



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА “ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА  
ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ”

Відділ рослинних харчових продуктів та біофортифікації

**Звіт за 2022-2023 рік**

**“Біологічні особливості росту та біосинтетичної активності штамів  
*Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai в культурі”**

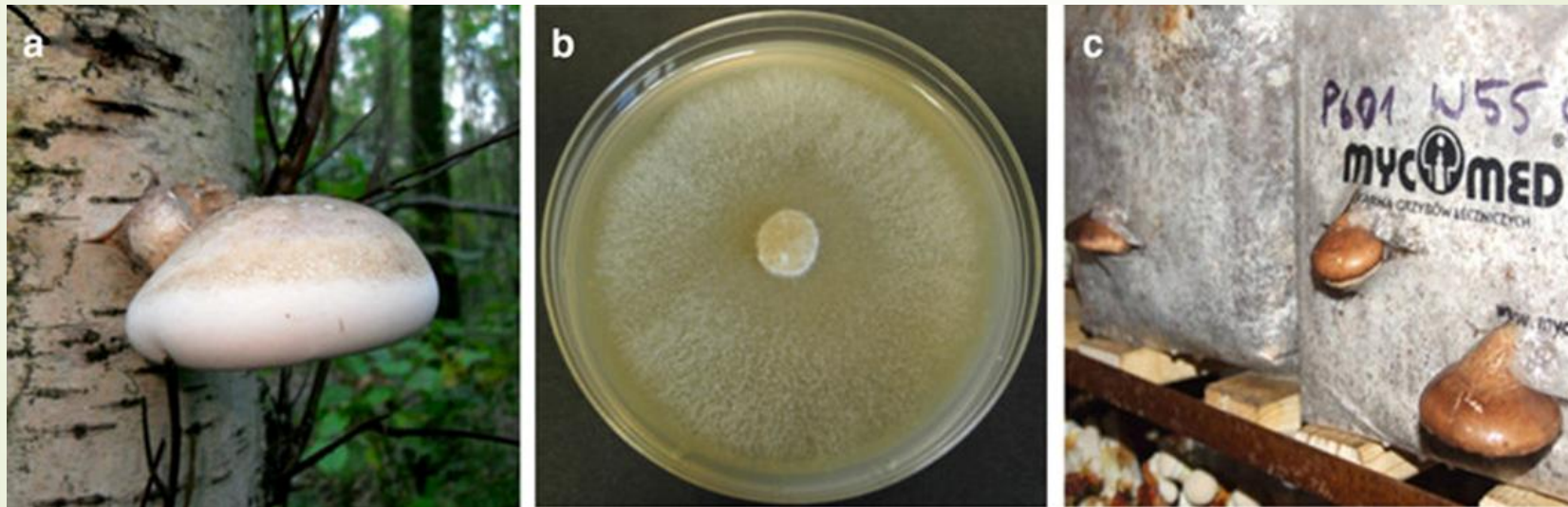
Аспірант: Кізіцька Тетяна Олександрівна

Науковий керівник: к.б.н., с.н.с.

Круподьорова Тетяна Анатоліївна

# Актуальність

- ▶ Завдяки швидкому накопиченню біомаси та синтезу біологічно активних речовин гриби широко використовуються як продукти харчування та об'єкти біотехнологічної промисловості. Значна кількість представників царства Fungi, зокрема макроміцети, є потенційним джерелом біологічно активних сполук.
- ▶ Одним із перспективних видів грибів є **березова губка** – *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai (раніше відомий як *Piptoporus betulinus*), який викликає буру гниль деревини берези.



*Fomitopsis betulina*. **a** Дикоросле плодове тіло. **b** Міцелій на агаризованому поживному середовищі. **c** Плодові тіла, культивовані на березовій тирсі.\*

\*Pleszczyńska M. *Fomitopsis betulina* (formerly *Piptoporus betulinus*): the Iceman's polypore fungus with modern biotechnological potential / M. Pleszczyńska, M. K. Lemieszek, M. Siwulski, A. Wiater, W. Rzeski, J. Szczodrak // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2017. – vol. 33(5). – P. 83.

**Мета:**

Дослідити особливості біології штамів базидіального гриба *F. betulina* в культурі та оцінити перспективи їх використання як біотехнологічних об'єктів.

**Об'єкт:**

Культивування та біологічні властивості штамів базидіального гриба *F. betulina*.

**Предмет:**

Особливості синтезу біомаси та біологічно активних метаболітів штамми *F. betulina*.

# 2022-2023 навчальний рік

4

## Заплановано:

1. Виконання вимог освітньої складової.
2. Опрацювання фахових літературних джерел за темою дисертаційної роботи.
3. Відпрацювання методик визначення біологічної активності грибів.
4. Встановлення антагоністичної, антибактеріальної та антиоксидантної активностей міцелію і культуральної рідини *F. betulina*.
5. Відбір за комплексом визначених ознак штамів *F. betulina*, перспективних для біотехнологічного застосування.
6. Опублікування результатів роботи.

## Виконано:

1. Складено 4 заліки з профільних дисциплін.
2. Опрацьовано літературні джерела за темою дисертаційної роботи.
3. Відпрацьовано методики визначення антибактеріальної, антиоксидантної активності, вмісту фенольних сполук.
4. З'ясована антагоністична, антибактеріальна, антиоксидантна активності міцелію і культуральної рідини *F. betulina* та рівень вмісту фенольних сполук.
5. Відібрано 1 штам *F. betulina* IBK 2777.
6. Опубліковано 1 тези, 1 стаття знаходиться в роботі.

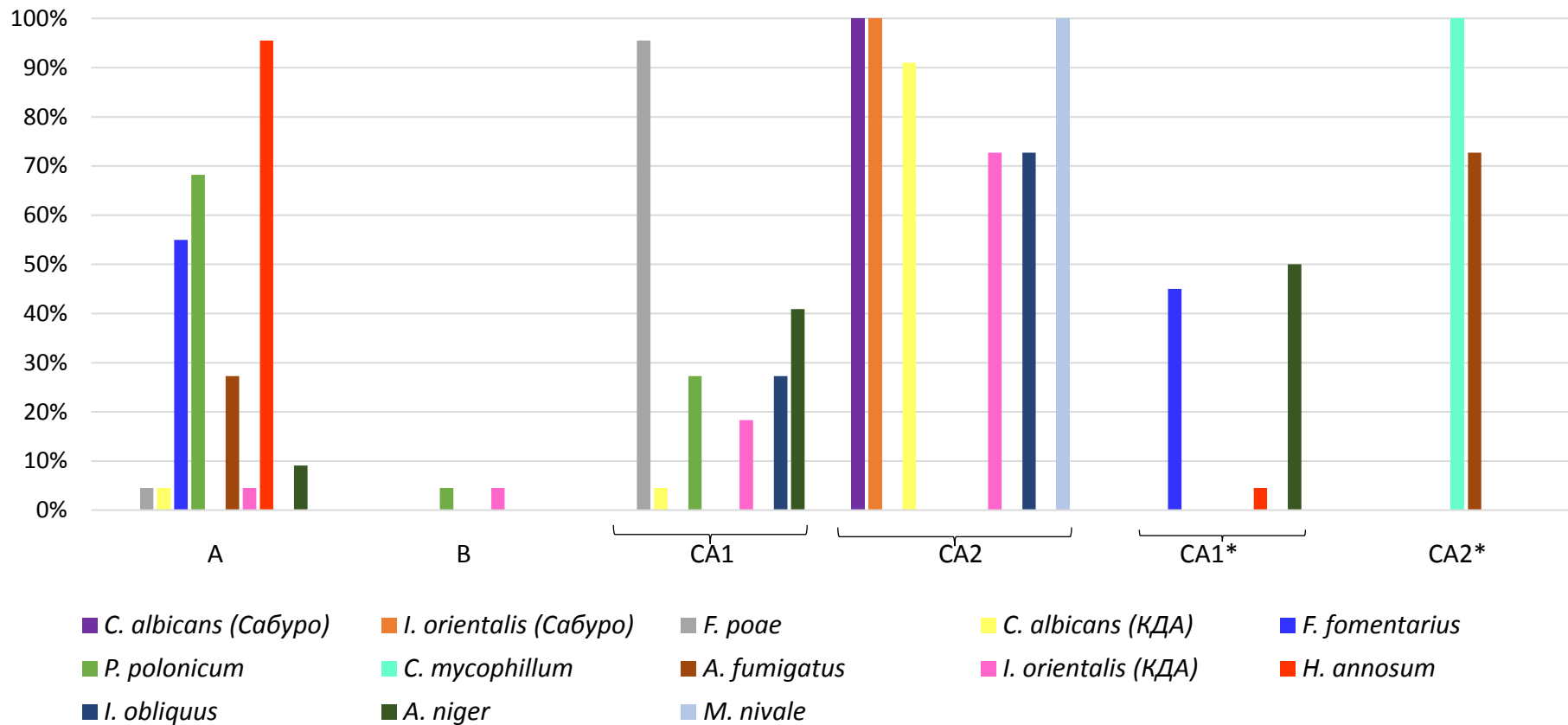
---

Від запланованої експериментальної частини дисертаційної роботи виконано **75%**

# Антагоністична активність штамів *F. betulina* відносно деяких макро- та мікроміцетів

5

Частота взаємодій між колоніями досліджуваних видів грибів, %



\* - часткове або повне наростання антагоніста на колонію *F. betulina*.

**Типи реакцій:** А - взаємне гальмування росту колоній при контакті; В – взаємне гальмування росту колоній на відстані.  
**Підтипи:** СА1 - часткове і СА2 - повне заміщення наростанням після взаємного гальмування росту контактуючих колоній.

Номер штаму <i>F. betulina</i>	Антагоністичний індекс (AI)
311	29,0
327	34,5
978	34,5
988	33,5
989	37,0
2269	32,5
2290	33,5
2363	37,0
2364	36,0
2366	35,0
2399	36,0
<b>2770</b>	<b>38,5</b>
2771	37,5
2772	33,5
2773	32,5
2774	32,5
2775	32,5
2776	32,5
<b>2777</b>	<b>38,5</b>
2778	31,5
2785	36,0
2786	32,5

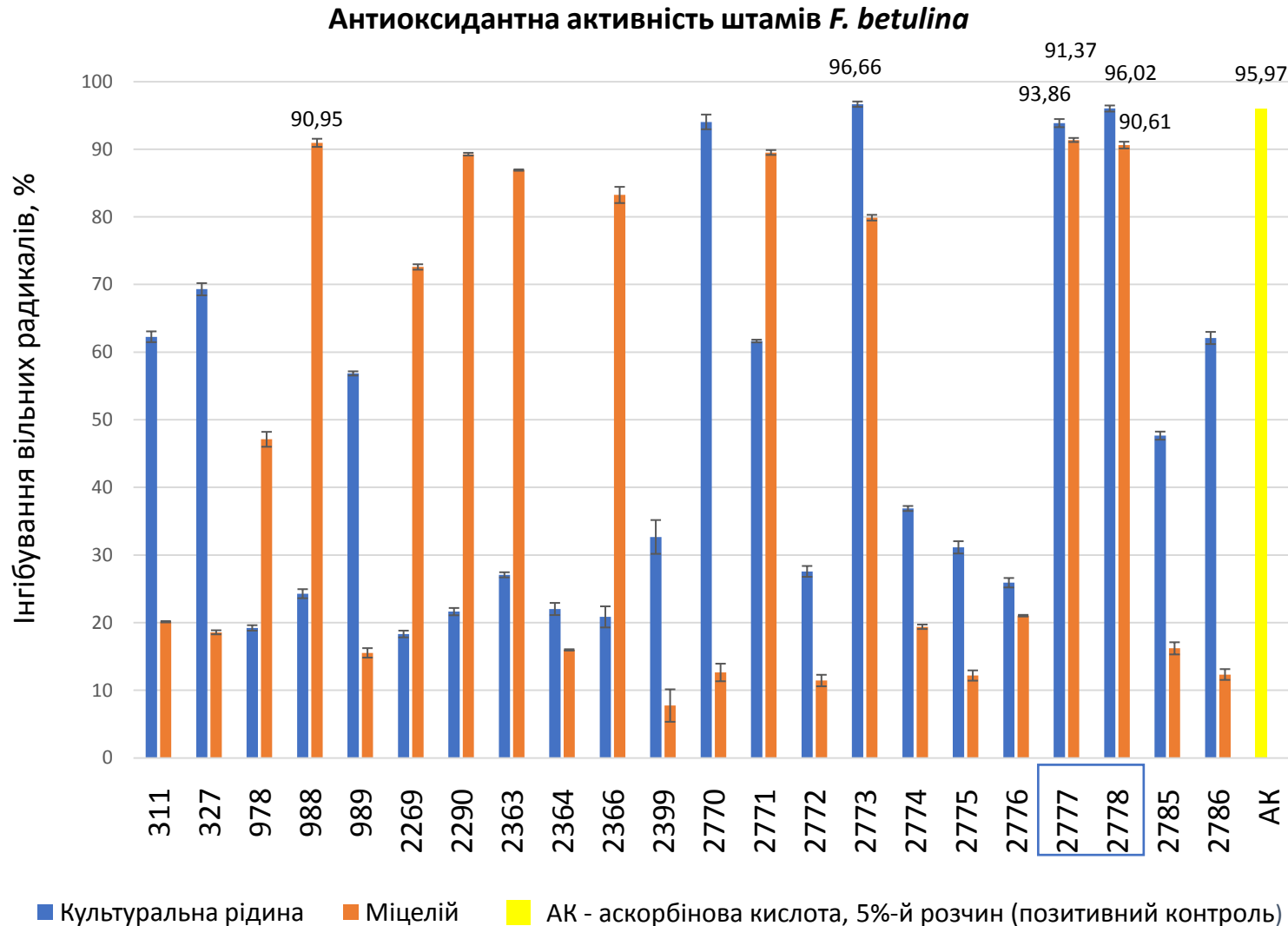
# Антибактеріальна активність міцелію і культуральної рідини штамів *F. betulina*

6

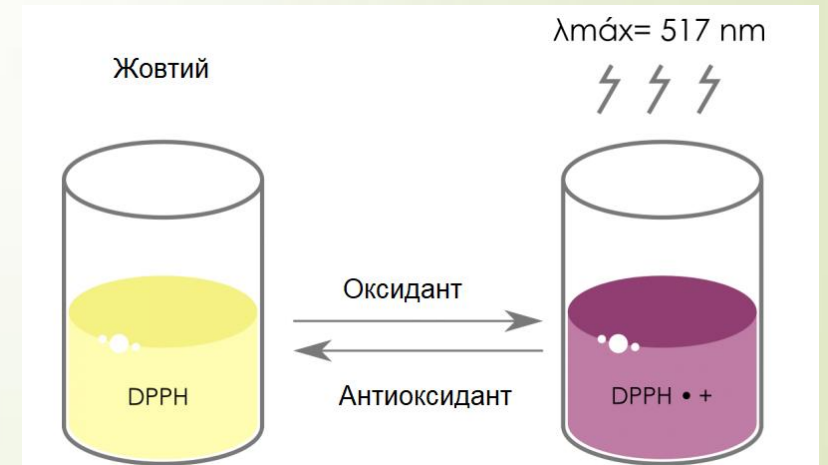
Штам	Діаметр затримки росту тест-культур етилацетатними екстрактами культуральної рідини, мм					Діаметр затримки росту тест-культур етилацетатними екстрактами міцелію, мм				
	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>
311	<b>14,5±0,5</b>	<b>16,5±1,5</b>	14,5±0,5	14,5±0,5	10,0±0,0	13,0±0,0	-	8,0±0,0	11,5±0,5	17,5±2,5
327	-	14,0±0,0	-	13,0±0,0	-	18,0±0,0	8,5±0,5	8,5±0,5	9,5±0,5	10,0±0,0
978	<b>16,0±1,0</b>	<b>15,5±3,5</b>	17,5±1,5	18,0±1,0	<b>12,0±1,0</b>	15,0±0,0	15,0±1,0	<b>18,5±1,5</b>	15,0±1,0	18,0±4,0
988	-	10,0±0,0	18±0,0	-	-	<b>21,5±3,5</b>	15,5±1,5	16,5±2,5	15,0±1,0	17,0±2,0
989	-	10,0±0,0	10,0±0,0	-	-	9,5±0,5	-	-	9,0±0,0	9,0±0,0
2269	-	<b>17,0±0,0</b>	-	<b>20,0±0,0</b>	-	17,0±4,0	16,0±3,0	12,5±0,5	<b>19,0±3,0</b>	16,0±1,0
2290	-	13,0±0,0	<b>22,0±0,0</b>	-	-	15,0±1,0	14,0±0,0	<b>18,5±3,5</b>	14,5±0,5	14,0±0,0
2363	-	11,0±0,0	10,0±0,0	-	-	15,0±1,0	19,0±2,0	<b>20,5±3,5</b>	17,0±2,0	14,0±0,0
2364	9,0±0,0	-	-	-	-	13,0±0,0	-	-	-	13,5±0,5
2366	-	12,0±0,0	-	-	-	14,0±1,0	14,0±1,0	14,0±1,0	16,5±1,5	17,5±1,5
2399	-	-	10,0±0,0	-	9,0±0,0	16,0±1,0	19,0±3,0	16,0±2,0	15,0±0,0	<b>21,0±4,0</b>
2770	-	-	-	-	-	15,0±0,0	8,0±1,0	-	15,0±1,0	17,5±1,5
2771	-	10,0±0,0	-	-	-	21,0±3,0	14,0±0,0	14,5±1,5	-	8,5±0,5
2772	-	-	-	-	-	13,0±1,0	-	-	-	13,0±0,0
2773	9,5±0,5	-	10,0±0,0	-	-	12,5±0,5	12,5±0,5	15,0±2,0	14,5±0,5	14,0±1,0
2774	-	-	10,0±0,0	-	11,0±0,0	11,5±0,5	10,0±0,0	9,0±0,0	-	16,0±4,0
2775	-	-	10,0±0,0	-	-	-	-	-	-	15,5±1,5
2776	9,0±0,0	-	-	-	-	15,0±3,0	9,5±0,5	11,0±1,0	16,0±1,0	<b>20,0±0,0</b>
2777	-	10,0±0,0	10,0±0,0	-	-	14,0±1,0	13,0±0,0	14,5±0,5	16,0±2,0	14,0±0,0
2778	9,0±0,0	9,0±0,0	9,0±0,0	10,0±0,0	9,0±0,0	18,0±4,0	<b>20,5±1,5</b>	16,5±0,5	15,0±0,0	16,0±3,0
2785	-	-	<b>32,5±5,0</b>	-	<b>12,0±0,0</b>	17,0±1,0	-	9,0±0,0	12,5±0,5	8,0±1,0
2786	-	12,0±0,0	-	-	-	-	-	-	10±0,0	-

# Антиоксидантна активність міцелію і культуральної рідини штамів *F. betulina*

7



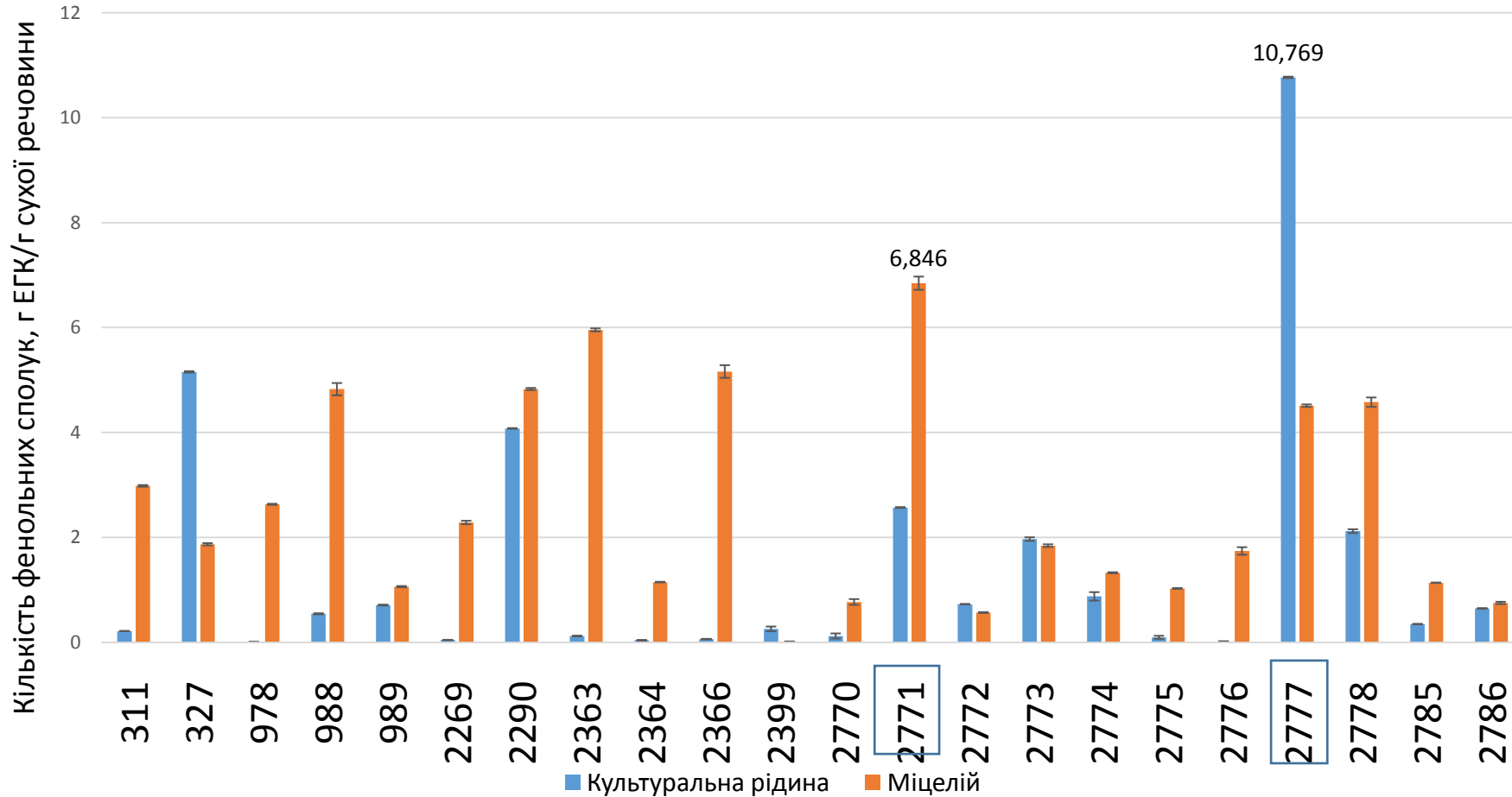
Зразок реакцій досліджуваних екстрактів культуральної рідини з 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом (DPPH)



Візуалізація реакції з DPPH  
Джерело: <https://libios.fr/en/>

# Вміст фенольних сполук у міцелії та культуральній рідині *F. betulina*

Вміст фенольних сполук у зразках штамів *F. betulina*



Візуалізація реакції з фенольними сполуками в екстрактах культуральної рідини штамів *F. betulina* за методом Фоліна-Чокальтеу



# Вибір штаму для подальших досліджень

9

Показник	Значення	«Штам-лідер»
Швидкість радіального росту на агаризованих середовищах	КДА: 8,1±0,5 мм/добу	2366
	СА: 8,8±0,0 мм/добу	2775
	ГПДА: 7,3±0,3 мм/добу	2786
Накопичення біомаси на рідких середовищах	ГПД: 9,05±0,59 г/л	311
	Сабуро: 12,44±0,00 г/л	311
	КД: 9,98±0,02 г/л	2290
	Сусло: 13,72±0,00 г/л	2290
Синтез екзополісахаридів на рідких середовищах	ГПД: 0,226±0,040 г/л	2399
	Сабуро: 2,20±0,60 г/л	311
	КД: 1,68±0,40 г/л	2269
	Сусло: 1,28±0,40 г/л	2770
Вміст фенольних сполук	Культуральна рідина: 10,769±0,014 мг ЕГК/г	2777
	Мицелій: 6,846±0,126 мг ЕГК/г	2771

КДА – картопляно-декстрозний агар  
 СА – сусло-агар  
 ГПДА – глюкозо-пептонно-дріжджовий агар

Показник	Значення	«Штам-лідер»
Антагоністична активність	Антагоністичний індекс = 38,5	2770 2777
Антибактеріальна активність	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Діаметр затримки росту бактерій, мм:  <i>Klebsiella pneumoniae</i>                      14,5±0,5 і 16,0±1,0 (Культуральна рідина)                      21,5±3,5 ( Мицелій)</li> <li><i>Escherichia coli</i>                      16,5±1,5; 15,5±3,5; 17,0±0,0 (Культуральна рідина)                      20,5±1,5 (Мицелій)</li> <li><i>Staphylococcus aureus</i>                      22,0±0,0; 32,5±5,0 мм (Культуральна рідина)                      18,5±1,5; 18,5±3,5; 20,5±3,5 (Мицелій)</li> <li><i>Pseudomonas aeruginosa</i>                      20,0±0,0 (Культуральна рідина)                      19,0±3,0 (Мицелій)</li> <li><i>Bacillus subtilis</i>                      12,0±1,0; 12,0±0,0 (Культуральна рідина)                      21,0±4,0; 20,0±0,0 (Мицелій)</li> <li>• За спектром дії (пригнічення росту всіх бактерій)</li> </ul>	311 і 978 988 311, 978, 2290 2778 2290, 2785 978, 2290, 2363 2269 2269 2269 2269 978 і 2778
	Антиоксидантна активність	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Максимум по культуральній рідині: 96,66±0,40 %, 96,02±0,45 %</li> <li>• Максимум по мицелію: 90,95±0,60 %, 91,37±0,30%, 90,61±0,50 %</li> <li>• Оптимальні по обох показниках:                      Культуральна рідина: 93,86±0,60 %                      Мицелій: 91,37±0,30 %                      Культуральна рідина: 96,02±0,45 %                      Мицелій: 90,61±0,50 %</li> </ul>

# Вибір штаму для подальших досліджень

10

<i>F. betulina</i> 2777	Показник	<i>F. betulina</i> 2778
КДА: <b>5,3±0,0 мм/добу</b> СА: 4,5±0,3 мм/добу ГПДА: <b>5,5±0,0 мм/добу</b>	Швидкість радіального росту на агаризованих середовищах	КДА: 4,3±0,1 мм/добу СА: 4,3±0,3 мм/добу ГПДА: 3,5±0,0 мм/добу
ГПД: 4,12±0,08 г/л Сабуро: <b>9,35±1,40 г/л</b> КД: <b>7,19±0,90 г/л</b> Сусло: <b>10,86±0,40 г/л</b>	Накопичення біомаси на рідких середовищах	ГПД: <b>4,93±0,38 г/л</b> Сабуро: 5,78±0,40 г/л КД: 3,21±0,51 г/л Сусло: 8,51±0,30 г/л
ГПД: 0,18±0,05 г/л Сабуро: 0,66±0,10 г/л КД: <b>1,33±0,40 г/л</b> Сусло: <b>1,82±0,20 г/л</b>	Синтез екзополісахаридів на рідких середовищах	ГПД: 0,13±0,02 г/л Сабуро: 0,69±0,20 г/л КД: 0,49±0,20 г/л Сусло: 0,09±0,01 г/л
<b>Антагоністичний індекс = 38,5</b>	Антагоністична активність	Антагоністичний індекс = 31,5
Культуральна рідина: діє проти 2-х культур, d 10,0 мм Міцелій: <b>діє проти 5-ти культур, d 13,0-16,0 мм</b>	Антибактеріальна активність	Культуральна рідина: <b>діє проти 5-ти культур, d 9,0-10,0 мм</b> Міцелій: <b>діє проти 5-ти культур, d 15,0-20,5 мм</b>
Культуральна рідина: <b>93,86±0,60%</b> Міцелій: <b>91,37±0,30 %</b>	Антиоксидантна активність	Культуральна рідина: <b>96,02±0,45%</b> Міцелій: <b>90,61±0,50 %</b>



Плодові тіла березової губки, з яких виділили саме ці два штами, росли на одному дереві



При сумісному культивуванні спостерігається гетерогенність штамів

# Висновки

11

- Встановлено штамоспецифічні особливості прояву антагоністичної, антибактеріальної, антиоксидантної активностей та вмісту фенольних сполук у 22 культурах *Fomitopsis betulina*.
- За результатами реакцій взаємодій штамів *F. betulina* з 11 грибами-антагоністами (3 макроміцетами та 8 мікроміцетами) обчислено їх антагоністичні індекси (AI), значення яких варіювало від 29 до 38,5 в залежності від штаму. Високі AI свідчать про значний антимікотичний потенціал. Найкращу антагоністичну активність з максимальним AI на рівні 38,5 встановлено для штамів *F. betulina* 2770 та 2777. Антагоністична активність штамів *F. betulina* збільшувалась у послідовності *Aspergillus fumigatus* < *A. niger* < *Fomes fomentarius* < *Heterobasidion annosum* < *Penicillium polonicum* < *Fusarium poae* < *Inonotus obliquus* < *Microdochium nivale* ≤ *Issatchenkia orientalis* ≤ *Candida albicans*. Штами *F. betulina* були не активними лише по відношенню до *Cladobotryum mycophillum*. Вперше у дуальній культурі досліджено антагоністичну активність *F. betulina* відносно *A. fumigatus*, *C. mycophillum*, *F. fomentarius*, *F. poae*, *H. annosum*, *I. obliquus*, *M. nivale*.
- Більшість культур (59%) проявили антибактеріальну активність. Діаметр затримки росту тест-бактерій (грам+ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та грам- *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) становив від 8,0±1,0 мм до 32,5±5,0 мм. Встановлено штами *F. betulina* з максимальними значеннями пригнічення росту бактерій: *K. pneumoniae* під дією екстрактів культуральної рідини *F. betulina* 311, 978 та міцелію *F. betulina* 988; *E. coli* – екстрактів культуральної рідини *F. betulina* 311, 978, 2290 і міцелію *F. betulina* 2778; *S. aureus* - екстрактів культуральної рідини *F. betulina* 2290, 2785 і міцелію *F. betulina* 978, 2290, 2363; *P. aeruginosa* та *B. subtilis* – екстрактів культуральної рідини та міцелію *F. betulina* 2269. За спектром дії та діаметром затримки росту бактерій екстракти міцелію мали більшу антибактеріальну активність, ніж екстракти культуральної рідини. Активність проти усіх тест-бактерій виявлено під впливом екстрактів культуральної рідини та міцелію *F. betulina* 978 та 2778.
- Всі досліджені штами *F. betulina* проявили антиоксидантну активність. Інгібування вільних радикалів під дією екстрактів культуральної рідини *F. betulina* варіювало від 18,32 % до 96,66 %, під впливом екстрактів міцелію *F. betulina* – від 7,74 % до 91,37 %. У 10 штамів культуральна рідина була активнішою за міцелій, у 7 штамів активність міцеліальних екстрактів перевищувала активність культуральної рідини. Незначна різниця антиоксидантної активності між міцелієм і культуральною рідиною встановлена у 4-х штамів *F. betulina*: 2364, 2776, 2777, 2778. Найкращі результати показали по культуральній рідині штами 2773 (96,66±0,40 %) та 2778 (96,02±0,45 %); по міцелію штами 988 (90,95±0,60 %), 2777 (91,37±0,30 %), 2778 (90,61±0,50 %). Встановлені штами *F. betulina*, які мають високу активність і в міцелії, і в культуральній рідині: 2777 (93,86±0,60 % у культуральній рідині і 91,37±0,30 % у міцелію) і 2778 (96,02±0,45 % у культуральній рідині і 90,61±0,50 % у міцелію).
- Наявність фенольних сполук було встановлено у всіх штамів *F. betulina*. Вміст фенольних сполук у екстрактах культуральної рідини *F. betulina* коливав від 0,005±0,003 до 10,769±0,014 мг ЕГК/г сухого екстракту, у екстрактах міцелію *F. betulina* від 0,010±0,006 до 6,846±0,126 мг ЕКГ/г сухого міцелію. Найвищий вміст фенольних сполук виявлено у екстракті міцелію *F. betulina* 2771 – 6,846±0,126 мг ЕКГ/г сухого міцелію та екстракті культуральної рідини *F. betulina* 2777 – 10,769±0,014 мг ЕГК/г сухого екстракту.
- Для подальших досліджень відібрано штам *F. betulina* 2777 за рівнем антиоксидантної активності та комплексом інших попередньо вивчених ознак (швидкістю радіального росту, накопиченням біомаси, екзополісахаридів, антагоністичною активністю, вмістом фенольних сполук).

# За звітний 2022-2023 навчальний рік публікації:

12

За темою дисертації опубліковано тези:

- **Кізіцька Т.О.**, Круподьорова Т.А., Барштейн В.Ю., Ратушняк В.В. Антагоністична активність штамів *Fomitopsis betulina* відносно *Penicillium polonicum* / Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали III міжнародної наук.-практ. інтернет-конф. (24 березня 2023 р., м. Харків). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023. – с. 200–202.

Знаходиться в роботі стаття:

- **Kizitska T.**, Barshteyn V., Krupodorova T., Antagonistic activity of *Fomitopsis betulina* strains against micro- and macromycetes (планується подання в Archives of Biological Sciences (Q3)).

Супутні публікації:

1. Krupodorova T., Barshteyn V., **Kizitska T.**, Ratushnyak V., Blume Y. 2023. Antagonistic activity of selected macromycetes against two harmful micromycetes. Czech Mycology, 75 (1), p85-100. DOI:<https://doi.org/10.33585/cmy.75106> (Scopus Q4).
2. **Кізіцька Т.О.**, Барштейн В.Ю., Бахлуков Д.О., Круподьорова Т.А. Антиоксидантні властивості екстрактів грибів *Lentinula edodes* та *Lyophyllum schimeji* // «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, 19 травня 2023. Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2023, с. 109-110.
3. **Кізіцька Т.О.**, Барштейн В.Ю., Бахлуков Д.О., Круподьорова Т.А. Антимікробна активність *Lentinula edodes*, *Hericium erinaceus* та *Lyophyllum schimeji* // Продовольча та екологічна безпека в умовах війни та повоєнної відбудови: виклики для України та світу: мат. Міжн. наук.-практ. конф., секція 3: Роль тваринництва, ветеринарної медицини та харчових технологій в умовах війни та вирішенні завдань плану відродження України (м. Київ, 25 трав. 2023 р.). Київ, 2023, с. 385-388.

## На третій рік планується:

1. Проходження педагогічної практики.
2. Опрацювання фахових літературних джерел за темою дисертаційної роботи.
3. Відпрацювання методик оптимізації поживних середовищ для культивування, екстракції біологічно активних речовин, визначення вмісту різних сполук.
4. Встановлення оптимального складу поживного середовища для синтезу біомаси та біологічно активних метаболітів відібраного штаму *F. betulina* 2777.
5. Розробка технологічної схеми отримання біомаси та біологічно активних метаболітів відібраного штаму.
6. Обґрунтування та визначення, за результатами роботи, шляхів застосування біомаси, культуральної рідини перспективного штаму.
7. Опублікування результатів роботи.

Дякую за увагу!