшення біомаси штамів 2460 і 2461, а нейтральний вплив на ріст штамів *P. ostreatus* 1685 і 2462 спостерігали через 7 днів культивування. Вихід біомаси штаму *P. ostreatus* 551 збільшувався при додаванні Івіну в концентрації 10^{-6} М. Зменшення концентрації Івіну з 10^{-7} до 10^{-9} М негативно впливало на ріст штаму

P. ostreatus 551 після першого тижня експерименту (рис. 7.32 А). Культивування через два тижні показало, що всі досліджувані концентрації Івіну позитивно впливали на ріст штаму *P. ostreatus* 551, нейтрально – на ріст штамів *P. ostreatus* 1685 і 2462 та знижували ріст штамів *P. ostreatus* 2460 і 2461 (рис. 7.32 В). Більш тривале культивування (21 доба) призводило до збільшення виходу біомаси штаму *P. ostreatus* 2461 за використання Івіну в концентраціях 10^{-8} і 10^{-9} М, а також до збільшення виходу біомаси штамів *P. ostreatus* 551, 1685 за всіх досліджуваних концентрацій і мало нейтральну дію на штами *P. ostreatus* 2460, 2462. Застосування Івіну в концентраціях 10^{-6} і 10^{-7} М призводило до зниження росту штаму *P. ostreatus* 2461 протягом трьох тижнів експерименту (рис. 7.32 С).

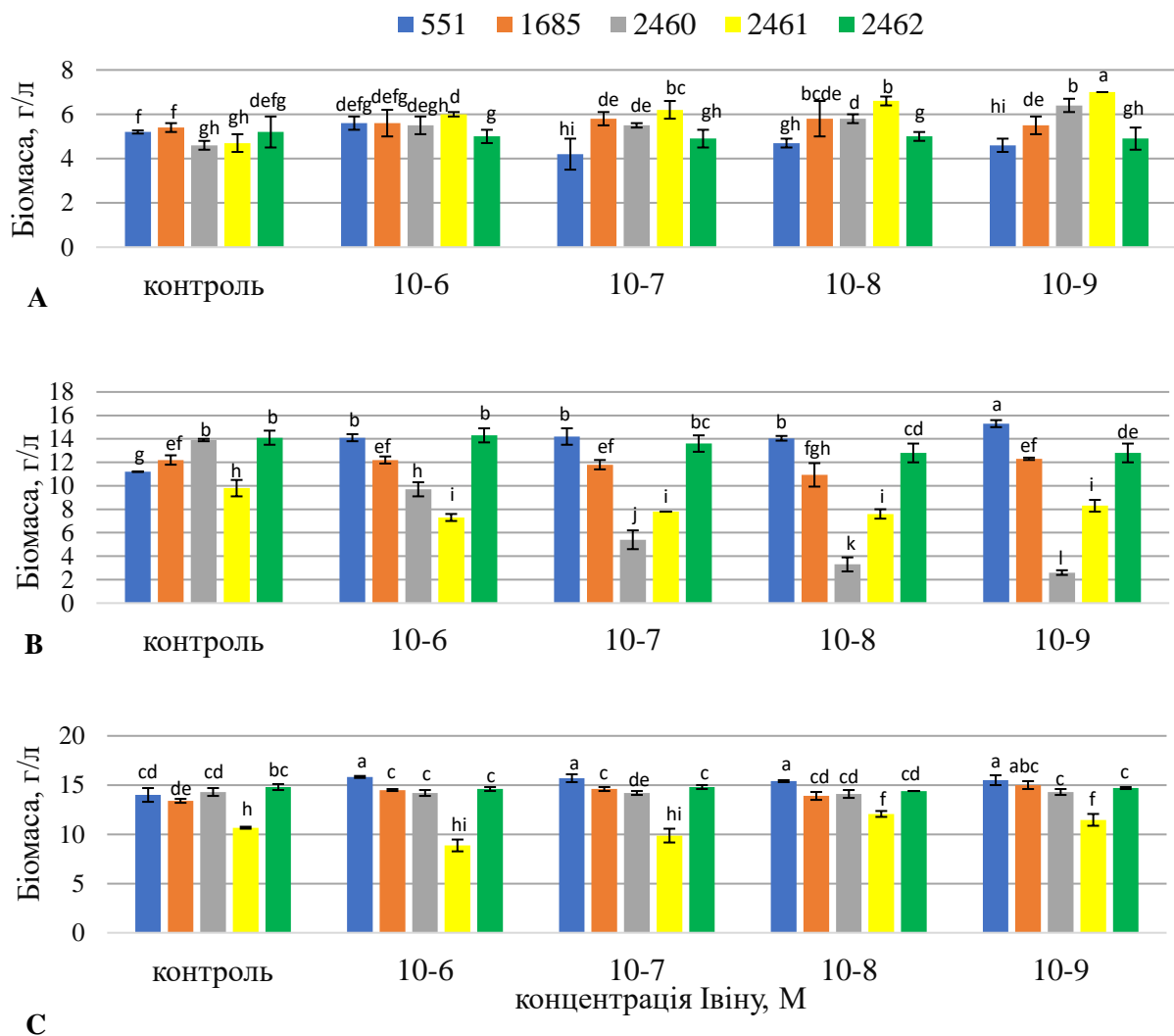


Рис. 7.32. Вплив Івіну на ріст міцеліальної біомаси штамів *P. ostreatus* на 7 (А), 14 (В) та 21 (С) добу культивування

Певна хімічна подібність між Метіуром і Каметуром у всіх використаних концентраціях мала однаковий ріст-регулюючий ефект 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 тільки для штаму 1685. Крім того, всі три хімічні сполуки в усіх концентраціях мали однаковий ріст-регулюючий ефект на штами *P. ostreatus* 551, 2460, 2461 при культивуванні протягом двох тижнів і на штаму *P. ostreatus* 1685 при культивуванні протягом трьох тижнів.

Штами *P. ostreatus* значно відрізнялися за антибактеріальною активністю. Лише деякі екстракти штамів *P. ostreatus* мали таку дію. EtOAc-екстракт *P. ostreatus* 2462 виявив сильну антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus*, а у випадку *P. ostreatus* 2460 – проти *Escherichia coli*. Зони затримки росту становили $21,5 \pm 0,5$ мм та $17,0 \pm 0,9$ мм, відповідно. Наші дослідження показали, що інші екстракти штамів *P. ostreatus* не виявляли потенційної антимікробної активності щодо *E. coli*, *S. aureus* та *Klebsiella pneumoniae*.

Отримані результати узгоджуються з даними, отриманими Vamanu (2012), щодо етанольних екстрактів міцелію штаму *P. ostreatus* PQMZ91109, які також мають антибактеріальний ефект проти *E. coli* СВАВ 2, *S. aureus* ATCC 6588. Аналогічно, раніше Younis et al. (2015) спостерігали, що водний екстракт міцелію *P. ostreatus* пригнічував ріст *S. aureus* RCMB (B001001"3"), тоді як він не мав ефекту проти *E. coli* RCMB (B004001"4"), але призводив до інгібування росту *K. pneumoniae* RCMB (B008001"2"). Крім того, наші результати узгоджуються з повідомленням El-Rahman et al. (2016), які спостерігали пригнічення росту *S. aureus* ATCC 6588, а також *Escherichia coli* СВАВ2 при застосуванні екстракту *P. ostreatus*, приготованого з використанням суміші розчинників, що складалася з метанолу: гліцерину: води (1:1:1 об/об). Також водний екстракт міцелію штаму *Pleurotus* sp. SSEVI-3024 призводив до активації автолітичної ферментної системи мікробної клітини *S. aureus* ATCC 25953 (Moris et al., 2017). Однак наші результати суперечать результатам, отриманим Owaid et al. (2015), щодо відсутності антибактеріальної дії проти *E. coli* ATCC 25922 та

S. aureus НР10267. Нативний міцелій штаму *P. ostreatus* 551 у нашому попередньому дослідженні (Krupodogova et al., 2016) також був неактивним проти *E. coli* та *S. aureus*.

Оцінку антиоксидантної активності екстрактів за допомогою DPPH-методу виражали у відсотках інгібування (рис. 7.33). Знешкодження DPPH від 30,9 до 61% залежало від дослідженого штаму *P. ostreatus* та розчинників, використаних для приготування екстракту міцелію. Однак значних відмінностей в інгібуванні DPPH не виявлено при порівнянні між штамами *P. ostreatus* 551 та 2462. Ці штами *P. ostreatus* продемонстрували найслабшу антиоксидантну активність. Дещо краще інгібування DPPH було встановлено для етанольних екстрактів, за винятком штаму *P. ostreatus* 1685. Водночас, серед досліджених штамів найпотужнішу активність виявлено для обох екстрактів штаму *P. ostreatus* 1685 (61 та 56 %).

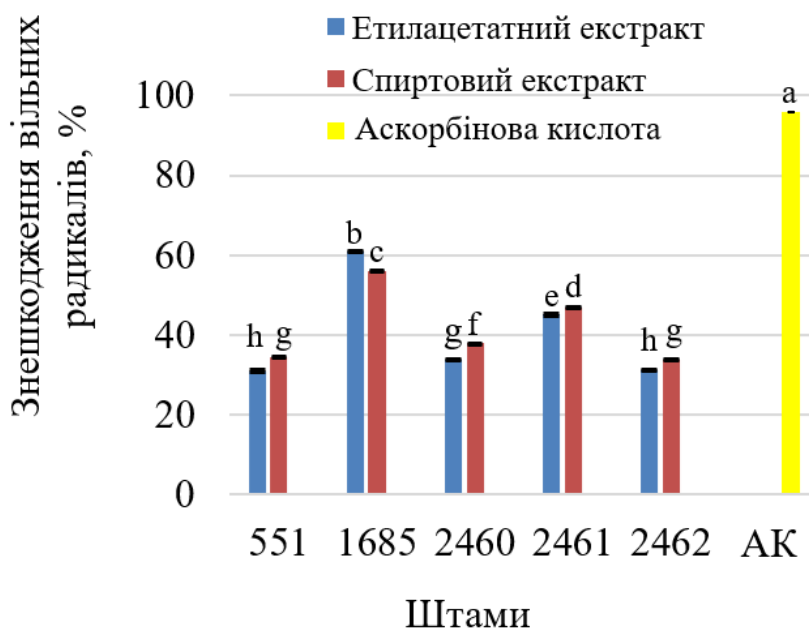


Рис. 7.33. Антиоксидантна активність міцелію штамів *P. ostreatus*

Найвищий ефект знешкодження радикалів *P. ostreatus* 1685 (61%) був досить близьким до результатів попередніх досліджень з водними екстрактами *P. ostreatus* (Özdal et al., 2019) та деяких результатів, отриманих з етанольними екстрактами міцелію штаму *P. ostreatus* PQMZ91109 (Vamanu, 2012), але нижчим,

ніж результати, отримані в дослідженнях з використанням водного екстракту. Однак всі екстракти досліджених нами штамів *P. ostreatus* мали більшу антиоксидантну активність порівняно зі спостереженнями, проведеними El-Rahman (2016), які встановили вплив екстракту міцелію, приготованого із сумішшю розчинників (метанол: гліцерин: вода).

Вміст фенольних сполук у досліджених екстрактах міцелію штамів *P. ostreatus* знаходився в діапазоні від 2,76 до 7,52 мг ЕГК/г (рис. 7.34). Максимальну кількість фенольних сполук встановлено в етилацетатному екстракті штаму *P. ostreatus* 2461 (7,52 мг ЕГК/г), далі – штам *P. ostreatus* 1685 та його етанольний екстракт з 7,17 та 6,73 мг ЕГК/г, відповідно. Рівень фенольних сполук залежав від дослідженого штаму *P. ostreatus*, а також від розчинників, використаних для приготування екстракту міцелію. Етилацетатний розчинник, за винятком штаму *P. ostreatus* 2462, був більш придатним для вилучення фенольних сполук, ніж етанольний розчинник.

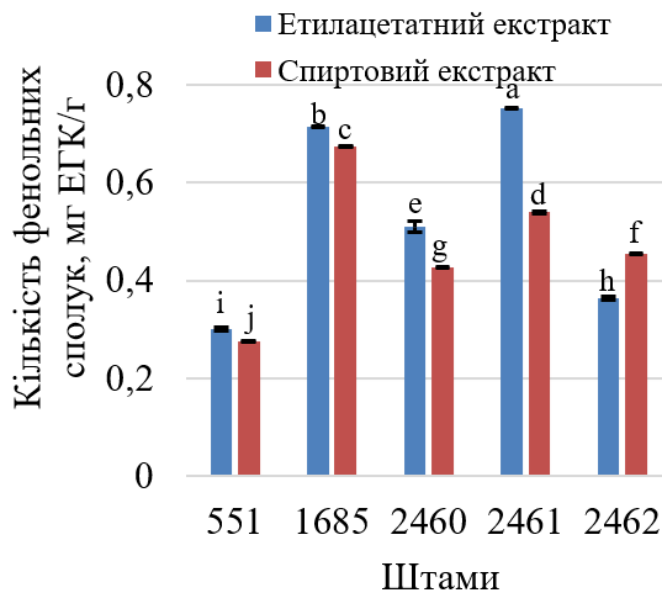


Рис. 7.34. Вміст фенольних сполук у міцелії штамів *P. ostreatus*

Таким чином, за результатами дослідження впливу синтетичних регуляторів росту рослин Івіну, Метіуру та Каметуру на розвиток міцелію *Pleurotus ostreatus* встановлено вперше виявлено різноспрямовану дію цих

сполук, що варіювала від стимулюючої до нейтральної та інгібуючої. За ступенем позитивного впливу на ріст міцелію зазначені сполуки розташовуються в такому порядку: Каметур > Івін > Метіур. Тривалість культивування мала значний вплив на прояв дії досліджених сполук. Відсутність різниці між концентраціями хімічних речовин була зафіксована лише при двотижневому циклі вирощування, що свідчить про необхідність подальших досліджень динаміки їх дії на різних стадіях розвитку грибів. Серед вивчених штамів найбільш чутливими до дії синтетичних стимуляторів виявилися *P. ostreatus* 551 та 1685. Це підкреслює важливість індивідуального підходу при оптимізації умов культивування комерційних штамів. Подальші дослідження можуть сприяти розробці екологічно безпечних та економічно ефективних технологій вирощування *P. ostreatus* на промисловому рівні. Отримані результати демонструють перспективність використання гетероциклічних регуляторів росту для підвищення продуктивності біомаси грибів.

Встановлено також видоспецифічні особливості біологічної активності штамів *P. ostreatus*. Результати дослідження підтверджують, що екстракти міцелію *P. ostreatus* є потенційним джерелом природних антиоксидантів та фенольних сполук. Згідно з результатами проведеного аналізу, штам *P. ostreatus* 1685 продемонстрував найвищу антиоксидантну активність, що робить його перспективним об'єктом для досліджень, спрямованих на виділення антиоксидантних сполук. Водночас, штам *P. ostreatus* 2461 характеризувався максимальним вмістом фенольних сполук, що свідчить про його потенціал як джерела цих біологічно активних компонентів. Таким чином, вибір оптимального штаму залежить від пріоритетних напрямів дослідження: для максимізації антиоксидантної дії рекомендується використання штаму 1685, тоді як для отримання максимальної кількості фенольних сполук перевагу слід надати штаму 2461. Виявлені відмінності в активності та вмісті фенольних сполук між штамми та розчинниками підкреслюють необхідність подальших досліджень для оптимізації процесів екстракції та вивчення біологічної активності цих сполук.

7.6. Особливості росту *Pleurotus eryngii* в культурі за різних умов культивування

Зростання попиту на екзотичні види гливи, зокрема *Pleurotus eryngii*, зумовлене трансформацією споживчих уподобань і динамічними змінами в харчовій промисловості. Сучасний ринок демонструє підвищений інтерес до продуктів із високими поживними характеристиками та унікальним смаковим профілем, що відповідає актуальним трендам здорового харчування та гастрономічних інновацій.

В умовах зростаючої конкуренції виробники прагнуть адаптуватися до нових вимог, зосереджуючись на пошуку та впровадженні альтернативних джерел сировини з високою біологічною цінністю. Екзотичні види грибів, такі як *P. eryngii* (білий степовий гриб, королівська або степова глива), стають перспективним напрямом завдяки їх багатому складу білків, вітамінів і мікроелементів (Reis et al., 2012a; Nie et al., 2019b; Raman et al., 2020; Yang et al., 2020), а також привабливим кулінарним властивостям (приємним смак і щільна текстура). Цей гриб є перспективним об'єктом у створенні інноваційних продуктів (Amerikanou et al., 2023).

Зазначимо, що цей вид є слабким паразитом на коренях і у природних середовищах існування, головним чином, пов'язаний з представниками сімейства рослин *Ariaceae* (*Umbelliferae*) (Staji et al., 2009). У той же час виявлені численні лікувальні властивості (антигіпертензивний, антиоксидантний, антигіперхолестериновий, антигіперглікемічний, антиостеопоротисний, імуномодулюючий, протипухлинний, антибактеріальний та протизапальний ефекти) гриба (Zhiming et al., 2016). Сфера його потенційного застосування може охоплювати дієтичні добавки, продукти та навіть фармацевтичні препарати, спрямовані на підтримку здоров'я та профілактику різних захворювань. Це обумовлює їх широке впровадження як у роздрібну торгівлю, так і в сегмент високої кухні.

Інтенсивному розвитку методів культивування цього виду сприяють обмеженість природних ресурсів *P. eryngii* та сезонність його росту. Зокрема, значну увагу було приділено використанню агропромислових відходів як субстрату для вирощування гриба за умов твердофазного культивування (Gregori et al., 2007; Moonmoon et al., 2010; Choi et al., 2011; Xie et al., 2016; Atila, 2017; Fedeli et al., 2024). Проте, незважаючи на наявність численних наукових праць у цій сфері, дані про фізіологічні особливості культивованих штамів *P. eryngii* залишаються фрагментарними (Atila, 2017). Це визначило актуальність подальших наших досліджень, спрямованих на вивчення фізіологічних параметрів культури для оптимізації умов її вирощування та підвищення врожайності.

На основі проведених досліджень встановлено вплив різних агаризованих поживних середовищ на швидкість росту *P. eryngii* (рис. 7.35) та морфологічні характеристики колоній (рис. 7.36). Швидкість росту вегетативного міцелію є важливим параметром при оцінці культур гриба. Максимальна швидкість росту, яка становила 12,6 мм/добу, спостерігалася на агарі Чапека. Однак ніжна, павутиноподібна структура колоній, сформованих на цьому середовищі, створювала труднощі для подальших маніпуляцій (рис. 7.36). Дослідження показали, що глюкозо-пептон-дріжджовий агар та картопляно-декстрозний агар забезпечували майже однакову швидкість росту міцелію *P. eryngii*, яка становила відповідно 8,3 та 7,9 мм/добу (рис. 7.35).



Рис. 7.35. Швидкість росту *P. eryngii* на агаризованих поживних середовищах

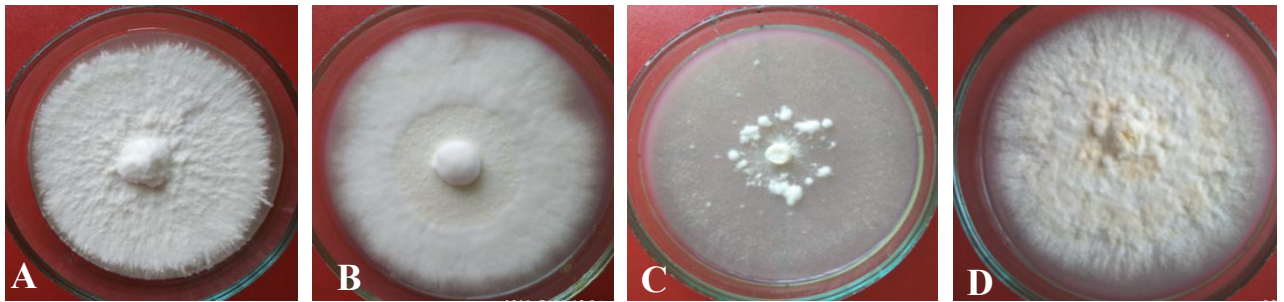


Рис. 7.36. Вплив поживного середовища на морфологію колоній *P. eryngii*. Поживні середовища: картопляно-декстрозне (А), глюкозо-пептон-дріжджове (В), агар Чапека (С); Мальт-агар (D)

Отримані показники узгоджуються з результатами попередніх досліджень, в яких застосування 10-оксо-транс-8-деценової кислоти в різних концентраціях стимулювало ріст *P. eryngii* на картопляно-декстрозному агарі, забезпечуючи швидкість росту в межах 6,2–8,5 мм/добу (Mau & Ma, 2002). Порівняння з іншими поживними середовищами свідчить про вищу ефективність зазначених агаризованих субстратів. Раніше для цього гриба були встановлені наступні оптимальні поживні середовища: глюкозо-пептоне (Alam et al., 2009), дріжджовий солодовий екстракт (Sardar et al., 2015; Zăgrean et al., 2016), комплексне середовище (Ryu et al., 2007; Alam et al., 2009), картопляно-декстрозне (Sardar et al., 2015; Nguyen & Ranamukhaarachchi, 2020), середовище Лілі (Kim et al., 1997). Отримані нами результати значно кращі порівняно з іншими аналогічними дослідженнями щодо росту *P. eryngii* на МЕ (4,96-5,79 мм/добу), агарі з пшеничним екстрактом (1,54-2,75 мм/добу), картопляно-декстрозному (1,68-3,04 мм/добу) (Zăgrean et al., 2016). Ці результати підкреслюють доцільність використання глюкозо-пептон-дріжджового та картопляно-декстрозного агаризованих середовищ для ефективного культивування *P. eryngii*.

Наші дослідження були спрямовані на вивчення впливу фізико-хімічних факторів на ріст *P. eryngii*. Відомо, що міцелій грибів у природних та штучних умовах росте лише в певному діапазоні температур, що пов'язано з його впливом на швидкість метаболічних реакцій. Оптимальна температура для росту

P. eryngii становила 20 ± 1 °C (рис. 7.37). У іншому дослідженні температура вирощування 25 °C була найкращою для більшості штамів з точки зору швидкості росту міцелію (Soylu et al., 2014).

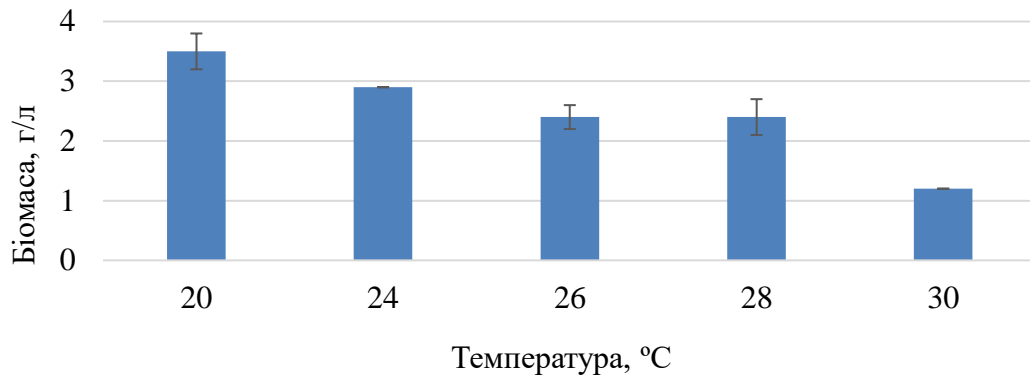


Рис. 7.37. Вплив температури культивування на ріст *P. eryngii*

Кислотність початкового значення поживного середовища відіграє важливу роль у структурі та функціонуванні міцелію (зокрема, на морфологію клітин, функцію клітинної мембрани, розчинність солей, поглинання необхідних поживних речовин). Встановлено, що міцелій *P. eryngii* може рости в досліджуваному діапазоні значень рН з досить невеликими відмінностями. Найкращий ріст було отримано при значеннях рН 5,0–5,5, які статистично не відрізнялися (рис. 7.38). Zăgrean et al. (2016) виявили, що для чотирьох інших штамів *P. eryngii* серед трьох варіантів рН 5,5; 6,0 та 6,5 найкращим для росту на КДА середовищі встановлено 6,0.

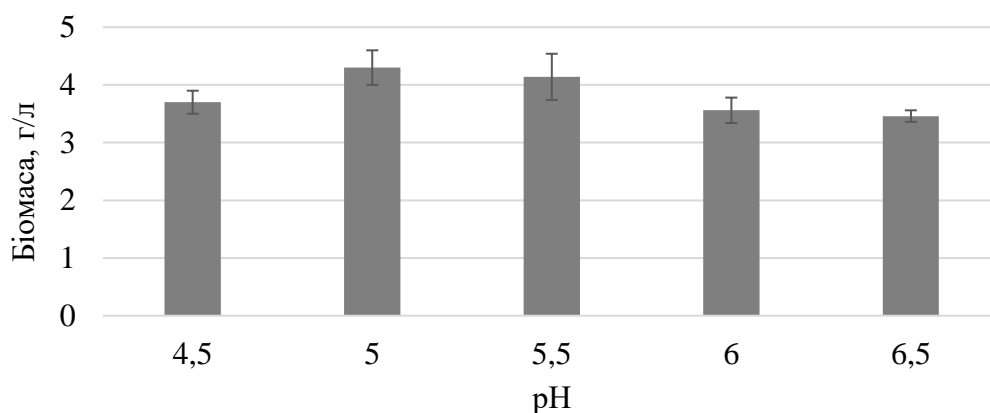


Рис. 7.38. Вплив початкового значення кислотності поживного середовища на ріст *P. eryngii*

Вивчення трофічних потреб є важливим етапом у розумінні фізіології росту грибів. Серед необхідних компонентів поживних середовищ першорядну роль відіграють джерела вуглецю та азоту, оскільки вони забезпечують ключові метаболічні процеси. Вуглець необхідний для синтезу біомолекул, що формують структуру клітин, а також слугує основним джерелом енергії, залученим у процесах окислення. Азот, у свою чергу, є незамінним компонентом синтезу білків, нуклеїнових кислот та інших азотовмісних сполук, необхідних для життєдіяльності грибів. Наші дослідження показали, що *P. eryngii* може використовувати широкий спектр джерел вуглецю, таких як моносахариди, дисахариди та полісахариди (рис. 7.39 А). Але арабіноза в концентрації 20 г/л була найбільш придатним джерелом вуглецю для виробництва біомаси *P. eryngii* (рис. 7.39 В). Крохмаль був другим найкращим вуглецем. Згідно з даними попередніх досліджень, *P. eryngii* демонструє здатність ефективно використовувати різні джерела вуглецю для свого росту. Серед найефективніших субстратів було відзначено декстрин, а також фруктозу, манозу та мальтозу (Alam et al., 2009). Дослідження також показали, що оптимальна концентрація глюкози для росту *P. eryngii* становить 3–4 %, тоді як для декстрину – 5 % (Kim et al., 1997). Інші ефективні джерела вуглецю включають глюкозу, крохмаль і сахарозу (Altaf et al., 2010). Це свідчить про широкий спектр метаболічної адаптації гриба до різних вуглецевих субстратів, що є важливим для розробки оптимальних поживних середовищ у біотехнологічних процесах.

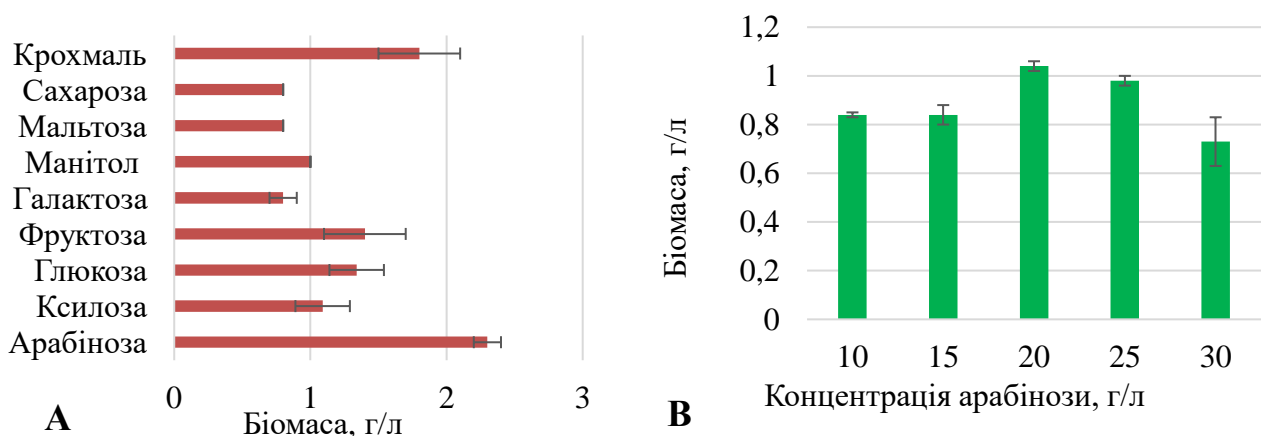


Рис. 7.39. Вплив вуглецю (А) та концентрації арабінози (В) на ріст *P. eryngii*

Азотовмісні сполуки відіграють ключову роль у метаболізмі грибів, забезпечуючи синтез білків, нуклеїнових кислот та інших азотовмісних метаболітів. У межах проведених досліджень встановлено, що аспарагін є найефективнішим джерелом азоту для продукування біомаси *P. eryngii* (рис. 7.40 А). Оптимальна концентрація аспарагіну становила 0,8–1,6 г/л, при якій синтез біомаси залишався стабільною (рис. 7.40 В). Згідно з результатами іншого дослідження (Kim et al., 1997), казеїнова кислота в концентрації 0,12 % була визначена як найбільш придатне джерело азоту для росту міцелію *P. eryngii*. Водночас, середовища з такими органічними сполуками, як серин, глютамінова кислота, аспарагін, аланін та сечовина, також забезпечували задовільний ріст міцелію. Alam et al. (2009) виявили, що особливо ефективним джерелом азоту був ацетат амонію, який сприяв найвищій швидкості росту міцелію *P. eryngii*, тоді як аргінін та сечовина зайняли друге і третє місце, відповідно. Ці результати свідчать про широкі адаптаційні можливості гриба до різних азотовмісних субстратів, що є важливим для створення оптимальних умов культивування в біотехнологічних процесах.

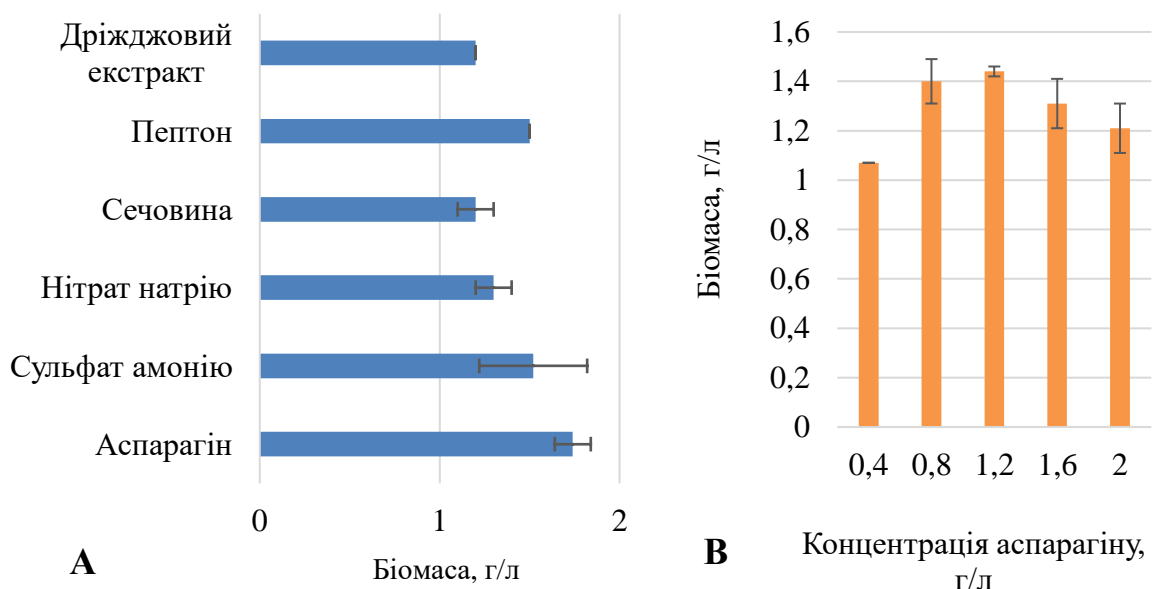


Рис. 7.40. Вплив джерел азоту та концентрації аспарагіну на ріст *P. eryngii*

Особливий інтерес представляє вивчення закономірностей росту грибів при глибинному культивуванні. Виробництво міцеліальної біомаси на

стандартних та природних середовищах є досить актуальними та перспективними напрямками сучасної біотехнології. Отримані дані щодо динаміки накопичення біомаси на рідкому середовищі з CO₂-шротом амаранту та напівсинтетичному середовищі ГПД підпорядковуються загальним закономірностям розвитку грибів в умовах глибинного росту (рис. 7.41).

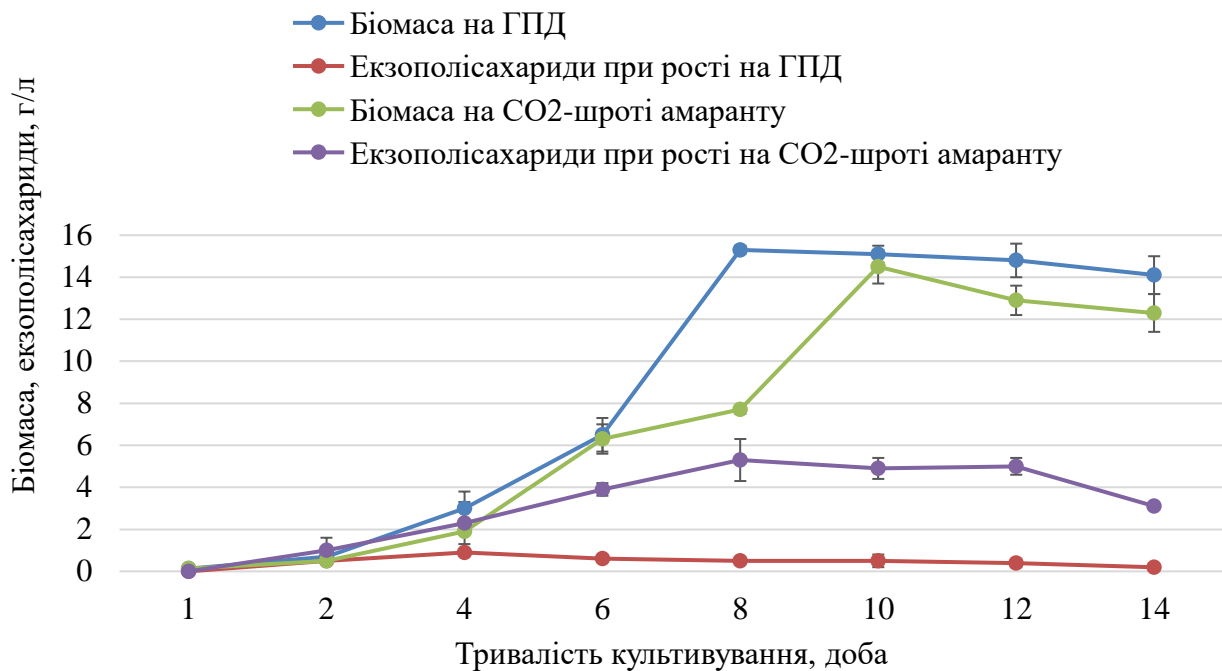


Рис. 7.41. Вплив поживного середовища на ріст та синтез екзополісахаридів *P. eryngii*

Результати дослідження показали, що максимальна кількість біомаси $15,3 \pm 0,2$ та $14,5 \pm 0,8$ г/л було отримано на 8-му добу культивування на ГПД середовищі та на 10-й день культивування на середовищі з амарантовим борошном, відповідно. Відзначимо, що різниця в кількості синтезованої біомаси на двох обраних поживних середовищах є не суттєвою, але синтез екзополісахаридів краще забезпечувало середовище на основі CO₂-шроту. Це вказує на перспективність використання CO₂-шроту амаранту як основи поживного середовища для культивування *P. eryngii* з метою отримання міцеліальної біомаси та цінних біологічно активних сполук.

Отримана кількість біомаси дещо краща за результати позитивного впливу 10-оксо-транс-8-деценової кислоти на ріст *P. eryngii* (10,2–12,6 г/л) на 12 добу культивування та значно перевищувала результати (від 1,5 мг/мл до 2,7 мг/мл), отримані на різних середовищах при зануреному культивуванні з струшуванням і без нього (Mau & Ma, 2002). Використання CO₂-шроту амаранту також дозволило отримати вищі показники синтезу біомаси та екзополісахаридів *P. eryngii* 2015 порівняно із результатами позитивним впливом колоїдних розчинів наночастинок (AgNPs, FeNPs, MgNPs) та низько інтенсивного лазерного опромінення ($\lambda = 488$ нм) у середовищі з наночастинками щодо *P. eryngii* 2035 (Mukchaylova et al., 2024). Таким чином, на основі отриманих експериментальних результатів встановлено, що основні параметри росту грибів, такі як температура, рівень рН, а також джерела вуглецю та азоту, мають специфічний характер для кожного штаму. Глибоке розуміння фізіологічних потреб грибів та забезпечення оптимальних умов культивування є ключовими факторами для досягнення високої продуктивності та ефективності біотехнологічних процесів. Відзначимо, що різниця в кількості синтезованої біомаси на двох обраних поживних середовищах є не суттєвою, але синтез екзополісахаридів краще забезпечувало середовище на основі CO₂-шроту. Це свідчить про перспективність використання CO₂-шроту амаранту як доступного та ефективного компонента для культивування *P. eryngii* з метою отримання біомаси та цінних біологічно активних сполук.

Наші попередні дослідження виявили, що міцелій *Pleurotus eryngii* здатний знижувати інфекційний титр вірусу A/FM/1/47(H1N1) у клітинах MDCK на 2,0 lg (Krupodorova et al., 2014b), проявляє помірну антибактеріальну активність проти *Bacillus subtilis* (зона пригнічення 10,0±0,0 мм) (Krupodorova et al., 2016), а також характеризується високим індексом антагоністичної активності проти низки патогенів (Krupodorova et al., 2021a, 2023). Враховуючи отримані результати, міцелій *P. eryngii* може розглядатися як перспективний об'єкт для подальших біотехнологічних пошуків та розробок. Комплексний підхід до вивчення міцелію *P. eryngii* створює перспективи для розробки нових

терапевтичних засобів на основі природних продуктів, що може сприяти інноваційному розвитку біотехнологічної та фармацевтичної галузей.

Результати розділу висвітлені у наукових публікаціях:

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>

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.

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>

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>

Krupodorova, T., Barshteyn, V., Kizitska, T., Kvasko, H., Andriash, 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>

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”.

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.

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.

Круподьорова, Т. А, Барштейн, В. Ю., Кваско, А.Ю., Сабібін, 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.

Krupodorova, T., Ivanova, T. (2013). *Growth of Pleurotus eryngii (Dc.) Quel on liquid medium*, International Conference of Young Scientists “Biology: from Molecule to Biosphere”. Kharkiv: ФОП Шаповалова Т.

РОЗДІЛ 8

РОЗРОБЛЕННЯ ТА ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГІЧНІ ВИПРОБУВАННЯ ГРАНУЛЬОВАНОЇ СУМІШІ МІЦЕЛІЮ *TRAMETES VERSICOLOR*, *PLEUROTUS OSTREATUS* І *FOMITOPSIS PINICOLA*

Останніми роками спостерігається зростання уваги людей до власного здоров'я, що виражається у зосередженні на заходах профілактики, а не виключно на лікуванні (Waldman & Terzic, 2019). Добавки на основі грибів відповідають цій тенденції, пропонуючи включення натуральних та поживних компонентів для щоденного раціону (Veljović & Krstić, 2020). Ці добавки часто рекламують за їх загальні переваги для здоров'я, такі як підвищення енергії, зниження втоми та покращення загального самопочуття, що приваблює споживачів, які шукають немедикаментозні варіанти оздоровлення (Risoli et al., 2023; Suberu et al., 2024). Слід зазначити, що деякі дослідження свідчать про можливість антиоксидантів макроміцетів знижувати ризик певних захворювань (Kozarski et al., 2015b; Dávila Giraldo et al., 2023) або покращувати здоров'я (Kalaras et al., 2017; Liuzzi et al., 2023). Антиоксидантна активність є центральною терапевтичною властивістю грибів, оскільки окислювальний стрес лежить в основі багатьох хронічних захворювань, включаючи рак, серцево-судинні захворювання та нейродегенеративні стани (Abo Nahas et al., 2021). Фенольні сполуки макроміцетів відіграють значну роль у їхньому антиоксидантному потенціалі (Stajic et al., 2013), що робить їх цінними для застосування в цілях зміцнення здоров'я і, можливо, захисту від захворювань, пов'язаних з окислювальним стресом. Встановлено, що фенольні сполуки макроміцетів можуть нейтралізувати вільні радикали, нестабільні молекули, які можуть викликати окислювальний стрес і пошкоджувати клітини та організми. Віддаючи електрони цим вільним радикалам, фенольні сполуки стабілізують їх, зменшуючи окислювальний стрес (Kozarski et al., 2015b).

На сьогодні засоби, які містять ректифіковані екстракти або біомасу міцелію чи плодових тіл лікарських грибів, класифікуються як окрема група

дієтичних добавок, і їхнє виробництво повинно відповідати вимогам належної виробничої практики.

Будь яка технологічна розробка розпочинається із вивчення фармако-технологічних характеристик перспективних активних інгредієнтів, значення яких дозволяє спрогнозувати необхідність введення допоміжних речовин різних груп, а також використання певних технологічних прийомів. Оскільки, у якості перспективних активних інгредієнтів нами запропоновано використання сухого міцелію лікарських грибів, отриманого у процесі поверхневого культивування *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor* на середовищі на основі CO₂-шроту амаранту та *Fomitopsis pinicola* – ГПД середовищі, необхідним було вивчення їх основних фармако-технологічних властивостей. Висушену біомасу грибів подрібнювали за допомогою лабораторного млина ЛЗМ-1 (Україна) протягом 30 с (рис. 8.1). Проведено її здрібнення та просіювання з метою відокремлення фракції, що матиме найбільший кількісний вміст у досліджених порошках (рис. 8.2).



Рис. 8.1. Подрібнений міцелій *F. pinicola* (А), *P. ostreatus* (В), *T. versicolor* (С)

Подрібнення протягом 30 секунд призвело до отримання порошків з різним ступенем дисперсності. Для *T. versicolor* та *F. pinicola* характерним є переважання частинок розміром 125–80 мкм, що відповідає дрібному порошку, тоді як для *P. ostreatus* – 180–355 мкм, що відповідає середньо-дрібному порошку.

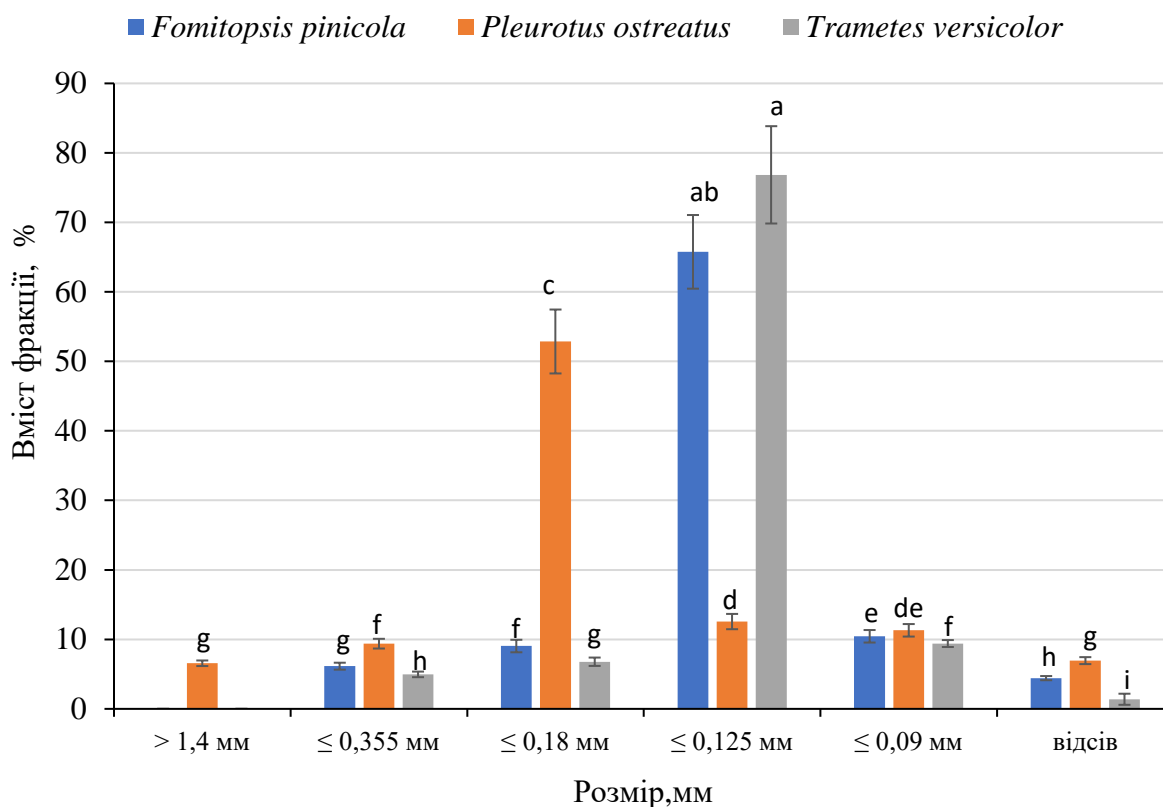


Рис. 8.2. Фракційний склад подрібненого міцелію *F. pinicola*, *P. ostreatus* та *T. versicolor*

Оскільки кількість частинок, що виходять за межі основної фракції, є незначною, це може мати негативний вплив на технологічні властивості суміші порошків біомаси, зокрема на її текучість через такі фактори: нерівномірність розподілу частинок за розміром (утворення нерівномірних просторів може погіршити щільність упакування і перешкоджати плавному переміщенню порошку); агломерація дрібних частинок (злипання зменшує текучість порошку через утворення грудок або нерівномірних потоків); збільшення тертя між частинками.

Оптична мікроскопія дозволила оцінити форму частинок дослідженого міцелію. Так, усі порошки є конгломератами кубічної та пластинчастої форми, із заокругленими краями, напівпрозорі, із гладкою поверхнею.

Водні екстракти біомаси грибів були досліджені на вміст фенольних сполук та здатність знешкоджувати вільні радикали (табл. 8.1).

Таблиця 8.1

**Загальний вміст фенольних сполук та антиоксидантна активність біомаси
грибів**

Біомаса грибів	Фенольні сполуки, мг ЕГК/г	Знешкодження вільних радикалів, %
<i>F. pinicola</i>	35,00 ± 0,40*	86,09 ± 0,33*
<i>P. ostreatus</i>	38,97 ± 0,79	95,85 ± 0,76*
<i>T. versicolor</i>	39,97 ± 0,99	98,31 ± 0,21*
Суміш <i>T. versicolor</i> , <i>P. ostreatus</i> , <i>F. pinicola</i> (2:0,5:0,5)	40,50 ± 0,51	99,61 ± 0,14*

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$)

Усі досліджені зразки продемонстрували високий рівень інгібування вільних радикалів і мали високий рівень фенольних сполук. Враховуючи статистично достовірну різницю нейтралізації вільних радикалів, для подальших досліджень як основу для майбутньої дієтичної добавки було обрано суху подрібнену суміш міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* у співвідношенні 2,0:0,5:0,5. Кількісний вміст фенольних сполук та антиоксидантна активність, що спостерігається в міцелії досліджених видів грибів та їхніх сумішей, ймовірно, зумовлені наявністю подібних фенольних сполук, а також адитивними або компенсаторними ефектами в сумішах. Крім того, подібний фенольний профіль окремих видів грибів може пояснювати подібність їхньої антиоксидантної активності як у чистому вигляді, так і у складі сумішей. Водночас необхідні подальші дослідження для детального аналізу фенольного складу грибів та їхніх сумішей, а також для ідентифікації специфічних фенольних сполук, що визначають їхню біологічну активність. Також слід враховувати можливість «ефекту стелі» (Schünemann et al., 2002; Gouzi et al., 2019). Антиоксидантні тести часто вимірюють здатність поглинати вільні радикали або відновлювати окислювачі до певної межі. Якщо як окремі види, так і суміш досягають цієї максимальної здатності, їх виміряна антиоксидантна активність може виявитися майже ідентичною, навіть якщо

існують відмінності у вигляді менш потужних сполук або нижчих концентрацій антиоксидантів. Разом з цим, Португальські вчені вивчали антиоксидантну активність низки грибів, оцінюючи її з урахуванням індивідуальної активності кожного гриба та їх сумішей. Спостерігали три варіанти взаємодії грибів у суміші: синергічний, адитивний та негативний синергічний ефекти, причому синергічний варіант переважав (Queiros et al., 2009). Bach et al. (2019) у своєму огляді зазначають, що синергічна взаємодія сполук може посилювати біологічну активність окремих компонентів, що призводить до того, що натуральні екстракти є більш ефективними, ніж ізольовані біологічно активні сполуки.

Отримані результати узгоджується з дослідженням Huang et al. (2021), у якому повідомляється про майже однакову кількість фенольних сполук та невеликі відмінності у здатності поглинати DPPH у гарячих водних екстрактах для різних комбінацій міцелію від двох до п'яти різних базидіємих видів. Наші дослідження також узгоджуються з іншими дослідженнями, які виявили антиоксидантну активність і вміст фенолів у міцелії досліджених видів грибів: *Trametes versicolor* (Han et al., 2015; Park et al., 2015; Kim et al., 2021), *Pleurotus ostreatus* (Morris et al., 2017; Özdal et al., 2019). Незважаючи на наявність відповідних даних щодо вмісту TPC та AOA у плодових тілах *F. pinicola* (Sulkowska-Ziaja et al., 2012; Nowacka et al., 2015; Zhang et al., 2023), ми вперше встановили вміст фенольних сполук та антиоксидантну активність міцелію цього гриба.

Суміш міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* у співвідношенні 2:0,5:0,5 оцінювали за фармако-технологічними показниками порошків (табл. 8.2). Оскільки найпростішим, найшвидшим й водночас одним із найбільш популярних методів визначення текучості порошків є розрахунок показнику стисливості та коефіцієнту Гауснера, ми використовували його як непряму міру фізичних та технологічних властивостей матеріалу. Для того щоб задовольнити умови методики необхідним є перебування початкового значення насипного об'єму у межах від 150 до 250 мл. Проте, 100,0 г досліджуваного порошку мали це значення суттєво меншим від 150 мл. Відповідно, ми використовували

циліндр приладу об'ємом 100 мл із ціною поділки 1 мл для проби загальною масою 50,0. Одержані показники відповідали значенням шкали Carr Index незадовільної текучості, що спонукає нас до подальшого вибору допоміжних речовин та технологічних прийомів для її покращення.

Таблиця 8.2

Фармако-технологічні властивості суміші міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* у співвідношенні 2:0,5:0,5

№ з/п	Досліджуваний параметр, розмірність				
	Об'єм усадки, мл	Насипний об'єм, мл	Показник стисливості, %	Коефіцієнт Гауснера	Текучість порошку
1.	V ₀	98	28,57	1,4	Незадовільна
	V ₁₀	92			
	V ₅₀₀	70			
	V ₁₂₅₀	70			
2.	V ₀	96	29,16	1,41	
	V ₁₀	94			
	V ₅₀₀	69			
	V ₁₂₅₀	68			
3.	V ₀	96	27,08	1,37	
	V ₁₀	92			
	V ₅₀₀	71			
	V ₁₂₅₀	70			
Середнє значення			28,27 ± 1,07	1,39 ± 0,04	

Оскільки, при зберіганні біомаси *F. pinicola* у контейнері закупореному пластмасовою нагвинчуваною кришкою ми спостерігали перетворення порошку на грудкоподібну масу через 2 доби, що свідчить про досить високу гігроскопічність подрібненого міцелію, необхідним є дотримання умов герметичності зберігання субстанції, а також проведення технологічних операцій у приміщенні із контрольованим рівнем вологості.

Як правило, у сучасній фармацевтичній технології, незважаючи на широкий асортимент допоміжних речовин, одержання твердих лікарських форм із субстанціями, що володіють незадовільними фармако-технологічними

характеристиками виконується із застосуванням методу попередньої вологої грануляції. Зважаючи на вибір способу наповнення капсул твердих, необхідним був пошук можливостей забезпечення якісного проведення бажаних технологічних операцій – змішування, сушіння, гранулювання, інкапсулювання тощо. Зразки мас для інкапсулювання одержували методом вологого гранулювання. Попередньо подрібнену та просіяну суміш міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* у співвідношенні 2:0,5:0,5 змішували із допоміжними речовинами групи наповнювачів (лактоза моногідрат, мікрокристалічна целюлоза (МКЦ) 101, суміш маніту та МКЦ 2:1), та розпушувачів (натрію кроскармелоза). Суміші зволожували з розчинами зв'язуючих речовин – 7 % та 15 % водними розчинами полівінілпіролідону (ПВП) К30, 0,7 % водним розчином карбоксиметилцелюлози (КМЦ). Одержану вологу масу протирали через сито гранулятора із діаметром отворів 2 мм, отримані гранули висушували, повторно гранулювали через сито із діаметром отворів 1 мм, калібрували за допомогою сита № 355 та змішували із магнію стеаратом і тальком (по 1 % кожного). Складові зразків мас для інкапсулювання наведено у таблиці 8.3.

Таблиця 8.3

Складові компоненти експериментальних зразків мас для інкапсулювання із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola*

Компоненти, %	Експериментальні зразки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Суміш міцелію <i>T. versicolor</i> , <i>P. ostreatus</i> та <i>F. pinicola</i> , %	80								
Лактоза моногідрат, %	16	8	8	15	5	5	14	3	3
МКЦ 101, %	-	8	-	-	10	-	-	-	11
Маніт:МКЦ 101 2:1, %	-	-	8	-	-	10	-	11	-
Натрій кроскармелоза, %	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7 % р-н ПВП К30, %	3	-	-	4	-	-	5	-	-
15 % р-н ПВП К30, %	-	3	-	-	4	-	-	5	-
0,7 % р-н КМЦ, %	-	-	3	-	-	4	-	-	5

Примітка: МКЦ – мікрокристалічна целюлоза; ПВП – полівінілпіролідон; КМЦ – карбоксиметилцелюлоза

Зазначимо, ми використовували добре відомі компоненти з різним функціональним призначенням для розробки гранул. Перш за все, різні наповнювачі/розріджувачі, такі як лактози моногідрат (кристалізована форма молочного цукру), мікрокристалічна целюлоза, суміш маніту та мікрокристалічної целюлози.

Лактоза моногідрат широко використовується в процесах створення гранульованих і таблетованих лікарських форм методами сухої і мокрої грануляції, завдяки добрим когезійним властивостям (сприяють стисливості), вузькому гранулометричному складу і здатності до змішування. Іншими типами розріджувачів є мікрокристалічна целюлоза та маніт. Wang et al. (2023) вивчали вплив типів розріджувачів, серед яких ми використовували моногідрат лактози та мікрокристалічну целюлозу (МКЦ) і грануляційні рідини, на властивості гранул для мокрого гранулювання з високим зсувом. Вплив розріджувачів на властивості гранул був вищим, ніж вплив грануляційних рідин. Різні методи гранулювання (МКЦ з манітом та МКЦ з двоосновним фосфатом кальцію (ДФК) також були вивчені Kuttä et al. (2020). Таблетованість композиції МКЦ-ДФК знизилася після вологої грануляції, тоді як таблетованість МКЦ-маніт зросла. Junnila et al. (2022) варіювали співвідношення МКЦ і маніту для оцінки оптимального складу для високодозових препаратів. Співвідношення наповнювача МКЦ і маніту мало значний вплив на таблетованість модельних речовин парацетамолу і метформіну, які мають погані компактизуючі властивості. На сипучість гранул співвідношення МКЦ та маніту не впливало.

Ще один компонент твердих лікарських форм – дезінтегрант (у нашому дослідженні – кроскармелоза натрію додається до рецептури для сприяння дезінтеграції гранул і таблеток з метою вивільнення лікарського засобу та його подальшого всмоктування. Вплив вологої грануляції на ефективність дезінтегранта вивчали Veronica et al. (2024) Дезінтегранти кросповідон, кроскармелоза натрію та крохмальгліколят натрію гранулювали вологим способом разом з двоосновним дигідратом фосфату кальцію як погано розчинною у воді матрицею та полівінілпіролідом як зв'язуючим. Köster &

Kleinebudde (2023) досліджували вплив локалізації (інтрагранулярної, розщепленої або екстрагранулярної) тих самих дезінтегрантів (кроскармелоза натрію, дезінтегранти кросповідон і крохмальгліколят натрію) на гранули і таблетки після двошнекової грануляції. Автори виявили, що дезінтегранти зменшують розмір частинок при гранулюванні, причому найменший ефект мав крохмальгліколят натрію. Встановлено, що внутрішньогранульована кроскармелоза натрію та екстрагранульований кросповідон були кращими для обраних умов, забезпечуючи найшвидшу дезінтеграцію.

Полівінілпіролідон (ПВП) є універсальною фармацевтичною допоміжною речовиною завдяки своїй інертності, нетоксичності та біосумісності (Kurakula & Koteswara, 2020). Він також використовується як у традиційних, так і в нових рецептурах, діючи як покривний та суспендуєчий агент, пороутворювач, солюбілізатор, стабілізатор тощо. Основні фармацевтичні застосування ПВП підсумовані в огляді (Luo et al., 2021): покращення біодоступності та стабільності лікарських засобів, покращення фізико-механічних властивостей лікарських засобів, регулювання швидкості вивільнення лікарських засобів, подовження часу циркуляції ліпосом *in vivo*.

Слід зазначити, що всі функціональні наповнювачі в нашому тесті позитивно вплинули на сипучість експериментальних зразків з міцеліальною сумішшю. Найкращі результати були отримані зі зразками 6 та 8. Спільним для цих зразків було додавання низьких рівнів моногідрату лактози (3 і 5 %) і підвищених рівнів манітол: МКЦ (10 і 11 %).

Зразки гранулятів із біомасами лікарських грибів одержували та піддавали фармако-технологічному дослідженню з метою досягнення необхідного значення текучості маси для інкапсулювання для вибору оптимального складу та технології одержання твердої лікарської форми – капсул твердих. Відповідно до методики, для аналізу береться така маса порошку (грануляту), щоб її насипний об'єм перебував у межах 150–250 мл об'єму циліндру. Отримані гранули суттєво відрізнялися своїми фізичними характеристиками, тому, щоб задовільнити вимоги методики для визначення

відважували по 75,0 г та 100,0 г зразків. Фармако-технологічні властивості експериментальних зразків капсул є ключовими характеристиками, які визначають якість, ефективність і стабільність лікарської форми. Визначені та розраховані значення насипного об'єму до та після усадки порошків, показнику стисливості та коефіцієнту Гауснера у більшості відповідали значенням шкали Carr Index допустимої, задовільної та доброї текучості (табл. 8.4).

Таблиця 8.4

Фармако-технологічні властивості експериментальних зразків мас для інкапсулювання із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola*

№ з/п	Досліджуваний параметр, розмірність					
	Об'єм усадки	Насипний об'єм, мл	Показник стисливості, %	Коефіцієнт Гауснера	Текучість порошку	Вологість, %
1.	V ₀	202	21,78 ± 0,91	1,28 ± 0,02	Допустима	1,45 ± 0,07
	V ₁₂₅₀	258				
2.	V ₀	234	17,09 ± 0,35	1,20 ± 0,01	Задовільна	1,49 ± 0,03
	V ₁₂₅₀	194				
3.	V ₀	222	18,01 ± 0,44	1,22 ± 0,03	Задовільна	1,80 ± 0,11
	V ₁₂₅₀	182				
4.	V ₀	196	22,45 ± 0,97	1,29 ± 0,01	Допустима	1,11 ± 0,05
	V ₁₂₅₀	152				
5.	V ₀	202	19,80 ± 0,62	1,25 ± 0,01	Задовільна	1,83 ± 0,08
	V ₁₂₅₀	162				
6.	V ₀	226	15,04 ± 0,09	1,18 ± 0,02	Добра	1,59 ± 0,12
	V ₁₂₅₀	192				
7.	V ₀	222	21,62 ± 0,89	1,28 ± 0,01	Допустима	1,98 ± 0,01
	V ₁₂₅₀	174				
8.	V ₀	232	11,20 ± 0,07	1,13 ± 0,02	Добра	2,62 ± 0,02
	V ₁₂₅₀	206				
9.	V ₀	224	20,53 ± 0,73	1,26 ± 0,01	Допустима	2,29 ± 0,01
	V ₁₂₅₀	178				

Примітка: усі наведені значення є статистично значущими відмінностями ($p \leq 0,05$)

Найкращі результати отримували при використанні лактози моногідрату та суміші маніту з МКЦ у співвідношенні 2:1 як наповнювачів, а також 15 % розчину ПВП як розчину зв'язувальної речовини у кількості 5 % – зразок № 8 та

0,7 % розчину ПВП у кількості 4 % – зразок № 3. Зразки 8 і 9 з найвищим рівнем вологості були виключені з подальших досліджень через потенційний вплив вологості на стабільність, якість (фізико-механічні властивості гранулятів, зокрема розсипчастість, щільність, здатність до пресування) та репрезентативність результатів.

Інші фармако-технологічні параметри капсул твердих наведено у таблиці 8.5. Аналізуючи ці дані, варто відмітити різну наповнюваність капсул твердих експериментальними зразками мас для інкапсулювання, що на пряму пов'язано із значенням насипної густини грануляту. Значення однорідності маси досліджуваних капсул твердих задовольняє вимоги методики, наведеної у державній фармакопеї України (ДФУ) для всіх зразків. Час розпадання варіювався у межах 5 хв 03 с до 22 хв 35 с і також задовольняв вимоги ДФУ для усіх експериментальних зразків. Найкращий час розпадання мав зразок № 6 (5 хв 03 с), він вже показав найнижче відхилення значення однорідності дозування капсул твердих. Цей показник є важливим для забезпечення ефективного вивільнення активних сполук грибного міцелію та їх засвоєння організмом. Час розпаду капсули впливає на її ефективність, оскільки він впливає на вивільнення та біодоступність активних інгредієнтів.

Таблиця 8.5

Фармако-технологічні властивості експериментальних зразків капсул твердих із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola*

№ з/п	Досліджуваний параметр, розмірність		
	Середня маса вмісту твердої капсули, г	Однорідність дозування твердих капсул, %	Час розпадання, хв
1.	0,396 ± 0,011	-3,28 +3,54	22,35 ± 0,45
2.	0,296 ± 0,006	-3,38 +3,72	12,51 ± 0,20
3.	0,303 ± 0,005	-2,97 +2,97	12,28 ± 0,44
4.	0,380 ± 0,010	-1,05 +3,16	17,34 ± 0,24
5.	0,396 ± 0,006	-3,03 +2,53	10,05 ± 0,35
6.	0,302 ± 0,006	-3,31 +2,65	7,45 ± 0,15
7.	0,372 ± 0,008	-3,76 +4,30	10,14 ± 0,90

Примітка: усі наведені значення є статистично значущими ($p < 0,05$)

Всі досліджені гранули містили фенольні сполуки і були здатні інгібувати вільні радикали (рис. 8.3).

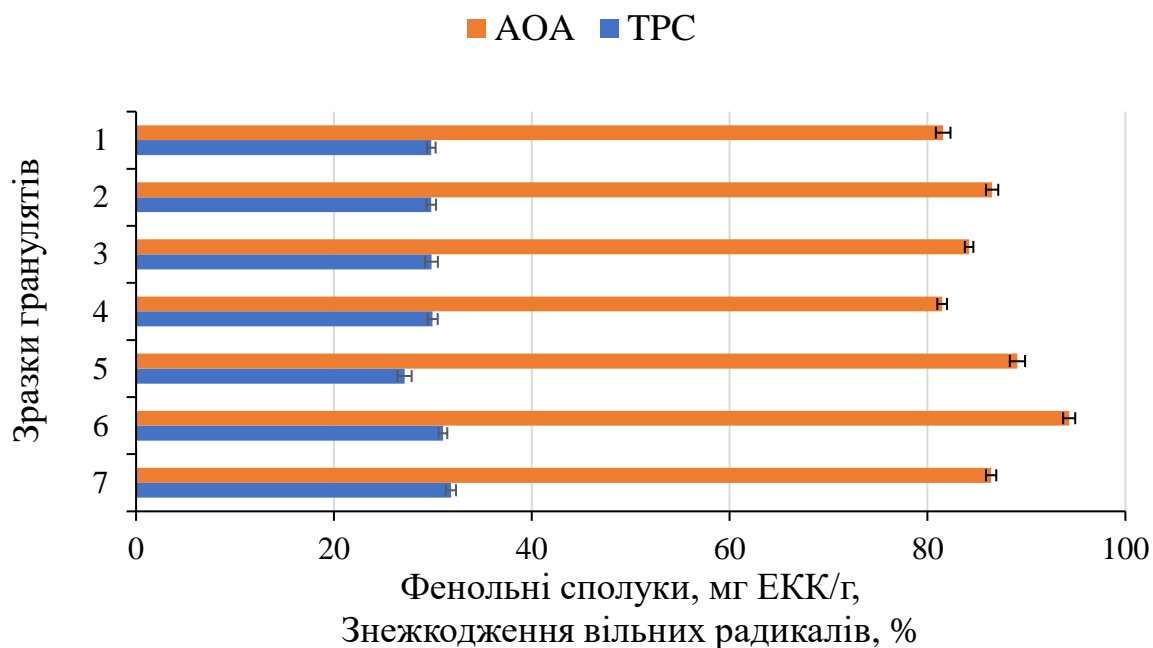


Рис. 8.3. Вплив складу гранулятів на вміст фенольних сполук та антиоксидантну активність дієтичної добавки

Вміст фенольних сполук суттєво не відрізнявся, за винятком зразка №3. Останнє гіпотетично може бути результатом можливої адсорбції фенольних сполук грибів, особливо більш полярних, які можуть прилипати до частинок МКЦ, що зменшує їх виявлення методами аналізу, які вимагають їх знаходження в розчині. Різна антиоксидантна активність протестованих гранул може бути пов'язана з можливою антиоксидантною активністю доданих компонентів. Маніт показав поглинаючу дію по відношенню до гідроксильних вільних радикалів (Wisselink et al., 2002; André & Villain, 2017). Карбоксиметилцелюлоза також має низьку антиоксидантну здатність (Moseley et al., 2003; Fan et al., 2014). Найвища активність інгібування вільних радикалів була виявлена у зразка 2, а найнижча - у зразка 4. Враховуючи добрі фармакотехнологічні властивості та біологічну активність дослідних зразків капсульних мас з міцеліальною сумішшю, ми вважаємо склад гранул №6 є оптимальним: 80 % суміші міцелію, 5 % моногідрату лактози, 10 % суміші маніту та мікрокристалічної целюлози у

співвідношенні 2:1, 1 % кроскармелози натрію та 4 % карбоксиметилцелюлози 0,7 %-го розчину.

Виробничий процес та контроль якості капсул твердих із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* (співвідношення 2,0:0,5:0,5) у адаптованих до промислового виробництва умовах складається із 6 послідовних стадій (рис. 8.4), що включають підготовчі роботи із подрібнення міцелію, зважування складових рецептури, приготування зволожувача, основну технологічну стадію – одержання маси для інкапсулювання методом вологого гранулювання, наповнення капсул твердих отриманою гранульованою сумішшю, фасування, пакування та маркування капсул твердих.

Використання грибного міцелію для розробки дієтичних добавок є актуальним, перспективним та інноваційним підходом. Отримані результати вказують на потенціал для подальших фітохімічних та фармакологічних досліджень сировини, отриманої з міцелію, спрямованих на розробку натуральних продуктів з антиоксидантними властивостями. Крім того, наше дослідження підкреслює чітку необхідність оцінки фармакологічних та фармакотехнологічних параметрів для розробки дієтичних добавок з використанням міцелію грибів. Визначення фенольних сполук, антиоксидантної активності та фармакотехнологічних параметрів гранул дозволило визначити оптимальний склад дієтичної добавки, який включав 80 % суміші міцелію, 5 % моногідрату лактози, 10 % суміші маніту та мікрокристалічної целюлози у співвідношенні 2:1, 1 % кроскармелози натрію та 4 % карбоксиметилцелюлози 0,7 %-го розчину. Ця комбінація дозволила отримати продукт із загальним вмістом фенолів $29,83 \pm 0,49$ мг ЕГК/г і продемонструвала потужну антиоксидантну здатність, ефективно нейтралізуючи $86,53 \pm 0,62$ % вільних радикалів DPPH. Зазначимо, що дане дослідження, спрямоване на розробку формули біологічно активної дієтичної добавки з антиоксидантними властивостями на основі комплексу міцелію макроміцетів, і не стосується ідентифікації конкретних поліфенольних сполук та всіх потенційних ризиків, пов'язаних з впровадженням цієї технології у виробничих умовах. Необхідні

додаткові дослідження з використанням наявного у виробника промислового обладнання.

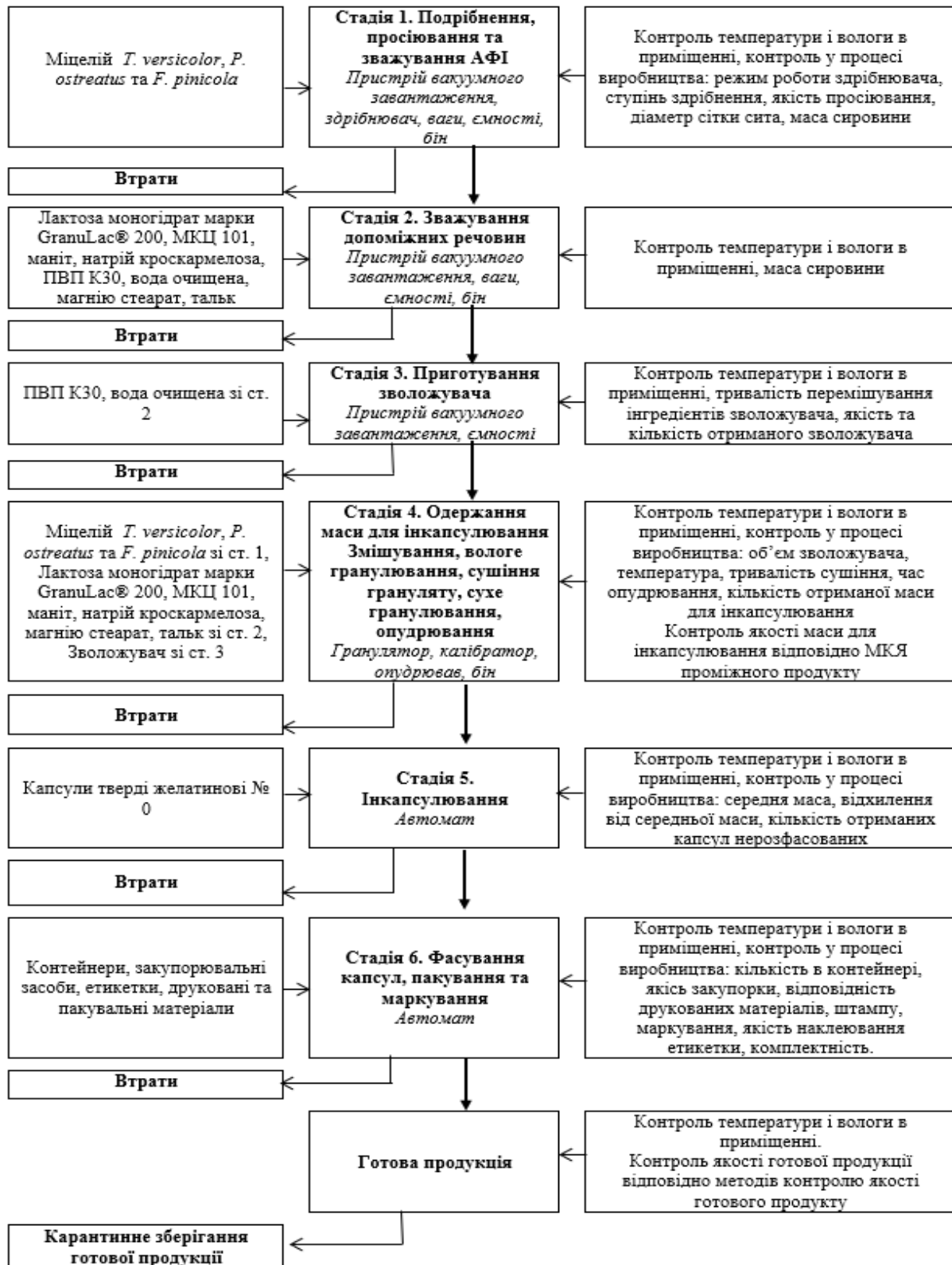


Рис. 8.4. Технологічна блок-схема одержання капсул твердих із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* в умовах, адаптованих до промислового виробництва

Подальші дослідження включатимуть комплексні фармакологічні дослідження для ідентифікації фенольних сполук у запропонованій суміші на основі грибів та підтвердження ефективності та безпечності розробленого продукту. Крім того, важливе значення матиме розробка та стандартизація технологічної та нормативної документації для його виробництва. Крім того, у подальших дослідженнях можлива розробка інших лікарських форм на основі міцелію *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis pinicola*.

Результати розділу висвітлені у науковій публікації

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), <https://doi.org/10.15421/0224136>

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.

РОЗДІЛ 9

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Останнім часом, завдяки впливу засобів масової інформації (медіа та соціальних платформ), результатам сучасних наукових досліджень та активній діяльності фахівців різних галузей, відмічається суттєве зростання обізнаності споживачів щодо важливості використання дієтичних добавок. Цю тенденцію також підкріплює загальносвітовий тренд у галузі охорони здоров'я, який акцентує увагу на профілактику хвороб (AbdulRaheem, 2023). Профілактична медицина, яка набирає популярності серед населення різних країн, дедалі більше підкреслює значення правильного харчування та використання біологічно активних речовин для підтримки функціонального стану організму. У цьому контексті дієтичні добавки стають ефективним інструментом, який дозволяє заповнити дефіцит необхідних поживних речовин, таких як вітаміни, мінерали, жирні кислоти, амінокислоти та інші біологічно активні компоненти (як окремо так і у комбінації), що відіграють ключову роль у забезпеченні нормальної життєдіяльності організму та підвищенні його резистентності до негативних зовнішніх чинників (Dwyer et al., 2018; Sandoval, 2023). Застосування дієтичних добавок збільшилося з метою зміцнення імунної системи, мінімізації ризику запальних процесів та забезпечення додаткового захисту під час пандемії COVID-19 (Djaoudene et al., 2023).

Розробка дієтичних добавок на основі сировини природного походження є актуальною проблемою для більшості країн, зокрема й України, з огляду на зростаючий попит споживачів на такі продукти, що сприяють здоров'ю та профілактиці захворювань. Подібні розробки є особливо перспективними у контексті інтеграції національних ресурсів у міжнародний ринок і підтримки стратегії сталого розвитку.

У світовій практиці макроміцети широко використовуються як основа для створення дієтичних добавок, що містять різноманітні біологічно активні сполуки. Зокрема, до їх складу входять полісахариди, білки, лектини, терпеноїди,

феноли, токофероли, глікозиди, флавоноїди, алкалоїди, аскорбінова кислота та органічні кислоти, жири, мінеральні речовини, каротиноїди та ферменти. Ці сполуки виявлено як у дикорослих, так і в культивованих плодових тілах грибів, міцелії та культуральній рідині (Martinez-Burgos et al., 2024). Біологічно активні речовини макроміцетів демонструють широкий спектр біологічної активності, зокрема антибактеріальну, антимікотичну, антиоксидантну, протівірусну, цитотоксичну, протипухлинну, протизапальну, імуностимулюючу, гепатопротекторну, протидіабетичну, антитромботичну, антиалергічну, антидепресивну, антигіперліпідемічну, антигіпертензивну, нейропротекторну тощо (Barua et al., 2024; Martinez-Burgos et al., 2024).

Дієтичні добавки на основі грибів – це продукти, отримані з міцелію або плодових тіл грибів, які представлені у вигляді капсул, таблеток або екстрактів і характеризуються потенційним терапевтичним ефектом (Wasser et al., 2000). Переважна більшість таких продуктів виготовляється у формі сухих порошків та екстрактів (сухих і рідких) із плодових тіл грибів, що зростають у природних умовах або культивуються комерційно. Крім того, для виробництва використовується сушена біомаса міцелію, отриманого шляхом твердофазного чи глибинного культивування, культуральна рідина (Wasser et al., 2000; Barua et al., 2024).

Насьогодні, більшість грибів, що використовуються для виробництва дієтичних добавок, вирощується комерційно, а не збирається у природному середовищі. Такий підхід забезпечує високий рівень достовірності ідентифікації видів, а також дозволяє отримувати чисту продукцію без домішок. Крім того, комерційне культивування сприяє збереженню генетичної однорідності грибів, що є важливою перевагою. Зазначимо, що гриби легко розмножуються вегетативно, а міцелій може зберігатися протягом тривалого часу за знижених температур. Важливою перевагою культивованого міцелію є здатність багатьох грибів, які не утворюють плодових тіл у штучних умовах, рости у формі міцеліальної біомаси в глибинній культурі. Особливого значення набувають експерименти, спрямовані на вивчення фізіологічних потреб лікарських та

їстівних грибів, особливостей росту грибів та синтезу метаболітів в контрольованих умовах. Біосинтетичні процеси, необхідні для життєдіяльності клітин грибів, достатньо лабільні. Останнє дозволяє здійснювати регуляцію росту та синтезу клітинних та позаклітинних метаболітів за допомогою зміни фізико-хімічних параметрів культивування (Dudekula et al., 2020). Сучасні дослідження, свідчать про перспективність, доцільність та ефективність застосування міцелію і культуральної рідини, що відповідає принципам безвідходної технології. Продукти на основі лікарських грибів необхідно розглядати як раціональний засіб корекції харчування і, одночасно, як засіб профілактики або комплексної терапії низки хронічних захворювань (Bhambri et al., 2022; Martinez-Burgos et al., 2024). Однак проблема полягає в тому, що дієтичні добавки на основі грибів є надзвичайно різноманітними за своїм складом, і наразі відсутні стандартизовані протоколи для контролю якості їх виробництва. Також бракує науково обґрунтованого підходу створення дієвих дієтичних добавок. Це створює нагальну потребу пошуку перспективних видів макроміцетів, метаболіти яких мають цінні біологічні властивості.

У дисертаційній роботі запропоновано комплексний підхід до розробки наукових основ та розроблення концептуальної схеми створення дієтичних добавок на основі міцелію макроміцетів. Зокрема, обґрунтовано перспективність використання макроміцетів порядків *Agaricales* та *Polyporales* як джерела біологічно активних метаболітів із різними терапевтичними властивостями.

Результати роботи базуються на дослідженні біосинтетичної активності 30 видів макроміцетів (34 штами), які належать до трьох видів відділу Ascomycota (порядки Нурocreales та Pezizales) і 27 видів відділу Basidiomycota (порядки Agaricales, Нуменоchaetales, Polyporales та Russulales). Досліджені штами представляють різноманітні екологічні та систематичні групи, зокрема наґрунтові (грунтові й підстилкові сапротрофи), ентомофільні, ксилотрофні (дереворуйнівні) види. Така різноманітність екологічних ніш і систематичних груп досліджених грибів дозволила виявити унікальні біотехнологічні властивості окремих культур, зокрема здатність синтезувати біологічно активні

метаболіти. З точки зору корисності для людини, у проведених дослідженнях використовували гриби, які віднесені до різних категорій (Chang & Wasser, 2017): (a) їстівні гриби; (b) лікарські гриби; (d) "інші гриби", які включають гриби, властивості яких залишаються менш визначеними. Залучення до досліджень різних 30 видів макроміцетів, дозволило нам отримати про них нові відомості та оцінити їх біотехнологічний потенціал.

Скринінг є ключовою стратегією та відправною точкою в ідентифікації перспективних видів грибів для біотехнологічного використання. Узагальнена схема досліджень, що демонструє основні етапи проведення досліджень, наведена у додатку В. Важливою біотехнологічною характеристикою будь-якої культури є її швидкість росту та накопичення міцеліальної біомаси (міцелію). Для з'ясування росту макроміцетів було обране широковживане напівсинтетичне глюкозо-пептон-дріжджове середовище (ГПД) і температура 26 °С (Krupodorova et al., 2021a). Оскільки фаза лінійного росту за умови твердофазного культивування зазвичай являє собою період послідовного і стабільного зростання гриба, розраховували радіальну швидкість росту макроміцетів, відтворюваний і надійний показник для оцінки росту гриба в контрольованих умовах. Встановлено, що більшість досліджених макроміцетів характеризуються середньою швидкістю росту (від 4 до 8 мм/добу). Висока швидкість радіального росту встановлена для *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma lucidum*, *Morchella esculenta*, *Pseudospongipellis litschaueri* та *Trametes versicolor*. Швидке поширення міцелію є бажаним для застосувань, які вимагають швидкої колонізації субстрату, наприклад, у процесах культивування грибів. Концентрацію утвореної біомаси оцінювали після двотижневого глибинного культивування без перемішування. Цей показник забезпечував пряме вимірювання загального росту та накопичення міцеліальної біомаси в культурі. Це важливо для оцінки ефективності використання живильних речовин і загального виходу біомаси у біопроцесах. На підставі отриманих даних, за рівнем утвореної міцеліальної біомаси макроміцети умовно були поділені на три групи: низькі (≤ 5 г/л), помірні (5–10 г/л) та значні (≥ 10 г/л) продуценти біомаси.

Значний відсоток (36,7 %) становлять види, які належать до значних продуцентів біомаси: *Auriporia aurea*, *Cordyceps militaris*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*. Висока концентрація біомаси вказує на більш ефективний ріст і перетворення живильних речовин, що має вирішальне значення для таких застосувань, як виробництво мікопротеїнів, синтез ферментів та інших біологічно активних метаболітів. Зазначимо, що здатність таких макроміцетів, як *A. aurea*, *O. obducens*, *H. myxotricha* та *P. litschaueri*, до росту в культурі за умов твердофазного та глибинного культивування встановлена вперше.

Основну увагу в подальшій роботі було зосереджено на оцінці біосинтетичної активності досліджених макроміцетів. Наступним етапом дослідження стало визначення вмісту полісахаридів та фенольних сполук у макроміцетах, оскільки ці метаболіти відіграють ключову роль у прояві біологічних властивостей макроміцетів. Міцелій, отриманий на 14 добу культивування у ГПД середовищі за температури 26 °С глибинного росту без перемішування, аналізували на вміст ендopolісахаридів та фенольних сполук. Метод кількісного визначення ендopolісахаридів (Mukchaylova et al., 2023) було обрано завдяки його високій специфічності та здатності виділяти і очищати внутрішньоклітинні полісахариди з мінімальним забрудненням. Послідовні етапи промивання, кип'ятіння та осадження ефективно видаляють небажані цитоплазматичні компоненти, тоді як діаліз та осадження EtOH забезпечують максимальну чистоту. Всі досліджені макроміцети синтезували ендopolісахариди, причому *Lentinula edodes* містив найбільшу кількість (10,32 ± 0,35 %), на другому і третьому місцях – *Cyclocybe aegerita* (9,67 ± 0,62 %) і *Hypsizygus marmoreus* (8,80 ± 0,18 %). Проте найвища продуктивність ендopolісахаридів була відмічена у *Pleurotus eryngii* (65,92 ± 0,64 мг·л⁻¹·добу⁻¹), *C. aegerita* (60,09 ± 0,64 мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Cordyceps militaris* (58,13 ± 0,47 мг·л⁻¹·добу⁻¹).

Вміст фенольних сполук визначали за допомогою методу Фоліна-Чокалтеу, описаного Reis et al. (2012a), як високочутливого методу з широким діапазоном виявлення, придатного для кількісного визначення різноманітних фенольних сполук у складних біологічних зразках. Фенольні сполуки були встановлені у міцелії усіх досліджених макроміцетів. Найвищий показник продуктивності фенольних сполук встановлено у міцелії *Morchella esculenta* ($1,82 \pm 0,70$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), *Lentinula edodes* ($1,43 \pm 0,30$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Fomitopsis pinicola* ($1,42 \pm 0,60$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), ці ж види містили і найбільший їх вміст ($\geq 19,88$ мг ЕКГ/г).

Культуральна рідина макроміцетів виявилася також насиченою фенольними сполуками і екзополісахаридами. Метод кількісного визначення екзополісахаридів було обрано через його надійність і точність у виділенні та вимірюванні полісахаридів з культуральної рідини. Високий рівень продуктивності екзополісахаридів встановлено для *Hypsizygus marmoreus* ($160,00 \pm 0,30$ мг·л⁻¹·добу⁻¹), значні кількості також були виявлені у *Ganoderma applanatum* ($138,57 \pm 0,40$ мг·л⁻¹·добу⁻¹) та *Flammulina velutipes* ($132,86 \pm 0,56$ мг·л⁻¹·добу⁻¹). Як значне джерело екзополісахаридів також відзначився *H. marmoreus* з кількістю $2,24 \pm 0,30$ г/л. Слід також зазначити рівень екзополісахаридів у *Fomes fomentarius* ($2,06 \pm 0,70$ г/л) і *G. applanatum* ($1,94 \pm 0,40$ г/л). Максимальний вміст фенольних сполук екзогенного походження встановлено у культуральній рідині *Morchella esculenta*. Цей вид є наґрунтовим макроміцетом. Він може існувати як сапротроф, розкладаючи органічні речовини в ґрунті, але також здатний до утворення мікоризних асоціацій з рослинами за певних умов. Здатність цього гриба синтезувати високі рівні фенольних сполук може бути наслідком складних еволюційно адаптованих взаємодій із рослиною-господарем, що зумовлено генетично закодованою схильністю та активацією специфічних метаболічних шляхів.

Зазначимо, що рівень продуктивності метаболітів, таких як полісахариди та фенольні сполуки, не завжди співпадали з їх максимальним виходом, оскільки оптимальна концентрація метаболітів може бути обумовлена тимчасовими або

фізіологічними обмеженнями, що впливають на їх накопичення, зокрема стадії розвитку гриба та специфічності метаболічних шляхів. Також максимальний вихід може бути досягнутий у певний момент культивування, коли біомаса гриба вже достатньо розвинута, тоді як продуктивність може залишатися високою лише на конкретних етапах, коли активність синтетичних ферментів є найвищою.

Отримані дані свідчать про значний метаболічний потенціал 30 видів макроміцетів, оскільки як їх міцелій, так і культуральна рідина виявилися джерелами полісахаридів, фенольних сполук. Це підкреслює важливість комплексного дослідження внутрішньоклітинних і позаклітинних метаболітів макроміцетів для повноцінного розкриття їхнього біотехнологічного потенціалу. Наші скринінгові дослідження вперше розкривають потенціал синтезу полісахаридів за умов глибинного культивування таких маловивчених видів, як *Auriporia aurea*, *Cyclocybe aegerita*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum schimeji*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*. Вперше встановлено здатність до синтезу фенольних сполук такими видами, як *C. aegerita*, *H. myxotricha*, *L. schimeji*, *O. obducens* та *P. litschaueri*. Також вперше підтверджено наявність фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *L. luscina*, що раніше вивчалися лише в плодових тілах цих видів.

Антагоністичну активність макроміцетів досліджували методом подвійних культур (Badalyan et al., 2002, 2004) за умов твердофазного культивування на ГПДА середовищі. Оскільки спільне вирощування грибів на обмеженому просторі є зручним методом проведення антагоністичних досліджень та пошуку біологічно активних метаболітів, і можна легко візуально оцінити ріст колонії, тип взаємодії, фенотипічні зміни у морфології колоній та внесок кожного гриба окремо в індукцію метаболізму. При спільному культивуванні досліджених макроміцетів та використаних мікроміцетів виявлено різні реакції взаємодії: взаємне гальмування росту колоній при контакті (тип А), на дистанції (тип В), спокійне наростання без затримки росту гриба (тип С), а також часткове та повне наростання після взаємного гальмування росту контактуючих колоній при контакті (підтипи C_{A1} , C_{A2}) та обчислено

антагоністичний індекс (AI) макроміцетів проти *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida albicans*. AI варіював у межах від 5,0 до 31,5 залежно від виду грибів. Варто підкреслити значний антимікотичний потенціал досліджених макроміцетів: 83,3 % (25 видів) продемонстрували $AI \geq 15$. Згідно зі шкалою оцінки антагоністичної активності, запропонованою Badalyan et al. (2002), такі значення свідчать про високу антагоністичну здатність грибів, що підтверджує їх перспективність для подальших біотехнологічних застосувань. На скільки нам відомо, нами вперше отримано дані для всіх досліджених видів макроміцетів проявляти антагоністичну активність проти *P. kudriavzevii* та *C. albicans*. Пізніше Atamanchuk et al. (2024) також встановлено домінування реакцій наростання штамів *Xylaria polymorpha* та *X. longipes* на колонії *C. albicans*. Також новими є дані щодо здатності більшості досліджених культур конкурувати з *A. niger*, *Mucor* sp., *P. polonicum*.

Дослідження встановлюють кореляцію між антагоністичною активністю макроміцетів і поліморфізмом штамів *Candida albicans*, демонструючи потенціал макроміцетів як біологічних агентів для зниження патогенності грибів роду *Candida* та розробки нової антимікотичної продукції. *C. albicans* 17/138 і *Pichia kudriavzevii* виявили вищу чутливість до дії макроміцетів порівняно з клінічними ізолятами *C. albicans*. Це підкреслює варіативність резистентності серед патогенних штамів, обумовлену їх генетичним профілем, адаптаційними механізмами та здатністю формувати біоплівки. Вперше продемонстровано індукцію формування псевдоміцелію у штамів *C. albicans* в умовах сумісного культивування з певними видами макроміцетів.

Під час спільного культивування макроміцетів і мікроміцетів спостерігали конкурентні та антагоністичні взаємодії, що спричинили морфологічні зміни колоній макроміцетів і синтез метаболітів. Найвиразніші зміни виявлено у взаємодії *Coprinus comatus* із *Candida albicans* 311, включаючи утворення коричневих бар'єрів, зміну кольору міцелію та реверзumu колоній. Встановлено, що метаболіти *C. albicans* індукують лаказну активність *C. comatus*, сприяючи

окисленню поліфенолів і синтезу пігментів. Спільне культивування виявлено ефективним для активації лакази, яка забезпечує захист грибів від окислювального стресу та може слугувати перспективним біотехнологічним підходом для підвищення продуктивності цього ферменту.

В цілому, макроміцети виявили значну антагоністичну активність щодо досліджених патогенних мікроміцетів. У порядку спадання чутливості до макроміцетів досліджені мікроміцети можна розташувати в такому порядку: *Candida albicans*, *Pichia kudriavzevii*, *Penicillium polonicum*, *Aspergillus niger*, *Mucor* sp. Обчислення AI для макроміцетів дозволило виділити види з високим потенціалом антагоністичної активності: *Crinipellis schevczenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*. Ці гриби здатні синтезувати широкий спектр антимікотичних метаболітів, що робить їх перспективними біотехнологічними об'єктами для подальших досліджень, спрямованих на розробку та впровадження антимікотичних препаратів, необхідних у медицині та сільському господарстві. Зазначимо, що *C. schevczenkovi* та *G. applanatum* також демонстрували одні з найвищих показників радіальної швидкості росту, що є важливою перевагою для ефективної колонізації субстрату та конкурентної боротьби за живильні речовини в умовах обмежених ресурсів.

Наступним кроком стало вивчення антибактеріальної активності макроміцетів методом дифузії в агар, що дозволяє оцінити потенціал грибів у боротьбі з умовно патогенними мікроорганізмами. Вперше встановлено антибактеріальну активність видів *Crinipellis schevczenkovi*, *Hohenbuehelia tuxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri*, що підкреслює новизну проведеного дослідження та перспективність подальшого вивчення цих макроміцетів як джерел біологічно активних речовин. У двадцяти досліджених видів макроміцетів (67 %) було виявлено антибактеріальну активність міцелію та/або культуральної рідини. Розмір зони затримки росту тест-бактерій коливався від $9,7 \pm 0,3$ мм у діаметрі до повного інгібування росту еталонних бактерій *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 65388. Найвищу активність проти *B. subtilis* виявлено у

культуральних рідинах *Fomitopsis betulina* та *Lentinus edodes*, а проти *S. aureus* – у культуральній рідині *F. betulina*, і проти *E. coli* – у культуральній рідині та міцелію *Phellinus igniarius*. Відзначимо останню активність, оскільки це вказує на присутність у зразках *P. igniarius* антибактеріальних сполук, здатних долати захисний бар'єр грамнегативних бактерій, які зазвичай мають підвищену стійкість до антибактеріальних агентів. Зазначимо, що антибактеріальна активність, відібраних видів грибів *F. betulina*, *L. edodes*, *P. igniarius*, була не лише співставною з дією деяких комерційних антибіотиків (левоміцетин, еритроміцин, лінкоміцин, цефтріаксон, бензиленамінін, гентаміцин), але й у ряді випадків (сульфадіметоксин, зітроцин, гросептол, тетрациклін) перевершувала їх.

Порівняльний аналіз антибактеріальної активності міцелію та культуральної рідини досліджених грибів показав, що культуральна рідина демонструвала вищу активність щодо всіх трьох умовно-патогенних бактерій. Можливими метаболітами, відповідальними за підвищену активність культуральної рідини, є фенольні сполуки, полісахариди, органічні кислоти та терпеноїди, які здатні проникати в середовище культивування. Натомість у міцелії ці сполуки можуть залишатися в зв'язаному стані або міститися в менш доступних концентраціях.

Досліджені макроміцети розподілено умовно на три групи залежно від спектра їх антибактеріальної дії: види (*Cordyceps militaris*, *Cyclocybe aegerita*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Fomitopsis pinicola*, *Lepista luscina*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*) з широким спектром активності, міцелій та/або культуральна рідина яких інгібували ріст трьох тест-бактерій; види (*Fomitopsis betulina*, *Ganoderma applanatum*, *Hypsizygus marmoreus*, *Lentinula edodes*, *Morchella esculenta*) з вибірковою активністю, які пригнічували ріст двох із трьох тест-бактерій і види (*Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens*, *Phellinus igniarius*, *Schizophyllum commune*) з вузьким спектром активності, активність яких була спрямована лише проти однієї з тест-бактерій.

За результатами аналізу антибактеріальної активності для проведення подальших експериментів відібрано культуральну рідину *Fomitopsis betulina* та використано метод серійних розведень у рідких поживних середовищах, що дозволяє дати кількісну оцінку антибактеріальної активності. Висушена та концентрована культуральна рідина цього гриба продемонструвала широкий спектр антибактеріальної активності щодо еталонних бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 у мінімальних бактеріальних концентраціях (МБЦк) від >2 до 18,75 мг/л. Вона також ефективно діяла на полірезистентні клінічні ізоляти, такі як *S. aureus* MRSA, *S. haemolyticus* MRCNS, *P. aeruginosa* MBL, *E. coli* KPC, *Klebsiella pneumoniae* ESBL, AmpC, KPC, *Acinetobacter baumannii* MBL, у концентраціях МБЦк від 7,8 до 48,42 мг/л. Визначені мінімальні інгібуючі концентрації залишаються в межах дозволених нормативів для створення антибіотичних препаратів, що підкреслює потенціал цього гриба у створенні нових природних антибактеріальних засобів.

Досліджені метаболіти (фенольні сполуки та полісахариди) також тісно взаємопов'язані з іншою біологічною активністю – антиоксидантною. Антиоксидатний потенціал екстрагованих етилацетатом екстрактів міцелію макроміцетів та їх культуральних рідин оцінювали за здатністю знешкоджувати вільні радикали 1,1-дифеніл-2-пікрил-гідразилу (DPPH), широко використовуваного методу, відомого своєю простотою і чіткою візуалізацією зміни кольору з фіолетового на жовтий. Отримані результати свідчать про те, що міцелій та культуральний рідина досліджених видів грибів є потенційними джерелами природних антиоксидантів. Вперше встановлено антиоксидантну активність *Auriporia aurea*, *Pseupospongipellis litschaueri* та *Oxyporus obducens*. Вперше підтверджено наявність антиоксидантної активності міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina*, незважаючи на те, що попередні дослідження зосереджувалися лише на антиоксидантних властивостях їхніх плодових тіл. Відсоток інгібування радикалів становив 11,7–87,9 та 4,3–69,3 % для міцелію та культуральної рідини, відповідно, залежно від досліджених видів

грибів. Найвищий відсоток інгібування вільних радикалів виявлено для міцелію *Lentinula edodes* ($87,94 \pm 0,80$ %) і *Fomitopsis pinicola* ($83,39 \pm 0,70$ %) і культуральних рідин *Cordyceps militaris* ($68,96 \pm 0,6$ %), *Fomitopsis betulina* ($69,3 \pm 0,5$ %), *Inonotus obliquus* ($66,5 \pm 0,6$ %). Встановлено, що міцелій демонструє вищу антиоксидантну активність у 50 % досліджуваних видів порівняно з їх культуральною рідиною, що свідчить про значну роль внутрішньоклітинних компонентів у нейтралізації вільних радикалів.

Результати кореляційного аналізу за Пірсоном показали, що фенольні сполуки відіграють ключову роль у забезпеченні антиоксидантної активності екстрактів макроміцетів. Зокрема, встановлено сильну кореляцію між вмістом фенольних сполук і інактивацією DPPH у міцелії грибів ($r=0,66$) та дуже слабку кореляцію в культуральній рідині ($r=0,11$). Водночас, вплив полісахаридів виявився менш значущим: для ендopolісахаридів визначено слабку кореляцію ($r=0,14$), а екзopolісахариди демонстрували навіть негативний вплив. Аналогічні результати отримано і за допомогою аналізу головних компонентів.

Відомості про наявність різних ферментів є важливим для визначення доступних і економічно вигідних субстратів для культивування макроміцетів, що і обумовило наступний етап досліджень. Вміст ферментів встановлювали за якісними реакціями за умов твердофазного культивування. У досліджених видів грибів встановлено наявність ензимів, що обумовлюють метаболізм вуглецю (амілази), ліпідів (ліпази), азотних сполук (протеази, нітратредуктази, уреаз) та окисно-відновні процеси (лакази). Різноманіття виявлених ферментів у макроміцетах можна представити наступним чином (в порядку зменшення активності ферментів): амілаза > ліпаза > лаказа > уреаз > протеаза > нітратредуктаза.

За результатами проведеного скринінгу встановлено види грибів потенційно перспективні для подальших досліджень певної ферментативної активності: *Auriporia aurea*, *Hericium erinaceus*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* (амілази); *Coprinus comatus*, *Lentinula edodes*, *Lepista luscina*, (лакази); *Fomitopsis betulina* і *Grifola frondosa*

(протеази); *Cordyceps militaris*, *L. luscina*, *P. ostreatus* (уреази); *L. luscina* і *Morchella esculenta* (нітратредуктази). Новими є дані про позаклітинну активність ферментів для таких видів грибів як *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *F. betulina*, *Pseudospongipellis litschaueri* (амілази); *A. aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Oxyporus obducens*, *P. litschaueri* (лакази); *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri* (ліпаза); *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *H. marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri* (уреаза) та *L. luscina* (нітратредуктаза). Найбільшу кількість ферментів встановлено для *L. luscina*. Домінування певних ферментів, зокрема лакази і протеази у профілі досліджених грибів може бути тісно пов'язане з їхньою антагоністичною активністю, оскільки ферменти відіграють ключову роль у синтезі біоактивних сполук, що пригнічують ріст конкурентних мікроорганізмів.

Відомо, що біосинтетична активність макроміцетів значною мірою залежить від умов культивування *in vitro*, які визначають рівень продукції біомаси та біологічно активних сполук. Тому наступним етапом дослідження стало визначення оптимальних параметрів культивування, що забезпечують максимальний ріст і синтез метаболітів перспективних видів.

Визначальним фактором біосинтетичної активності макроміцетів є склад поживного середовища. З огляду на це, у проведених дослідженнях особливу увагу було зосереджено на пошуку доступних і дешевих органічних субстратів для культивування макроміцетів. Такі субстрати містять збалансований склад, доступні джерела живлення, і їх використання дозволяє знизити витрати на виробництво та забезпечити ефективний синтез біологічно активних метаболітів.

Загалом, проведено оцінку 20 різних відходів як монокомпонентів у поживних середовищах для вирощування міцелію макроміцетів за умов глибинного культивування без перемішування. Порівняння з ростом макроміцетів у контрольному середовищі (ГПД) дозволило встановити альтернативні середовища для росту кожного з досліджуваних видів грибів. За результатами досліджень ефективного продукування міцелію (≥ 20 г/л)

визначено перспективні види грибів з високим рівнем біоконверсії субстратів у міцеліальну масу. Зокрема, ксилотрофні базидієві гриби, такі як *Flammulina velutipes*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor* та *P. eryngii*, продемонстрували високу ефективність на відходах макаронного виробництва (битій вермішелі, крихті). На відходах борошномельного виробництва ефективну біоконверсію показали *Fomitopsis pinicola* (на ячмінній та пшеничній дерті), *Ganoderma applanatum* і *P. djamor* (на пшеничних висівках). Крім того, такі види, як *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *G. applanatum*, *G. lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* та *Schizophyllum commune*, успішно росли на шроті амаранту після вуглекислотної екстракції (CO₂-шрот амаранту). Також *G. applanatum* і *P. djamor* демонстрували ефективну біоконверсію на шроті насіння зародків пшениці та шроті насіння вівса, а *L. shimeji* і *P. ostreatus* – на шроті зародків пшениці. Всі ці субстрати є побічними продуктами олійно-екстракційного виробництва. Висока здатність базидієвих ксилотрофів до біоконверсії відходів макаронного, борошномельного та олійно-екстракційного виробництва пояснюється їхнім потужним ензиматичним апаратом, що дозволяє ефективно розкласти органічні сполуки, багаті на вуглеводи, білки та ліпіди. Ці гриби демонструють високу адаптацію до субстратів із різною вологістю, хімічним складом. Завдяки швидкому росту, екологічній пластичності та толерантності до специфічних складників відходів, досліджені макроміцети є перспективними для біотехнологічних застосувань у переробці органічних матеріалів.

Проведений аналіз здатності різних видів грибів до конверсії використаних відходів продемонстрував значні відмінності у їхній ефективності. Найвищу здатність до утилізації 19 різних відходів продемонстрували *Pleurotus ostreatus* та *Laetiporus sulphureus*. До групи грибів із високим потенціалом до конверсії ≥ 17 видів відходів також належать *Crinipellis schevchenkovi*, *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina* та *Trametes versicolor*. Кожен із цих видів має унікальні екологічні характеристики, які сприяють ефективному використанню органічних відходів.

Найкращі результати продукування біомаси макроміцетами спостерігали на відходах, багатих на крохмаль, що може бути пов'язано з легким доступом до вуглеводів, необхідних для росту грибів. Ці дані узгоджуються з нашими попередніми результатами, які показують, що всі досліджені макроміцети мають фермент амілазу, здатну розщеплювати крохмаль до простіших цукрів, таких як мальтоза, і, зрештою, до глюкози для отримання енергії. Водночас найбільшу універсальність продемонстрував CO₂-шрот амаранту, який здатні засвоювати різні види макроміцетів. Це свідчить про перспективність використання цього відходу як універсального субстрату для біотехнологічних процесів, спрямованих на отримання біомаси грибів. Встановлено, що завдяки особливостям технологічного процесу вуглекислотної екстракції насіння амаранту, отриманий побічний продукт CO₂-шрот містить мікро- (Co, Cr, Mo, V, Bi) і макроелементи (Cu, Zn, Ti, Se, La, Ba, Zr, K, Ca, P) і, що найважливіше, високий вміст білків (17 %), вітаміни. Вміст цінних компонентів визначає його високий біологічний потенціал як субстрату для культивування грибів різних екологічних груп.

Для подальших досліджень були відібрані гриби *Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune*, які відомі своїми лікувальними властивостями, часто входять до складу дієтичних добавок та активно росли на середовищі з CO₂-шротом амаранту. Гриби вирощували 14 діб за глибинного культивування без перемішування. Максимальні значення протеїну було зафіксовано у міцеліальній біомасі *P. ostreatus* ($48,4 \pm 0,3$ %), однак високі показники також відзначено для *S. commune* ($45,4 \pm 0,5$ %). Білки досліджених макроміцетів характеризувалися збалансованим амінокислотним складом, до якого входять важливі незамінні амінокислоти, зокрема лізин, лейцин, валін, ізолейцин, треонін, метіонін і фенілаланін. У складі білків усіх видів виявило наявність 17 амінокислот, серед яких домінували аспарагінова (6,3–14,2 %) та глютамінова (15,4–19,1 %) кислоти. Результати порівняльного аналізу амінокислотного складу культурального міцелію та культуральної рідини свідчать про вищу якість білків у *O. sinensis* та *S. commune*, а також про кращий

амінокислотний профіль у *P. ostreatus*. Найменший вміст жиру містив міцелій *P. ostreatus* ($5,14 \pm 0,15$ г/100 г) і ліофілізований культуральна рідина *O. sinensis* ($3,85 \pm 0,14$ г/100 г). У міцелії *O. sinensis*, *P. ostreatus* та *S. commune* було ідентифіковано 10 жирних кислот, тоді як у культуральній рідині цих грибів – 12 жирних кислот. Аналіз жирнокислотного складу біомаси грибів показав значний вміст поліненасиченої лінолевої кислоти (омега-6), концентрація якої варіювала від 52,26 % до 67,41 % у міцелії та від 42,43 % до 61,09 % у культуральній рідині та олеїнової кислоти – від 24,15% до 47 % у міцелії та від 16,32 % до 32,54 % у культуральній рідині. Враховуючи високу біологічну ефективність, невибагливість до умов культивування та здатність розкласти різні органічні субстрати та показники амінокислотного складу міцелію, *P. ostreatus* (штам 551) обрано для подальших етапів дослідження.

Важливими компонентами клітинної стінки грибів є структурні полісахариди та хітин, які відіграють ключову роль у забезпеченні міцності клітинної стінки та біологічної активності. У ході дослідження було оцінено вміст полісахаридів у біомасі *P. ostreatus* та сорбційний потенціал залежно від складу відходів. Найвищий вміст ендopolісахаридів ($4,2 \pm 0,3$,%) *Pleurotus ostreatus* забезпечив шрот зародків пшениці, а екзopolісахаридів ($3,3 \pm 0,5$) – CO₂-шрот амаранту. Спільним для всіх досліджених зразків *P. ostreatus* була найкраща здатність зв'язувати іони Cd²⁺, незалежно від типу субстрату, на якому був вирощений гриб. Сорбційна активність іонів ртуті була кращою у біомасі *P. ostreatus*, культивованій на шроті зародків пшениці та макусі рапсу. Іони ртуті також краще сорбувалися міцелієм, отриманим на шроті зародків пшениці.

Набуття активності при рості на натуральному середовищі є важливим фактором, оскільки воно забезпечує оптимальну експресію метаболітів, адаптацію до природних умов та підвищення біотехнологічного потенціалу організмів. Міцелій перспективних видів грибів, культивованій глибинно без перемішування на CO₂-шроті амаранту проявив значний терапевтичним потенціалом. CO₂-шрот амаранту впливав на набуття антибактеріальної активності макроміцетів: збільшив зони інгібування росту *Bacillus subtilis* ATCC

6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 у 13 видів і *Staphylococcus aureus* ATCC 65388 – 14 видів; сприяв набуттю антибактеріальної активності у 7 видів макроміцетів, зокрема *Inonotus obliquus*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii* та *Pseudospongipellis litschaueri*.

Водні екстракти міцелію грибів *Auriporia aurea*, *Fomes fomentarius*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor* пригнічували репродукцію вірусу грипу H1N1 штаму A/FM/1/47 в дозах 0,62; 1,25; 0,077 мг/мл на 4,0; 5,0; 6,0 lg ID₅₀. Виявлено високі значення терапевтичного індексу грибів *G. lucidum*, *T. versicolor*, 80,5 та 324,67, відповідно. Для видів *A. aurea*, *F. fomentarius* та *Lyophyllum shimeji*, встановлена протигрипозна активність вперше. Водні екстракти міцелію 4 видів грибів (*A. aurea*, *F. fomentarius*, *Pleurotus ostreatus*, *T. versicolor*) із 10 досліджених, проявили виражену протигерпетичну активність проти герпесу 2-го типу в розведеннях 0,155; 0,62; 0,077 мг/мл. Найбільші показники терапевтичного індексу мали *A. aurea* (161,29) та *T. versicolor* (324,67). Активність проти вірусу герпесу 2-го типу встановлена для видів *A. aurea* та *F. fomentarius* вперше.

Погоджуючись із позицією дослідників (Lindequist et al., 2005) щодо існування кореляції між противірусною та протипухлинною активністю базидієвих грибів, для подальших досліджень було відібрано два види *Auriporia aurea* та *Trametes versicolor*, які виявили найвищу антивірусну активність під час попередніх досліджень. Вперше встановлено здатність міцелію *A. aurea* зменшувати розмір пухлин. Найбільше зниження розмірів пухлин на моделі карциноми Герена спостерігалось у тварин, яким вводили водний екстракт міцелію *T. versicolor*: розміри первинної пухлини на 16-ту добу після перещеплення карциноми Герена були на 65 % меншими порівняно. Застосування суспензії міцелію *T. versicolor*, водного екстракту та суспензії міцелію *A. aurea* також сприяло зменшенню розмірів пухлин на 36 %, 27 % і 20 % відповідно. Але цей підхід не сприяв збільшенню тривалості життя тварин з карциномою Герена. Навпаки, тривале введення суспензії міцелію *T. versicolor*

та водного екстракту міцелію та суспензії *A. aurea* спричиняло передчасну загибель тварин. Отримані дані свідчать про можливий токсичний ефект або імуносупресивну дію тривалого введення зазначених препаратів, що потребує подальшого дослідження.

Пероральне щоденне введення водного екстракту *Trametes versicolor* тваринам з карциномою Льюїса зменшувало на 24–30 % розміри первинної пухлини з показниками тварин контрольної групи у період активного росту пухлин, і сприяло подовженню життя у 20 % особин-пухлиноносіїв у групі. Водночас у тварин дослідної групи спостерігалось статистично достовірне зниження кількості метастазів на 45 %, а утворені метастази в дослідній групі мали значно менші розміри. Отже, введення досліджуваного препарату призводило до появи lag-періоду у темпах росту злоякісного новоутворення та меншої вираженості показників росту карциноми Льюїса.

Водні екстракти міцелію *Ganoderma lucidum*, і особливо, *Crinipellis schevczenkovi*, проявляли виражену ранозагоювальну активність на моделі висічної рани. Зазначимо, що для *C. schevczenkovi* наявність такого терапевтичного ефекту встановлена вперше. Їх застосування стимулювало утворення грануляційної тканини, прискорювало епітелізацію та сприяло повному закриттю ран на 6-й день лікування, що було швидшим, ніж у контрольній групі (на 8-й день). Виявлено, що екстракти активували проліферацію фібробластів і формування нових кровоносних судин, забезпечуючи прискорене загоєння. Водночас спостерігалася помірна запальна реакція з накопиченням нейтрофілів і лімфоцитів у ділянках обробки екстрактами, що свідчить про активацію місцевої імунної відповіді.

Проаналізовано вплив фізико-хімічних умов культивування на біосинтетичну активність макроміцетів *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii*. Встановлено, що температура, рН середовища, а також джерела вуглецевого та азотного живлення є ключовими факторами, які визначають інтенсивність росту міцелію грибів та їх рівень біологічної активності. Визначено оптимальні умови культивування для

отримання біомаси грибів *F. betulina* та *L. edodes*: температура – 27 ± 1 °С, кислотність середовища – рН 3,5–4,0, тривалість культивування – 14 діб. Як джерела вуглецю для *F. betulina* використовували целюлозу, сахарозу або глюкозу, тоді як для *L. edodes* – глюкозу або целюлозу. Джерелами азоту для росту встановлено аспарагін і сульфат амонію для *F. betulina* та аспарагін для *L. edodes*. Встановлено сприятливі умови для синтезу антибактеріальних метаболітів. Для *F. betulina* ці умови включали: температура – 27 ± 1 °С, рН – 5,5, тривалість культивування – 14 діб, джерело вуглецю – галактоза (25 г/л), джерело азоту – пептон у концентрації 1,5–3,0 г/л. Для *L. edodes* оптимальними параметрами були: температура – 27 ± 1 °С, рН – 5,5, тривалість культивування – 14 діб, джерело вуглецю – целюлоза (25 г/л), джерело азоту – нітрат амонію у концентрації 0,5–1,0 г/л.

УФ опромінення викликало зниження дії культуральної рідини *Fomitopsis betulina* проти грампозитивних бактерій у порівнянні з контрольною величиною. Разом з цим, антибактеріальна активність культуральної рідини *F. betulina* по відношенню до *Bacillus subtilis* зменшувалася зі збільшенням часу впливу. Найвища дія проти *Staphylococcus aureus* виявлена після 5 хв випромінювання ($0,28$ кДж/см² доза опромінення), а потім також знижувалася. Було відмічено, що антибактеріальна активність культуральної рідини *F. betulina* проти *Escherichia coli* порівняно з контролем, значно зростає і найбільша дія виявлена після опромінення протягом 15 хв ($0,85$ кДж/см² доза опромінення).

Проведені дослідження підтвердили суттєвий вплив видоспецифічних особливостей, середовища культивування (ГПД і Сабуро) та типу екстрагента (EtOH, MeOH, H₂O, 50 та 70 % EtOH) на антиоксидантну активність і вміст фенольних сполук у міцелії *Fomitopsis pinicola* та *Lentinula edodes*. Інтерес становить менш вивчений вид *F. pinicola*, який продемонстрував вищу здатність до синтезу біомаси на обох поживних середовищах порівняно з *L. edodes*.

Встановлено різницю в біосинтетичній активності *Fomitopsis pinicola* за різних умов культивування. Найвище значення знешкодження вільних радикалів DPPH ($78,2 \pm 0,9$ %) виявлено для міцелію, культивованого за 30 °С, тоді як

культивування за нижчої температури (20 °C) сприяло кращому зростанню біомаси ($8,5 \pm 0,3$ г/л) та вмісту фенольних сполук ($11,0 \pm 0,6$ мг ЕГК/г). Ксилоза забезпечувала найвищий рівень інгібування DPPH ($89,91 \pm 0,5$ %) та синтез фенольних сполук ($16,55 \pm 0,4$ мг ЕГК/г), тоді як галактоза обумовлювала найкращий врожай біомасу ($4,0 \pm 0,3$ г/л). Пептон був найефективнішим джерелом азоту для отримання міцелію з високим потенціалом інактивації DPPH ($90,42 \pm 0,5$ %) і синтезом фенольних сполук ($17,41 \pm 0,5$ мг ЕГК/г), тоді як максимальний вихід біомаси ($7,8 \pm 0,6$ г/л) було виявлено при використанні дріжджового екстракту. *F. pinicola* ріс і продукував біологічно активні метаболіти в широкому діапазоні рН від 2,5 до 7,5. Культивування із струшуванням сприяло найвищому вмісту фенольних сполук ($21,44 \pm 0,10$ мг ЕГК/г), хоча однаковий рівень антиоксидантної активності (93 %) було досягнуто як при струшуванні, так і при статичному культивуванні на 7-й та 28-й день відповідно. Результати коригування умов культивування з урахуванням трьох факторів: температури, джерела вуглецю та рН – продемонстрували ефективність цього підходу. Отримані дані свідчать про потенціал збільшення виробництва фенольних сполук у 2,25 та 2,23 рази за умов струшування та статичних умов, відповідно, при збереженні високого рівня активності (≥ 92 %). Дуже сильна кореляція ($r = 0,80-0,95$) була виявлена між вмістом фенольних сполук і антиоксидантною активністю *F. pinicola* за більшості досліджуваних умов, включаючи варіації джерел вуглецю та азоту, статичні умови та струшування, а також рН.

Досліджено мікро- і макроморфологічні ознаки *Hohenbuehelia muxotricha*. З'ясовано оптимальні параметри культивування: температура 25 °C, рН 4,5, тривалість 14 діб та джерела живлення: глюкоза (30 г/л), дріжджовий екстракт (2 г/л). Виявлено вплив тривалості культивування та джерел вуглецевого й азотного живлення на набуття антимікотичної активності культуральною рідиною *H. muxotricha*. Збільшенню антимікотичної активності проти *Aspergillus niger* забезпечувала 14-та доба культивування. Більш тривале культивування (21 доба) було оптимальним для пригнічення росту *Pichia kudriavzevii*, *Candida albicans* 315, 319, 17/138. Лише активність культуральної рідини *H. muxotricha*

проти *C. albicans* 311 залишалась майже на однаковому рівні незалежно від тривалості культивування. Встановлено, що глюкоза та дріжджовий екстракт сприяли кращому набуттю антимікотичної активності проти досліджених *A. niger*, *P. kudriavzevii*, *C. albicans*. Середовище ГПД сприяло синтезу антибіотичних сполук проти *Escherichia coli*, тоді як середовище Сабуро виявилось оптимальним для накопичення антиоксидантних метаболітів і формування антимікотичних компонентів. Вперше встановлено антибіотичну активність *H. myxotricha* проти *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Nakaseomyces glabrata*.

Встановлено вплив агаризованих поживних середовищ на ріст та морфологію *Pleurotus eryngii*. Найвища швидкість росту (12,6 мм/добу) спостерігалася на агарі Чапека, однак колонії мали павутинисту структуру, незручну для подальшого використання. Глюкозо-пептон-дріжджовий агар і картопляно-декстрозний агар забезпечили подібні темпи росту (8,3 та 7,9 мм/добу відповідно). Оптимальний рН середовища для синтезу біомаси встановлено в межах 5,0–5,5, при цьому *P. eryngii* здатен рости за рН 4,5–6,5. Найкраще вуглецеве та азотне живлення для біомаси забезпечували 20 г/л арабінози та 1,2 г/л аспарагіну відповідно. При глибинному культивуванні з перемішуванням максимальний синтез екзополісахаридів та біомаси досягнуто на середовищі з CO₂-шротом.

У біотехнологічному аспекті штамоспецифічність культур є критичним фактором, що впливає на ефективність та економічність біотехнологічних процесів. Різні штами одного виду грибів можуть демонструвати значні відмінності у таких характеристиках, як швидкість росту, продуктивність метаболітів, ефективність використання різних субстратів, здатність до адаптації до змінних умов середовища, а також рівень біологічної активності, зокрема антимікробні, антиоксидантні. З огляду на це, дослідили штамоспецифічні особливості росту та синтезу метаболітів на прикладі на комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* 551, 1685, 2460, 2461, 2462. Швидкість вегетативного росту

міцелію штамів *P. ostreatus* становила від $9,0 \pm 0,1$ до $15,0 \pm 0,8$ мм/добу, а вихід по біомасі – $8,7 \pm 0,7$ до $36,5 \pm 0,2$ г/л, залежно від штаму та поживного середовища. Відзначимо штам *P. ostreatus* 551 з досить широкою адаптацією за умови твердофазного культивування завдяки здатності рости на чотирьох з п'яти агарових середовищ з однаковою швидкістю. Штам *P. ostreatus* 2462, мав максимальний ріст на твердому середовищі КДА, також показав найкращі результати продукції біомаси при вирощуванні на більшості досліджених рідких середовищ.

Однією з найактуальніших задач біотехнології є пошук шляхів підвищення врожайності грибів при їх вирощуванні в штучних умовах. Для вирішення цього завдання, ми використали дві стратегії: додавання синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук (похідні піридину та піримідину), відомі 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) та використання відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва як поживного середовища за умов глибинного культивування. Наскільки нам відомо, ми вперше дослідили вплив цих регуляторів на ріст грибів. Отримані результати показали позитивний, негативний та нейтральний вплив цих хімічних сполук на вихід міцелію *P. ostreatus* залежно від штаму, а також від тривалості культивування та концентрації відповідної сполуки, що використовували. Штами *P. ostreatus* 551 та 1685 були більш сприйнятливими до позитивної асиміляції всіх досліджуваних регуляторів росту рослин, використаних у наномолярних концентраціях (10^{-6} – 10^{-9}). Незважаючи на певний ріст-стимулюючий ефект Івіну, Метіуру, Каметуру, більш ефективною виявилася друга стратегія збільшення виходу біомаси. Використання поживних середовищ на основі комбінації природних відходів (CO₂-шрот амаранту, шрот зародків пшениці, пшеничні висівки, бита вермішель, крихта) дозволило збільшити вихід міцелію штамів *P. ostreatus* у 2,2–2,9 рази порівняно з контролем.

Досліджено антагоністичну активність комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* проти *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Fusarium poae*, *Pichia kudriavzevii*, *Microdochium nivale* та обчислено їх антагоністичний індекс, який був однаковим для всіх штамів та становив 22,5. У подвійній культурі виявлено лише один тип реакції – повне заміщення наростанням після взаємного гальмування росту контактуючих колоній. Вперше у дуальній культурі досліджено антагоністичну активність *P. ostreatus* відносно *F. poae* та *M. nivale*. Лише деякі екстракти штамів *P. ostreatus* володіли антибактеріальною дією. Етилацетатний екстракт *P. ostreatus* 2462 виявив сильну антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus*, а у випадку *P. ostreatus* 2460 – проти *Escherichia coli*. Зони пригнічення росту становили $21,5 \pm 0,5$ мм та $17,0 \pm 0,9$ мм відповідно. Усі досліджені штами *P. ostreatus* проявили антиоксидантну активність. Інгібування вільних радикалів під дією екстрактів міцелію *P. ostreatus* варіювало від 30,9 % до 61,0 %. Найкращі результати встановлено для етилацетатного та спиртового екстрактів міцелію 1685 на 61 % та 56 %, відповідно. Наявність фенольних сполук було встановлено в усіх штамів *P. ostreatus*. Вміст фенольних сполук у екстрактах міцелію *P. ostreatus* коливав від $0,276 \pm 0,001$ до $0,752 \pm 0,002$ мг ЕГК/г сухого екстракту. Найвищий вміст фенольних сполук виявлено у екстракті міцелію *P. ostreatus* 2461 – $0,752 \pm 0,002$ мг ЕГК/г. Майже однаковий вміст фенольних сполук встановлено у екстрактах *P. ostreatus* 1685 (етилацетатному екстракті – $0,714 \pm 0,001$, спиртовому екстракті – $0,673 \pm 0,002$ мг ЕГК/г).

В цілому, виявлена біологічна активність міцелію та культуральної рідини макроміцетів підтверджує їх значний потенціал як джерел різноманітних біологічно активних метаболітів. Взаємозв'язок між антибактеріальною, антагоністичною, антиоксидантною, антивірусною, протипухлинною, ранозагоювальною та сорбційною активностями свідчить про їх можливу мультифункціональність, полівалентність та синергетичну взаємодію. Враховуючи показники росту, здатність до біоконверсії харчових відходів та синтез біологічно активних метаболітів, особливу увагу привертають

Crinipellis schevczenkovi, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* (Agaricales), *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Fomitopsis betulina*, *F. pinicola*, і *Trametes versicolor* (Polyporales). Подальші наші дослідження були спрямовані на створення концептуальної схеми дієтичної добавки.

Зважаючи на те, що антиоксидантна активність є важливою терапевтичною властивістю грибів, оскільки окислювальний стрес відіграє центральну роль у розвитку багатьох хронічних захворювань, таких як рак, серцево-судинні патології та нейродегенеративні стани (Abo Nahas et al., 2021), було вирішено зосередитися на розробці дієтичних добавок з високою здатністю нейтралізувати вільні радикали. Враховуючи відносну простоту визначення фенольних сполук, вони були обрані як критерій стандартизації активних компонентів. У якості перспективних активних інгредієнтів нами запропоновано використання сухого міцелію лікарських грибів, отриманого у процесі поверхневого культивування *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor* на середовищі з CO₂-шротом амаранту та *Fomitopsis pinicola* – на ГПД середовищі.

Визначення фенольних сполук, антиоксидантної активності та фармакотехнологічних параметрів гранул дозволило визначити оптимальний склад дієтичної добавки, який включав 80% суміші міцелію (*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis pinicola* у співвідношенні 2,0:0,5:0,5), 5% моногідрату лактози, 10 % суміші маніту та мікрокристалічної целюлози у співвідношенні 2:1, 1 % кроскармелози натрію та 4 % карбоксиметилцелюлози 0,7 %-го розчину. Ця комбінація дозволила отримати продукт із загальним вмістом фенолів $29,83 \pm 0,49$ мг ЕГК/г і продемонструвала потужну антиоксидантну здатність, ефективно нейтралізуючи на $86,53 \pm 0,62$ % вільні радикали DPPH. Антимікробний потенціал досліджених видів, а також противірусні та протипухлинні властивості *T. versicolor* підкреслюють терапевтичну значущість створеної добавки. Таким чином, розроблена схема виробництва дієтичної добавки на основі міцелію макроміцетів є перспективним підходом для створення нових препаратів з широким спектром дії, які можуть

бути використані для підтримки імунітету, профілактики та лікування захворювань, а також загального зміцнення організму.

Запропоновано концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі макроміцетів (рис. 9.1).

Таким чином, отримані результати створюють науково-обґрунтоване підґрунтя для отримання біомаси макроміцетів, перспективної для застосування та інтеграції в різні галузі промисловості, що узгоджується з ключовими цілями сталого розвитку України до 2030 року. Запропоновані рішення сприятимуть покращенню структури харчування населення, підтримці оптимального рівня здоров'я, ефективній біоконверсії макроміцетами харчових відходів та відходів олійно-екстракційного виробництва, впровадженню раціональних моделей споживання й виробництва, а також біоконтролю рослинних патогенів спрямованого на підтримку сталого розвитку сільського господарства та формуванню екологічно орієнтованих виробничих систем.

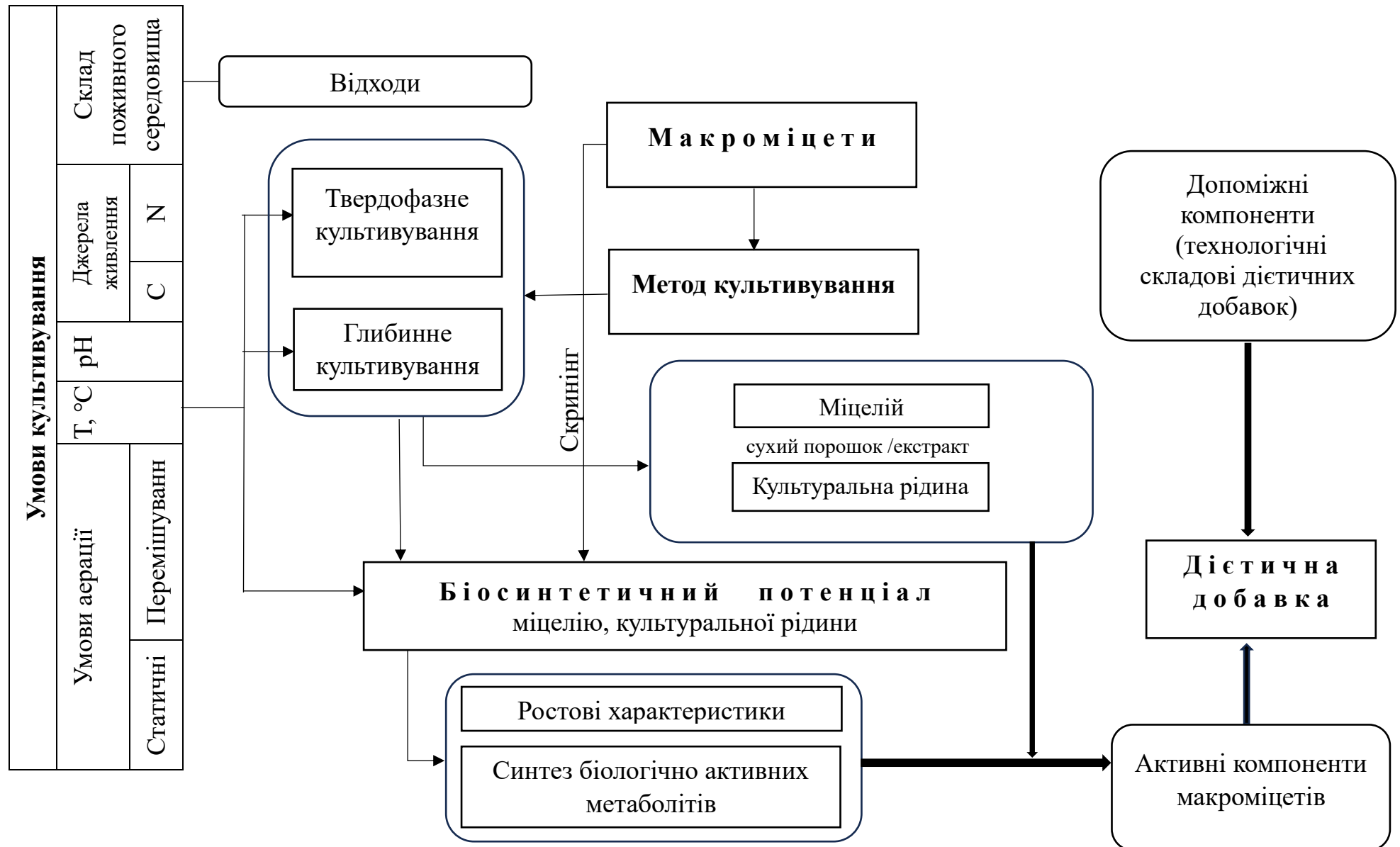


Рис. 9.1. Концептуальна схема розроблення дієтичної добавки на основі макроміцетів

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.

На основі проведених досліджень зроблено відповідні висновки:

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 ксилотрофних видів *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*, *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-пікрилгідразил (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 (≥ 17) досліджених відходів виявилася придатною для культивування ксилотрофів *Ganoderma applanatum*, *Hohenbuehelia tuxotricha*, *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 показниками 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 schevchenkovi*) 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 tuxotricha*, *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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андреев, В. А. (2024). Аналіз олійно-жирової галузі харчової промисловості України. *Економіка та суспільство*, 62, 123. <https://doi.org/10.32782/2524-0072/2024-62-123>
2. Антоненко, Л. О. (2013). *Біотехнологія отримання біомаси вищих базидіальних грибів роду Coriolus*. (Дис. канд. техн. наук). Національний університет харчових технологій, Київ.
3. Антоненко, Л. О. & Клечак, І. Р. (2011). Технологічні особливості глибинного культивування базидіальних грибів роду *Coriolus*. *Технології органічних та неорганічних речовин*, 6(54), 4–12.
4. Бухало, А. С., Дуган, О. М., Максимчук, М. П. & Ліновицька, В. М. (2011). Ензиматична активність базидіоміцета *Grifola frondose*. *Бюлетень Національного авіаційного Університету*, 2, 155–161.
5. Бухало, А. С., Дуган, О. М., Максимчук, М. П. & Ліновицька, В. М. (2012). Ензиматична активність базидіоміцета *Schizophyllum commune*. *Бюлетень Національного авіаційного Університету*, 3, 154–159.
6. Вринчану, Н. О. (2016). Кандидоз. Проблеми та перспективи антифунгальної терапії (частина I). *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 6(51), 3–11.
7. Гашинова, К. Ю., Колісник, Н. С., Дмитриченко, В. В., Каплан, П. Е., Кужевський, І. В., Гуртовой, В. А. & Мізіна, В. М. (2018). Інвазивний легеневий аспергільоз: сучасний стан проблеми та клінічний випадок. *Медичні перспективи*, 23(1, ч.1), С. 27–37. [https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1\(part 1\).127204](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1(part 1).127204)
8. Гопцій, Т. І., Лиманська, С. В. & Гудим, О. В. (2022). Перспективи вирощування амаранту як нішевої культури у східній частині Лівобережного лісостепу України. *Вісник Уманського національного університету садівництва*, 2, 11–17. <https://doi.org/10.32782/2310-0478-2022-2-11-17>
9. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». (2015). *Державна Фармакопея України: в 3 т.*

- (Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»).
10. Дзигун, Л. П. (2004). Особливості дереворуйнівного базидіомецета *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr.) Murrill в культурі. *Український ботанічний журнал*, 61(1), 100–105.
 11. Зайченко, Т., Круподьорова, Т., Барштейн, В. & Дехтяренко, Н. (2017). Антибактеріальні властивості деяких макроміцетів. *Наукові вісті Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут*, 3, 19–28.
 12. Заколесник, Н. В. (2006). Вплив регуляторів росту на процес утворення примордіїв *Pleurotus ostreatus*. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія*, 4(748), 134–138.
 13. Іванова, Т. С., Круподьорова, Т. А., Барштейн, В. Ю. & Мегалінська, Г. П. (2012). Скринінг лікарських грибів при культивуванні на відходах харчової промисловості України. *Науковий часопис НПУ імені М. П. Драгоманова. Серія 20. Біологія*, 4, 113–119.
 14. Коляденко, В. Г. & Короленко, В. В. (2008). Сучасні уявлення про терапію при оніхомікозах. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*, 2, 65–69.
 15. Костенко, Є. Є. & Бутенко, Г. М. (2019). Вивчення комплексоутворення Pb (II), Cd (II), Hg (II) з амінокислотами для прогнозування протекторних властивостей харчових продуктів. *Наукові праці НУХТ*, 44, 85–91.
 16. Круподьорова, Т. А. (2011). Ріст *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. та *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. штамів і синтез полісахаридів у глибинній культурі. *Біотехнологія*, 4(6), 60–67.
 17. Кузнєцова, О. В. (2011). Вплив стимуляторів росту на розвиток вегетативного міцелію *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. *Біотехнологія*, 4(3), 82–89.
 18. Ланиця, І. Ф. (2020). Дослідження високобілкової рослинної сировини – амаранту в контексті покращення товарознавчих властивостей посічених

- напівфабрикатів. *Вісник ЛТЕУ. Технічні науки*, 23, 216–220.
<https://doi.org/10.36477/2522-1221-2020-23-30>
19. Ліновицька, В. М. & Бухало, А. С. (2005). Культуральні та морфологічні особливості лікарського гриба *Schizophyllum commune* Fr. (Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах. *Український ботанічний журнал*, 62(1), 78–86.
20. Ломберг, М. Л. (2005). Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі [дис... канд. біол. наук: 03.00.21]. К.: Нац. акад. наук України, Ін-т ботаніки ім. М. Г. Холодного.
21. Ломберг, М. Л., Михайлова, О. Б. & Бісько, Н. А. (2015). Колекція культур шапинкових грибів (ІВК) як об'єкт національного надбання України. *Український ботанічний журнал*, 72(1), 22–28.
<http://dx.doi.org/10.15407/ukrbotj72.01.022>
22. Михайлова, О. Б. (2008). Біологія представників родини Morchellaceae (Sacc.) Eckbl. в культурі [дис... канд. біол. наук: 03.00.21]. К.: Нац. акад. наук України, Ін-т ботаніки ім. М. Г. Холодного.
23. Михайлова, О. Б., Ломберг, М. Л., & Krasinko, V. O. (2021). Біотехнологічні основи інтенсивного культивування лікарського базидієвого гриба *Fomitopsis betulina* (Fomitopsidaceae, Polyporales). *Наукові праці НУХТ*, 27(1), 32–41. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2021-27-1-5>
24. Овсієнко, С. М. (2022). Амарант та продукти його переробки в хлібопеченні. *Продовольчі ресурси*, 10(18), 109–120.
<https://doi.org/10.31073/foodresources2022-18-11>
25. Пасайлюк, М. В. (2017). Ксилотрофні агарикоміцети – антагоністи рідкісного гриба їжовика коралоподібного *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. (Hericiaceae) в чистій культурі. *Український журнал екології*, 7(3), 225–233.
https://dx.doi.org/10.15421/2017_72.Morin-Sardin
26. Поліщук, О. М. & Коваленко, О. Г. (2009). Біологічна активність глікополімерів базидіальних грибів. *Біополімери і клітина*, 25(3), 181–193.

27. Пономаренко, О. М., Самчук, А. І., Красюк, О. П., Макаренко, Т. І. & Антоненко, О. Г. (2008). Аналітичні схеми пробопідготовки гірських порід та мінералів і визначення в них мікроелементів методом мас-спектрометрії з індукційно зв'язаною плазмою (ISP-MS). *Мінералогічний журнал*, 4, 97–103.
28. Регеда Л. В., Бісько Н. А. & Гурінович Н. В. (2021). Антиоксидантна активність екстрактів міцелію та культуральної рідини лікарських макроміцетів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 19(4), 47–53. URL: <http://jnas.nbu.gov.ua/article/UJRN-0001302388>
29. Тітова, Л. О., Клечак, І. Р., Трохименко, О. П., Лазаренко, Л. М. & Дуган, О. М. (2015). Імуномодулювальні і противірусні властивості базидіального гриба *Trametes versicolor*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 17, 253–257.
30. Щербінська, А. М., Дяченко, Н. С. & Рибалко, С. Л. (2001). Вивчення антивірусної дії потенційних лікарських засобів. В кн. *Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації*, Київ, Україна: Видавничий дім «Авіцена», 371–395.
31. Abdel Aziz, N. H., Yousef, N. S., El-Haddad, M. E., & El-Tayeb, T. S. (2018). Influence of nutritional and climatic conditions on mycelial growth of three oyster mushroom strains. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 26(2A), 1165–1173. <https://doi.org/10.21608/ajs.2018.28368>
32. Abdelhalim, M., Brurberg, M. B., Hofgaard, I. S., Rognli, O. A., & Tronsmo, A. (2020). Pathogenicity, host specificity and genetic diversity in Norwegian isolates of *Microdochium nivale* and *Microdochium majus*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 156, 885–895. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01939-5>
33. Abdelshafy, A. M., Luo, Z., Belwal, T., Ban, Z., & Li, L. (2021). A comprehensive review on preservation of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*): Techniques, research advances and influence on quality traits. *Food Rev. Int.*, 39(5), 2742–2775. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1967381>

34. AbdulRaheem Y. (2023). Unveiling the significance and challenges of integrating prevention levels in healthcare practice. *Journal of primary care & community health, 14*, 21501319231186500. <https://doi.org/10.1177/21501319231186500>
35. Abo Nahas, H. H., Darwish, A. M. G., Abo Nahas, Y. H., Elsayed, M. A., Abdel-Azeem, A. M., & Abdel-Azeem, M. A. (2021). Fungi as a gold mine of antioxidants. Chapter 2. In: Abdel-Azeem, A. M., Yadav, A. N., Yadav, N., Usmani, Z. (eds.), *Industrially Important Fungi for Sustainable Development*. Springer Nature Switzerland AG, Cham. Pp. 73–113. http://doi.org/10.1007/978-3-030-85603-8_2
36. Adebayo-Tayo, B. C., Jonathan, S. G., Popoola, O. O., & Egbomuche, R. C. (2011). Optimization of growth conditions for mycelial yield and exopolysaccharride production by *Pleurotus ostreatus* cultivated in Nigeria. *African Journal of Microbiology Research, 5*(15), 2130–2138. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.328>
37. Aditya, J., Jarial, R. S., & Jarial, K. (2022). Evaluation of different grain substrates for spawn production and yield performance of blue oyster mushroom [*Hypsizygos ulmarius* (Bull.: Fr.) Red Head] through bio-conversion of agri/industrial wastes. *Indian Journal of Ecology, 49*(6), 2389–2394. <https://doi.org/10.55362/IJE/2022/3838>
38. Alam, N., Shim, M. J., Lee, M. W., Shin, P. G., Yoo, Y. B., & Lee, T. S. (2009). Vegetative growth and phylogenetic relationship of commercially cultivated strains of *Pleurotus eryngii* based on ITS sequence and RAPD. *Mycobiology, 37*(4), 258–266.
39. Alarcón Castillo, T., Pereira, J., Alves, J., & Francisca Simas Teixeira, M. (2017). Mycelial growth and antimicrobial activity of species of genus *Lentinus* (Agaricomycetes) from Brazil. *Int. J. Med. Mushrooms, 19*. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2017024708>
40. Alberti, F., Kaleem, S., & Weaver, J. A. (2020). Recent developments of tools for genome and metabolome studies in basidiomycete fungi and their application to

- natural product research. *Biology open*, 9(12), bio056010.
<https://doi.org/10.1242/bio.056010>
41. Alexopoulos, J. C., Mims, C. W. & Blackwell, M. (2000). *Intro Myco* (5th ed). Islamabad, Pakistan: National Book Foundation.
42. Alencar, U.D., & Clemente, E. (2013). Antifungal activity of residual medium and biomass of Basidiomycetes species cultivated in coconut water against *Candida albicans*. *International Journal of Biotechnology Research*, 1(2), 020–023.
43. Ali, N. A.A., Mothana, R. A. A., Lesnau, A., Pilgrim, H., & Lindequist, U. (2003). Antiviral activity of *Inonotus hispidus*. *Fitoterapia*, 74(5), 483–485.
[https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00119-9)
44. Alpana, P., Anjali, R., & Das, A. (1980). Production of amylase by *Polyporus ostreiformis*. *Mycologia*, 72(6), 1134–1141.
45. Alresly, Z., Lindequist, U., Lalk, M., Porzel, A., Arnold, N., & Wessjohann, L. A. (2016). Bioactive triterpenes from the fungus *Piptoporus betulinus*. *Rec. Nat. Prod.*, 10, 103–108.
46. Altaf, S. A., Umar, D. M., & Muhammad, M. S. (2010). Production of xylanase enzyme by *Pleurotus eryngii* and *Flammulina velutipes* grown on different carbon sources under submerged fermentation. *World Applied Science Journal*, 8, 47–49.
47. Altuner, E. M. & Akata I. (2010). Antimicrobial Activity Of Some Macrofungi Extracts. *Saü. Fen Bilimleri Dergisi.*, 14(1), 45–49.
48. Alvandi, H., Hatamian-Zarmi, A., Hosseinzadeh, B. E., & Mokhtari-Hosseini, Z. B. (2020). Optimization of production conditions for bioactive polysaccharides from *Fomes fomentarius* and investigation of antibacterial and antitumor activities. *Iranian J. Med. Microbiol.*, 14(6), 596–611.
<http://dx.doi.org/10.30699/ijmm.14.6.596>
49. Alves, M. J., Ferreira, I. C., Martins, A., & Pintado, M. (2012). Antimicrobial activity of wild mushroom extracts against clinical isolates resistant to different antibiotics. *Journal of applied microbiology*, 113(2), 466–475.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05347.x>

50. Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fifty years of drug discovery from fungi. *Fungal Diversity*, *50*, 3–19. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0116-y>
51. Amerikanou, C., Tagkouli, D., Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Karavoltsos, S., Sakellari, A., Kleftaki, S. A., Koutrotsios, G., Giannou, V., Zervakis, G. I., Zoumpoulakis, P., Kalogeropoulos, N., & Kaliora, A. C. (2023). *Pleurotus eryngii* chips: Chemical characterization and nutritional value of an innovative healthy snack. *Foods*, *12*(2), 353. <https://doi.org/10.3390/foods12020353>
52. Amoros, M., Boustie, J., Py, M.-L., Hervé, V., Robin, V., & Girre, L. (1997). Antiviral activity of homobasidiomycetes: evaluation of 121 basidiomycetes extracts on four viruses. *Int. J. Pharmacognosy*, *35*, 255–260.
53. Añazco, C., Riedelsberger, J., Vega-Montoto, L., & Rojas, A. (2023). Exploring the interplay between polyphenols and lysyl oxidase enzymes for maintaining extracellular matrix homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(13), 10985. <https://doi.org/10.3390/ijms241310985>
54. Andlauer, W., & Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Res. Int.*, *135*, 171–176. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00179-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00179-X)
55. André, P., & Villain, F. (2017). Free radical scavenging properties of mannitol and its role as a constituent of hyaluronic acid fillers: a literature review. *International Journal of Cosmetic Science*, *39*(4), 355–360. <http://doi.org/10.1111/ics.12386>
56. Angeli, P., & Scandurra, S. (2012). A rare member of the family Pleurotaceae collected at Palermo. *Hohenbuehelia myxotricha*. *Micologia e Vegetazione Mediterranea*, *27*(1), 3–11.
57. Angelini, P., Tirillini, B., Bistocchi, G., Arcangeli, A., Rubini, A., Pellegrino, R. M., Fabiani, R., Cruciani, G., Venanzoni, R., & Rosignoli, P. (2018). Overview of the biological activities of a methanol extract from wild red belt conk, *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes), fruiting bodies from Central Italy. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *20*(11), 1047–1063. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018028595>

58. Angelini, P., Flores, G. A., Cusumano, G., Venanzoni, R., Pellegrino, R. M., Zengin, G., Di Simone, S. C., Menghini, L., & Ferrante, C. (2023). Bioactivity and metabolomic profile of extracts derived from mycelial solid cultures of *Hypsizygus marmoreus*. *Microorganisms*, *11*(10), 2552. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102552>
59. Anike, F. N., Isikhuemhen, O. S., Blum, D., & Neda, H. (2015). Nutrient requirements and fermentation conditions for mycelia and crude exopolysaccharides production by *Lentinus squarrosulus*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, *6*(6), 526–536. <https://doi.org/10.4236/abb.2015.68055>
60. Ansari, M., & Darvishi, A. (2024). A review of the current state of natural biomaterials in wound healing applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*, 1309541. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1309541>
61. Ansari, E., Alvandi, H., Kianirad, S., Hatamian-Zarmi, A., & Mokhtari-Hosseini, Z. B. (2025). Research progress on production and biomedical applications of Schizophyllan as a tailor-made polysaccharide: A review. *Carbohydrate polymers*, *348*(Pt A), 122770. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122770>
62. AOAC INTERNATIONAL. (2023). *Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22nd ed.). Oxford University Press.
63. Asatiani, M. D., Elisashvili, V., Songulashvili, G., Reznick, A. Z., & Wasser, S. P. (2010). Higher basidiomycetes mushrooms as a source of antioxidants. In: Rai, M., & Kövics, G. (Eds.). *Progress in Mycology*. Dordrecht, Germany: Springer. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3713-8_11
64. Asemota U.K., Etim, V.A., Okereke, O.E., Abubakar, S., & Ogbadu, G.H. (2015). Mushroom biotechnology in Nigeria—implications for food security, Environment and Public Health, A Review. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, *2*(2), 96–108.
65. Atamanchuk, A. R., & Bisko, N. A. (2023). Dynamics of the phenolic constituents and antioxidant activity in submerged cultures of *Xylaria* species. *Biotechnologia Acta*, *16*(6), 82–87.

66. Atamanchuk, A., Bisko, N., & Al-Maali, G. (2024). Antagonistic activity of wood-inhabiting *Xylaria* species against other fungi in dual culture experiments. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 14(1), e9529. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9529>
67. Atila, F. (2017). Determining the effects of container types on yield and fruit body features of *Pleurotus eryngii* strains. *International Journal of Crop Science and Technology*, 3(1), 7–14.
68. Avinash, D. (2020). *Global skin and wound care market is expected to reach USD 25.98 billion by 2025: Fior Markets*. Los Angeles (CA): GlobeNewswire.
69. Awala, S.I., & Oyetayo, V.O. (2015). The phytochemical and antimicrobial properties of the extracts obtained from *Trametes elegans* collected from Osengere in Ibadan, Nigeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 8(4): 289–299.
70. Ayodele, S. M., & Idoko, E. (2011). Antimicrobial activities of four wild edible mushrooms in Nigeria. *Int. J. Sci. Nat.*, 2(1), 55–58.
71. Azeem, U., Hakeem, K.R. & Ali, M. (2020). *Fungi for Human Health, Current Knowledge and Further Perspectives*. Cham, Switzerland: Springer Nature.
72. Bach, F., Zielinski, A. A. F., Helm, C. V., Maciel, G. M. M., Pedro, A. C., Stafussa, A. P., Ávila, S., & Haminiuk, C. W. I. (2019). Bio compounds of edible mushrooms: in vitro antioxidant and antimicrobial activities. *LWT*, 107, 214–220. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.017>
73. Badalyan, S. M., Innocenti, G., & Garibyan, N. G. (2002). Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathol. Mediterr.*, 41, 220–225.
74. Badalyan, S. M. (2004). Antiprotozoal activity and mitogenic effect of mycelium of culinary-medicinal Shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Agaricomycetidae). *Int. J. Med. Mush.*, 6, 131–138.
75. Badalyan, S. M., Innocenti, G., & Garibyan, N. G. (2004). Interactions between xylotrophic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathol. Mediterranea*, 43(3), 44–48.

76. Badalyan, S. M., Isikhuemhen O. S., & Garibyan, N. G. (2008). Antagonistic/antifungal activities of medicinal mushroom *Pleurotus tuberregium* (Fr.) Singer (Agaricomycetidae) against selected filamentous fungi. *Int. J. Med. Mushrooms*, 10(2), 155–162. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v10.i2.60>
77. Badalyan, S. M., Gharibyan, N. G., Iotti, M., & Zambonelli, A. (2019). Morphological and ecological screening of different collections of medicinal white-rot bracket fungus *Ganoderma adpersum* (Schulzer) Donk (Agaricomycetes, Polyporales). *Ital. J. Mycol.*, 48, 1–15. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/9092>
78. Badalyan, S., Gharibyan, N., Gianchino, C., Iotti, M., & Zambonelli, A. (2023). Morphological observation and biomass formation in different edible medicinal *Morchella* collections (Pezizomycetes, Ascomycota). *Ital. J. Mycol.*, 52(1), 50–61. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/16112>
79. Bader, J., Mast-Gerlach, E., Popović, M. K., Bajpai, R., & Stahl, U. (2010). Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. *J. Appl. Microbiol.*, 109, 371–387. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04659.x>
80. Bai, J., Jia, X., Chen, Y., Ning, Z., Liu, S., & Xu, C. (2020). Effect of carbon source on properties and bioactivities of exopolysaccharide produced by *Trametes ochracea* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 22(3), 289–297. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020033984>
81. Bailey, A. M., Alberti, F., Kilaru, S., Bailey, A. M., Alberti, F., Kilaru, S., Collins, C. M., de Mattos-Shiple, K., Hartley, A. J., Hayes, P., Griffin, A., Lazarus, C. M., Cox, R. J., Willis, C. L., O'Dwyer, K., Spence, D. W., & Foster, G. D. (2016). Identification and manipulation of the pleuromutilin gene cluster from *Clitopilus passeckerianus* for increased rapid antibiotic production. *Sci Rep*, 6, 25202. <https://doi.org/10.1038>
82. Bakratsas, G., Polydera, A., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2021). Recent trends in submerged cultivation of mushrooms and their application as a source of nutraceuticals and food additives. *Future Foods*, 4, 100086.

83. Bakratsas, G., Polydera, A., Nilson, O., Chatzikonstantinou, A. V., Xiros, C., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2023). Mycoprotein production by submerged fermentation of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* in a batch stirred tank bioreactor using agro-industrial hydrolysate. *Foods*, *12*(12), 2295. <https://doi.org/10.3390/foods12122295>
84. Bakratsas, G., Tsoumanis, C., Stamatis, H., & Katapodis, P. (2024). Exopolysaccharide Production in Submerged Fermentation of *Pleurotus ostreatus* under Red and Green Light. *Fermentation*, *10*(6), 313. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060313>
85. Bala, N., Aitken, E. A. B., Fechner, N., Cusack, A., & Steadman, J. (2011). Evaluation of antibacterial activity of Australian basidiomycetous macrofungi using a high-throughput 96-well plate assay. *Pharmaceutical Biology*, *49*(3), 1–9. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.526616>
86. Balan, N., Agarwal, S., Devasagayam, T., & Janardhanan, K. (2010). Evaluation of free radical scavenging activity of morel mushroom, *Morchella esculenta* mycelia: A potential source of therapeutically useful antioxidants. *Pharm. Biol.*, *48*(4), 453–460. <https://doi:10.3109/13880200903170789>
87. Balaraju, K., Kyungseok, P., Shamarao, J., & Kaviyarasan, V. (2010). Production of cellulase and laccase enzymes by *Oudemansiella radicata* using agro wastes under solid-state and submerged conditions. *Research in Biotechnology*, *1*, 21–28.
88. Baldrian, P. (2004). Purification and characterization of laccase from the white rot fungus *Daedalea quercina* and decolorization of synthetic dyes by the enzyme. *Applied in Microbiology and Biotechnology*, *63*, 560–563.
89. Bancercz, R., & Ginalska, G. (2007). A novel thermostable lipase from Basidiomycete *Bjerkandera adusta* R 95: characterization and esterification studies. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *34*(8), 553–560.
90. Barakat, O. S., & Sadik, M. W. (2014). Mycelial growth and bioactive substance production of *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *3*(4), 1073–1085.
91. Barbul, A. (1990). Arginine and immune function. *Nutrition*, *6*, 53–58.

92. Barseghyan, G. S., Holliday, J. C., Price, T. C., Madison, L. M., & Wasser, S. P. (2011). Growth and cultural-morphological characteristics of vegetative mycelia of medicinal caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* G.H. Sung et al. (Ascomycetes) isolates from Tibetan plateau (P.R.China). *Int. J. Med. Mushrooms*, *13*(6), 565–581. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v13.i6.90>
93. Barros, L., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2007). Bioactive properties of the medicinal mushroom *Leucopaxillus giganteus* mycelium obtained in the presence of different nitrogen sources. *Food Chemistry*, *105*(1), 179–186.
94. Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., & Baptista, P. (2008). Phenolics and antioxidant activity of mushroom *Leucopaxillus giganteus* mycelium at different carbon sources. *Food Science and Technology International*, *14*(1), 47–55. <https://doi.org/10.1177/1082013208090094>
95. 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>
96. Barua, R. C., Coniglio, R. O., Molina, M. A., Díaz, G. V., & Fonseca, M. I. (2024). Fungi as biotechnological allies: exploring Contributions of Edible and Medicinal Mushrooms. *Journal of Food Science*, *89*, 6888–6915. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17390>
97. Beltrame, G., Hemming, J., Yang, H., Han, Z., & Yang, B. (2021). Effects of supplementation of sea buckthorn press cake on mycelium growth and polysaccharides of *Inonotus obliquus* in submerged cultivation. *Journal of Applied Microbiology*, *131*(3), 1318–1330. <https://doi.org/10.1111/jam.15028>
98. Belsare, M.H., Ranadive, K., Bapat, G., Garad, S., Deokule, S.S., & Vidya, J. (2013). Screening of mushroom *Phellinus switeniae* (Murr.) S. Herrera and Bondart against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* Bouvet & Grimont. *Alixir. Appl. Botany*, *54*:12398–12399.

99. Bennett, G., Abbott, J., & Sussman, G. (2024). The negative impact of medications on wound healing. *Wound Practice and Research*, 32(1), 17–24. <https://doi.org/10.33235/wpr.32.1.17-24>
100. Berger, R. G., & Ersoy, F. (2022). Improved Foods Using Enzymes from Basidiomycetes. *Processes*, 10(4), 726. <https://doi.org/10.3390/pr10040726>
101. Berikashvili, V., Khardziani, T., Kobakhidze, A., Kulp, M., Kuhtinskaja, M., Lukk, T., Gargano, M. L., Venturella, G., Kachlishvili, E., Metreveli, E., Elisashvili, V. I., & Asatiani, M. (2023). Antifungal Activity of Medicinal Mushrooms and Optimization of Submerged Culture Conditions for *Schizophyllum commune* (Agaricomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms.*, 25(10), 1–21. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2023049836>
102. Berovic, M., Boh, B., & Gregori, A. (2024) Medicinal Mushroom Biotechnology *Anatomy Physiol. Biochem. Int. J.*, 7(4): APBIJ.MS.ID.555719
103. Beulah, G. H., Margret, A. A., & Nelson, J. (2013). Marvelous medicinal mushrooms. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.*, 3(1), 611–615.
104. Bhambri, A., Srivastava, M., Mahale, V. G., Mahale, S., & Karn, S. K. (2022). Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Front. Microbiol.* 13, 837266. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266>
105. Bi, F., Barad, S., Ment, D., Luria, N., Dubey, A., Casado, V., Glam, N., Mínguez, J. D., Espeso, E. A., Fluhr, R., & Prusky, D. (2016). Carbon regulation of environmental pH by secreted small molecules that modulate pathogenicity in phytopathogenic fungi. *Molecular Plant Pathology*, 17(8), 1178–1195. <https://doi.org/10.1111/mpp.12355>
106. Bijeesh, C., Manoj, K., Radeep, C. K., & Rinda, K. (2019). A new species of *Hohenbuehelia* (Pleurotaceae) from India. *Phytotaxa*, 420(1), 56–64. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.420.1.3>
107. Bishop, K. S. (2020). Characterisation of extracts and anti-cancer activities of *Fomitopsis pinicola*. *Nutrients*, 12(3), 609. <https://doi.org/10.3390/nu12030609>

108. Bisko, N., Lomberg, M., Mykhaylova, O., & Mytropolska, N. (2024). IBK Mushroom Culture Collection [Internet]. Version 1.8. Copenhagen (Denmark): GBIF Norway; [cited 2024 Apr 29]. <https://doi.org/10.15468/dzdsqul>
109. Bisko, N., Mustafin, K., Al-Maali, G., Suleimenova, Z., Lomberg, M., Narmuratova, Z., Mykchaylova, O., Mytropolska, N., & Zhakipbekova, A. (2020). Effects of cultivation parameters on intracellular polysaccharide production in submerged culture of the edible medicinal mushroom *Lentinula edodes*. *Czech Mycol.*, 72(1), 1–17. <https://doi.org/10.33585/cmy.72101>
110. Bitew, A., & Abate, D. (1994). Antifungal metabolites from submerged culture of *Ganoderma lucidum* (polypore). *Ethiopian Journal of Health Development*, 8(1), 63–70.
111. Boa, E. (2004). Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. In: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Food & Agriculture Organization.
112. Borchers, A. T., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2004). Mushrooms, tumors, and immunity: an update. *Experimental and Biological Medicine*, 229, 393–406.
113. Borges, G. M., De Barba, F. F., Schiebelbein, A. P., Pereira, B. P., Chaves, M.B., Silveira, M. L., Pinho, M. S., Furlan, S. A., & Wisbeck, E. (2014). Extracellular polysaccharide production by a strain of *Pleurotus djamor* isolated in the south of Brazil and antitumor activity on Sarcoma 180. *Braz. J. Microbiol.*, 44(4), 1059–1065. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000019>
114. Börühan Çetin, M., Ceylan, G., Canturk, Z., Öztürk, N., Babayiğit, M., Yüzüak, S., & Yamac, M. (2021). Screening of antioxidant activity of mycelia and culture liquids of fungi from Turkey. *Microbiology*, 90(2), 133–143. <https://doi.org/10.1134/S0026261721010033>
115. Brandt, C. R., & Piraino, F. (2000). Mushroom antivirals. *Recent Research Developments in Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 4, 11–26.
116. Bruce, A., & Highley, T. L. (1991). Control of growth of wood decay Basidiomycetes by *Trichoderma* spp. and other potentially antagonistic fungi. *Forest Prod. J.*, 41(2), 63–67.

117. Bulam, S., Üstün, N. Ş., & Pekşen, A. (2022). Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) as a healthy ingredient for sustainable functional food production. *Mantar Dergisi*, *13*, 131–143.
118. Büchs, J. (2001). Introduction to advantages and problems of shaken cultures. *Biochemical Engineering Journal*, *7*(2), 91–98. [https://doi.org/10.1016/s1369-703x\(00\)00106-6](https://doi.org/10.1016/s1369-703x(00)00106-6)
119. Cabello, G.C., Nihoul, A., & Demoulin, V. (2004). Correlation between the in vitro growth response to temperature and the habitat of some lignicolous fungi from a Papua New Guinea coastal forests. *Cryptogamie Mycologie*, *25*, 57–81.
120. Campestrini, L. H. & Salles-Campos, C. (2021). Aspect of mushroom cultivation to obtain polysaccharides in submerged cultivation. *African Journal of Biotechnology*, *20*(2), 100–107, <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17265>
121. Cao, X.Y., Liu, J.L., Yang, W., Hou, X., & Li, Q.J. (2015). Antitumor activity of polysaccharide extracted from *Pleurotus ostreatus* mycelia against gastric cancer in vitro and in vivo. *Mol. Med. Rep*, *12*, 2383–2389.
122. Cardoso, F. T. G. S., Camelini, C. M., Mascarello, A., Rossi, M. J., Nunes, R. J., Barardi, C. R. M., Mendonza, M. M., & Simxes, C. M. (2011). Antiherpetic activity of a sulfated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* mycelia. *Antivir. Res.*, *92*, 108–114.
123. Cervantes-Chávez, J. A., Ortiz-Castellanos, L., Tejeda-Sartorius, M., Gold, S., & Ruiz-Herrera, J. (2010). Functional analysis of the pH responsive pathway Pal/Rim in the phytopathogenic basidiomycete *Ustilago maydis*. *Fungal genetics and biology : FG & B*, *47*(5), 446–457. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.02.004>
124. Chang, S.T.; Lau, O.W. & Cho, K.Y. (1981). The cultivation and nutritive value of *Pleurotus sojar-caju*. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, *12*, 58–62.
125. Chang, S. T. & Wasser, S.P. (2012) The Role of Culinary-Medicinal Mushrooms on Human Welfare with a Pyramid Model for Human Health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *14*, 95–134. <http://dx.doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i2.10>

126. Chang, S., & Wasser, S. (2017). The Cultivation and Environmental Impact of Mushrooms. Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science.
127. Chang, Y., Zhang, M., Jiang, Y., Liu, Y., Luo, H., Hao, C., Zeng, P., & Zhang, L. (2017). Preclinical and clinical studies of *Coriolus versicolor* polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China. *Discov. Med.*, 23(127), 207–219.
128. Chaturvedi, V. K., Agarwal, S., Gupta, K. K., Ramteke, P. W., & Singh, M. P. (2018). Medicinal mushroom: boon for therapeutic applications. *3 Biotech*, 8(8), 334. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1358-0>
129. Chaudhary, R., Tripathi, A. (2016). Interactions between mushrooms and fungi in dual-culture experiments. *Int. J. Adv. Res.*, 4(6), 483–493. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/679>
130. Chechan, R. A., Mohyaddin, M. O., Abdul-Qader, Z. M., & Amar, M. M. (2017). Preparation of new national media for cultivation and effect of some environmental factors on growth rate of oyster mushroom. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 48(5), 1304–1315.
131. Chelela, B., Chacha, M., & Matemu, A. (2014). Antibacterial and antifungal activities of selected wild mushrooms from Southern Highlands of Tanzania. *American Journal of Research Communication*, 2, 58–68.
132. Chen, J. T., & Huang, J.W. (2010). Antimicrobial activity of edible mushroom culture filtrates on plant pathogens. *Plant. Pathol. Bull.*, 19, 261–270.
133. Chen, W., Xiem T., Shaom, Y., & Chenm, F. (2012). Phylogenomic relationships between amyolytic enzymes from 85 strains of fungi. *Plos One*, 7, e49679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049679>
134. Chen, Y., Zhang, X. Y., Xiao, G. N., & Yang, H. L. (2017). Efficient production of exopolysaccharide by submerged fermentation of *Hypsizygus marmoreus* using a two-stage pH control strategy. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 31(4), 519–526. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2016.930>
135. Chen, W., Zhao, Z., & Chen, S., Li, Y. (2008). Optimization for the production of exopolysaccharide from *Fomes fomentarius* in submerged culture and its

- antitumor effect in vitro. *Bioresour. Technol.*, 99(8), 3187–3194. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.049>
136. Chen, W., Zhao, Z., & Li, Y. (2011). Simultaneous increase of mycelial biomass and intracellular polysaccharide from *Fomes fomentarius* and its biological function of gastric cancer intervention. *Carbohydr. Polym.*, 85(2), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.035>
137. Cheng, P. G., Phan, C. W., Sabaratnam, V., Abdullah, N., Abdulla, M. A., & Kuppusamy, U. R. (2013). Polysaccharides-rich extract of *Ganoderma lucidum* (M.A. Curtis:Fr.) P. Karst accelerates wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 671252. <https://doi.org/10.1155/2013/671252>
138. Cheung, P. C. K. (2008). *Mushrooms as functional food*. Hoboken, NJ, USA: Wiley.
139. Cheung, L., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem*, 81, 249–255.
140. Choi, U. K., Lee, O. H., & Kim, Y. C. (2011). Effect of calcinated oyster shell powder on growth, yield, spawn run, and primordial formation of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Molecules*, 16(3), 2313–2322. <https://doi.org/10.3390/molecules16032313>
141. Choi, D., Maeng, J. M., Ding, J. L., & Cha, W. S. (2007a). Exopolysaccharide production and mycelial growth in an air-lift bioreactor using *Fomitopsis pinicola*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(8), 1369–1378.
142. Choi, D., Park, S. S., Ding, J. L., & Cha, W. S. (2007b). Effects of *Fomitopsis pinicola* extracts on antioxidant and antitumor activities. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12(5), 516–524. <https://doi.org/10.1007/BF02931349>
143. Chomcheon, P., Kheawkum, B., Sriwiset, P., Dulsamphan, S., & Dulsamphan, C. (2013). Antibacterial activity of crude extracts from edible mushrooms *Pleurotus citrinopileatus* and *Tricholoma crassum* Berk. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(1), 107–111.

144. Choudhary, S. (2020). Characterization and applications of mushroom exopolysaccharides. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. (pp. 171–181). Amsterdam, Netherlands: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.121978>
145. Chu, K. K., Ho, S. S., & Chow, A. H. (2002). *Coriolus versicolor*: a medicinal mushroom with promising immunotherapeutic values. *J. Clin. Pharmacol.*, *42*(9), 976–984.
146. Chun, S., Gopal, J., & Muthu, M. (2021). Antioxidant activity of mushroom extracts/ polysaccharides—their antiviral properties and plausible antiCOVID-19 properties. *Antioxidants*, *10*, 1899. <https://doi.org/10.3390/antiox10121899>
147. Claus-Desbonnet, H., Nikly, E., Nalbantova, V., Karcheva-Bahchevanska, D., Ivanova, S., Pierre, G., Benbassat, N., Katsarov, P., Michaud, P., Lukova, P., & Delattre, C. (2022). Polysaccharides and their derivatives as potential antiviral molecules. *Viruses*, *14*(2), 426. <https://doi.org/10.3390/v14020426>
148. Clericuzio, M., Novello, G., Bivona, M., Gamalero, E., Bona, E., Caramaschi, A., Massa, N., Asteggiano, A., & Medana, C. (2024). A Study of metabolites from basidiomycota and their activities against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, *13*(4), 326. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040326>
149. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Approved standard* (8th ed., M11-A8).
150. Córdoba, K. A., Ketty, A., & Ríos, A. H., (2012). Biotechnological applications and potential uses of the mushroom *Trametes versicolor*. *Vitae*, *19*, 70–76. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.10827>
151. Corey, L., Whitley, R. J., Stone, E. F., Whitley, R. J., & Mohan, K. (1988). Difference between herpes simplex virus type 1 and type 2 neonatal encephalitis in neurological outcome. *Lancet*, *331*, 1–4.
152. Cui, T., & Chisti, Y. (2003). Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. *Biotechnology Advances*, *21*, 109–122. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00002-8](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00002-8)

153. Cynober, L. A. (2004). *Metabolic and therapeutic aspects of aminoacids in clinical nutrition. 2nd ed.* Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
154. Darsih, C., Indrianingsih, A., Apriyana, W., Nur Hayati, S., Rosyida, V., Nisa, K., Ratih, D., & Indirayati, N. (2019). Antioxidant activity of methanol extracts from *Ganoderma lucidum* Karst. mycelia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 251, 012015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/251/1/012015>
155. Dávila Giraldo, L. R., Pérez Jaramillo, C. C., Méndez Arteaga, J. J., & Murillo-Arango, W. (2023). Nutritional value and antioxidant, anti-microbial and cytotoxic activity of wild macrofungi. *Microorganisms*, 11(5), 1158. <http://doi.org/10.3390/microorganisms11051158>
156. Davis, B. C., & Kris-Etherton, P. M. (2003). Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78, 640–646.
157. Dawood, F. S., Iuliano, A. D., Reed, C., Meltzer, M. I., Shay, D. K., Cheng, P.-Y., Bandaranayake, D., Breiman, R. F., Brooks, W. A., Buchy, P., Feikin, D. R., Fowler, K. B., Gordon, A., Hien, N. T., Horby, P., Huang, Q. S., Katz, M. A., Krishnan, A., Lal, R., Montgomery, J. M., Mølbak, K., Pebody, R., Presanis, A. M., Razuri, H., Steens, A., Tinoco, Y. O., Wallinga, J., Yu, H., Vong, S., Bresee, J., & Widdowson, M.-A. (2012). Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.*, 12, 687–695.
158. de Carvalho, M. P., Van Der Sand, S. T., Ribeiro Rosa, E. A., Germani, J. C., & Ishikawa, N. K. (2007). Investigation of the antibacterial activity of basidiomycetes *Lentinula boryana* and *Lentinula edodes*. *Biociências*, 5, 173–179.
159. de Oliveira, C. F., Moura, P. F., Rech, K. S., da Silva Paula de Oliveira, C., Konopatzki Hirota, B. C., de Oliveira, M., da Silva, C. B., de Souza, A. M., de Fátima Gaspari Dias, J., Miguel, O. G., Auer, C. G., & Miguel, M. D. (2019). Antagonistic activity of *Diplodia pinea* against phytopathogenic fungi. *Folia Microbiol.*, 64(3), 415-419. <https://dx.doi.org/10.1007/s12223-018-00667-y>

160. de Silva, A. G. D., Rapior, S., Sudarman, E., Stadler, M., Xu, J., Alias, S., & Hyde, K. (2013). Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities, and chemistry. *Fungal Diversity*, 62, 1–40. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0265-2>
161. Dellaporta, S. (1994). Plant DNA Miniprep and Microprep: Versions 2.1–2.3. In: Freeling, M., Walbot, V. (eds) *The Maize Handbook*. Springer Lab Manuals. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2694-9_84
162. Demir, M. S., & Yamaç, M. (2008). Antimicrobial Activities of Basidiocarp, Submerged Mycelium and Exopolysaccharide of Some Native Basidiomycetes Strains. *Journal of Applied Biological Sciences*, 2 (3), 89–93.
163. Deng, Y., Huang, Q., Hu, L., Liu, T., Zheng, B., Lu, D., Guo, C., & Zhou, L. (2021). Enhanced exopolysaccharide yield and antioxidant activities of *Schizophyllum commune* fermented products by the addition of *Radix Puerariae*. *RSC Adv.*, 11(60), 38219–38234. <https://doi.org/10.1039/d1ra06314f>
164. Deshmukh, N., & Lakshmi, B. (2023). Antioxidant potential of *Cordyceps militaris* mycelium: a comparative analysis of methanol and aqueous extracts. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 20(4), 1487–1499. <https://dx.doi.org/10.13005/bbra/3194>
165. Devi, K. S., Roy, B., Patra, P., Sahoo, B., Islam, S.S., & Maiti, T. K. (2013). Characterization and lectin microarray of an immunomodulatory heteroglucan from *Pleurotus ostreatus* mycelia. *Carbohydr. Polym.*, 94, 857–865.
166. Diamantopoulou, P. A., Papanikolaou, S., Komaitis, M., Aggelis, G., & Philippoussis, A. N. (2014). Patterns of major metabolites biosynthesis by different mushroom fungi grown on glucose-based submerged cultures. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 37, 1385–1400. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1112-2>
167. Di Piazza, S., Donnini, D., Iotti, M., Leonardi, M., Zambonelli, A., & Zotti, M. (2025). Chapter 1. Biodiversity and preservation issues of the genus *Tuber* in the Mediterranean basin. In: Pullaiah, T., Galli, L., (Eds.). *Biodiversity Hotspot of the*

- Mediterranean Basin*. Waretown, NJ, USA: Apple Academic Press, Co-Published with CRC Press. (in production).
168. Ding, J., Chen, B. & Zhu, L. (2013). Biosorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium* in aqueous solution. *Chin. Sci. Bull.*, 58, 613–621. <https://doi.org/10.1007/s11434-012-5411-9>
169. Djaoudene, O., Romano, A., Bradai, Y. D., Zebiri, F., Ouchene, A., Yousfi, Y., Amrane-Abider, M., Sahraoui-Remini, Y., & Madani, K. (2023). a global overview of dietary supplements: regulation, market trends, usage during the COVID-19 pandemic, and health effects. *Nutrients*, 15(15), 3320. <https://doi.org/10.3390/nu15153320>
170. Dong, C. H., & Yao, Y. J. (2008). *In vitro* evaluation of antioxidant activities of aqueous extracts from natural and cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 41(4), 669–677. <https://doi:10.1016/j.lwt.2007.05.002>
171. dos Santos, T. L. (2019). Physiological, biochemical and molecular characterization of the brown film of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler and its interaction with *Trichoderma* sp. 73 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.
172. Dresch, P., D’aguanno, M. N., Rosam, K., Grienke, U., Rollinger, J. M., & Peintner, U. (2015). Fungal strain matters: Colony growth and bioactivity of the European medicinal polypores *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, and *Piptoporus betulinus*. *AMB Express*, 5(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0093-0>
173. Du, P., Cao, T. X., Zhang, L. L., Huang, Y. Q., & Chen, J. Z. (2020). Cultivation and medicinal value of the red belt conk mushroom *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 22(10), 1021–1031. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020035811>
174. Dulay, R. M. R., Vicente, J. J. A., Dela Cruz, A. G., Gagarin, J. M., Fernando, W., Kalaw, S. P., & Reyes, R. G. (2016). Antioxidant activity and total phenolic content of *Volvariella volvacea* and *Schizophyllum commune* mycelia cultured in

- indigenous liquid media. *Mycosphere*, 7(2), 131–138.
<https://doi.org/10.5943/mycosphere/7/2/4>
175. Duru, E. M., & Cayan, T. G. (2015). Biologically active terpenoids from mushroom origin: a review. *Rec. Nat. Prod.*, 9(4), 456–483.
176. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
177. Dudekula, U. T., Doriya, K., & Devarai, S. K. (2020). A critical review on submerged production of mushroom and their bioactive metabolites. *3 Biotech*, 10(8), 337. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02333-y>
178. Dwivedi, H. B., Singh, S. P., Chauhan, U. K., & Tiwari, M. K. (2017). Biodiversity studies on macro fungi with special reference to order agaricales: Indian scenario. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, 5(6), 420–423. <http://dx.doi.org/10.15406/jbmoa.2017.05.00159>
179. Dwyer, J. T., Coates, P. M., & Smith, M. J. (2018). Dietary supplements: regulatory challenges and research resources. *Nutrients*, 10(1), 41. <https://doi.org/10.3390/nu10010041>
180. Dzhagan, V., Krupodorova, T., Atamanchuk, A., Lytvynenko, Y., & Dzhagan, V. (2023). Growth and morphological characteristics of some pyrophilous discomycetes in culture. *Biosyst. Divers.*, 31(3), 282–289. <https://doi.org/10.15421/01233242>
181. El-Gendi, H., Saleh, A. K., Badierah, R., Redwan, E. M., El-Maradny, Y. A., & El-Fakharany, E. M. (2022). A Comprehensive insight into fungal enzymes: structure, classification, and their role in mankind's challenges. *J. Fungi*, 8, 23. <https://doi.org/10.3390/jof8010023>
182. El Enshasy, H. A. (2022). Fungal morphology: A challenge in bioprocess engineering industries for product development. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 35, 100729. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2021.100729>
183. El-Enshasy, H., Daba, A., El-Demellawy, M., Ibrahim, A., Sayed, S. E., & Badry I. E. (2010). Bioprocess development for large scale production of anticancer exo-

- polysaccharide by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J. Appl. Sci.*, 10, 2523–2529. <https://doi.org/10.3923/jas.2010.2523.2529>
184. El-Rahman, T. M. A. A., Sayed, S. M., Saleh, A. M., Alaa, A. M., Ali, A. F., Waly, F. R., & Hussein, L. M. (2016). Combination antimicrobial efficacy between the mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and some commercial antibiotics. *International Journal of Advanced Research (IJAR)*, 7(5), 56–72.
185. Elisashvili, V. (2012). Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (review). *Int. J. Med. Mushrooms*, 14(3), 211–239. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i3.10>
186. Elisashvili, V., Kachlishili, E., & Penninckx, M. J. (2008). Effect of growth substrate, method of fermentation, and nitrogen source on lignocellulose degrading enzymes production by white-rot Basidiomycetes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(11), 1531–1538. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0454-2>
187. Elisashvili, V., Kachlishili, E., Tsiklauri, N., Metreveli, E., Khardziani, T., & Agathos, S. N. (2009). Lignocellulose-degrading enzyme production by white-rot Basidiomycetes isolated from the forests of Georgia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 331–339. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9897-x>
188. Elisashvili, V., Tan, K.-K., Chichua, D., & Karchlishvili, E. (2004). Extracellular polysaccharide production by culinary-medicinal Shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Singer and *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. species depending on carbon and nitrogen source. *Int. J. Med. Mushrooms*, 6(2), 165–172. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v6.i2.70>
189. Elsayed, M. A., Hassan, M. M., Elshafei, A. M., Haroun, B. M., & Othman, A.M. (2012). Optimization of cultural and nutritional parameters for the production of laccase by *Pleurotus ostreatus* ARC280. *British Biotechnology Journal*, 2(3), 115–132. <https://doi.org/10.9734/BBJ/2012/1305>

190. Emoghene, A. O., & Onwudinjo, C. J. (2011). Antimicrobial activity of the crude polysaccharide extracts of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq Fr.) Kumm before and after boiling. *Nig. J. Sci. Env.*, *10*(3), 53–57.
191. Engler, M., Anke, T., & Sterner, O. (1998). Production of antibiotics by *Collybia nivalis*, *Omphalotus olearius*, a *Favolaschia* and a *Pterula* species on natural substrates. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.*, *53*(5-6), 318–324. <https://doi.org/10.1515/znc-1998-5-604>
192. Eo, S.-K., Kim, Y.-S., Lee, C.-K., & Han, S.-S. (1999). Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. *J. Ethnopharmacol.*, *68*, 129–136.
193. Erden, E., Ucar, M. C., Gezer, T., & Pazarlioglu, N. K. (2009). Screening for ligninolytic enzymes from autochthonous fungi and applications for decolorization of remazole marine blue. *Brazilian Journal of Microbiology*, *40*, 346–353. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220090002000026>
194. Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Bioch.*, *37*(4), 277–285.
195. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.*, *38*(12), 1103–1111.
196. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2015). *Breakpoint tables for bacteria: Interpretation of MICs and zone diameters* (Version 5.0).
197. Evans, J. D. (1996). *Straightforward Statistics for the Behavioral Sciences*. Brooks/Cole Pub. Co., Pacific Grove.
198. Ezeronye, O. D., Okwujiako, D. A. S., & Onumajury, I. C. (2005). Antibacterial effect of grude polysaccharide extracts from sclerotium and fruitbody (sporohpore) of *Pleurotus tuber-regium* (Fried) Singer on some clinical isolates. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.*, *1*(3), 202–205.
199. Falade, O. E., Oyetayo, V.O., & Awala, S.I. (2017). Evaluation of the mycochemical composition and antimicrobial potency of wild macrofungus,

- Rigidoporus microporus* (Sw). *J. Phytopharmacol.*, 6(2), 115–125.
<https://doi.org/10.31254/phyto.2017.6209>
200. Fan, L., Peng, M., Zhou, X., Wu, H., Hu, J., Xie, W., & Liu, S. (2014). Modification of carboxymethyl cellulose grafted with collagen peptide and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 112, 32–38.
<http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.056>
201. Fang, Q., & Zhong, J. J. (2002). Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 37, 769–774. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00278-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00278-3)
202. Fasidi, I. O., & Olorunmaiye, K. S. (1994). Studies on the requirements for vegetative growth of *Pleurotus tuberregium* (Fr) Sing., a Nigerian mushroom. *Food Chemistry*, 50(4), 397–401.
203. Fazenda, M. L., Seviour, R., McNeil, B., & Harvey, L. M. (2008). Submerged culture fermentation of "higher fungi": the macrofungi. *Adv. Appl. Microbiol.*, 63, 33-103. [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164\(07\)00002-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164(07)00002-0)
204. Fedeli, R., Mazza, I., Perini, C., Salerni, E., & Loppi, S. (2024). New frontiers in the cultivation of edible fungi: the application of biostimulants enhances the nutritional characteristics of *Pleurotus eryngii* (DC.) Qué. *Agriculture*, 14(7), 1012. <https://doi.org/10.3390/agriculture14071012>
205. Feng, Y. L., Li, W. Q., Wu, X. Q., Cheng, J. W., & Ma, S. Y. (2010). Statistical optimization of media for mycelial growth and exo-polysaccharide production by *Lentinus edodes* and a kinetic model study of two growth morphologies. *Biochemical Engineering Journal*, 49(2), 104–112.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.12.002>
206. Finimundy, T. C., Dillon, A. J. P., Henriques, J. A. P., & Ely, M. R. (2014). A review on general nutritional compounds and pharmacological properties of the *Lentinula edodes* mushroom. *Food and Nutrition Sciences*, 5(12), 1095–1105.
<https://doi.org/10.4236/fns.2014.512119>

207. Fisher, M., & Yang, L. X. (2002). Anticancer effects and mechanisms of polysaccharide-K (PSK): Implications of cancer immunotherapy. *Anticancer Research*, *22*, 1737–1754.
208. Flores, G. A., Cusumano, G., Venanzoni, R., & Angelini, P. (2024). The glucans mushrooms: Molecules of significant biological and medicinal value. *Polysaccharides*, *5*(3), 212–224. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides5030016>
209. Flores, G. A., Girometta, C. E., Cusumano, G., Angelini, P., Tirillini, B., Ianni, F., Blasi, F., Cossignani, L., Pellegrino, R. M., Emiliani, C., Venanzoni, R., Venturella, G., Colasuonno, P., Cirlincione, F., Gargano, M. L., Zengin, G., Acquaviva, A., Di Simone, S. C., Orlando, G., Menghini, L., & Ferrante, C. (2022). Untargeted metabolomics used to describe the chemical composition, antioxidant and antimicrobial effects of extracts from *Pleurotus* spp. Mycelium grown in different culture media. *Antibiotics*, *11*, 1468. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111468>
210. Florey, H. W., Chain, W., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Sanders, A. G., Abraham, E. P. & Florey, M. E. (1949). *Antibiotics*. London, UK: Oxford University Press.
211. Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K., Blanchette, R. A., et al., (2012). The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science*, *336*, 1715-1719. <https://doi.org/10.1126/science.12217>
212. Friedman, M., & Jürgens, H. S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(6), 2101–2110. <https://doi.org/10.1021/jf990489j>
213. Frantz, S. C., Paludo, L. C., Stutz, H., & Spier, M. R. (2018). Production of amylases from *Coprinus comatus* under submerged culture using wheat-milling by-products: optimization, kinetic parameters, partial purification, and characterization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *17*, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.004>
214. French, A. (2007). *Coriarius versicolor* supplementation for recurrent herpes simplex. *Clin. J. Mycol.*, *2*, 11–12.

215. Fujiwara, M., & Matsui, K. (1953). Determination of Thiamine by Thiochrome Reaction. *Analytical Chemistry*, 25(5), 810–812. <https://doi.org/10.1021/ac60077a040>
216. Gafforov, Y., Yamaç, M., İnci, Ş., Rapior, S., Yarasheva, M., & Rašeta, M. (2023a). *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél.; *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. – Pleurotaceae. In: Olim K., Khojimatov, editors. Yusufjon Gafforov, Rainer W. Bussmann, editors. *Ethnobiology of Uzbekistan*. Cham, Switzerland: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23031-8_121
217. Gafforov, Y., Deshmukh, S. K., Verekar, S. A., Tomšovský, M., Yarasheva, M., Chen, J. J., Langer, E., & Rapior, S. (2023b). *Fomitopsis betulina* and *Fomitopsis pinicola*: chemical constituents and pharmacology. In O. K. Khojimatov, Y. Gafforov, & R. W. Bussmann (Eds.), *Ethnobiology of Uzbekistan* (pp. 1085–1101). Cham, Switzerland: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23031-8_108
218. Gao, Y., Tang, W., Gao, H., Chan, E., Lan, J., & Zhou, S. (2004). *Ganoderma lucidum* polysaccharide fractions accelerate healing of acetic acid-induced ulcers in rats. *J. Med. Food*, 7(4), 417–421. <https://doi.org/10.1089/jmf.2004.7.417>
219. Gargano, M. L., van Griensven, L. J. L. D., Isikhuemhen, O. S., Lindequist, U., Venturella, G., Wasser, S. P. & Zervakis, G. I. (2017). Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 151(3), 548-565. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1301590>
220. Garmanchuk, L. V., Vedenicheva, N. P., Al-Maali, G. A., Ostapchenko, D. I., Tseyslyer, Y. V., Liashenko, V. A., Bisko, N. A., Kosakivska, I. V., & Ostapchenko, L. I. (2022). Antiproliferative activities of extracts from mycelial biomass of some medicinal basidiomycetes in human colon cancer cells COLO 205. *Exp. Oncol.*, 44(3), 213–216. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-3.18434>
221. Garraway, M. O., & Evans, R. C. (1984). *Fungal nutrition and physiology*. New York: Wiley-Interscience.

222. Gautam, A. K., Sharma, S., Avasthi, S., & Bhadauria, R. (2011). Diversity, pathogenicity and toxicology of *A. niger*: an important spoilage fungi. *Res. J. Microbiol.*, *6*, 270–280. <https://doi.org/10.3923/jm.2011.270.280>
223. Gbolagade, J. S., Fasidi, I. O., Ajayi, E. J., & Sobowale, A. A. (2006). Effect of physico-chemical factors and semi-synthetic media on vegetative growth of *Lentinus subnudus* (Berk.), an edible mushroom from Nigeria. *Food Chemistry*, *99*, 742–747.
224. Gern, R. M. M., Wisbeck, E., Kampinelli, J. R., Nirow, J. L., & Furlan, S. A. (2008). Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Biores. Technol.*, *99*(1), 76–82.
225. Getha, K., Hatsu, M., Wong, H. J., Lee, S. S. (2009). Submerged cultivation of Basidiomycete fungi associated with root diseases for production of valuable bioactive metabolites. *J. Trop. For. Sci.*, *21*, 1–7.
226. Ghatnur, S. M., Parvatam, G., & Balaraman, M. (2015). Culture conditions for production of biomass, adenosine, and cordycepin from *Cordyceps sinensis* CS1197: Optimization by desirability function method. *Pharmacogn. Mag.*, *11*(Suppl 3), 448–456. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.168946>
227. Giavasis, I. (2014). Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. *Curr. Opin. Biotechnol.*, *26*, 162–173. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.01.010>
228. Gnat, S., Łagowski, D., Nowakiewicz, A., & Dyląg, M. (2021). A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidiosis. *J. Appl. Microbiol.*, *131*(5), 2095–113. <https://doi.org/10.1111/jam.15032>
229. Gong, P., Long, H., Guo, Y., Wang, S., Chen, F., & Chen, X. (2022). Isolation, structural characterization, and hypoglycemic activities in vitro of polysaccharides from *Pleurotus eryngii*. *Molecules*, *27*(20), 7140. <https://doi.org/10.3390/molecules27207140>

230. Goud, M. J. P., Suryam, A., Lakshmi pathi, V., & Charya, M. A. S. (2009). Extracellular hydrolytic enzyme profiles of certain South Indian basidiomycetes. *African Journal of Biotechnology*, 8, 354-360.
231. Gouzi, F., Maury, J., Heraud, N., Molinari, N., Bertet, H., Ayoub, B., Blaquière, M., Bughin, F., De Rigal, P., Poulain, M., Pincemail, J., Cristol, J. P., Laoudj-Chenivesse, D., Mercier, J., Préfaut, C., Pomiès, P., & Hayot, M. (2019). Additional effects of nutritional antioxidant supplementation on peripheral muscle during pulmonary rehabilitation in COPD patients: a randomized controlled trial. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <http://doi.org/10.1155/2019/5496346>
232. Goyal, S., Ramawat, K. G., Mérillon, J. M. (2017). Different Shades of Fungal Metabolites: An Overview. In: Mérillon, J. M., & Ramawat, K. (Eds.) *Fungal Metabolites*. Reference Series in Phytochemistry. Cham, Switzerland: Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4_34
233. Gregori, A., Švagelf, M., & Pohleven, J. (2007). Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. *Food Technol. Biotechnol.*, 45, 238–249.
234. Grienke, U., Zöll, M., Peintner, U., & Rollinger, J. M. (2014). European medicinal polypores - a modern view on traditional uses. *J. Ethnopharmacol.*, 154(3), 564–583. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.030>
235. Gu, J. M., & Park, S. S. (2013). Optimization of endoglucanase production from *Fomitopsis pinicola* mycelia. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(3), 145–152. <https://doi.org/10.4014/kjmb.1301.01007>
236. Guadarrama-Mendoza, P. C., del Toro, G. V., Ramírez-Carrillo, R., Robles-Martínez, F., Yáñez-Fernández, J., Garín-Aguilar, M. E., Hernández, C. G., & Bravo-Villa, G. (2014). Morphology and mycelial growth rate of *Pleurotus* spp. strains from the Mexican mixtec region. *Braz. J. Microbiol.*, 45(3), 861–872. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014000300016>
237. Guggiari, M., Bloquel, R., Aragno, M., Verrecchia, E., Job, D., & Junier, P. (2011). Experimental calcium-oxalate crystal production and dissolution by

- selected wood-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(6), 803–809. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.02.012>
238. Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11, 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
239. Guler, P., Akata, I., & Kutluer, F. (2009). Antifungal activities of *Fomitopsis pinicola* (Sw.:Fr) Karst and *Lactarius vellereus* (Pers.) Fr. *African Journal of Biotechnology*, 8, 3811–3813.
240. Gull, A., Prasad, K., & Kumar, P. (2018). Nutritional, antioxidant, microstructural and pasting properties of functional pasta. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.002>
241. Guo, X., Zou, X., & Sun, M. (2010). Optimization of extraction process by response surface methodology and preliminary characterization of polysaccharides from *Phellinus igniarius*. *Carbohydr. Polym.*, 80, 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.028>
242. Gupta, A., Kirar, V., Keshri, G. K., Gola, S., Yadav, A., Negi, P. S., & Misra, K. (2014). Wound healing activity of an aqueous extract of the Lingzhi or Reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*, 16(4), 345–354. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v16.i4.50>
243. Habtemariam, S. (2020). *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) Polysaccharides in Cancer Therapy: Targets and Efficacy. *Biomedicines*, 8(5), 135. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050135>
244. Hamedi, A., Ghanati, F., & Vahidi, H. (2012). Study on the effects of different culture conditions on the morphology of *Agaricus blazei* and the relationship between morphology and biomass or EPS production. *Annals of Microbiology*, 62(3), 699–707. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0309-3>
245. Hamza, A., Mandari, V., & Kumar, D. S. (2023). Efficient production of biomass and exopolysaccharide from *P. ostreatus* and physio-chemical characterization of

- biomass powder, *Bioscience*, 55, 103073.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103073>
246. Han, C. H., Liu, Q. H., Ng, T. B., & Wang, H. X. (2005). A novel homodimeric lactose-binding lectin from the edible split gill medicinal mushroom *Schizophyllum commune*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 336, 252–257.
247. Han, S. R., Noh, M. Y., Lee, J. H., & Oh, T. J. (2015). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of solvent extracts from *Coriolus versicolor*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 44(12), 1793–1798.
<http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.12.1793>
248. Hasegawa, R. H., Kasuya, M. C. M., & Vanetti, M. C. D. (2005). Growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* in liquid media supplemented with agricultural wastes. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8(2), 212–217.
<https://doi.org/10.2225/vol8-issue2-fulltext-3>
249. Hatvani, N. (2001). Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 17, 71–74.
250. Hatvani, N., Kredics, L., Antal, Z., & Mécs, I. (2002). Changes in activity of extracellular enzymes in dual cultures of *Lentinula edodes* and mycoparasitic *Trichoderma* strains. *J. Appl. Microbiol.*, 92, 415–423.
<https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01542.x>.
251. He, H., Li, Y., Fang, M., Li, T., Liang, Y., & Mei, Y. (2021). Carbon Source Affects Synthesis, Structures, and Activities of Mycelial Polysaccharides from Medicinal Fungus *Inonotus obliquus*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 31(6), 855–866.
<https://doi.org/10.4014/jmb.2102.02006>
252. Hearst, R., Nelson, D., McCollum, G., Millar, B. C., Maeda, Y., Goldsmith, C. E., Rooney, P. J., Loughrey, A., Rao, J. R., & Moore, J. E. (2009). An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 15(1), 5–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctcp.2008.10.002>

253. Heleno, S., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M.-J., Santos Buelga, C., & Ferreira, I. (2012). Fruiting body, spores and *in vitro* produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Res. Int.*, *46*, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.009>
254. Hoa, H. T., & Wang, C. L. (2015). The effects of different substrates on yield and quality of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). *Mycobiology*, *43*(4), 423–429. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.423>
255. Holmberg, S. D., Stewart, J. A., Gerber, A. R., Byers, R. H., Lee, F. K., O'Malley, P. M., & Nahmias, A. J. (1988). Prior herpes simplex virus type 2 infection as a risk factor for HIV infection. *J. Am. Med. Ass.*, *259*, 1048–1050.
256. Hong, J. S. (1978). Studies on the physico-chemical properties and the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Korean Agrochemical Society Journal*, *21*, 1–40.
257. Hossain, M. A., & Ghannoum, M. A. (2001). New developments in chemotherapy for non-invasive fungal infections. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, *10*(8), 1501–1511. <https://doi.org/10.1517/13543784.10.8.1501>
258. Hsieh, C., Tsai, M., Hsu, T., Chang, D., & Lo, C. (2005). Medium optimization for polysaccharide production of *Cordyceps sinensis*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, *120*, 145–157. <https://doi.org/10.1385/ABAB:120:2:145>
259. Huang, C. W., Hung, Y. C., Chen, L. Y., Asatiani, M., Elisashvili, V. I., Klarsfeld, G., Melamed, D., Fares, B., Wasser, S. P., & Mau, J. L. (2021). Chemical composition and antioxidant properties of different combinations of submerged cultured mycelia of medicinal mushrooms. *Int. J. Med. Mushrooms*, *23*(8), 1–24. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021039339>
260. Hung, W. S., Fang, C. L., Su, C. H., Lai, W. F., Chang, Y. C., & Tsai, Y. H. (2001). Cytotoxicity and immunogenicity of sacchachitin and its mechanism of action on skin wound healing. *J. Biomed. Mater. Res.*, *56*(1), 93–100. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(200107\)56:1<93::aid-jbm1072>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/1097-4636(200107)56:1<93::aid-jbm1072>3.0.co;2-b)

261. Hung, W. S., Lai, W. F., Leu, B., Su, C. H., Fang, C. L., & Tsai, Y. H. (2004). Effect of sacchachitin on keratinocyte proliferation and the expressions of type I collagen and tissue-transglutaminase during skin wound healing. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 70(1), 122–129. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30028>
262. Hunyadi, A. (2019). The mechanism(s) of action of antioxidants: from scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. *Medicinal Research Reviews*, 39(6), 2505–2533. <https://doi.org/10.1002/med.21592>
263. Hussain, S., & Hussain, M. A. (2004). Influence of substrate supplementation on mushroom yield. *Pakistan Journal of Botany*, 36(4), 817–822.
264. Hyde, K.D., Xu, J., Rapior, S. et al. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97, 1–136 <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>
265. Hypercia, M. K., Regnier, T., Wokadala, O. C., Bartels, P., & Meirin, B. (2024). Effect of culture media on the yield and protein content of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. mycelia. *International Journal of Food Science*, Article ID 5562732. <https://doi.org/10.1155/ijfo/5562732>
266. Hyun, M. W., Yun, Y. H., Kim, J. Y., & Kim, S. H. (2011). Fungal and plant phenylalanine ammonia-lyase. *Mycobiology*, 39(4), 257–265. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2011.39.4.257>
267. Hyun, S.-H. (2013). Alteration of Media Composition and Light Conditions Change Morphology, Metabolic Profile, and Beauvericin Biosynthesis in *Cordyceps bassiana* Mycelium. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(1), 47–55. <https://doi.org/10.4014/jmb.1208.08058>
268. Ibarz, M., Haas, L.E.M., Ceccato, A. & Artigas A. (2024). The critically ill older patient with sepsis: a narrative review. *Ann. Intensive Care*, 14(6). <https://doi.org/10.1186/s13613-023-01233-7>.

269. Ibrahim, A. S., Spellberg, B., Walsh, T. J., & Kontoyiannis, D. P. (2012). Pathogenesis of Mucormycosis. *Clin. Infect. Dis.*, 54(1, Suppl 1), 16–22. <https://doi.org/10.1093/cid/cir865>
270. Ichinohe, T., Ainai, A., Nakamura, T., Akiyama, Y., Maeyama, J., Odagiri, T., Tashiro, M., Takahashi, H., Sawa, H., Tamura, S., Chiba, J., Kurata, T., Sata, T., & Hasegawa, H. (2010). Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an Intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia. *J. Medical Virology*, 82, 128–137. <https://doi.org/10.1002/jmv.21670>
271. Idowu, O. O., Kadiri, M., & Yahaya, M. (2009). Effect of cocoa shell supplementation on the production of two oyster mushrooms (*Pleurotus pulmonarius* and *P. ostreatus*). *Advances in Science and Technology*, 3(2), 146–149.
272. Iqbal, M., & Saeed, A. (2007). Biosorption of reactive dye by loofa sponge-immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochem.*, 42, 1160–1164.
273. Iqbal, B., Khan, H., Saifullah, S., Khan, I., Shah, B., Naeem, A., Ullah, W., Khan, N., Adnan, M., Shah, S., Junaid, K., Ahmed, N., & Iqbal, M. (2016). Substrates evaluation for the quality, production and growth of oyster mushroom (*Pleurotus florida* Cetto). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4, 98–107.
274. Iuliano, A. D., Roguski, K. M., Chang, H. H., Muscatello, D. J., Palekar, R., Tempia, S., Cohen, C., Gran, J. M., Schanzer, D., Cowling, B. J., Wu, P., Kyncl, J., Ang, L. W., Park, M., Redlberger-Fritz, M., Yu, H., Espenhain, L., Krishnan, A., Emukule, G., van Asten, L., Pereira da Silva, S., Aungkulanon, S., Buchholz, U., Widdowson, M. A., & Bresee, J. S. (2018). Global seasonal influenza-associated mortality collaborator network. estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet*, 391(10127), 1285–1300. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33293-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33293-2)
275. Imtiaj, A., & Lee, T. S. (2007). Screening of antibacterial and antifungal activities from Korean wild mushrooms. *World J. Agric. Sci.*, 3(3), 316–321.

276. Intiaj, A., Jayasinghe, C., Lee, G. W., & Lee, T. S. (2009). Comparative study of environmental and nutritional factors on the mycelial growth of edible mushrooms. *Journal of Culture Collections*, 6(1), 97–105.
277. Ishara, J., Buzera, A., Mushagalusa, G.N., Hammam, A.R., Munga, J., Karanja, P., & Kinyuru, J. (2024). Nutraceutical potential of mushroom bioactive metabolites and their functionality. *J. Food Biochem.*, 46, e14025. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14025>
278. Ishikawa, N. K., Kasuya, M. C. M., & Vanetti, M. C. D. (2001). Antibacterial activity of *Lentinula edodes* grown in liquid medium. *Braz. J. Microbiol.*, 32, 206–210.
279. Islam, T., Yu, X., & Xu, B. (2016). Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 423–431. <https://doi:10.1016/j.lwt.2016.05.005>
280. Isroi, Millati, R., Syamsiah, S., Niklasson, C., Cahyanto, M. N., Lindquist, K., & Taherzadeh, M. J. (2011). Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review. *BioResources*, 6(4), 5224–5259.
- Ivanova, T. S., Bisko, N. A., Krupodorova, T. A., & Barshteyn, V. Y. (2014). Breadcrumb as a new substrate for *Trametes versicolor* and *Schizophyllum commune* submerged cultivation. *Microbiol. Biotechnol. Lett.*, 42(1), 67–72. <https://doi.org/10.4014/kjmb.1309.09004>
281. Ivanova, T., Titova, L., & Megalinska, G. (2015). Compositional study of *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. grown on the new substrate breadcrumb. *Sci Rep NUBiP Ukraine*, 8, 1–14.
282. Jang, K. Y., Cho, S. M., Seok, S. J., Kong, W. S., Kim, G. H., & Sung, J. M. (2009). Screening of biodegradable function of indigenous lingo-degrading mushroom using dyes. *Mycobiology*, 37(1), 53–61. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.1.053>

283. Jaros, D., Köbsch, J., & Rohm, H. (2018). Exopolysaccharides from Basidiomycota: Formation, isolation and techno-functional properties. *Eng. Life Sci.*, 18(10), 743–752. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800117>
284. Jarosz-Wilkolazka, A., Kochmańska-Rdest, J., Malarczyk, E., Wardas, W., & Leonowicz, A. (2002). Fungi and their ability to decolourize azo and anthraquinonic dyes. *Enz. Microb. Tech.*, 30, 566–572.
285. Jiamworanunkul, S. (2019). Effective antioxidant production through submerged fermentation of edible mushrooms. *TJPS*, 43(4), 213–218.
286. Jimenez, M. E., Berrus, H. E., Segarra, J. D., Peralta, O. L., Pólit, M. P., Campuzano, L. C., Carpio, R. A., Fondevila, M. P., & Villacres, M. C. (2023). Phenolic content and antioxidant activity in *Lentinula edodes* grown on eucalyptus biomass. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 35(12), 1–9. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2023.3184>
287. Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch. Toxicol.*, 97(10), 2499–2574. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>
288. Jonathan, S. G., Bawo, D. D. S., Adejoye, D. O., & Briyai, O. F. (2009). Studies on biomass production in *Auricularia polytricha* collected from Wilberforce Island, Bayelsa State, Nigeria. *American Journal of Applied Sciences*, 6(1), 182–186.
289. Jonathan, S. G., & Fasidi, I. O. (2001). Effect of carbon, nitrogen, and mineral sources on growth of *Psathyrella atroumbonata* (Pegler), a Nigerian edible mushroom. *Food Chemistry*, 72(4), 479–483. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(00\)00265-x](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(00)00265-x)
290. Jong, S. C., Birmingham, J. M. (2001). Cultivation and preservation of fungi in culture. In: McLaughlin, D. J., McLaughlin, E. G., Lemke, P. A. (Eds.) *Systematics and Evolution. The Mycota*, vol. 7B. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-10189-6_7

291. Jordaan, J., & Leukes, W. D. (2003). Isolation of a thermostable laccase with DMAB and MBTH oxidative coupling activity from a mesophilic white rot fungus. *Enzyme Microbiology and Technology*, *33*, 556–564.
292. Junnila, A., Wikström, H., Megarry, A., Gholami, A., Papathanasiou, F., Blomberg, A., Ketolainen, J., & Tajarobi, P. (2022). Faster to first-time-in-human: prediction of the liquid solid ratio for continuous wet granulation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *172*, 106151. <http://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106151>
293. Jureczko, M., & Przysaś, W. (2021). Removal of two cytostatic drugs: bleomycin and vincristine by white-rot fungi – a sorption study. *J. Environ. Health Sci. Engineer.*, *19*, 651–662. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00635-8>
294. Kadiri, M., & Fasidi, I. O. (1994). Growth requirements of *Lentinus subnudus* Berk., a Nigerian edible mushroom. *Chemical Microbiology and Technology*, *16*(2), 80–84.
295. Kachrimanidou, V., Papadaki, A., Papapostolou, H., Alexandri, M., Gonou-Zagou, Z., & Kopsahelis, N. (2023). *Ganoderma lucidum* mycelia mass and bioactive compounds production through grape pomace and cheese whey valorization. *Molecules*, *28*(17), 6331. <https://doi.org/10.3390/molecules28176331>
296. Kachlishili, E., Penninckx, M.J., Tsiklauri, N., Elisashvili, V. (2006). Effect of nitrogen source on lignocellulytic enzyme production by whiterot basidiomycetes under solid-state cultivation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *22*(4), 391–397.
297. Kała, K., Krakowska, A., Szewczyk, A., Ostachowicz, B., Szczurek, K., Fijałkowska, A., & Muszyńska, B. (2021). Determining the amount of potentially bioavailable phenolic compounds and bioelements in edible mushroom mycelia of *Agaricus bisporus*, *Cantharellus cibarius*, and *Lentinula edodes*. *Food Chem.*, *352*, 129456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129456>

298. Kalaras, M. D., Richie, J. P., Calcagnotto, A., & Beelman, R. B. (2017). Mushrooms: a rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chem.*, *15*(233), 429–433. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.109>
299. Kalmış, E., Yaşa, I., Kalyoncu, F., Pazarbaşı, B., & Koçyiğit, A. (2008). Ligninolytic enzyme activities in mycelium of some wild and commercial mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, *3*(7), 4314–4320.
300. Kalu, A. U., & Kenneth, O.C. (2017). Antimicrobial Activity of *Pleurotus squarrosulus* on Clinical Pathogenic Bacteria and Fungi. *JAMB*, *4*(3), 1–9. <https://doi.org/10.9734/JAMB/2017/34644>
301. Kalyoncu, F., Oskay, M., & Kayalar, H. (2010). Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species. *Mycology*, *1*(3), 195–199. <https://doi.org/10.1080/21501203.2010.511292>
302. Kapahi, M., & Sachdeva, S. (2017). Mycoremediation potential of *Pleurotus* species for heavy metals: a review. *Bioresources and bioprocessing*, *4*(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0162-8>
303. Kaur, H., Sharma, S., Khanna, P. K., & Kapoor, S. (2015). Evaluation of *Ganoderma lucidum* strains for the production of bioactive components and their potential use as antimicrobial agents. *J. Appl. Nat. Sci.*, *7*, 298–303. <https://doi.org/10.31018/jans.v7i1.605>
304. Khalil, A. M. A., Hashem, A. H., & Abdelaziz, A. M. (2019). Occurrence of toxigenic *Penicillium polonicum* in retail green table olives from the Saudi Arabia market. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, *21*, 101314. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101314>
305. Khardziani, T., Metreveli, E., Didebulidze, K., & Elisashvili, V. I. (2020). Screening of Georgian medicinal mushrooms for their antibacterial activity and optimization of cultivation conditions for the Split Gill medicinal mushroom, *Schizophyllum commune* BCC64 (Agaricomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*, *22*(7), 659–669. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020035051>
306. Khunnamwong, P., Lertwattanasakul, N., Jindamorakot, S., Suwannarach, N., Matsui, K., & Limtong, S. (2020). Evaluation of antagonistic activity and

- mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia microbiologica*, 65(3), 573–590. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00764-6>
307. Kibar, B., & Peksen, A. (2011). Mycelial growth requirements of *Lactarius pyrogalus* and *Lactarius controversus*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(33), 5107–5114. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1057>
308. Kim, H.-K., Cheong, J.-C., Chang, H.-Y., Kim, G. P., Cha, D.-Y., & Moon, B.-J. (1997). The artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* (I): Investigation of mycelial growth conditions. *The Korean Journal of Mycology*, 25(4), 305–310.
309. Kim, M., Ahn, C., & Kim, C. (2021). Antioxidant activity of indigenous *Trametes* species in Korea. *Korean Journal of Mycology*, 49(4), 433–440. <http://doi.org/10.4489/KJM.20210042>
310. Kim, S. W., Hwang, H. J., Park, J. P., Cho, Y. J., Song, C. H., & Yun, J. W. (2002). Mycelial growth and exobiopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. *Letters in Applied Microbiology*, 34(1), 56–61. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2002.01041.x>
311. Kim, Y. R. (2003). Production of polysaccharide by the edible mushroom, *Grifola frondosa*. *Mycobiology*, 31(4), 205–208.
312. Kirby, N., Marchant, R., & McMullen, G. (2000). Decolorization of synthetic textile dyes by *Phlebia tramellosa*. *Microbiology Letters*, 188(1), 93–96. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09174.x>
313. Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the fungi* (10th ed.). CAB International.
314. Kizitska, T., Barshteyn, V., Sevindik, M., & Krupodorova, T. (2024). Evaluation of *Fomitopsis betulina* strains for growth on different media and exopolysaccharide production. *Archives of Biological Sciences*, 76(3), 257–265. <https://doi.org/10.2998/ABS240523018K>
315. Knowles, S. L., Raja, H. A., Roberts, C. D., & Oberlies, N. H. (2022). Fungal-fungal co-culture: a primer for generating chemical diversity. *Natural product reports*, 39(8), 1557–1573. <https://doi.org/10.1039/d1np00070e>

316. Komemushi, S., Yamamoto, Y., & Fujita, T. (1995). Antimicrobial substance produced by *Lentinus edodes*. *J. Antibacterial Antifungal Agents*, 23(2), 81–86.
317. Komenushi, S., Yamamoto, Y., & Fujita, T. (1996). Purification and identification of antimicrobial substances produced by *Lentinus edodes*. *J. Antibacterial Antifungal Agents*, 24, 21–25.
318. Konan, D., Ndao, A., Koffi, E., Elkoun, S., Robert, M., Rodrigue, D., & Adjallé, K. (2024). Biodecomposition with *Phanerochaete chrysosporium*: A review. *AIMS microbiology*, 10(4), 1068–1101. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2024046>
319. Korkmaz, C., Güneş, H., Küçükaydın, M. T., Küçükaydın, S., & Duru, M. E. (2024). Biological activities and chemical contents of edible *Hohenbuehelia petaloides* (Bull.) Schulzer. *ACS Omega*, 9(46), 45733–45745. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c02369>
320. Kovalenko, O. G., Polishchuk, O. M., Krupodorova, T. A., Bisko, N. A., & Buchalo, A. S. (2008). Screening of metabolites produced by strains of *Ganoderma lucidum* [Curt.: Fr] P. Karst and *Ganoderma applanatum* [Pirs.: Waller] Pat. for their activity against tobacco mosaic virus. *Bulletin of Taras Shevchenko Kyiv National University. Biology*, (1), 32–34.
321. Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., & van Griensven, L. (2015a). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20(10), 19489–19525. <https://doi.org/10.3390/molecules201019489>
322. Kozarski, M., Klaus, A., Špirović-Trifunović, B., Miletić, S., Lazić, V., Žižak, Ž., & Vunduk, J. (2024). Bioprospecting of selected species of polypore fungi from the Western Balkans. *Molecules*, 29(2), 314. <https://doi.org/10.3390/molecules29020314>
323. Kozarski, M., Klaus, A., Vunduk, J., Zizak, Z., Niksic, M., Jakovljevic, D., Vrvic, M. M., & Van Griensven, L. J. (2015b). Nutraceutical properties of the methanolic extract of edible mushroom *Cantharellus cibarius* (Fries): primary mechanisms. *Food Funct.*, 6(6), 1875–1886. <https://doi.org/10.1039/c5fo00312a>

324. Koziak, T., Cheng, K. C., & Thorn, R. G. (2007). Phylogenetic analyses of *Nematoctonus* and *Hohenbuehelia* (Pleurotaceae). *Canadian Journal of Botany*, 85(8), 762–773. <https://doi.org/10.1139/B07-083>
325. Köster, C., & Kleinebudde, P. (2023). Evaluation of binders in twin-screw wet granulation – optimal combination of binder and disintegrant. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 186, 55–64. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2023.03.003>
326. Krsmanović, N., Rašeta, M., Mišković, J., Bekvalac, K., Bogavac, M., Karaman, M., & Isikhuemhen, O. S. (2023). Effects of UV stress in promoting antioxidant activities in fungal species *Trametes versicolor* (L.) Lloyd and *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer. *Antioxidants*, 12, 302. <https://doi.org/10.3390/antiox12020302>
327. Krupodorova, T., Ivanova, T., Barshteyn, V. (2014a). Screening of extracellular enzymatic activity of Macrofungi. *JMBFS*, 3(4), 315–318.
328. Krupodorova, T., Rybalko, S., & Barshteyn, V. (2014b). 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>
329. 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>
330. 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>
331. Krupodorova, T., Barshteyn, V., & Pokas, O. (2021a). 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>

332. Krupodorova, T. A., Barshteyn, V. Yu., & Sekan, A. S. (2021b). Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, *11*(1), 494–531, <https://doi.org/10.5943/cream/11/1/34>
333. 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>
334. Kumar, S., Singh, G., Singh, R., Mishra, P., Sachan, S. K., & Sengar, R. S. (2020). Effect of different cereals flour additives on sporophores production of oyster mushroom (*Pleurotus sapidus* and *Pleurotus flabellatus*). *International Journal of Chemical Studies*, *8*(1), 698–701. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1j.8348>
335. Kurakula, M., & Koteswara Rao, G. S. N. (2020). Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): as excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *60*, 102046. <http://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046>
336. Kuroki, T., Lee, S., Hirohama, M., Taku, T., Kumakura, M., Haruyama, T., Nagata, K., & Kawaguchi, A. (2018). Inhibition of influenza virus infection by *Lentinus edodes* mycelia extract through its direct action and immunopotentiating activity. *Front. Microbiol.*, *9*, 1164. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01164>
337. Kytä, K. M., Lakio, S., Wikström, H., Sulemanji, A., Fransson, M., Ketolainen, J., & Tajarobi, P. (2020). Comparison between twin-screw and high-shear granulation - the effect of filler and active pharmaceutical ingredient on the granule and tablet properties. *Powder technology*, *376*, 187–198. <http://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.08.030>
338. Lai, C. Y., Hung, J. T., Lin, H. H., Yu, A. L., Chen, S. H., Tsai, Y. C., Shao, L. E., Yang, W. B., & Yu, J. (2010). Immunomodulatory and adjuvant activities of a

- polysaccharide extract of *Ganoderma lucidum* in vivo and in vitro. *Vaccine*, 28(31), 4945–4954. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.05.037>
339. Landi, N., Clemente, A., Pedone, P.V., Ragucci, S., & Di Maro, A. (2022). An Updated Review of Bioactive Peptides from Mushrooms in a Well-Defined Molecular Weight Range. *Toxins*, 14, 84.
340. Lang, Q., & Wai, C. M. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. *Talanta*, 53(4), 771–782. [https://doi.org/10.1016/s0039-9140\(00\)00557-9](https://doi.org/10.1016/s0039-9140(00)00557-9)
341. Lee, H. H., Park, H., Sung, G.-H., Lee, K., Lee, T., Lee, I., Park, M.-S., Jung, Y. W., Shin, Y. S., Kang, H., & Cho, H. (2014). Anti-influenza effect of *Cordyceps militaris* through immunomodulation in a DBA/2 mouse model. *J. Microbiol.*, 52(8), 696–701. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4300-0>
342. Lee, J. S., Lee, K. R., Lee, S., Lee, H., Yang, H.-S., Yeo, J., Park, J., Choi, B., & Hong, E. (2016). Polysaccharides isolated from liquid culture broth of *Inonotus obliquus* inhibit the invasion of human non-small cell lung carcinoma cells. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 22, 45–51. <https://doi.org/10.1007/s12257-016-0458-0>
343. Lee, W., Park, Y., Ahn, J., Ka, K. H., & Park, S. (2007). Factors influencing the production of endopolysaccharide and exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum*. *Enzyme Microb. Technol.*, 40, 249–254. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.04.009>
344. Lena, A. S. A. F., Rafiuddin, N., Kagne, S. R., & Subur, W. K. (2021). Review on anticancer and antimicrobial activities of mushrooms. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 1922–1936. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/67CNG>
345. Leonowicz, A., & Trojanowski, J. (1978). Induction of Laccase in Basidiomycetes - Laccase-Coding Messenger. *Acta Biochimica Polonica*, 25(2), 147–156.
346. Leung, P. H., & Wu, J. Y. (2007). Effects of ammonium feeding on the production of bioactive metabolites (cordycepin and exopolysaccharides) in

- mycelial culture of a *Cordyceps sinensis* fungus. *J. Appl. Microbiol.*, 103(5), 1942–1949. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03451.x>
347. Li, K., Qiao, K., Xiong, J., Guo, H., & Zhang, Y. (2023). Nutritional values and bio-functional properties of fungal proteins: applications in foods as a sustainable source. *Foods*, 12(24), 4388. <https://doi.org/10.3390/foods12244388>
348. Li, X., Wang, L., & Wang, Z. (2015). Radioprotective activity of neutral polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *Hohenbuehelia serotina*. *Physiology and Medicine*, 31, 352–359. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2015.02.004>
349. Li, X., Wang, L., & Wang, Z. (2017). Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Hohenbuehelia serotina*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 59–66. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.089>
350. Liang, Y. L., Han, X. M., & Cheng, Z. H. (2012). Mycelial growth and exopolysaccharide production of *Lentinula edodes* in submerged cultures under different conditions. *Food Chemistry*, 132(2), 663–668.
351. Liang, C.-H., Huang, S.-J., Tsai, S.-Y., Lee, Y.-L., Kuo, H.-C., Wu, T.-P., Jian, S.-Y., Huang, W.-L. (2009). Preparation of novel culinary mushroom products using solid-state fermentation and their taste quality. *Int. J. Med. Mushrooms*, 11(2), 141–156. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v11.i2.40>
352. Lim, J. S., Lee, S. J., & Lee, E. Y. (2009). Optimal growth conditional of *Pleurotus ostreatus* cultured in the food wastes extracts. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, 37(1), 85–89.
353. Lima S. M., & de Lucas, C. R. (2022). Co-cultivation, co-culture, mixed culture, and microbial consortium of fungi: an understudied strategy for biomass conversion. *Frontiers in Microbiology*, 12, 837685. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.837685>
354. Lin, H. J., Chang, Y. S., Lin, L. H., Haung, C. F., Wu, C. Y., & Ou, K. L. (2014). An immunomodulatory protein (Ling Zhi-8) from a *Ganoderma lucidum* induced acceleration of wound healing in rat liver tissues after monopolar electrosurgery.

- Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 916531.
<https://doi.org/10.1155/2014/91653>
355. Lincoff, G. (2002). There are only a dozen basic groups. *Mushroom, the Journal of Wild Mushrooming*, 20, 9-15.
356. Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. J., & Julich, W.-D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(3), 285–299.
357. Lindequist, U. (2013). The merit of medicinal mushrooms from a pharmaceutical point of view. *Int. J. Med. Mushrooms*, 15, 517–523.
358. Lindequist, U. (2024). Medicinal mushrooms as multicomponent mixtures—demonstrated with the example of *Lentinula edodes*. *Journal of Fungi*, 10(2), 153.
<https://doi.org/10.3390/jof10020153>
359. Liu, J., Yang, F., Ye, L. B., Yang, X. J., Timani, K. A., Zheng, Y., & Wang, Y. H. (2004). Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 265–272. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.07.010>
360. Liu, T. (2022). Glucose fuel cells and membranes: A brief overview and literature analysis. *Sustainability*, 14(14), 8376. <https://doi.org/10.3390/su14148376>
361. Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X., & Yan, G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, 105(2), 548-554. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.008>
362. Liu, X.-C., Zhu, Z.-Y., Liu, Y.-L., & Sun, H.-Q. (2019). Comparisons of the anti-tumor activity of polysaccharides from fermented mycelia and cultivated fruiting bodies of *Cordyceps militaris in vitro*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.155>
363. Liuzzi, G. M., Petraglia, T., Latronico, T., Crescenzi, A., & Rossano, R. (2023). Antioxidant compounds from edible mushrooms as potential candidates for treating age-related neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 15(8), 1913.
<http://doi.org/10.3390/nu15081913>

364. Llanaj, X., Törös, G., Hajdú, P., Abdalla, N., El-Ramady, H., Kiss, A., Solberg, S. Ø., & Prokisch, J. (2023). Biotechnological applications of mushrooms under the water-energy-food nexus: crucial aspects and prospects from farm to pharmacy. *Foods*, *12*(14): 2671. <https://doi.org/10.3390/foods12142671>
365. Lomberg, M., Krupodorova, T., Krasinko, V., Mykchaylova, O. (2023). The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes from genus *Hericium*. *Botanica Serbica*, *47*(2), 241–249. <https://doi.org/10.2298/BOTSERB2302241L>
366. Lomberh, M. L., Solomko, E. F., Buchalo, A. S., & Kirchhoff, B. (2002). Studies of medicinal mushrooms in submerged cultures. In E. Montiel, G. Huerta, & H. E. Sanchez (Eds.), *Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the 4th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products* (pp. 367–378). Mexico.
367. Looker, K. J., Johnston, C., Welton, N. J., James, C., Vickerman, P., Turner, K. M. E., Boily, M. C., & Gottlieb, S. L. (2020). The global and regional burden of genital ulcer disease due to herpes simplex virus: a natural history modelling study. *BMJ Global Health*, *5*(3), e001875. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2019-001875>
368. López-Gómez, J. P., Manan, M. A., & Webb, C. (2020). Solid-state fermentation of food industry wastes. In: Kosseva, M. R., & Webb, C. (Eds.) *Food Industry Wastes, 2nd ed.*, Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 135–161.
369. López-Gómez, J. P., Unger, P., Schneider, R., Pierrard, M.-A., & Venus, J. (2022). Upgrading pasta wastes through lactic acid fermentations. *Food and Bioproducts Processing*, *135*, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.07.010>
370. López-Legarda, X., Rostro-Alanis, M., Parra-Saldivar, R., Villa-Pulgarín, J. A., & Segura-Sánchez, F. (2021). Submerged cultivation, characterization and in vitro antitumor activity of polysaccharides from *Schizophyllum radiatum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *186*, 919–932. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.084>

371. Lopez-Martinez, J. M., & Ahmad, I. (2024). Amaranth seeds: a promising functional ingredient for gastronomy – A review. *Sarhad Journal of Agriculture*, 40(1), 39–53. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2024/40.1.39.53>
372. Lou-Bonafonte, J. M., Martínez-Beamonte, R., Sanclemente, T., Surra, J. C., Herrera-Marcos, L. V., Sanchez-Marco, J., Arnal, C., & Osada, J. (2018). Current Insights into the Biological Action of Squalene. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(15), e1800136. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800136>
373. Lu, H., Lou, H., Hu, J., Liu, Z., & Chen, Q. (2020). Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(5), 2333–2356. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12602>
374. Lubian, C. C., Marinha, F. R., & Orz, F. S. (2018). Daily indexes for predation and growth of nematophagous mushroom species of *Hohenbuehelia* (*Pleurotaceae*) on *Panagrellus redividus*. *Journal of Agricultural Science*, 10(3), 276–289. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n3p276>
375. Lueangjaroenkit, P., Teerapatsakul, C., & Chitradon, L. (2018). Morphological characteristic regulation of ligninolytic enzyme produced by *Trametes polyzona*. *Mycobiology*, 46(4), 396–406. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1537586>
376. Lung, M. Y., & Huang, W. Z. (2012). Antioxidant properties of polysaccharides from *Laetiporus sulphureus* in submerged cultures. *Afr. J. Biotechnol.*, 11(23), 6350–6358. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1668>
377. Luo, X. C. (1993). Biology of artificial log cultivation of *Auricularia* mushroom. In: S. T. Chang, J. A. Buswell, & S. W. Chiu (Eds.), *Mushroom biology and mushroom cultivation* (pp. 370–372). Hong Kong: Chinese University Press.
378. Luo, Y., Hong, Y., Shen, L., Wu, F., & Lin, X. (2021). Multifunctional role of polyvinylpyrrolidone in pharmaceutical formulations. *AAPS PharmSciTech*, 22(1), 34. <http://doi.org/10.1208/s12249-020-01909-4>
379. Łysakowska, P., Sobota, A., & Wirkijowska, A. (2023). Medicinal mushrooms: their bioactive components, nutritional value and application in functional food

- production – a review. *Molecules*, 28(14), 5393.
<https://doi.org/10.3390/molecules28145393>
380. Ma, G., Kimatu, B. M., Zhao, L., Yang, W., Pei, F., & Hu, Q. (2017). In vivo fermentation of a *Pleurotus eryngii* polysaccharide and its effects on fecal microbiota composition and immune response. *Food Funct.*, 8(5), 1810–1821.
<https://doi.org/10.1039/c7fo00341b>
381. Ma, G., Kimatu, B. M., Yang, W., Pei, F., Zhao, L., Du, H., Su, A., Hu, Q., & Xiao, H. (2020). Preparation of newly identified polysaccharide from *Pleurotus eryngii* and its anti-inflammation activities potential. *J. Food Sci.*, 85(9), 2822–2831. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15375>
382. Ma, G., Ma, S., Du, H., Li, X., Tao, Q., Hu, O., & Xiao, H. (2024). Interactions between intestinal microbial fermentation products of *Pleurotus eryngii* polysaccharide with gut mucus. *Food Funct.*, 15(3), 1476–1488.
<https://doi.org/10.1039/d3fo04787c>
383. Ma, G., Xu, Q., Du, H., Muinde Kimatu, B., Su, A., Yang, W., Hu, Q., & Xiao, H. (2022). Characterization of polysaccharide from *Pleurotus eryngii* during simulated gastrointestinal digestion and fermentation. *Food Chem.*, 370, 131303.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131303>
384. Mao, X.-B., Eksriwong, T., Chauvatcharin, S., & Zhong, J.-J. (2005). Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Process Biochemistry*, 40(5), 1667–1672.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.046>
385. Mao, X. W., Archambeau, J. O., & Gridley, D. S. (1996). Immunotherapy with low-dose interleukin-2 and a polysaccharopeptide derived from *Coriolus versicolor*. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 11(6), 393–403.
386. Maftoun, P., Malek, R., Abdel-Sadek, M., Aziz, R., & Enshasy, H. E. (2013). Bioprocess for semi-industrial production of immunomodulator poly saccharide pleuran by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J. Sci. Industr. Res.*, 72, 655–662.

387. Mahalaxmi, I., Jayaramayya, K., Venkatesan, D., Subramaniam, M. D., Renu, K., Vijayakumar, P., Narayanasamy, A., Gopalakrishnan, A. V., Kumar, N. S., Sivaprakash, P., Sambasiva Rao, K. R. S., & Vellingiri, B. (2021). Mucormycosis: an opportunistic pathogen during COVID-19. *Environ. Res.*, *201*, 111643. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111643>
388. Mahendran, S., Anandapandian, K. T. K., Shankar, T., Chellaram, T., & Vijaybaskar, P. (2012). Antioxidant properties of *Ganoderma lucidum* grude exopolysaccharides. *Indian Journal of Innovations and Developments*, *1*(8), 1–6.
389. Mahmoudi, E., & Rezaie, J. (2020). Isolation of different fungi from the skin of patients with seborrheic dermatitis. *Curr. Med. Mycol.*, *6*(2), 49–51. <https://doi.org/10.18502/CMM.6.2.2841>
390. Majolagbel, O., Oloke, J., Deka-Boruah, H., Adetunji, C., Bordoloi, A., & Borah, M. (2012/13). Extraction and purification of extracellular laccase from wild, mutants and hybrid strains of two white-rot fungus and its applications in decolourization and ligninolysis. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *2*(3), 998–1016.
391. Manjunathan, J., & Kaviyarasan, V. (2010). Growth and antimicrobial activity of different mushroom strains grown in submerged culture. *Middle-East Journal of Scientific Research*, *5*(2), 81–85.
392. Manu-Tawiah, W., & Martin, A. M. (1987). Chemical composition of *Pleurotus ostreatus* mycelial biomass. *Food Microbiology*, *4*(4), 303–310. [https://doi.org/10.1016/s0740-0020\(87\)80004-7](https://doi.org/10.1016/s0740-0020(87)80004-7)
393. Manusamy, U., Sabaratnam, V., Muniandy, S., Abdullah, N., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2008a). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase of *Pycnoporus sanuines* and toxicity evaluation of treated PAH. *Biotechnology*, *7*, 669–677.
394. Manusamy, U., Sabaratnam, V., Muniandy, S., Abdullah, N., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2008b). Characterization of laccase from *Pycnoporus sanguineus* KUM 60953 and KUM 60954. *Journal of Biological Sciences*, *8*, 866–873.

395. Marmann, A., Aly, A. H., Lin, W., Wang, B., & Proksch, P. (2014) Co-cultivation – a powerful emerging tool for enhancing the chemical diversity of microorganisms. *Mar. Drugs*, *12*, 1043–1065. <https://doi.org/10.3390/md12021043>
396. Martínez-Burgos, W. J., Montes Montes, E., Pozzan, R., Serra, J. L., Torres, D. O., Manzoki, M. C., Vieira, R. L., dos Reis, G. A., Rodrigues, C., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2024). Bioactive Compounds Produced by Macromycetes for Application in the Pharmaceutical Sector: Patents and Products. *Fermentation*, *10*(6), 275. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060275>
397. Martínez-Burgos, W. J., Ocána, D., Manzokia, M. C., Barrosa, R. N., Vieira, R., & Soccola, C. R. (2024). Edible macromycetes as an alternative protein source: advances and trends. *Biotechnology Research and Innovation*, *8*(1), e2024002. <https://doi.org/10.4322/biori.00022024>
398. Mašková, Z., Barboráková, Z., Pilarčíková, K., Mrvová, M., & Tančinová, D. (2023). Filamentous micromycetes responsible for the spoilage of selected vegetables in the food retail chain. *JMBFS*, *12*(6)e9925. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9925>
399. Matijašević, D., Pantić, M., Rašković, B., Pavlović, V., Duvnjak, D., Sknepnek, A., & Nikšić, M. (2016). The antibacterial activity of *Coriolus versicolor* methanol extract and its effect on ultrastructural changes of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteridis*. *Frontiers of Microbiology*, *7*, 226. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01126>
400. Mattila, H., Österman-Udd, J., Mali, T., & Lundell, T. (2022). Basidiomycota fungi. Genomic perspective on key enzymes involved in generation and mitigation of reactive oxygen species. *Front Fungal Biol.*, *3*, 837605. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.837605>.
401. Matiku, S.B., Murenzi, G., Shaban, I., Msonge, A. M., Kamafa, A. E., Kitua, D. W., Kimambo, A., Mwakigonja, A. R., & Massawe, E. R. (2024). Mucormycosis: a rare forgotten but fatal disease - a case report and literature review. *J. Rare. Dis.*, *3*, 9 <https://doi.org/10.1007/s44162-024-00033-2>

402. Mau, J. L., Chang, C. N., Huang, S. J., & Chen, C. C. (2004). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chem.*, 87(1), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.026>
403. Mau, J.-L., & Ma, J.-T. (2002). Effect of 10-oxo-trans-8-decenoic acid on mycelial growth of *Pleurotus eryngii*. *Fungal Science*, 17(1–2), 1–9.
404. Mayirnao, H.-S., Sharma, K., Jangir, P., Kaur, R., & Kapoor, R. (2025). Mushroom-derived nutraceuticals in the 21st century: an appraisal and future perspectives. *Journal of Future Foods*, 5(4), 342–360. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.07.013>
405. Meade, E., Hehir, S., Rowan, N., & Garvey, M. (2022). Mycotherapy: potential of fungal bioactives for the treatment of mental health disorders and morbidities of chronic pain. *Journal of Fungi*, 8(3), 290. <https://doi.org/10.3390/jof8030290>
406. Meglar, M. J., Alonso, J., & Garcia, M. A. (2007). Removal of toxic metals from aqueous solutions by fungal biomass of *Agaricus macrosporus*. *Sci. Tot. Environ.*, 385(1–3), 12–19.
407. Mehta, S., & Jandaik, S. (2012). In vitro comparative evaluation of antibacterial activity of fruiting body and mycelial extracts of *Ganoderma lucidum* against pathogenic bacteria. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 6, 1997–2001.
408. Melo, M. R., Paccola-Meirelles, L. D., Ishikawa, N. K., & Faria, T. de J. (2009). Influence of *Flammulina velutipes* mycelia culture conditions on antimicrobial metabolite production. *Mycoscience*, 50(1), 78–81. <https://doi.org/10.1007/s10267-008-0447-z>
409. Menrida, C. (2016). Species delimitation and phylogenetic analyses of the genus *Hohenbuehelia* in central Europe (Master's thesis). University of Vienna, Vienna.
410. Mentel, R., Meinsen, D., Pilgrim, H., Herrmann, B., & Lindequist, U. (1994). In vitro antiviral effect of extracts of *Kuehneromyces mutabilis* on influenza virus. *Pharmazie*, 49, 859–860.
411. Metreveli, E., Khardziani, T., Didebulidze, K., Elisashvili, V. I. (2021). Improvement of antibacterial activity of red belt conk medicinal mushroom,

- Fomitopsis pinicola* BCC58 (Agaricomycetes), in fermentation of lignocellulosic materials. *Int. J. Med. Mushrooms*, 23(1), 27–37. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020037169>
412. Mili, S., & Rami, N. (2022). Bioactive chattels and health benefit applications of *Trametes versicolor*. *Asian J. Biol. Life Sci.*, 11(1), 29–33. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2022.11.4>
413. Mirhosseini, Z., & Khosravi, A. (2023). Fungal pathogens: emerging threats to birds and human health, assessment the relative frequency of pathogenic fungi in ornamental bird feces. *Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases*, 1(4), 20–24. <http://dx.doi.org/10.61838/kman.jpsad.1.4.4>
414. Mirończuk-Chodakowska, I., Kujawowicz, K., & Witkowska, A. M. (2021). Beta-glucans from fungi: biological and health-promoting potential in the COVID-19 pandemic era. *Nutrients*, 13, 3960. <https://doi.org/10.3390/nu13113960>
415. Mishra, K. K., Pal, R. S., Chandrashekara, C., Jain, S. K., & Bhatt, J. C. (2013). Antioxidant properties of different edible mushroom species and increased bioconversion efficiency of *Pleurotus eryngii* using locally available casing materials. *Food Chem.*, 138(2–3), 1557–1563. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.001>
416. Mišković, J., Karaman, M., Rašeta, M., Krsmanović, N., Berežni, S., Jakovljević, D., Piattoni, F., Zambonelli, A., Gargano, M. L., & Venturella, G. (2021). Comparison of two *Schizophyllum commune* strains in production of acetylcholinesterase inhibitors and antioxidants from submerged cultivation. *J. Fungi*, 7, 115. <https://doi.org/10.3390/jof7020115>
417. Mizuno, T. (1999). Medicinal effects and utilizatron of *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes) and *Isaria* Fr. (Mitosporic Fungi) Chinese caterpillar fungus, "Tochukaso" (Review). *Int. J. Med. Mushrooms*, 1(2), 251–261.
418. Mohankumar, S., & Savitha, J. (2017). Wheat flour, an inexpensive medium for in vitro cultivation of coprophilous fungus *Coprinopsis cinerea*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 7(3), 144–154. <https://doi.org/10.5943/cream/7/3/1>

419. Molitoris, H. P., & Schaumann, K. (1986). Physiology of marine fungi: a screening programme for growth and enzyme production. In: Moss, S. T. (Ed.) *The Biology of Marine Fungi*, Cambridge, UK: Cambridge Univ. Pr.
420. Montoya, S., Sánchez, Ó. J., & Levin, L. N. (2013). Polysaccharide production by submerged and solid-state cultures from several medicinal higher basidiomycetes. *Int. J. Med. Mushrooms*, 15(1), 71–79. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v15.i1.80>
421. Moody, S. C. (2014). Microbial co-culture: harnessing intermicrobial signaling for the production of novel antimicrobials. *Future Microbiol.*, 9, 575–578. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.25>
422. Moonmoon, M., Uddin, M. N., Ahmed, S., Shelly, N. J., & Khan, M. A. (2010). Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on sawdust and rice straw in Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(4), 341–345.
423. Morales-Vargas, A. T., López-Ramírez, V., Álvarez-Mejía, C., & Vázquez-Martínez, J. (2024). Endophytic fungi for crops adaptation to abiotic stresses. *Microorganisms*, 12(7), 1357. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071357>
424. Morin-Sardin, S., Nodet, P., Coton, E., & Jany, J.-L. (2017). Mucor: A Janus-faced fungal genus with human health impact and industrial applications. *Fungal Biology Reviews*, 31(1), 12–32. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.12.001>
425. Morris, H. J., Beltrán, Y., Llauro, G., Batista, P. L., Perraud-Gaime, I., García, N., Moukha, S., Bermúdez, R. C., Cos, P., Hernandez, E., & Diez, J. C. (2017). Mycelia from *Pleurotus* sp. (Oyster mushroom): a new wave of antimicrobials, anticancer and antioxidant bio-ingredients. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 4, 3. <http://doi.org/10.15171/ijpni.2017.03>
426. Moseley, R., Walker, M., Waddington, R. J., & Chen, W. Y. J. (2003). Comparison of the antioxidant properties of wound dressing materials-carboxymethylcellulose, hyaluronan benzyl ester and hyaluronan, towards

- polymorphonuclear leukocyte-derived reactive oxy-gen species. *Biomaterials*, 24(9), 1549–1557. [http://doi.org/10.1016/s0142-9612\(02\)00540-9](http://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00540-9)
427. Mshandete, A. M., & Mgonja, J. R. (2009). Submerged liquid fermentation of some Tanzanian Basidiomycetes for the production of mycelial biomass, exopolysaccharides and mycelium protein using wastes peels media. *ARPN J. Agric. Biol. Sci.*, 4(6), 1–13.
428. Mudakir, I., Hastuti, U. S., Rohman, F., & Gofur, A. (2014). The effect of cocoa pods waste as a growing media supplement on productivity and nutrient content of brown oyster mushroom (*Pleurotus cystidiosus*). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(26), 134–140.
429. Mueller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson K.-H., Lodge, D. J., May, T. W., Minter, D., Rajchenberg, M., Redhead, S. A., Ryvardeen, L., Trappe, J. M., Watling, R., & Wu, Q. (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodivers. Conserv.*, 16, 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9108-8>
430. Murata, T., & Nagashima, J. (1960). Colorimetric estimation of Vitamin A AND β -carotene with antimony pentachloride. *The Journal of Vitaminology* 6(2), 158–162. <https://doi.org/10.5925/jnsv1954.6.158>
431. Mwangi, R. W., Macharia, J. M., Wagara, I. N., Bence, R. L. (2022). The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. *Biomed. Pharmacother.*, 147, 112621. <https://doi:10.1016/j.biopha.2022.112621>
432. Mwita, L. N., Mshandete, A. M., & Lyantagaye, S. L. (2010). Improved antimicrobial activity of the Tanzanian edible mushroom *Coprinus cinereus* (Schaeff) Gray by chicken manure supplemented solid sisal wastes substrates. *J. Yeast Fungal Res.*, 1, 201–206.
433. Mykchaylova, O., Dubova, H., Lomberg, M., Negriyko, A., & Poyedinok, N. (2023). Influence of low-intensity light on the biosynthetic activity of the edible medicinal mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. *in vitro*. *Arch. Biol. Sci.*, 75(4), 489–501. <https://doi.org/10.2298/ABS230821040M>

434. Mykchaylova, O. B., Negriyko, A. M., Lopatko, K. G., & Poyedinok, N. L. (2024). Effect of colloidal solutions of metal nanoparticles and laser irradiation on biological activity of the edible medicinal macrofungus *Pleurotus eryngii* (Pleurotaceae, Agaricales) *in vitro*. *Biotechnologia acta*, *17*(6), 15–27. <https://doi.org/10.15407/biotech17.06.015>
435. Nagadesi, P. K., & Arya, A. (2013). Enzymatic combustion by ligninolytic enzymes of lignicolous fungi. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, *9*(1), 60–67. <https://doi.org/10.3126/kuset.v9i1.63844>
436. Nagai, M., Sato, T., Watanabe, H., Saito, K., Kawata, M., & Enei, H. (2002). Purification and characterization of an extracellular laccase from the edible mushroom *Lentinula edodes*, and decolorization of chemically different dyes. *Applied microbiology and biotechnology*, *60*, 327–335. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1109-2>
437. Nair, A., & Sarma, S. J. (2021). The impact of carbon and nitrogen catabolite repression in microorganisms. *Microbiological Research*, *251*, 126831. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126831>
438. Nakamura, M., Iketani, A., & Shioi, Y. (2011). A survey of proteases in edible mushrooms with synthetic peptides as substrates. *Mycoscience*, *52*(4), 234–241. <https://doi.org/10.1007/s10267-010-0089-9>
439. Nakazawa, T., Kawauchi, M., Otsuka, Y., Han, J., Koshi D., Schiphof, L. R., Pisabarro, A. G., & Honda, Y. (2024). *Pleurotus ostreatus* as a model mushroom in genetics, cell biology, and material sciences. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *108*(1), 217. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13034-4>
440. Narmuratova, Zh., Bisko, N., Mustafin, K., Al-Maali, G., Kerner, A., Bondaruk, S., Suleimenova, Zh., Kalieva, A., Akhmetsadykov, N., Zhakipbekova, A., & Lomberg, M. (2023). Biological activity of edible medicinal mushrooms of the genus *Hericium*. *Turk. J. Biochem.*, *48*(3), 290–297. <https://doi.org/10.1515/tjb-2022-0235>

441. Nasiry, D., Khalatbary, A. R., & Ebrahimzadeh, M. A. (2017). Anti-inflammatory and wound-healing potential of golden chanterelle mushroom, *Cantharellus cibarius* (Agaricomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*, 19(10), 893–903. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2017024674>
442. Nayak, M., Rath, S. S., Thirunavoukkarasu, M., Panda, P. K., Mishra, B. K., & Mohanty, R. C. (2013). Maximizing biomass productivity and CO₂ biofixation of microalga, *Scenedesmus* sp. by using sodium hydroxide. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 23(9), 1260–1268. <https://doi.org/10.4014/jmb.1302.02044>
443. Nazir, Y.; Linsaenkart, P.; Khantham, C.; Chaitep, T.; Jantrawut, P.; Chittasupho, C.; Rachtanapun, P., Jantanasakulwong, K., Phimolsiripol, Y., Sommano, S.R., Tocharus, J., Mingmalairak, S., Wongsas, A., Arjin, C., Sringarm, K., Berrada, H., Barba, F. J., & Ruksiriwanich, W. (2021). High Efficiency in vitro wound healing of *Dictyophora indusiata* extracts via anti-inflammatory and collagen stimulating (mmp-2 inhibition) mechanisms. *J. Fungi*, 7(12), 1100. <https://doi.org/10.3390/jof7121100>
444. Ng, T. B. (1998). A review of research on the protein-bound polysaccharide (polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (basidiomycetes: Polyporaceae). *Gen. Pharmacol.*, 30(1), 1–4. [https://doi.org/10.1016/s0306-3623\(97\)00076-1](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(97)00076-1)
445. Nguyen, T. M., & Ranamukhaarachchi, S. L. (2020). Effect of different culture media, grain sources, and alternate substrates on the mycelial growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(3), 223–230. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2020>
446. Nicola, D. (2023). The Role of Fungal Biotechnology and its application. *Virol. Myco.*, 12, 267.
447. Nie, L., Hao, L., Wang, T., Liu, Y., Zhang, L., & Lu, J. (2019a). Antioxidant activity of crude polysaccharides from *Fomitopsis pinicola* from different geographical origins. *Journal of Food Science*, 84(1), 60–68.
448. Nie, Y., Zhang, P., Deng, C., Xu, L., Yu, M., Yang, W., Zhao, R., & Li, B. (2019b). Effects of *Pleurotus eryngii* (mushroom) powder and soluble

- polysaccharide addition on the rheological and microstructural properties of dough. *Food Science and Nutrition*, 7(6), 2113–2122.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.1054>
449. Nigam, P. S., & Singh, A. (2014). Metabolic pathways. Production of secondary metabolites of Fungi. In: Batt, C. A., Patel, P., Tortorello, M. L. (Eds.), Robinson, R. K. (Ed.-in-chief). *Encyclopedia of food microbiology. Second edition*. UK: Elsevier, 570-579.
450. Nowacka, N., Nowak, R., Drozd, M., Olech, M., Los, R., & Malm, A. (2015). Antibacterial. Antiradical Potential and Phenolic Compounds of Thirty-One Polish Mushrooms. *PLOS 1*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140355>
451. Nowakowski, P., Markiewicz-Żukowska, R., Bielecka, J., Mielcarek, K., Grabia, M., & Socha, K. (2021). Treasures from the forest: Evaluation of mushroom extracts as anti-cancer agents. *Biomed. Pharmacother.*, 143, 112106.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112106>
452. Ogidi, O. C., Oyetayo, V. O., & Akinyele, B. J. (2015). In Vitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Extracts Obtained from Raw and Fermented Wild Macrofungus, *Lenzites quercina*. *Int. J. Microbiol.*, 106308.
<https://doi.org/10.1155/2015/106308>
453. Oh, K.-W., Lee, C.-K., Kim, Y.-S., Eo, S.-K., & Han, S.-S. (2000). Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine. *Ethnopharmacol.*, 72, 221–227.
454. Oka, K., Ishihara, A., Sakaguchi, N., Nishino, S., Parada, R. Y., Nakagiri, A., & Otani, H. (2015). Antifungal Activity of Volatile Compounds Produced by an Edible Mushroom *Hypsizygus marmoreus* against Phytopathogenic Fungi. *J Phytopathol*, 163, 987–996.
455. Okamura, K., Suzuki, M., Chihara, T., Fujiwara, A., Fukuda, T., Goto, S., Ichinohe, K., Jimi, S., Kasamatsu, T., & Kawai, N. (1986). Clinical evaluation of schizophyllan combined with irradiation in patients with cervical cancer. A randomized controlled study. *Cancer*, 58(4), 865–872.

[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19860815\)58:4<865::aid-cncr2820580411>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19860815)58:4<865::aid-cncr2820580411>3.0.co;2-s)

456. Okeke, B. C., Paterson, A., Smith, J. E., & Watson-Craik, I. A. (1994). The relationship between phenol oxidase activity, soluble protein, and ergosterol with growth of *Lentinus* species in oak sawdust logs. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *41*(1), 28–31. <https://doi.org/10.1007/BF00166077>
457. Okuno, K., & Uno, K. (2011). Efficacy of orally administered *Lentinula edodes* mycelia extract for advanced gastrointestinal cancer patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, *12*(7), 1671–1674.
458. Onar, O., Akata, I., Celep, G. S., & Yildirim, O. (2016). Antioxidant activity of extracts from the Red-Belt Conk medicinal mushroom, *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes), and its modulatory effects on antioxidant enzymes. *Int. J. Med. Mushrooms*, *18*, 501–508. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i6.40>
459. Ooi, V. E. C., & Liu, F. (2000). Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Curr. Med. Chem.*, *7*(7), 715–729.
460. Osińska-Jaroszuk, M., Jarosz-Wilkołazka, A., Jaroszuk-Ściśeł, J., Szałapata, K., Nowak, A., Jaszek, M., Ozimek, E., & Majewska, M. (2015). Extracellular polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: Production conditions, biochemical characteristics, and biological properties. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, *31*(12), 1823–1844. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1937-8>
461. Osman, M. E., Hassan, F. R. H., Khattab, O. H., Ahmed, W. A., & El-Henawy, H. E. (2009). Physiological studies on growth of two different strains of *Lentinus edodes*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *3*(4), 4094–4103.
462. Owaid, M. N. (2017). Antagonistic role of hypha and cell-free culture filtrates of medicinal mushrooms to *Verticillium* sp. and *Pythium* sp. fungal pathogens. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, *7*(2), 94–102. <https://doi.org/10.5943/cream/7/2/6>
463. Owaid, M. N., Al-Saeedi, S. S. S., & Al-Assaffii, I. A. A. (2015). Antimicrobial activity of mycelia of Oyster mushroom species (*Pleurotus* spp.) and their liquid

- filtrates (*in vitro*). *J. Med. Bioeng.*, 4, 376–380.
<https://doi.org/10.12720/jomb.4.5.376-380>
464. Owaid, M. N., Al-Saedi, S. S. S., Al-Assaffii, I. A. A., Shahbazi, P., & Sabaratnam, V. (2016). Antifungal activities of some *Pleurotus* species (higher basidiomycetes). *Walailak. J. Sci. Technol.*, 14(3), 215–224.
465. Owense, M., Reddyc, A., & Grethleinh, E. (2014). Outcome of interspecific interactions among brown-rot and white-rot wood decay fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 14(1), 19–24. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1994.tb00086.x>
466. Özdal, M., Gülmez, Ö., Gür Özdal, Ö., Algur, Ö.F. (2019). Antibacterial and Antioxidant Activity of Mycelial Extracts of Different *Pleurotus* Species. *Food and Health*, 5(1), 12–18. <https://doi.org/10.3153/FH19002>
467. Paludo, L. C., Salles, P. M. S., de França, J. S., Strobel, C. S., Soccol, C. R., & Spier, M. R. (2023). Wheat milling by-products: an alternative to produce amylolytic enzymes by mushrooms strains. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 66, e23210514. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2023210514>
468. Panda, M. K., Paul, M., Singdevsachan, S. K., Tayung, K., Das, S. K., & Thatoi, H. (2021). Promising Anti-cancer Therapeutics From Mushrooms: Current Findings and Future Perceptions. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 22. <https://doi.org/10.2174/1389201021666201008164056>
469. Pant, D., Adhikari, M., Joshi, S., & Joshi, N. (2020). Exploring agro-industrial wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Heliyon*, 6(8), e04688. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04688>
470. Papaspyridi, L.-M., Katapodis, P., GonouZagou, Z., Kapsanaki-Gotsi, E., & Christakopoulos, P. (2010). Optimisation of biomass production with enhanced glucan and dietary fibres content by *Pleurotus ostreatus* ATHUM 4438 under submerged culture. *Bioch. Engin. J.*, 50(3), 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.04.008>
471. Papon, N., Courdavault, V., Clastre, M., & Bennett, R. J. (2013). Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. *PLoS Pathog.*, 9, e1003550. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003550>

472. Park, H.-J. (2022). Current Uses of Mushrooms in Cancer Treatment and Their Anticancer Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 10502. <https://doi.org/10.3390/ijms231810502>
473. Park, K. M., Kwon, K. M., & Lee, S. H. (2015). Evaluation of the antioxidant activities and tyrosinase inhibitory property from mycelium culture extracts. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 616298. <http://doi.org/10.1155/2015/616298>
474. Penalva, M. A., Tilburn, J., Bignell, E., & Arst, J. H. N. (2008). Ambient pH gene regulation in fungi: making connections. *Trends in Microbiology*, 16, 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.03.006>
475. Petre, M., & Petre, V. (2013). Environmental biotechnology for bioconversion of agricultural and forestry wastes into nutritive biomass. In: Petre M. (Ed.), *Environmental biotechnology-new approaches and prospective applications*. Croatia: InTech., 1–22. <https://doi.org/10.5772/55204>
476. Petre, M., & Teodorescu, A. (2009). Biotechnology for in vitro growing of edible and medicinal mushrooms on wood wastes. *Annals of Forest Research*, 52(1), 129–136. <https://doi.org/10.15287/afr.2009.129>
477. Pettit, R. K. (2011). Culturability and secondary metabolite diversity of extreme microbes: expanding contribution of deep sea and deep-sea vent microbes to natural product discovery. *Mar. Biotechnol.*, 13, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9294-y>
478. Phadke, M. V., Jadhav, A. C., Dhavale, M. C., & Hasabnis, S. N. (2020). Effect of cultural variability on mycelial growth of eleven mushroom isolates of *Pleurotus* spp. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(6), 881–888.
479. Pidlisnyuk, V., Mamirova, A., Newton, R. A., Stefanovska, T., Zhukov, O., Tsygankova, V., & Shapoval, P. (2022). The role of plant growth regulators in *Miscanthus × giganteus* utilisation on soils contaminated with trace elements. *Agronomy*, 12(12), 2999. <https://doi.org/10.3390/agronomy12122999>
480. Pilafidis, S., Diamantopoulou, P., Gkatzionis, K., & Sarris, D. (2022). Valorization of Agro-Industrial Wastes and Residues through the Production of

- Bioactive Compounds by Macrofungi in Liquid State Cultures: Growing Circular Economy. *Applied Sciences*, 12(22), 11426. <https://doi.org/10.3390/app122211426>
481. Pilafidis, S., Tsouko, E., Sougleri, G., Diamantopoulou, P., Gkatzionis, K., Ioannou, Z., & Sarris, D. (2024). Submerged cultivation of selected macro-fungi to produce mycelia rich in β -glucans and other bioactive compounds, valorizing side streams of the food industry. *Carbon Resources Conversion*, 2, 100198 <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2023.09.002>
482. Pluzhnyk, A., Petlovana, V., & Dzhagan, V. (2025). Rapid and efficient method for dna extraction from fungi of the genus *Morchella* Dill. ex Pers. *Mikrobiolohichni Zhurnal*, 87(1), 47–53. <https://doi.org/10.15407>
483. Podkowa, A., Kryczyk-Poprawa, A., Opoka, W., & Muszynska, B. (2021). Culinary–medicinal mushrooms: a review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* 247, 513–533. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03646-1>
484. Pointing, S. B., & Vrijmoed, L. L. P. (2000). Decolourization of azo and triphenylmethane dyes by *Pycnoporus sanguinus* producing laccase as the sole phenoloxidase. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 317–318.
485. Poonawalla, F. M., & Iyengar, M. R. (1965). Microbiological assay of vitamin B12 in the presence of tetracycline. *Applied Microbiology*, 13(5), 755–756. <https://doi.org/10.1128/am.13.5.755-756.1965>
486. Popova, T. P. (2015). Investigations on antimicrobial activity in vitro of liquid cultures of *Cantharellus cibarius*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(3), 674–683.
487. Poucheret, P., Fons, F., & Rapior, S. (2006). Biological and Pharmacological Activity of Higher Fungi: 20-Year Retrospective Analysis. *Cryptogamie, Mycologie*, 27(4), 311–333.
488. Poulsen, S. M., Karlsson, M., Johansson, L. B., & Vester, B. (2001). The pleuromutilin drugs tiamulin and valnemulin bind to the RNA at the peptidyl

- transferase centre on the ribosome. *Mol. Microbiol.*, 41(5), 1091–1099.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02595.x>
489. Prakash Goud, M. J., Suryam, A., Vadlakonda, L., & Charya, M. (2009). Extracellular hydrolytic enzyme profiles of certain South Indian basidiomycetes. *African Journal of Biotechnology*, 8, 354–360.
490. Prasad, R., Varshney, V. K., Harsh, N. S., & Kumar, M. (2015). Antioxidant capacity and total phenolics content of the fruiting bodies and submerged cultured mycelia of sixteen higher basidiomycetes mushrooms from India. *Int. J. Med. Mushrooms*, 17(10), 933–41. <https://doi:10.1615/intjmedmushrooms.v17.i10.30>
491. Prusky, D., McEvoy, J. L., Leverentz, B., & Conway, W. S. (2001). Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(9), 1105–1113.
492. Przybylowicz, P., & Donoghue, J. (1990). *Shiitake growers handbook: the art and science of mushroom cultivation*. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company.
493. Purkayastha, R. P., & Mitra, A. K. (1992). Metal uptake by mycelia during submerged growth and by sporocarps of an edible fungus *Volvariella volvacea*. *Ind. J. Exp. Biol.*, 30(12), 1184–1187.
494. Purnomo, A. S., Sariwati, A., & Kamei, I. (2020). Synergistic interaction of a consortium of the brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* and the bacterium *Ralstonia pickettii* for DDT biodegradation. *Heliyon*, 6(6), e04027. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04027>
495. Pushpa, H., & Purushothama, K.B. (2010). Antimicrobial Activity of *Lyophyllum decastes* an edible wild mushroom. *World J. Agric. Sci.*, 6(5), 506–509.
496. Quattlebaum, E. C., & Carner, G. R. (1980). A technique for preparing *Beauveria* spp. For scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany*, 58(15), 1700–1703. <https://doi.org/10.1139/b80-198>
497. Queiros, B., Barreira, J. C. M., Sarmiento, A. C., & Ferreira, I. C. F. R. (2009). In search of synergistic effects in antioxidant capacity of combined edible

- mushrooms. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(6), 160–172. <http://doi.org/10.1080/09637480903153845>
498. Quiñónez-Martínez, M., Peña-Avilés, K., Martínez-Ruiz, N. R., Garza-Ocañas, F., Nájera-Medellín, J. A., & Olivas-Sánchez, M. P. (2022). Production of *Pleurotus ostreatus* cultivated in substrates made from two invasive weeds. *Agrociencia*, 56(3). <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2796>
499. Rahi, D. K., & Malik, D. (2016). Diversity of Mushrooms and Their Metabolites of
500. Nutraceutical and Therapeutic Significance. *Journal of Mycology*. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7654123>
501. Raman, J., Jang, K. Y., Oh, Y. L., Oh, M., Im, J. H., Lakshmanan, H., & Sabaratnam, V. (2020). Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: An overview. *Mycobiology*, 49(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1835142>
502. Ranadive, K. R., Belsare, M. H., Deokule, S. S., Jagtap, N. V., Harshada, K. J., Vaidya, J. G. (2013). Glimpses of antimicrobial activity of fungi from world. *J. New Biol. Rep.*, 2, 142–162.
503. Ray, A. (2012). Protease enzyme - potential industrial scope. *Int. J. Tech.*, 2(1), 1–4.
504. Rayner, A. D., Griffith, G. S., & Wildman, H. G. (1994). Induction of metabolic and morphogenetic changes during mycelial interactions among species of higher fungi. *Biochem. Soc. Trans.*, 22(2), 389–394. <http://dx.doi.org/10.1042/bst0220389>
505. Reale, J. (2018). *The impact of a fungus-feeding nematode (Aphelenchoides sp.) on decomposition of trembling aspen wood by various wood-decay fungi* (Bachelor's thesis, Lakehead University). Thunder Bay, Ontario, Canada.
506. Rebbapragada, D. P., & Rajagopal, K. (2016). Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Xylaria feejeensis* HMJAU22039. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 269–273. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9s2.13734>

507. Reddy, G. V., Shah, M. P., & Kothari, I. L. (2002). Effect of vitamins and growth regulators on growth and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Indian Journal of Microbiology*, *42*(4), 335–337.
508. Refaie, F. M., Esmat, A. Y., Daba, A. S., & Taha, S. M. (2009). Characterization of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium: assessment of toxicity and immunomodulation *in vivo*. *Micologia Aplicata Internacional*, *21*(2), 67–75.
509. Reis, F. S., Barros, L., Martins, A., & Ferreira, I. C. (2012a). Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(2), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.056>
510. Reis, F. S., Martins, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2012b). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between *in vivo* and *in vitro* samples. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(5), 1201–1207. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.013>
511. Ren, G., Xu, L., Lu, T., & Yin, J. (2018). Structural characterization and antiviral activity of lentinan from *Lentinus edodes* mycelia against infectious hematopoietic necrosis virus. *Int. J. Biol. Macrom.*, *115*, 1202–1210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.132>
512. Reshetnyk, K. (2020). Peculiarities of protein synthesis in *Pleurotus ostreatus* mycelium for laser irradiation. *Notes in Current Biology*, *2*(390), 25–30. <https://doi.org/10.29038/2617-4723-2020-390-2-25-30>
513. Reza, A. S., M., Vahidi, H., & Kobarfard, F. (2018). Optimization of growth conditions of *Lentinus edodes* mycelium and polysaccharides on walnut shell by-products using response surface analysis. *Iran. J. Pharm. Res.*, *17*(4), 1509–1522.
514. Rigoulet, M., Bouchez, C. L., Paumard, P., Ransac, S., Cuvellier, S., Duvezin-Caubet, S., Mazat, J. P., & Devin, A. (2020). Cell energy metabolism: An update. *Biochimica et biophysica acta. Bioenergetics*, *1861*(11), 148276. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2020.148276>

515. Risoli, S., Nali, C., Sarrocco, S., Cicero, A. F. G., Colletti, A., Bosco, F., Venturella, G., Gadaleta, A., Gargano, M. L., & Marcotuli, I. (2023). Mushroom-based supplements in Italy: let's open pandora's box. *Nutrients*, *15*(3), 776. <https://doi.org/10.3390/nu15030776>
516. Rodríguez-Roque, M. J., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2018). Methods for Determining the Antioxidant Capacity of Food Constituents. Chapter 36. In: Yahia, E. M. (Ed.). *Fruit and Vegetable phytochemicals: Chemistry and Human Health. Volume I, Second Edition*. John Wiley & Sons Ltd. P. 803–816. <https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch36>
517. Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Mateus-Reguengo, L., Bertolino, M., Stévigny, C. C., & Zeppa, G. (2019). Effects of particle size and extraction methods on cocoa bean shell functional beverage. *Nutrients*, *11*(4), 867. <https://doi.org/10.3390/nu11040867>
518. Rosa, L. H., Machado, K. M. G., Jacob, C. C., Capelari, M., Rosa, C. A., & Zanil C. L. (2003). Screening of Brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, *98*(7), 967–974.
519. Rosales, E., Couto, S.R., & Sanromán, A. (2002). New uses of food waste: application to laccase production by *Trametes hirsute*. *Biotechnology Letters*, *24*, 701–704. <https://doi.org/10.1023/A:1015234100459>
520. Rosero-Chasoy, G., Rodríguez-Jasso, R. M., Aguilar, C. N., Buitrón, G., Chairez, I., & Ruiz, H. A. (2021). Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation – an overview. *Bioresource technology*, *321*, 124458. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124458>
521. Rossman, A. (1994). A strategy for an all-taxa inventory of fungal biodiversity. In: Peng, C. I., Chou, C. H. (Eds.), *Biodiversity and terrestrial ecosystems*. Academia Sinica, Monograph, Series No. 14, Taipei, pp. 169–194.
522. Royse, D. J., Bahler, B. D., & Bahler, C. C. (1990). Enhanced yield of Shiitake by saccharide amendment of the synthetic substrate. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(2), 479–482.

523. Ruán-Soto, F., Garibay-Orije, R., & Cifuentes, J. (2006). Process and dynamics of traditional selling of wild edible mushrooms in tropical Mexico. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, 2(3), 1–13.
524. Rubio-Portillo, E., Orts, D., Llorca, E., Fernández, C., Antón, J., Ferrer, C., Gálvez, B., Esteban, V., Revelles, E., Pérez-Martín, C., Gómez-Imbernón, E., Adsuar, J., Piqueras, P., Amat, B., Franco, J., & Colom, M. F. (2020). The domestic environment and the lung mycobiome. *Microorganisms*, 8(11), 1717. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111717>
525. Rudic, V., & Dvornina, A. (2001). Deep culturing of *Lentinus* genus edible mushrooms on lignocellulose substrate. *Romanian Biotechnology Letters*, 6(5), 423–427.
526. Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabrimi, F. M., Palai, S., Deb, P. K., & Devi, R. (2022). Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: Insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism(s) of action. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 806470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806470>
527. Rukanikigitero, J. M. V., Mulyowa, G., Kabanda, T., Itabangi, H., Nshimirimana, D. A. & Nenoff, P. (2021). The clinical presentations, etiology and factors associated with foot mycoses among patients attending dermatology clinic at Mbarara Regional Referral Hospital, Mbarara, Uganda. *East African Medical Journal*, 3955–3965.
528. Ryu, J.-S., Kim, M.-K., Kwon, J.-H., Cho, S.-H., Kim, N.-K., Rho, C.-W., Lee, C.-H., Ro, H.-S., & Lee, H.-S. (2007). The growth characteristics of *Pleurotus eryngii*. *The Korean Journal of Mycology*, 35(1), 47–53.
529. Sadik, M. W., & Barakat, O. S. (2014). Mycelial growth and bioactive substance production of *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(4), 1–12.
530. Salvador, C., Martins, M. R., Candeias, M. F., Karmali, A., Arteiro, J. M., & Caldeira, A. T. (2012). Characterization and biological activities of protein-bound

- polysaccharides produced by cultures of *Pleurotus ostreatus*. *J. Agric. Sci. Technol.*, 2(11A), 1296–1306.
531. Samaranayake, Y. H., & Samaranayake, L. P. (1994). *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *J. Med. Microbiol.*, 41(5), 295–310. <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-41-5-295>
532. Samaranayake, Y. H., Wu, P. C., Samaranayake, L. P., So, M., & Yuen, K. Y. (1994). Adhesion and colonisation of *Candida krusei* on host surfaces. *J. Med. Microbiol.*, 41(4), 250–258. <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-41-4-250>
533. Sánchez, C. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synth. Syst. Biotechnol.*, 2(1), 13–22. <https://doi:10.1016/j.synbio.2016.12.001>
534. Sandargo, B., Thines, E., & Shaaban, K. A. (2018). Bioactive secondary metabolites from fungi: Toward the development of therapeutic agents. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1740.
535. Sandoval K. E. (2023). Changes in reported dietary supplement use in cognitively normal national alzheimer’s coordinating center participants aged 55 and older from 2015 to 2019. *The Journal of nutrition*, 153(6), 1771–1782. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.04.004>
536. Sangdee, A., Sangdee, K., Buranrat, B., & Thammawat, S. (2018). Effects of mycelial extract and crude protein of the medicinal mushroom, *Ophiocordyceps sobolifera*, on the pathogenic fungus, *Candida albicans*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17, 2449–2454. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i12.21>
537. Saparrat, M. C., Bucsinzky, A. M. M., Tournier, H. A., Cabello, M. N., & Arambari, A. M. (2000). Extracellular ABTS-oxidizing activity of autochthonous fungal strains from Argentina in solid medium. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, 64–68.
538. Sarangi, I., Ghosh, D., Bhutia, S. K., Mallick, S. K., & Maiti, T. K. (2006). Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Intern. Immunopharmacol.*, 6(8), 1287–1297.

539. Sardar, H., Ali, M. A., Ayyub, C. M., & Ahmad, R. (2015). Effects of different culture media, temperature, and pH levels on the growth of wild and exotic *Pleurotus* species. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 27(2), 139–145.
540. Sarkar, S., Koga, J., Whitley, R. J., & Chatterjee, S. (1993). Antiviral effect of the extract of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia on the replication of herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res*, 20(4), 293–303. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(93\)90073-r](https://doi.org/10.1016/0166-3542(93)90073-r)
541. Saskiawan, I. (2009). Exopolysaccharide production and its bioactivities of the edible *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *Biotropia*, 16(2), 96–104.
542. Savoie, J., Mata, G., & Billette, C. (1998). Extracellular laccase production during hyphal interactions between *Trichoderma* sp. and Shiitake, *Lentinula edodes*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 49, 589–593. <https://doi.org/10.1007/s002530051218>
543. Saxena, R., & Singh, R. (2011). Amylase production by solid-state fermentation of agro-industrial wastes using *Bacillus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1334–1342. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220110004000014>
544. Sayed-Ahmad, B., Urrutigoity, M., Hijazi, A., Saad, Z., Cerny, M., Evon, P., Talou, T., & Merah, O. (2022). Amaranth Oilseed Composition and Cosmetic Applications. *Separations*, 9(7), 181. <https://doi.org/10.3390/separations9070181>
545. Schleger, B., Luhman, U., Härtl, A., & Gräfe, U. (2000). Piptamine, a new antibiotic from *Piptoporus betulinus* Lu 9-1. *The J. Antibiotics*, 53, 973–974.
546. Schünemann, H. J., McCann, S., Grant, B. J. B., Trevisan, M., Muti, P., & Freudenheim, J. L. (2002). Lung function in relation to intake of carotenoids and other antioxidant vitamins in a population-based study. *American Journal of Epidemiology*, 155(5), 463–471. <http://doi.org/10.1093/aje/155.5.463>
547. Schwan, W. R., Dunek, C., Gebhardt, M., Engelbrecht, K., Klett, T., Monte, A., Toce, J., Rott, M., Volk, T. J., LiPuma, J. J., Liu, X. T., & McKelvey, R. (2010). Screening a mushroom extract library for activity against *Acinetobacter baumannii* and *Burkholderia cepacia* and the identification of a compound with

- anti-Burkholderia activity. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 9, 4.
<https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-4>
548. Selegato, D. M., & Castro-Gamboa, I. (2023). Enhancing chemical and biological diversity by co-cultivation. *Front. Microbiol.*, 14, 1117559.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1117559>
549. Seshikala, D., & Singara Charya, M. A. (2012). Collection and screening of basidiomycetes for better lignin degraders. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Reseach*, 1(4), 203–211.
550. Sevindik, M., Akgul, H., Akata, I., Alli, H., & Selamoglu, Z. (2017). The benefits of natural antioxidants make the need to develop useful strategies to improve their synthesis. *Acta Alimentaria*, 46(4), 464–469.
<https://doi.org/10.1556/066.2017.46.4.9>
551. Sharifi-Rad, J., Butnariu, M., Ezzat, S. M., Adetunji, C. O., Imran, M., Sobhani, S. R., Tufail, T., Hosseinabadi, T., Ramírez-Alarcón, K., Martorell, M., Maroyi, A., & Martins, N. (2020). Mushrooms-Rich Preparations on Wound Healing: From Nutritional to Medicinal Attributes. *Front. Pharmacol.*, 11, 567518.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.567518>
552. Sharma, E., Bairwa, R., Lal, P. et al. (2024). Edible mushrooms trending in food: Nutrigenomics, bibliometric, from bench to valuable applications. *Heliyon*, 10(17), e36963
553. Sharvit, L. E., Wasser, S. P., & Fares, F. (2012). The effect of culture liquid ethyl acetate mycelium extracts of medicinal mushrooms on the viability of human pancreatic cancer cells. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(2), 169–179. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i2.50>
554. Shih, I.-L., Pan, K., & Hsieh, C. (2006). Influence of nutritional components and oxygen supply on the mycelial growth and bioactive metabolites production in submerged culture of *Antrodia cinnamomea*. *Process Biochemistry*, 41(5), 1129–1135. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.005>
555. Shih, I.-L., Tsai, K.-L., & Hsieh, C. (2007). Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of

- Cordyceps militaris*. *Biochemical Engineering Journal*, 33(1), 193–201.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.10.019>
556. Shmarakov, I.A., Katan, N. V. (2011). The induction of Guerin's carcinoma cytochrome P450 hydroxylase activity by retinoids. *Biochemistry (Mosc.) Suppl Series B: Biomed chem.*, 5(4): 369–375.
557. Shraddha, Shekher, R., Sehgal, S., Kamthania, M., & Kumar, A. (2011). Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Enzyme Res.*, 217861.
<https://doi.org/10.4061/2011/217861>
558. Shu, C.-H., Xu, C.-J., & Lin, G.-C. (2006). Purification and partial characterization of a lipase from *Antrodia cinnamomea*. *Process Biochemistry*, 41, 734–738.
559. Silva, S., Martins, S., Karmali, A., & Rosa, E. (2012). Production, purification and characterisation of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* with antitumor activity. *J. Sci. Food Agric.*, 92(9), 1826–1832. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5560>
560. Singh, J., & Tripathi, N. N. (1999). Inhibition of storage fungi of black gram (*Vigna mungo* L.) by some essential oils. *Flavour Fragrance J.*, 14, 1–4.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199901/02\)14:1<1::AID-FFJ735>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199901/02)14:1<1::AID-FFJ735>3.0.CO;2-R)
561. Singh, S. K., & Pathak, R. (2018). Cultivation, Conservation and Medicinal Significance of Macrofungi. In: Gehlot, P., Singh, J. (Eds.) *Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*. Singapore: Springer.
https://doi.org/10.1007/978-981-13-0393-7_1
562. Sittiwet, C., & Puangpronpitag, D. (2008). Anti-staphylococcus aureus activity of *Phellinus igniarius* aqueous extract. *Int. J. Pharmac.*, 4, 503–505.
563. Sivanandhan, S., Khusro, A., Paulraj, M. G., Ignacimuthu, S., & Al-Dhabi, N. A. (2017). Biocontrol Properties of Basidiomycetes: An Overview. *Journal of Fungi*, 3(1), 2. <https://doi.org/10.3390/jof3010002>

564. Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., & Oh, J. W. (2022). Mushroom polysaccharide-assisted anticarcinogenic mycotherapy: Reviewing its clinical trials. *Molecules*, 27(13), 4090. <https://doi.org/10.3390/molecules27134090>
565. Song, C. H., Cho, K. Y., & Nair, N. G. (1987). A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*, 79(6), 866–876. <https://doi.org/10.1080/00275514.1987.12025475>
566. Song, X., Gaascht, F., Schmidt-Dannert, C., & Salomon, C. E. (2020). Discovery of Antifungal and Biofilm Preventative Compounds from Mycelial Cultures of a Unique North American *Hericium* sp. Fungus. *Molecules*, 25(4), 963. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25040963>
567. Souilem, F., Fernandes, Â., Calhella, R. C., Barreira, J. C. M., Barros, L., Skhiri, F., Martins, A., Ferreira, I. C. F. R. (2017). Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties. *Food Chem.*, 230, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.026>
568. Soylu, M. K., Boztok, K., & Esiyok, D. (2014). Mycelial growth performance of the *Pleurotus eryngii* species complex strains at different temperatures. *Acta Horticulturae*, 1123, 147–152. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1123.29>
569. Stachowiak, B., & Reguła, J. (2012). Health-promoting potential of edible macromycetes under special consideration of polysaccharides: a review. *Eur. Food. Res. Technol.*, 234, 369–380. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1656-9>
570. Stajic, M., Vukojević, J., & Duleti-Laušević, S. (2009). Biology of *Pleurotus eryngii* and role in biotechnological processes: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29(1), 55–66. <https://doi.org/10.1080/07388550802688821>
571. Stajic, M., Vukojevic, J., Knežević, A., Duletic, S., & Milovanovic, I. (2013). Antioxidant protective effects of mushroom metabolites. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13(21), 2660–2676. <http://doi.org/10.2174/15680266113136660192>

572. Stamets, P. E. Antipox properties of *Fomitopsis officinalis* (ViLll.:Fr.) Bondartsev et Singer (Agarikon) from the pacific northwest of North America. *Int. J. Med. Mushrooms* 7, 495–506 (2005).
573. Stamets, P. E., Naeger, N. L., Evans, J. D. Han, J.O., Hopkins, B. K., Lopez, D., Moershel, H. M., Nally, R., Sumerlin, D., Taylor, A. W., Carris, L. M., & Sheppard, W. S. (2018). Extracts of Polypore Mushroom Mycelia Reduce Viruses in Honey Bees. *Sci Rep.*, 8, 13936. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32194-8>
574. Standish, L. J., Wenner, C. A., Sweet, E. S., Bridge, C., Nelson, A., Martzen, M., Novack, J., & Torkelson, C. (2008). *Trametes versicolor* mushroom immune therapy in breast cancer. *J. Soc. Integr. Oncol.*, 6(3), 122-128.
575. Stenglein, S. A. (2009). *Fusarium poae*: a pathogen that needs more attention. *J. Plant Pathol.*, 91(1), 25–36. <http://www.jstor.org/stable/41998571>
576. Suay, I., Arenal, F., Asensio, F. J., Basilio, A., Cabello, M. A., Díez, M. T., García, J. B., del Val, A. G., Gorrochategui, J., Hernández, P., Peláez, F., & Vicente, M. F. (2000). Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78(2), 129–139. <https://doi.org/10.1023/a:1026552024021>
577. Suberu, S. A., Isikhuemhen, O. S., Ogundare, T. E., Ekunseitan, D. A., & Fasina, Y. O. (2024). Benefits of mushroom-based supplements on growth performance, immunocompetence, and meat quality in Poultry. *Animals*, 14(11), 1517. <http://doi.org/10.3390/ani14111517>
578. Sulkowska-Ziaja, K., Muszynska, B., Motyl, P., Pasko, P., & Ekiert, H. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity in some species of polyporoid mushrooms from Poland. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(4), 385–393. <http://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i4.60>
579. Sun, H., Zhao, C. G., Tong, X., & Qi, Y. P. (2003). A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 36(2), 214-22. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2003.36.2.214>

580. Sun, X., Hao, L., Ma, H., Li, T., Zheng, L., Ma, Z., Zhai, G., Wang, L., Gao, S., Liu, X., Jia, M., & Jia, L. (2014). Extraction and *in vitro* antioxidant activity of exopolysaccharide by *Pleurotus eryngii* SI-02. *Braz. J. Microbiol.*, *44*(4), 1081–1088. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000400009>
581. Suruga, K., Tomita, T., & Kadokura, K. (2022). Medicinal mushroom mycelia: characteristics, benefits, and utility in soybean fermentation. In book: Functional Food. <https://doi:10.5772/intechopen.102522>
582. Suthar, M., Dufossé, L., & Singh, S. K. (2023). The Enigmatic world of fungal melanin: A Comprehensive Review. *Journal of Fungi*, *9*(9), 891. <https://doi.org/10.3390/jof9090891>
583. Sydor, M., Cofta, G., Doczekalska, B., & Bonenberg, A. (Morr2022). Fungi in mycelium-based composites: Usage and recommendations. *Materials*, *15*(18), 6283. <https://doi.org/10.3390/ma15186283>
584. Tan, Y. H., & Moore, D. (1992). Convenient and effective methods for *in vitro* cultivation of mycelium and fruiting bodies of *Lentinus edodes*. *Mycological Research*, *96*(11), 1077–1084. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80119-6](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80119-6)
585. Tang, C., Zhang, J., Liu, Y., Tang, Y., Wang, P., & Feng, J. (2023). Effects of pH on metabolites and antioxidant activities of *Ganoderma lingzhi* liquid fermentation. *Mycosystema*, *42*(2), 570-583. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.220177>
586. Tang, Y.-J., Zhu, L.-W., Li H.-M., & Li D.-S. (2007). Submerged culture of mushrooms in bioreactors – challenges, current state-of-the-art, and future prospects. *Food Technol. Biotechnol.*, *45*(3), 221–229.
587. Taşkin, M., Erdal, S., & Genisel, M. (2011). Biomass and exopolysaccharide production by *Morchella esculenta* in submerged culture using the extract from waste loquat (*Eriobotrya japonica* L.) Kernels. *J. Food Process. Preserv.*, *35*(5), 623–630. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2010.00510.x>
588. Tatarusanu, S. -M., Lupascu, F. -G., Profire, B. -S., Szilagyi, A., Gardikiotis, I., Iacob, A. -T., Caluian, I., Herciu, L., Giscă, T. -C., Baican, M. -C., Crivoi, F., &

- Profire, L. (2023). Modern Approaches in Wounds Management. *Polymers*, *15*(17), 3648. <https://doi.org/10.3390/polym15173648>
589. Tee, E. S., Young, S. I., Ho, S. K., & Mizura, S. S. (1988). Determination of vitamin C in fresh fruits and vegetables using the dye-titration and microfluorometric methods. *Pertanika*, *11*(1), 39-44.
590. Tešanović, K., Pejin, B., Šibul, F., Matavulj, M., Rašeta, M., Janjušević, L., & Karaman, M. (2017). A comparative overview of antioxidative properties and phenolic profiles of different fungal origins: fruiting bodies and submerged cultures of *Coprinus comatus* and *Coprinellus truncorum*. *J. Food Sci. Technol.*, *54*, 430–438. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2479-2>
591. Thakur, D., Sud, D., Riya, & Kumar, P. (2023). Biofortification of wheat straw with organic additives and its effect on morphological parameters and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.. *Himachal Journal of Agricultural Research*, *49*(2), 212–218.
592. Thambugala, K. M., Daranagama, D. A., Tennakoon, D. S., Jayatunga, D. P. W., Hongsanan, S., & Xie, N. (2024). Humans vs. fungi: an overview of fungal pathogens against humans. *Pathogens*, *13*(5), 426. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050426>
593. Thorn, R. G., Moncalvo, J. M., & Hibbet, D. S. (2000). Phylogenetic analyses and the distribution of nematophagy support a monophyletic *Pleurotaceae* within the polyphyletic pleurotoid-lentinoid fungi. *Mycologia*, *92*(2), 241–252. <https://doi.org/10.2307/3761557>
594. Tie, L., Yang, H. Q., An, Y., Liu, S. Q., Han, J., Xu, Y., Hu, M., Li, W. D., Chen, A. F., Lin, Z. B., & Li, X. J. (2012). *Ganoderma lucidum* polysaccharide accelerates refractory wound healing by inhibition of mitochondrial oxidative stress in type 1 diabetes. *Cell Physiol. Biochem.*, *29*(3-4), 583-594. <https://doi.org/10.1159/000338512>
595. Todorov, S.K., Orban, A., Hammer, A., Oberpaul, M., Back, C., Jansen, C.L., Hogley, T.J., Rühl, M., & Bang-Berthelsen, C.H. (2024). Interactions between two strains of lactic acid bacteria and *Laetiporus sulphureus* strain FH24 and FH319,

- and *Wolfiporia cocos* strain FH9 mycelium. *LWT*, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115891>
596. Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., & Lortet-Tieulent, J. (2015). Global cancer statistics, 2012. *Cancer: J. Clin.*, *65*(2), 87-108.
597. Törös, G., El-Ramady, H., Prokisch, J., Velasco, F., Llanaj, X., Nguyen, D. H. H., & Peles, F. (2023). Modulation of the gut microbiota with prebiotics and antimicrobial agents from *Pleurotus ostreatus* mushroom. *Foods*, *12*(10), 2010. <https://doi.org/10.3390/foods12102010>
598. Trakulsrichai, S., Sriapha, C., Tongpoo, A., Udomsubpayakul, U., Wongvisavakorn, S., Srisuma, S., & Wananukul, W. (2017). Clinical characteristics and outcome of toxicity from *Amanita* mushroom poisoning. *Int. J. Gen. Med.*, *10*, 395–400.
599. Tsygankova, V. A., Andreev, A. M., Andrusevich, Y. V., Pilyo, S. G., & Brovarets, V. S. (2023a). Effect of plant growth regulators and fertilizers on the vegetative growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Scientific Heritage*, *116*(116), 3–9. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8129039>
600. Tsygankova, V. A., Andrusevich, Y. V., Kopich, V. M., Voloshchuk, I. V., Pilyo, S. G., Klyuchko, S. V., & Brovarets, V. S. (2023b). Application of pyrimidine and pyridine derivatives for regulation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, *8*(6), 19–28. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8020671>
601. Tsygankova, V. A., Andrusevich, Y. V., Shtompel, O. I., Romaniuk, O. V., Yaikova, M. Y., Hurenko, A. O., Solomyanny, R. M., Abdurakhmanova, E. R., Klyuchko, S. V., Holovchenko, O. V., Bondarenko, O. M., & Brovarets, V. S. (2017). Application of synthetic low molecular weight heterocyclic compounds derivatives of pyrimidine, pyrazole and oxazole in agricultural biotechnology as new plant growth regulating substances. *Journal of Medical Biotechnology and Genetics*, *2*, 10–32. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5674963.v1>
602. Tsygankova, V., Oliynyk, O., Kvasko, O. Y., Pilyo, S., Klyuchko, S., & Brovarets, V. S. (2022a). Effect of plant growth regulators Ivin, Methyur, and

- Kamethur on the organogenesis of miniature rose (*Rosa mini* L.) in vitro. *International Journal of Medical Biotechnology and Genetics*, *51*(02), 1–8.
603. Tsygankova, V. A., Voloshchuk, I. V., Klyuchko, S. V., Pilyo, S. G., & Brovarets, V. S. (2022b). The effect of pyrimidine and pyridine derivatives on the growth and productivity of sorghum. *International Journal of Botany Studies*, *7*(5), 19–31.
604. Tsygankova, V. A., Voloshchuk, I. V., Kopich, V. M., Pilyo, S., Klyuchko, S. V., & Brovarets, V. S. (2023c). Studying the effect of plant growth regulators Ivin, Methyur, and Kamethur on growth and productivity of sunflower. *Journal of Advanced Agriculture*, *14*, 17–24. <https://doi.org/10.24297/jaa.v14i.9453>
605. Tüllez-Tüllez, M., Fernandez, F. J., Montiel-Gonzalez, A.M., Sanchez, C., & Diaz-Godinez, G. (2008). Growth and laccase production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, *81*(4), 675–679. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1628-6>
606. Turło, J., Gutkowska, B., & Herold, F. (2010). Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts. *Food Chem. Toxicol.*, *48*(4), 1085–1091. <https://doi:10.1016/j.fct.2010.01.030>
607. Udu-Ibiam, O. E., Ogbu, O., Nworie, O., Ibiam, U. A., Agah, M. V., Nnachi, A. U., Ogbu, K. I., & Chukwu, O. S. (2014). Antimicrobial activities of some selected edible mushrooms and spices against clinical isolates from federal university teaching hospital abakaliki (FETHA), Ebonyi State, Nigeria. *International Journal of Scientific & Technology Research*, *3*, 251-255.
608. Umeo, S. H., Souza, G., Rapachi, P. M., García, D. M., Paccola-Meirelles, L. D., Valle, J. S., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2015). Screening of basidiomycetes in submerged cultivation based on antioxidant activity. *Gen. Mol. Res.*, *14*(3), 9907–9914. <https://doi.org/10.4238/2015.august.19.25>
609. Uzar, S. S., Karaduman, A. B., & Yamaç, M. (2017). Increasing of laccase and manganese peroxidase activity by co-culture of immobilized *Pleurotus ostreatus*

- and *Lentinus tigrinus* mycelia. *Ekim*, 8(2), 152-162. <https://dx.doi.org/10.15318/Fungus.2017.46>.
610. Vallavan, V., Krishnasamy, G., Zin, N. M., & Abdul Latif, M. (2020). A Review on Antistaphylococcal Secondary Metabolites from Basidiomycetes. *Molecules*, 25(24), 5848. <https://doi.org/10.3390/molecules25245848>
611. Valu, M. V., Soare, L. C., Sutan, N. A., Ducu, C., Moga, S., Hritcu, L., Boiangiu, R. S., & Carradori, S. (2020). Optimization of ultrasonic extraction to obtain erinacine a and polyphenols with antioxidant activity from the fungal biomass of *Hericium erinaceus*. *Foods*, 9(12), 1889. <https://doi.org/10.3390/foods9121889>
612. Vamanu, E. (2012). Biological activities of the polysaccharides produced in submerged culture of two edible *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *J. Biomed. Biotechnol.*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/565974>
613. Vamanu, E. (2013). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of two edible mushroom mycelia obtained in the presence of different nitrogen sources. *Journal of Medicinal Food*, 16(2), 155–156. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0030>
614. Vamanu, E. (2014). Antioxidant properties of mushroom mycelia obtained by batch cultivation and tocopherol content affected by extraction procedures. *BioMed Research International*, 974804. <https://doi.org/10.1155/2014/974804>
615. Vamanu, E., Pelinescu, D., & Ionela, A. (2018). Antioxidative effects of phenolic compounds of mushroom mycelia in simulated regions of the human colon, in vitro study. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(1), 83–90. <https://doi:10.1515/pjfn-2017-0010>
616. Vanhulle, S., Radman, R., Parra, R., Cui, T., Bols, C.-M., Tron, T., Sannia, G., & Keshavarz, T. (2007). Effect of mannan oligosaccharide elicitor and ferulic acid on enhancement of laccases production in liquid cultures of basidiomycetes. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(7), 1712–1718.
617. Veljović, S., & Krstić, J. (2020). Elaborating on the Potential for Mushroom-Based Product Market Expansion: Consumers' Attitudes and Purchasing Intentions. In: Singh, J., Meshram, V., Gupta, M. (eds.) *Bioactive Natural products*

- in Drug Discovery. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1394-7_23
618. Venturella, G., Ferraro, V., Cirlincione, F., & Gargano, M. L. (2021). Medicinal Mushrooms: Bioactive Compounds, Use, and Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 634. <https://doi.org/10.3390/ijms22020634>
619. Verma, N., Thakur, S., & Bhatt, A.K. (2012). Microbial lipases: industrial applications and properties (a review). *International Research Journal of Biological Sciences*, 1(8), 88–92.
620. Verma, R., Gupta, P. P, Satapathy, T., & Roy, A. (2019). A review of wound healing activity on different wound model. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.18231/2348-0335.2018.0013>
621. Veronica, N., Lee, E. S. M., Heng, P. W. S., & Liew, C. V. (2024). Functionality of wet-granulated disintegrant in comparison to directly incorporated disintegrant in a poorly water-soluble tablet matrix. *International Journal of Pharmaceutics*, 661, 124467. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124467>
622. Vieira, G., Liebl, M., Tavares, L., Paulert, R., & Smania Junior, Artur. (2008). Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and antimicrobial metabolites by *Polyporus tricholoma* Mont. *Brazilian journal of microbiology*, 39, 561-568. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220080003000029>
623. Vinklárková, K., & Sladký, Z. (1978). Exogenous regulators in the mycelium of *Pleurotus ostreatus* after exogenous application. *Folia Microbiologica*, 23, 55–59.
624. Vlassopoulou, M., Paschalidis, N., Savvides, A. L., Saxami, G., Mitsou, E. K., Kerezoudi, E. N., Koutrotsios, G., Zervakis, G. I., Georgiadis, P., Kyriacou, A., & Pletsas, V. (2022). Immunomodulating activity of *Pleurotus eryngii* mushrooms following their in vitro fermentation by human fecal microbiota. *J. Fungi*, 8(4), 329. <https://doi.org/10.3390/jof8040329>
625. Wakefield, J., Hassan, H. M., Jaspars, M., Ebel, R., & Rateb, M. E. (2017). Dual induction of new microbial secondary metabolites by fungal bacterial co-cultivation. *Front. Microbiol.*, 8, 1284–1294. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01284>

626. Waktola, G., & Temesgen, T. (2020). Pharmacological activities of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Novel Research in Microbiology Journal*, 4(2), 688-695. <https://doi.org/10.21608/nrmj.2020.84017>
627. Wal, P., Dwivedi, J., Kushwaha, S., Yadav, A., Singh, S. P., & Joshi, H. K. (2023). A comprehensive review on nutritional and medicinal properties of *Pleurotus ostreatus*: An oyster mushroom. *Current Nutrition & Food Science*, 19(4), 386–398. <https://doi.org/10.2174/1573401318666220901144438>
628. Waldman, S. A., & Terzic, A. (2019). Health Care Evolves From Reactive to Proactive. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 105(1), 10–13. <http://doi.org/10.1002/cpt.1295>
629. Walsh, C. (2003). *Antibiotics: Actions, origins, resistance*. ASM Press.
630. Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., Viegelmann, C., Klaus, A., & Lim, S. A. H. (2017). Antifungal-demelanizing properties and RAW264.7 macrophages stimulation of glucan sulfate from the mycelium of the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Food science and biotechnology*, 26(1), 159–165. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0021-6>
631. Wang, C., Wu, J., Chang, C., Yu, S., & Liu, Y. (2019). Enhanced exopolysaccharide production by *Cordyceps militaris* using repeated batch cultivation. *J. Biosci. Bioeng.*, 127(4), 499–505. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.09.006>
632. Wang C.-G., Dai Y.-C. (2022). Phylogeny and taxonomy of *Spongipellis* (Polyporales, Basidiomycota) and its micromorphological similar genera. *Mycol. Progress*, 21(9), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01817-w>
633. Wang, K. F., Sui, K. Y., Guo, C., & Liu, C. Z. (2017). Quorum sensing molecule-farnesol increased the production and biological activities of extracellular polysaccharide from *Trametes versicolor*. *Int. J. Biol. Macromolecules*, 104, 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.053>
634. Wang, L. F., Zhao, L., Hong, Y. L., Shen, L., & Lin, X. (2023). Attribute transmission and effects of diluents and granulation liquids on granule properties and tablet quality for high shear wet granulation and tableting process.

- International Journal of Pharmaceutics, 642, 123177.
<http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123177>
635. Wang, S., Wang, L., Shanguan, J., Jiang, A., & Ren, A. (2024). Research progress on the biological activity of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* over the last five years. *Life*, 14(10), 1339. <https://doi.org/10.3390/life14101339>
636. Wang, Z., Wang, H., Kang, Z., Wu, Y., Xing, Y., & Yang, Y. (2020). Antioxidant and anti-tumour activity of triterpenoid compounds isolated from *Morchella mycelium*. *Arch. Microbiol.*, 202(7), 1677-1685. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01876-1>
637. Wasser, S. P., Sokolov, D., Reshetnikov, S. V., & Timor-Tismenetsky, M. (2000). Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations. *Int. J. Med. Mushrooms*, 2(1), <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v2.i1.10>
638. Wasser, S. P. & Weis, A. L. (1999). General description of the most important medicinal higher basidiomycetes mushrooms. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1, 351-370.
639. Weis, A. L., Solomko, E. F., Buchalo, A. S., Wasser, S. P., Mitropolskaya, N. Yu., Grigansky, A. Ph., & Gorovits, E. L. (1999). Cultural study and illudin S production of medicinal mushroom *Omphalotus olearius* (DC.: Fr.) Fay. (*Agaricales* s.l.) from Israel. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1(1), 93-103. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v1.i1.80>
640. Weiss, C. (2021). One in four dies of Cancer. Questions about the epidemiology of malignant tumours. *Recent Results Cancer Res.*, 218, 15-29. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63749-1_2
641. White, N. A., & Boddy, L. (1992). Extracellular enzyme localization during interspecific fungal interactions. *FEMS Microbiol. Lett.*, 98(1-3), 75-79. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05493.x>
642. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR*

- Protocols: a Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315–322.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
643. Wisselink, H. W., Weusthuis, R. A., Eggink, G., Hugenholtz, J., & Grobben, G. J. (2002). Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 151–161. [http://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00153-4](http://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00153-4)
644. Włodarczyk, A., Krakowska, A., Sułkowska-Ziaja, K., Suchanek, M., Zięba, P., Opoka, W., & Muszyńska, B. (2020). *Pleurotus* spp. mycelia enriched in magnesium and zinc salts as a potential functional food. *Molecules*, 26(1), 162. <https://doi.org/10.3390/molecules26010162>
645. Wong, K. H., Sabaratnam, V., Abdullah, N., Kuppusamy, U. R., & Naidu, M. (2009). Effects of cultivation techniques and processing on antimicrobial and antioxidant activities of *Hericium erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. extracts. *Food Technol. Biotechnol.*, 47, 47-55.
646. Woodward, S., & Boddy, L. (2008). Interactions between saprotrophic fungi. Chapter 7. In: Boddy, L., Frankland, J.C., van West, P. (Eds), *British Mycological Society Symposia Series*, 28, 125–141. [https://doi.org/10.1016/S0275-0287\(08\)80009-4](https://doi.org/10.1016/S0275-0287(08)80009-4)
647. Woodward, S., Sultan, H. Y., Barrett, D. K. & Pearce, R. B. (1993). Two new antifungal metabolites produced by *Sparassis crispa* and in decayed trees. *Journal of General Microbiology*, 139, 153-159.
648. Wu, F., Wang, H., Chen, Q., Pang, X., Jing, H., Yin, L., & Zhang, X. (2023). Lignin promotes mycelial growth and accumulation of polyphenols and ergosterol in *Lentinula edodes*. *J. Fungi*, 9(2), 237. <https://doi.org/10.3390/jof9020237>
649. Wu, J., Kaewnarin, K., Nie, X., Li, Q., He, N., Huang, J., & Geng, A. (2021). Biological activities of a polysaccharide from the coculture of *Ganoderma lucidum* and *Flammulina velutipes* mycelia in submerged fermentation. *Process Biochem.*, 109, 10–18. <https://doi:10.1016/j.procbio.2021.06.017>
650. Wu, X. J., & Hansen, C. (2009). Proximate Composition of *Pleurotus ostreatus* Grown in Whey Permeate Based Medium. *Transactions of the ASABE*, 52(4), 1249–1254. <https://doi.org/10.13031/2013.27767>

651. Xia, Y., Liu, J., Wang, Z., He, Y., Tan, Q., Du, Z., Niu, A., Liu, M., Li, Z., Sang, M., & Zhou, G. (2023). Antagonistic Activity and Potential Mechanisms of Endophytic *Bacillus subtilis* YL13 in Biocontrol of *Camellia oleifera* Anthracnose. *Forests*, *14*(5), 886. <https://doi.org/10.3390/f14050886>
652. Xiang, Q., Zhang, H., Chen, X., Hou, S., Gu, Y., Yu, X., Zhao, K., Zhang, X., Ma, M., Chen, Q., Petri, P., & Chen, X. (2022). Enhanced effects of Iron on mycelial growth, metabolism and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from *Lentinula edodes*. *Bioengineering*, *9*(10), 581. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9100581>
653. Xiao, J.-H., Xiao, D.-M., Sun, Z.-H., Xiong, Q., Liang, Z.-Q., & Zhong, J.-J. (2009). Chemical compositions and antimicrobial property of three edible and medicinal *Cordyceps* species. *J. Food Agric. & Envir.*, *7* (3&4), 91–100.
654. Xie, C., Yan, L., Gong, W., Zhu, Z., Tan, S., Chen, D., & Peng, Y. (2016). Effects of different substrates on lignocellulosic enzyme expression, enzyme activity, substrate utilization, and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *39*(4), 1479–1494. <https://doi.org/10.1159/000447831>
655. Xie, Y., Li, X., Chen, J., Deng, Y., Lu, W., & Chen, D. (2018). pH effect and chemical mechanisms of antioxidant higenamine. *Molecules*, *23*(9), 2176. <https://doi.org/10.3390/molecules23092176>
656. Xu, S., Li, M., Hu, Z., Shao, Y., Ying, J., & Zhang, H. (2023). The Potential Use of Fungal Co-Culture Strategy for Discovery of New Secondary Metabolites. *Microorganisms*, *11*(2), 464. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020464>
657. Xu, X., Quan, L., & Shen, M. (2015). Effect of chemicals on production, composition and antioxidant activity of polysaccharides of *Inonotus obliquus*. *Int. J. Biol. Macromolecules*, *77*, 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.03/013>
658. Yadav, R., Kumar, R., Kathpalia, M., Ahmed, B., Dua, K., Gulati, M., Singh, S., Singh, P. J., Kumar, S., Shah, R. M., Deol, P. K., & Kaur, I. P. (2024). Innovative approaches to wound healing: insights into interactive dressings and future

- directions. *Journal of Materials Chemistry. B*, 12(33), 7977–8006.
<https://doi.org/10.1039/d3tb02912c>
659. Yamaç, M., & Bilgili, F. (2006). Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharmaceutical Biology*, 44(9), 660–667. <https://doi.org/10.1080/13880200601006897>
660. Yan, M.-Q., Feng, J., Liu, Y.-F., Hu, D.-M., & Zhang, J.-S. (2023). Functional Components from the Liquid Fermentation of Edible and Medicinal Fungi and Their Food Applications in China. *Foods*, 12(10), 2086. <https://doi.org/10.3390/foods12102086>
661. Yang, R. L., Li, Q., & Hu, Q. P. (2020). Physicochemical properties, microstructures, nutritional components, and free amino acids of *Pleurotus eryngii* as affected by different drying methods. *Scientific Reports*, 10, 121. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56901-1>
662. Yang, X., Yang, Y., Zhang, Y., He, J., & Xie, Y. (2021). Enhanced exopolysaccharide production in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* by Tween 80 supplementation. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 44(1), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02418-1>
663. Yoo, K., Ki, H., & Eo, Y. (2001). Studies on the cultural characteristics of *Hohenbuehelia petaloides*. *The Korean Journal of Mycology*, 29(1), 52–60.
664. Younis, A. M., Wu, F. S., & El Shaikh, H. H. (2015). Antimicrobial activity of extracts of the oyster culinary medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus* (higher basidiomycetes) and identification of a new antimicrobial compound. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(5), 579–590. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v17.i6.80>
665. Younes, A., Karboune, S., Liu, L., Andreani, E. S., & Dahman, S. (2023). Extraction and characterization of cocoa bean shell cell wall polysaccharides. *Polymers*, 15(3), 745. <https://doi.org/10.3390/polym15030745>
666. Zăgrean, V., Sbîrciog, G., Buzatu, M.-A., & Mândru, I. (2016). Effect of nutritive media and pH on mycelial growth of some *Pleurotus eryngii* strains in

- vitro. *Bulletin UASVM Horticulture*, 73(2), 276–278.
<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:12352>
667. Zahid, M. T., Idrees, M., Ying, W., Zaki, A. H., Abdullah, I., & Haiying, B. (2020). Review of chemical constituents and pharmacology of brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola*. *Journal of Natural Science Research*, 10(5), 58–68.
<https://doi.org/10.7176/JNSR/10-2-07>
668. Zandomenighi, G., & Zandomenighi, M. (2009). Determination of holo- and apo-riboflavin binding protein in avian egg whites through circular dichroism and fluorescence spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6510–6517. <https://doi.org/10.1021/jf901079n>
669. Zhang, D., Wang, J., Zeng, X., & Falandysz, J. (2011). Competitive sorption efficiency studies of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) by powdered mycelium of Cloud Ear Fungus *Auricularia polytricha*. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 46(14), 1776–1782. <https://doi.org/10.1080/10934529.2011.625300>
670. Zhang, H., Li, Q., He, P., & Xu, C. (2015). Effect of carbon source on properties and antioxidant potential of exopolysaccharides produced by *Trametes robiniophila*. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2), 179–186.
<https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v17.i2.90>
671. Zhang, M., Cui, S. W., Cheung, P. C., & Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends Food Sci. Technol.*, 18(1), 4–19.
672. Zhang, R., Zhao, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2014). A novel ribonuclease with antiproliferative activity toward leukemia and lymphoma cells and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the mushroom, *Hohenbuehelia serotina*. *International Journal of Molecular Medicine*, 33(1), 209–214.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1553>
673. Zhang, Y., Cui, Y., Feng, Y., Jiao, F., & Jia, L. (2022). *Lentinus edodes* polysaccharides alleviate acute lung injury by inhibiting oxidative stress and

- inflammation. *Molecules*, 27(21), 7328.
<https://doi.org/10.3390/molecules27217328>
674. Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2013). Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 53–71.
<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.01.002>
675. Zhang, Z. F., Wu, C., Wang, M., Chen, J. F., & Lv G. Y. (2023). Chemical fingerprinting and the biological properties of extracts from *Fomitopsis pinicola*. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(5), 104669.
<http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104669>
676. Zhao, C., Zhao, K., Liu, X., Huang, Y.-F., & Liu, B. (2013). In vitro antioxidant and antitumor activities of polysaccharides extracted from the mycelia of liquid-cultured *Flammulina velutipes*. *Food Science and Technology Research*, 19, 661–667. <https://doi.org/10.3136/fstr.19.661>
677. Zhao, Q., Liu, X., Cui, L., & Ma, C. (2024). Extraction and bioactivities of the chemical composition from *Pleurotus ostreatus*: A review. *Journal of Future Foods*, 4(2), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.06.001>
678. Zhao, S., Rong, C.-B., Kong, C., Liu, Y., Xu, F., Miao, Q.-J., Wang, S.-X., Wang, H.-X., & Zhang, G.-Q. (2014). A novel Laccase with potent antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from mycelia of mushroom *Coprinus comatus*. *Biomed. Res. Int.*, 417461.
<https://doi.org/10.1155/2014/417461>
679. Zhiming, F., Liu, Y., & Zhang, Q. (2016). A potent pharmacological mushroom: *Pleurotus eryngii*. *Fungal Genomics and Biology*, 6(1), 139.
<https://doi.org/10.4172/2165-8056.1000139>
680. Zhong, J. J., & Tang, Y. J. (2004). Submerged cultivation of medicinal mushrooms for production of valuable bioactive metabolites. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 87, 25–59.
<https://doi.org/10.1007/b94367>

681. Zhong, J. J., & Xiao, J. H. (2009). Secondary metabolites from higher fungi: discovery, bioactivity, and bioproduction. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, *113*, 79-150. https://doi.org/10.1007/10_2008_26
682. Zhou, Y., Li, Z., Zhang, H., Hu, Q., & Zou, Y. (2022). Potential uses of scallop shell powder as a substrate for the cultivation of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Horticulturae*, *8*(4), 333. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040333>
683. Zhu, W., He, X., & Wang, M. (2007). Effect of selected culture parameters on the growth of *Hohenbuehelia petaloides* mycelium. *Acta Edulis Fungi*, *1*, 49–53.
684. Zimbardo, M. J., Power, D. A., Miller, S. M., Wilson, G. E., & Johnson, J. A. (Eds.). (2009). *Difco™ & BBL™ manual: Manual of microbiological culture media* (2nd ed.). Becton, Dickinson and Company.
685. Złotko, K., Wiater, A., Waśko, A., Pleszczyńska, M., Paduch, R., Jaroszuk-Sciseł, J., & Bieganowski, A. (2019). A Report on Fungal (1→3)- α -d-glucans: Properties, Functions and Application. *Molecules*, *24*(21), 3972. <https://doi.org/10.3390/molecules24213972>

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ
НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових виданнях, індексованих у базах даних Web of Science,
Scopus, Google Scholar або Index Copernicus

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/mb1.1603.03003> (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, включених до переліку наукових фахових видань України:

1. **Круподьорова, Т., & Барштейн, В.** (2019). Антагоністична активність макроміцетів проти *Misor* 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., Raşeta, M. (2024). *Antioxidant potential of macromycetes*, Матеріали XII Міжнародної науково-практичної конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій». Полтава: ПП «Астрыя».
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-warperiod». 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). *Індукція 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 «Сьогодення 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 «Сьогодення 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 XXXIII 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 X Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI 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 II 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 III Міжнародної науково-практичної конференції «Новітні досягнення біотехнології та нанобіотехнології». Київ: «Мегапринт».

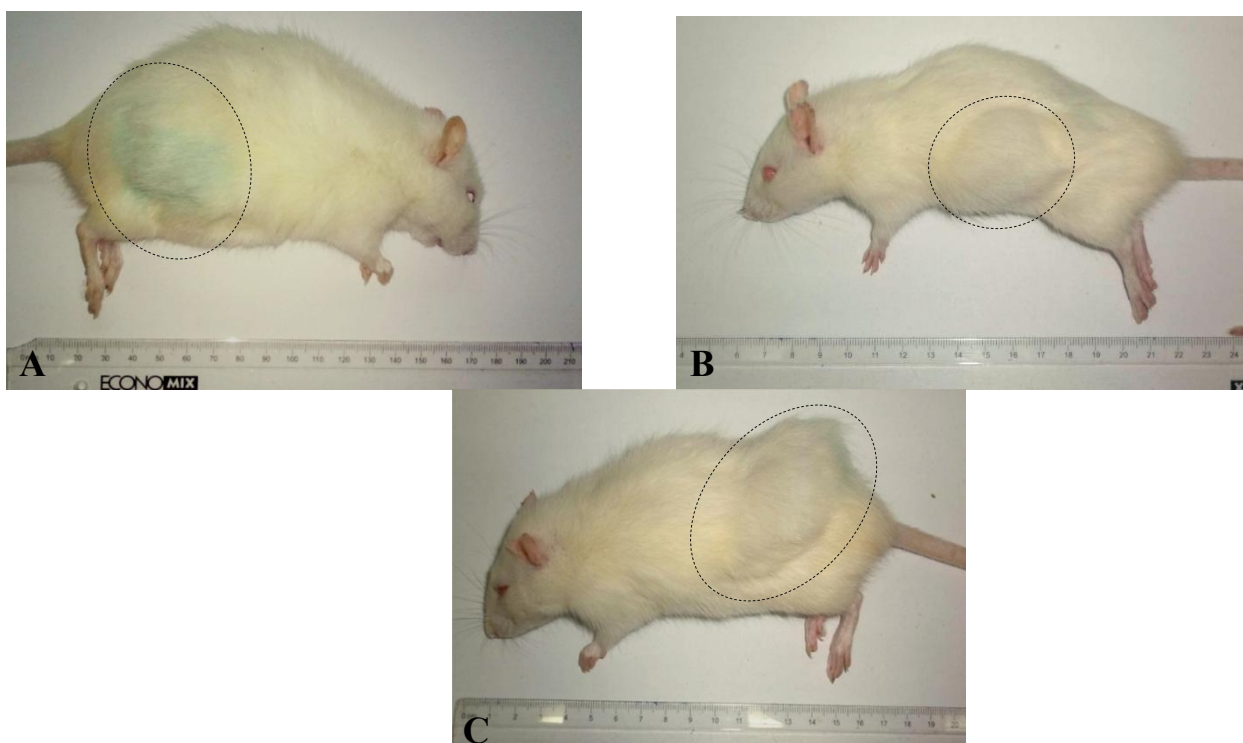
21. **Krupodorova, T., Rybalko, S., Barshteyn, V. (2014).** *Antiherpetic activity of Basidiomycetes mycelia in cell culture.* Матеріали IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології». Харків: НФаУ.
22. **Круподерова, Т., Барштейн, В.Ю. (2014).** Біоконверсія відходів агропромислового комплексу вищими грибами та шляхи використання її продуктів. Матеріали XI 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 VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200-й річниці з дня народження Т.Г. Шевченка «Біотехнологія XXI століття». Київ: НТУУ «КПІ».
24. **Пешук, Л., Костенко, Е., Круподьорова, Т., Гашук, О. (2013).** *Дослідження сорбційної активності важких металів вищим базидіальним грибом Pleurotus ostreatus (Jacq.) Kumm.* Друга конференція молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія». Київ: ТОВ «Інтертехнодрук».
25. **Krupodorova, T., Ivanova, T. (2013).** *Growth of Pleurotus eryngii (Dc.) Quéł 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 VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115-й річниці заснування НТУУ «КПІ» «Біотехнологія XXI століття». Київ: НТУУ «КПІ».
27. **Peshuk, L., Haschuk, 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 Abstacts. Kyiv: NUFT.
28. **Круподьорова, Т., Барштейн, В., Пешук, Л., Гашук, О. (2013).** *Біомаса Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm., культивована на шротах циліющих*

- 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 Art.
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 congressse fachmesse. Hannover: Europäische Wissenschaftliche Gesellschaft.



Примітка: * за оптимальним співвідношенням врожаю біомаси та біологічної активності

ДОДАТОК С

МОРФОЛОГІЇ ПЕРВИННОЇ ПУХЛИНИ ЩУРІВ ПІСЛЯ
ПЕРЕЩЕПЛЕННЯ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА

контрольна група (А, група ІІ) та групи, що отримували водний екстракт міцелію гриба *T. versicolor* (В, група ІІ+Е1) та суспензію міцелію гриба *A. aurea* (С, група ІІ+С2) на 22 добу після перещеплення карциноми Герена

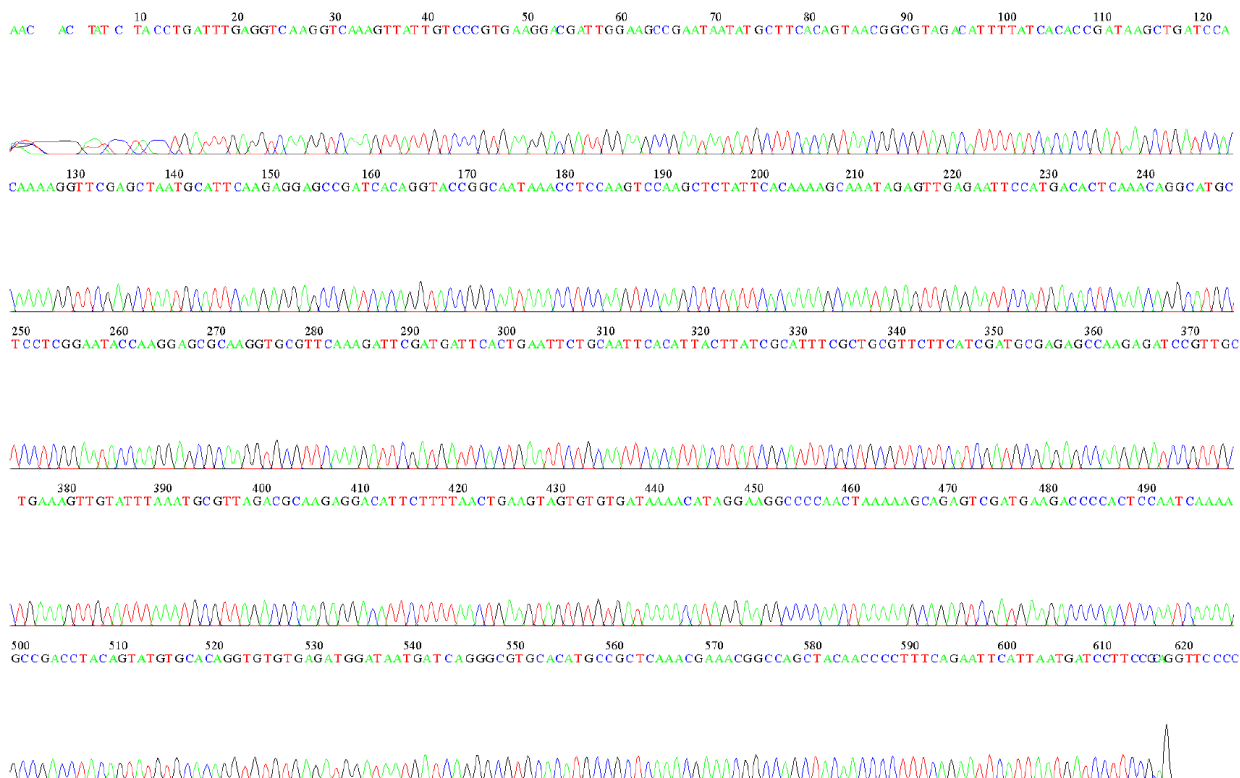
ДОДАТОК D

НУКЛЕОТИДНІ ПОСЛІДОВНОСТІ ITS РИБОСОМАЛЬНОЇ ДНК

FOMITOPSIS PINICOLA

(номер реєстрації у базі даних GENBANK – PQ 184654)

File: 12 ITS4.ab1 Run Ended: 2024-07-16 23:41:14 Signal G:3031 A:4891 C:5523 T:5379
 Sample: 12 ITS4 Lane: 10 Base spacing: 14.778854 1591 bases in 21126 scans Page 1 of 2



ДОДАТОК Е

«Узгоджено»

Директор ДУ «ІХБГ НАН України»

академік НАН України


 Я.Б. Блюм


«Затверджую»

Директор ТОВ «ЕСМАШ-3»


 Д.С. Бахлуков


АКТ

про впровадження наукової розробки

від 20.07.2024

Ми, що нижче підписалися, склали цей акт про те, що результати наукових досліджень, проведені співробітниками відділу рослинних харчових продуктів та біофортificaції ДУ «ІХБГ НАН України», щодо особливостей росту перспективних базидієвих грибів за різних умов культивування, **впроваджено у виробничий процес підприємства «Царство грибів»** (входить до складу ТОВ «ЕСМАШ-3»).

Сутність впровадження:

У рамках досліджень було встановлено можливість інтенсифікації швидкості обростання субстратних блоків міцелієм грибів *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* та *Lyophyllum shimeji* шляхом внесення CO₂-шроту амаранту у кількості 3%, 5%, 7% і 10 % концентрації. Результати експериментів показали, що швидкість обростання субстрату збільшується **у два рази** при використанні концентрацій 5% та 7%. Це дозволяє значно скоротити виробничий цикл та підвищити ефективність культивування грибів.

Місце впровадження:


Виробничі потужності підприємства «Царство грибів» (ТОВ «ЕСМАШ-3»).

Впровадження підтверджено:

- Експериментальними даними, отриманими у виробничих умовах;
- Документальною звітністю, складеною підприємством.

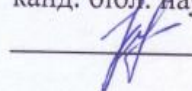
Т.в.о. завідувача Відділу рослинних харчових продуктів та біофортificaції ДУ «ІХБГ НАН України»,

канд. техн. наук, ст. наук. співроб.


 В.Ю. Барштейн

Ст. наук. співроб. Відділу рослинних харчових продуктів та біофортificaції ДУ «ІХБГ НАН України»,

канд. біол. наук, ст. наук. співроб.


 Т.А. Круподьорова



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені А. С. МАКАРЕНКА

вул. Роменська, 87, м. Суми, 40002, факс (0542) 22-15-17, тел. (0542) 68-59-02
e-mail: rector@sspu.edu.ua, www.sspu.edu.ua
Код ЄДРПОУ 02125510

18.02.2025 № 514 На № _____ від _____

ДОВІДКА

**про впровадження результатів дисертаційного дослідження
Круподьорової Тетяни Анатоліївни
«Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків
Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок»**

Результати дисертаційного дослідження Круподьорової Тетяни Анатоліївни, члена експертної ради стейкхолдерів Сумського державного педагогічного університету імені А.С. Макаренка за спеціальністю 091 Біологія та біохімія (наказ №394 від 04.09.2024 р.) впроваджувались в освітній процес та науково-дослідну роботу кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А. С. Макаренка протягом вересня–грудня 2024 р.

Кафедрі були надані результати відомчої науково-дослідної роботи, виконаної Круподьоровою Т.А.: «Забезпечення оптимальних умов культивування макроміцетів для покращення їх фізіологічної активності та підвищення приросту біомаси» (№ державної реєстрації 0118U003812). За результатами даної роботи на кафедрі було використано і впроваджено наступні методики: методика визначення ростових характеристик та синтезу метаболітів макроміцетів; методика визначення антагоністичних, антиоксидантних та сорбційних властивості макроміцетів у культурі; методика оптимізації умов культивування макроміцетів з метою підвищення біосинтетичної активності. Ці методики були інтегровані в лекційний курс та використані під час розробки і проведення практичних і лабораторних занять з дисциплін «Мікологія», «Мікробіологія з основами вірусології та імунології», «Основи фітотерапії», «Методологія та організація наукових досліджень», а також під час роботи студентських проблемних груп.

Отримані Круподьоровою Т.А. результати, що спрямовані на вдосконалення біотехнологій культивування макроміцетів, сприяли покращенню освітнього процесу, підвищенню якості науково-дослідної діяльності та практичного застосування знань у діяльності кафедри біології та методики навчання біології. Ефективність впровадження результатів дисертаційного дослідження були розглянуті та обговорені на засіданні кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А. С. Макаренка, протокол №10 від 29.01.2025 р.

Проректор з науково-педагогічної
(наукової) роботи Сумського
державного педагогічного
університету імені А.С. Макаренка



Ольга КУДРІНА