

УДК 579.222: 547.979.8

А.К. Велигодська, О.В. Федотов

Донецький національний університет,
вул. Університетська, 24, Донецьк, 83000, Україна,
тел.: +38 (062) 304 61 84, e-mail: bio.graff@yandex.ua

ВМІСТ МЕЛАНІНІВ У БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ ПОРЯДКІВ *POLYPORALES* ТА *AGARICALES*

Метою роботи було вивчення загального вмісту меланінів у карпофорах, міцелії і культуральному фільтраті деяких видів базидіомицетів. **Методи.** Екстракцію меланінів з мікологічного матеріалу проводили шляхом його лужного гідролізу 2 N розчином NaOH у співвідношенні 1:10 з подальшим осадженням концентрованою HCl. Осад, що утворився після додавання соляної кислоти розчиняли в 5 мл 2 N розчину NaOH. Загальний вміст пігменту визначали спектрофотометричним методом та розраховували за допомогою калібрувальної кривої (за пірокатехіном). Вміст меланіну в культуральному фільтраті визначали прямим фотоколориметруванням. **Результати.** Визначено загальний вміст меланінів у карпофорах 50 видів базидіомицетів, з яких 27 належать до порядку *Polyporales* та 23 – порядку *Agaricales*. Найвищий вміст меланінів виявлено в карпофорах видів *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola*, *Inonotus obliquus* та *Lentinus edodes*. Виділено в міцеліальну культуру 30 штамів 10 видів базидіальних грибів, для яких визначена динаміка росту та накопичення меланінів в міцелії та культуральному фільтраті при культивуванні на глюкозо-пептонному середовищі. **Висновок.** Серед 50 видів базидіомицетів найбільший вміст меланінів виявлено у представників поліпоральних видів – *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola* та *Inonotus obliquus* і агарикальних видів – *Fistulina hepatica* та *Lentinus edodes*. Встановлено, що найбільш активні види *Fomes fomentarius* та *Lentinus edodes* – перспективні для подальших досліджень з метою оптимізації умов культивування для отримання меланінів міцеліального походження.

Ключові слова: базидіомицети, карпофори, меланіни, міцелій, культуральний фільтрат

Одним з універсальних процесів, що протікає в клітині є перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – ланцюгове окиснення ненасичених жирних кислот за участю молекулярного кисню, що забезпечує розширене утворення вільних радикалів [1, 6]. Відомо, що активація цих процесів у відповідь на дію різноманітних факторів є одним з адаптаційних механізмів і спрямована на збільшення проникності клітинної мембрани, полегшення роботи мембранних білків. Однак, виходячи за певні межі, ці зрушення

© А.К. Велигодська, О.В. Федотов, 2013



набувають самостійного патогенетичного значення. Рівень протікання процесів ПОЛ контролюється антиоксидантною системою організму, до якої відносяться меланіни [1, 8]. Це група високомолекулярних органічних пігментів, що утворюються при окисній полімеризації фенолів і широко розповсюджені в живій природі [4, 5]. Меланіни проявляють радіо- і фотопротекторну, антиканцерогенну та іншу дії [8]. Отже, вони відіграють істотну роль у формуванні стресостійкості та адаптації організмів до факторів середовища [2, 11]. Встановлено, що порівняно з штучно синтезованими, природні пігменти менш токсичні та більш ефективні при застосуванні [11, 14]. Як наслідок, висока затребуваність та вартість меланінів зумовлює пошук потенційних джерел їх отримання, у тому числі, серед грибів [8, 11].

Комплексне вивчення здатності до синтезу меланінів мікологічних об'єктів почалося наприкінці ХХ ст. і торкається, переважно, нижчих грибів родів *Aspergillus*, *Daldinia*, *Saccharomyces* та *Phycomyces* [8]. Досліджено вміст меланінів в плодових тілах вищих базидіальних грибів видів *Lentinula edodes*, *Inonotus obliquus*, *Phellinus robustus*, *Ganoderma applanatum*, *Fomes fomentarius* і ін. [3, 11, 14]. Однак, наявні дані дають недостатньо сформоване уявлення про кількісний вміст меланінів в плодових тілах, міцелії та культуральному фільтраті базидіоміцетів, що обумовлює необхідність подальших скринінгових робіт у цьому напрямку.

Виходячи з вищезазначеного, метою роботи було вивчення загального вмісту меланінів у карпофорах, міцелії і культуральному фільтраті деяких видів базидіоміцетів.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження були карпофори 50 видів макроміцетів, з яких 27 належать до порядку *Polyporales* та 23 — порядку *Agaricales*, а також міцелій та культуральний фільтрат 30 штамів 10 видів відділу *Basidiomycetes* (табл. 1). В роботі використовували штами *Fomes fomentarius* (L. ex Fr.) Gill. (T-10, Ff-09, Ff-1201); *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. (Ls-08, Ls-09, Ls-0912); *Fistulina hepatica* Schff. ex Fr. (Fh-08, Fh-18); *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. (F-03, F-06, F-1, F-202); *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Hk-35, P-004, P-01, P-039, P-107, P-192, P-208); *Schizophyllum commune* Fr.:Fr. (Sc-10, Sc-1101, Sc-1102); *Trametes hirsuta* (Wulf.:Fr.) Pil. (Th-11), *Trichaptum biforme* (Fr.) Ryv. (Tb-11), *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Gl-1, Gl-2, Gl-11) та *Lentinus edodes* (Berk.) Pegler (Le-2, Le-4, Le-10) [10]. Ці штами були виділені в чисту культуру з дикорослих плодових тіл (ПТ) базидіоміцетів, зібраних в різних місцевостях Донецької області. Систематичне положення досліджених базидіоміцетів встановлено згідно визначника [13].

З метою вивчення вмісту меланінів, зібрані карпофори промивали, висушували та подрібнювали до розміру часток $0,1 \pm 0,01$ мм. Дослідні



штами культивували в 50 мл глюкозо-пептонного середовища (г/ л): глюкоза — 10,0; пептон — 3,0; KH_2PO_4 — 0,6; K_2HPO_4 — 0,4; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5; CaCl_2 — 0,05; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001 [13] (рН 6,5) поверхнево в колбах Ерленмейера ємністю 250 мл впродовж 6, 9 та 12 діб за температури 27,5 °С [3, 7]. Інокулюмом слугували 10-ти добові міцеліальні культури штамів, вирощені на сусло-агарі. Після закінчення терміну культивування, отримували культуральний фільтрат (КФ) і міцелій шляхом фільтрування культуральної рідини при 5 ± 1 °С. Міцелій висушували на фільтрувальному папері до постійної ваги і охолоджували до $1 \pm 0,5$ °С. Підготовлений міцелій гомогенізували шляхом розтирання в охолодженій ступці. В подальших дослідженнях використовували подрібнені карпофори (ПК), гомогенізований міцелій (МГ) та КФ. Біомасу ПК та міцелію визначали ваговим методом після висушування до постійної ваги [7].

Меланіни екстрагували шляхом його лужного гідролізу 2 N розчином NaOH у співвідношенні 1:10 з подальшим осадженням концентрованою HCl. Осад, що утворився після додавання соляної кислоти розчиняли в 5 мл 2 N розчину NaOH. Загальний вміст пігменту визначали спектрофотометричним методом та розраховували за допомогою калібрувальної кривої (за пірокатехіном) [5]. Вміст меланіну в культуральному фільтраті визначали прямим фотоколориметруванням КФ [5].

Меланінові пігменти ідентифікували за допомогою якісних реакцій з KMnO_4 ; розчини пігментів — в 0,1 N NaOH у присутності 10% H_2O_2 [5].

Дослідження проводили у трикратній повторності. Статистичне опрацювання проводили з використанням програм *Microsoft Excel* та пакету програм [9] для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів з визначенням параметричних критеріїв, однорідності та значущості. З метою визначення рівня кореляції між вмістом меланінів у міцелії та КФ одновікових культур визначали лінійний коефіцієнт кореляції. Результати представлені як середнє значення з поправкою на стандартну похибку ($M \pm m$). Достовірність даних та різниці між ними оцінювали за критерієм Стюдента за рівнем значущості $p \leq 0,05$ [9].

Результати та обговорення

Дослідження проводили в два етапи, на першому з яких визначали загальний вміст меланінів у 225 карпофорах 27 видів поліпоральних та у 220 карпофорах 23 видів агарикальних базидіоміцетів. Узагальнені результати цього дослідження представлені в табл. 1, 2.

Як видно з табл. 1, 2 загальний вміст меланінів у зразках карпофорів коливається як у грибів одного виду (наприклад, дикорослих та культивованих базидіоміцетів *F. velutipes* та *P. ostreatus*), так і різних видів грибів, що підтверджує отримані дані для інших видів базидіоміцетів [8, 12].

За вмістом меланінів в карпофорах поліпоральні базидіоміцети можна розподілити на три групи (табл. 1).



Таблиця 1

Вміст меланінів у карпофорах базидіоміцетів порядку *Polyporales*

Table 1

Total content of melanins in basidiocarps of *Polyporales*

Вид	Кількість карпофорів	Вміст меланінів, мг/г
<i>Amyloporia lenis</i>	9	0
<i>Auricularia auricula-judae</i>	12	0,55 ± 0,03
<i>Chaetoporus ambiguus</i>	3	0,62 ± 0,02
<i>Daedalea quercina</i>	6	0
<i>Fibuloporia mollusca</i>	9	0,20 ± 0,00
<i>Fomes fomentarius</i>	9	44,21 ± 1,17
<i>Fomitopsis pinicola</i>	12	63,24 ± 2,04
<i>Ganoderma applanatum</i>	9	53,47 ± 1,03
<i>Ganoderma lucidum</i>	9	4,74 ± 0,12
<i>Heterobasidion annosum</i>	12	0
<i>Hydnum ochraceum</i>	3	1,15 ± 0,05
<i>Inonotus obliquus</i>	15	83,77 ± 0,22
<i>Irpex lacteus</i>	6	0,20 ± 0,01
<i>Laeticorticium roseum</i>	12	1,38 ± 0,10
<i>Laetiporus sulphureus</i>	9	6,28 ± 0,12
<i>Phellinus igniarius</i>	12	14,24 ± 1,51
<i>Phellinus pomaceus</i>	9	2,16 ± 0,04
<i>Piptoporus betulinus</i>	6	1,47 ± 0,01
<i>Polyporus squamosus</i>	12	2,92 ± 0,01
<i>Sparassis crispa</i>	6	0,45 ± 0,05
<i>Trametes campestris</i>	6	1,84 ± 0,02
<i>Trametes squalens</i>	3	1,61 ± 0,01
<i>Trametes versicolor</i>	6	9,45 ± 0,15
<i>Trametes zonatus</i>	15	8,43 ± 0,04
<i>Tyromyces lacteus</i>	6	0,26 ± 0,01
<i>Tyromyces revolutus</i>	9	0,93 ± 0,01
<i>Tyromyces undosus</i>	3	1,46 ± 0,01

Примітка: досліджено карпофори дикорослих грибів.



Вміст меланінів у карпофорах базидіоміцетів порядку *Agaricales*Total content of melanins in basidiocarps of *Agaricales*

Вид	Кількість карпофорів	Вміст меланінів, мг/г
<i>Agaricus arvensis</i> *	5	1,73 ± 0,05
<i>Agaricus bisporus</i> **	9	1,86 ± 0,08
<i>Agaricus campestris</i> *	5	1,00 ± 0,01
<i>Agrocybe cylindracea</i> **	9	1,42 ± 0,01
<i>Coprinus comatus</i> *	15	3,20 ± 0,01
<i>Coprinus micaceus</i> *	15	3,00 ± 0,01
<i>Fistulina hepatica</i> *	9	9,34 ± 0,17
<i>Flammulina velutipes</i> *	27	6,51 ± 0,13
<i>Flammulina velutipes</i> **	3	0,95 ± 0,01
<i>Kuehneromyces mutabilis</i> *	9	2,16 ± 0,09
<i>Lentinus edodes</i> **	9	24,67 ± 0,21
<i>Lyophyllum connatum</i> *	3	0,90 ± 0,02
<i>Lyophyllum loricatum</i> *	3	1,88 ± 0,16
<i>Marasmius oreades</i> *	3	0,91 ± 0,03
<i>Pholiota aurivella</i> *	21	0
<i>Pholiota squarrosa</i> *	3	0
<i>Pleurotus citrinopileatus</i> **	3	0
<i>Pleurotus eryngii</i> **	6	0,45 ± 0,01
<i>Pleurotus ostreatus</i> *	34	2,78 ± 0,09
<i>Pleurotus ostreatus</i> **	3	0,93 ± 0,02
<i>Pleurotus ostreatus</i> var. Florida **	3	0,30 ± 0,00
<i>Stropharia aeruginosa</i> *	6	1,67 ± 0,03
<i>Stropharia rugosoannulata</i> **	5	1,15 ± 0,02
<i>Schizophyllum commune</i> *	5	1,71 ± 0,12
<i>Tricholoma flavovirens</i> *	5	3,60 ± 1,19
<i>Tricholoma sejunctum</i> *	5	0,90 ± 0,01

Примітка: “ * ” — дикорослі гриби, “ ** ” — комерційні гриби.



У першу групу входять 23% досліджених базидіоміцетів, що мають незначний вміст меланінів в карпофорах, рівень якого знаходиться в межах від 0,20 мг/г у *I. lacteus* до 0,93 мг/г у *T. revolutus*. До другої групи відноситься 50% видів з вмістом меланінів від 1,15 мг/г у *H. ochraceum* до 9,45 мг/г у *T. versicolor*. Найбільший вміст меланінів виявлено в карпофорах *G. applanatum*, *F. pinicola* та *I. obliquus*, що складає 53,47; 63,24 та 83,77 мг/г, відповідно. У карпофорах трьох видів поліпорових базидіоміцетів, а саме — *D. quercina*, *H. annosum* та *A. lenis* меланіни не виявлено.

Більшість агарикальних грибів порівняно з поліпоровими мають значно нижчий загальний вміст меланінів (табл. 2). Так, 30% грибів досліджених видів має вміст меланінів в межах від 0,30 мг/г у *P. ostreatus* var. *Florida* до 0,95 мг/г у *F. velutipes*. До групи з помірним вмістом меланінів від 1,0 мг/г у *A. campestris* до 6,51 мг/г у *F. velutipes* можна віднести 14 видів. Найвищий загальний вміст меланінів від 9,34 до 24,67 мг/г, зафіксовано в карпофорах *F. hepatica* та *L. edodes*, відповідно. Однак, максимальний рівень вмісту меланінів у агарикоміцету *L. edodes* у 3,4 рази нижчий за вміст цих речовин у карпофорах трутовика *I. obliquus*. Для порівняння зазначимо, що середній вміст меланінів у біомасі *Saccharomyces neoformans* var. *nighcans*, запропонованого для отримання цього пігменту, складає 20–31 мг/г біомаси [8].

Отже, найвищий вміст меланінів виявлено в карпофорах базидіоміцетів поліпоральних видів *G. applanatum*, *F. pinicola*, *I. obliquus* і агарикальних видів *F. hepatica* та *L. edodes*.

Встановлено, що за культивування на ГПС всі досліджувані штами досягають максимуму накопичення біомаси на 12-ту добу росту (табл. 3). Найпродуктивнішими є штами *S. commune* Sc-1101 і Sc-10 та штам *F. velutipes* F-202. Найнижчі значення накопичення біомаси зафіксовані для штамів *P. ostreatus* P-192 та *F. fomentarius* Ff-09.

Встановлено, що більшість штамів (96%) здатні до поступового накопичення меланінів в міцелії та близько 50% штамів — в культуральній рідині. Вміст меланінів в КФ значно нижчий ніж в міцелії. Це можна пояснити роллю меланінів у клітині та особливостями осмотрофного живлення грибних організмів, оскільки вони беруть участь в адаптогенних реакціях на зміни умов середовища та нейтралізації вільних радикалів [1, 8, 14]. Отже, виконуючи специфічні функції в грибному організмі, ці сполуки синтезуються та накопичуються в місцях локалізації зазначених процесів.

Для всіх штамів порядку *Polyporales* характерним є найбільше накопичення меланінів в міцелії на 12 добу росту. Максимальний вміст меланінів в міцелії зафіксовано для виду штаму *F. fomentarius* T-19 — 3,02 мг/г. Щодо вмісту меланінів у КФ, то для більшості штамів максимальний вміст цих речовин зафіксовано на 12-ту, а для штаму *F. fomentarius* T-10 — на 9-ту добу культивування. Найбільше меланінів у КФ накопичує штам *F. fomentarius* Ff-1201 (0,21 мг/мл). Меланін не виявлено в КФ протягом всього терміну культивування штамів *T. hirsuta* Th-11 та *T. biforme* Tb-11.



Динаміка накопичення біомаси (г/л) штамами базидіоміцетів

Table 3

Dynamic of accumulation of absolute dry biomass (g/l) of the strains of Basidiomycetes

Штам	6 діб	9 діб	12 діб
Порядок <i>Polyporales</i>			
<i>G. lucidum</i> Gl-1	0,69 ± 0,07	1,65 ± 0,01	2,34 ± 0,04
<i>G. lucidum</i> Gl-2	0,71 ± 0,01	1,91 ± 0,08	2,74 ± 0,19
<i>G. lucidum</i> Gl-11	0,58 ± 0,04	1,34 ± 0,05	2,01 ± 0,21
<i>F. fomentarius</i> Ff-09	0,21 ± 0,01	0,56 ± 0,06	1,46 ± 0,10
<i>F. fomentarius</i> T-10	0,32 ± 0,02	0,77 ± 0,02	2,07 ± 0,06
<i>F. fomentarius</i> Ff-1201	1,14 ± 0,05	2,33 ± 0,08	3,21 ± 0,03
<i>L. sulphureus</i> Ls-08	0,34 ± 0,09	0,97 ± 0,03	1,56 ± 0,12
<i>L. sulphureus</i> Ls-09	0,24 ± 0,02	0,65 ± 0,04	1,24 ± 0,08
<i>L. sulphureus</i> Ls-0912	0,56 ± 0,05	1,13 ± 0,03	1,98 ± 0,03
<i>T. hirsuta</i> Th-11	1,77 ± 0,04	2,89 ± 0,14	3,77 ± 0,15
<i>T. biforme</i> Tb-11	1,28 ± 0,01	1,72 ± 0,06	3,44 ± 0,11
Порядок <i>Agaricales</i>			
<i>F. hepatica</i> Fh-08	0,72 ± 0,04	1,23 ± 0,02	3,45 ± 0,24
<i>F. hepatica</i> Fh-09	0,85 ± 0,06	1,41 ± 0,10	3,14 ± 0,16
<i>S. commune</i> Sc-10	3,18 ± 0,07	5,62 ± 0,04	6,48 ± 0,42
<i>S. commune</i> Sc-1101	3,56 ± 0,03	5,46 ± 0,02	7,1 ± 0,28
<i>S. commune</i> Sc-1102	2,88 ± 0,02	4,3 ± 0,03	4,52 ± 0,18
<i>F. velutipes</i> F-1	0,67 ± 0,05	2,56 ± 0,03	3,71 ± 0,06
<i>F. velutipes</i> F-06	0,42 ± 0,02	2,76 ± 0,06	3,88 ± 0,04
<i>F. velutipes</i> F-03	1,06 ± 0,06	2,91 ± 0,03	5,56 ± 0,07
<i>F. velutipes</i> F-202	0,95 ± 0,03	2,43 ± 0,02	6,12 ± 0,35
<i>P. ostreatus</i> P-004	1,13 ± 0,01	3,12 ± 0,18	5,55 ± 0,26
<i>P. ostreatus</i> P-107	0,87 ± 0,04	1,99 ± 0,06	4,66 ± 0, 31
<i>P. ostreatus</i> P-105	0,53 ± 0,07	1,02 ± 0,07	1,13 ± 0,08
<i>P. ostreatus</i> Hk-35	0,45 ± 0,02	2,35 ± 0,04	3,67 ± 0,14
<i>P. ostreatus</i> P-01	0,55 ± 0,05	2,12 ± 0,07	4,06 ± 0,17
<i>P. ostreatus</i> P-208	0,96 ± 0,02	2,68 ± 0,03	5,13 ± 0,50
<i>P. ostreatus</i> P-039	0,34 ± 0,01	1,98 ± 0,07	3,54 ± 0,10
<i>P. ostreatus</i> P-192	0,28 ± 0,03	0,67 ± 0,11	1,22 ± 0,18
<i>L. edodes</i> Le-10	0,44 ± 0,02	1,03 ± 0,13	2,14 ± 0,13
<i>L. edodes</i> Le-2	0,59 ± 0,03	0,95 ± 0,16	1,73 ± 0,14
<i>L. edodes</i> Le-4	0,61 ± 0,02	1,11 ± 0,03	1,91 ± 0,05



Загальний вміст меланінів у міцелії та КФ деяких штамів базидіомицетів представлено у табл. 4, 5.

Таблиця 4

Вміст меланінів в міцелії (мг/г) та культуральному фільтраті (мг/мл) штамів базидіомицетів порядку *Polyporales*

Table 4

Dynamic of melanins accumulation of mycelium (mg/g) and culture filtrate (mg/ml) of *Polyporales* strains

Штам	Міцелій			Культуральний фільтрат		
	6 діб	9 діб	12 діб	6 діб	9 діб	12 діб
<i>G. lucidum</i> Gl-1	0,22 ± 0,03	0,96 ± 0,06	1,55 ± 0,07	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,02
<i>G. lucidum</i> Gl-2	0,19 ± 0,05	1,11 ± 0,01	1,41 ± 0,03	0	0	0,12 ± 0,01
<i>G. lucidum</i> Gl-11	0,25 ± 0,04	1,08 ± 0,02	1,49 ± 0,04	0	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,02
<i>F. fomentarius</i> Ff-09	0,78 ± 0,07	1,63 ± 0,12	2,18 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,02
<i>F. fomentarius</i> Ff-1201	1,09 ± 0,52	1,86 ± 0,23	2,98 ± 0,34	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,21 ± 0,04
<i>F. fomentarius</i> T-10	1,15 ± 0,14	1,45 ± 0,10	3,02 ± 0,25	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,18 ± 0,02
<i>L. sulphureus</i> Ls-08	0,26 ± 0,03	0,47 ± 0,07	0,63 ± 0,03	0	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01
<i>L. sulphureus</i> Ls-09	0,13 ± 0,01	0,28 ± 0,09	0,41 ± 0,04	0	0	0,03 ± 0,01
<i>L. sulphureus</i> Ls-0912	0,22 ± 0,05	0,27 ± 0,01	0,66 ± 0,08	0	0	0,04 ± 0,01
<i>T. hirsuta</i> Th-11	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0	0	0
<i>T. biforme</i> Tb-11	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,12 ± 0,04	0	0	0

Аналіз даних загального вмісту меланінів у культурах агарикальних грибів показав, що для більшості штамів (95%) найвищий вміст цих речовин в міцелії припадає на 12-ту добу культивування. Винятком є штам *F. hepatica* Fh-18, де такий максимум спостерігається вже на 9-ту добу росту. Серед досліджених штамів найбільший вміст меланінів зафіксовано для штамів *L. edodes* Le-2 і Le-10, який коливається в межах від 4,66 до 4,88 мг/г і в 1,5 рази більше цього показника для штаму *F. fomentarius* T-10. Меланіни в КФ не виявлено для 47% досліджених штамів агарикальних грибів. Серед штамів, що накопичують меланіни в КФ, слід відмітити *L. edodes* Le-4 з найвищим вмістом цих речовин у 0,37 мг/мл на 12-ту добу культивування. У попередніх дослідженнях для переважної більшості досліджених штамів базидіомицетів також показано підвищений вміст антиокисних оксиредуктаз [5, 12].



Таблиця 5

Вміст меланінів в міцелії (мг/г) та культуральному фільтраті (мг/мл) штамів базидіоміцетів порядку *Agaricales*

Table 5

Dynamic of melanins accumulation of mycelium (mg/g) and culture filtrate (mg/ml) of *Agaricales* strains

Штам	Міцелій			Культуральний фільтрат		
	6 діб	9 діб	12 діб	6 діб	9 діб	12 діб
<i>F. hepatica</i> Fh-08	0,14 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,33 ± 0,09	0	0	0,08 ± 0,03
<i>F. hepatica</i> Fh-18	0,11 ± 0,02	0,24 ± 0,05	0,18 ± 0,10	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,12 ± 0,03
<i>F. velutipes</i> F-03	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0	0	0,14±0,03
<i>F. velutipes</i> F-06	0,34 ± 0,02	0,41 ± 0,09	0,56 ± 0,11	0	0,06±0,03	0,12±0,07
<i>F. velutipes</i> F-1	0,19 ± 0,04	0,25 ± 0,01	0,35 ± 0,05	0	0	0
<i>F. velutipes</i> F-202	0,56 ± 0,14	0,65 ± 0,09	0,98 ± 0,11	0	0,07±0,01	0,13±0,01
<i>P. ostreatus</i> Hk-35	0,09 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0	0	0,08 ± 0,03
<i>P. ostreatus</i> P-01	0,14 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0	0	0
<i>P. ostreatus</i> P-039	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0	0	0
<i>P. ostreatus</i> P-105	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,04	0	0	0
<i>P. ostreatus</i> P-107	0,13 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,06	0	0	0,07 ± 0,03
<i>P. ostreatus</i> P-192	0,06 ± 0,03	0,15 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0	0	0
<i>P. ostreatus</i> P-208	0,15 ± 0,01	0,22 ± 0,06	0,31 ± 0,12	0	0,08±0,01	0,11±0,04
<i>P. ostreatus</i> P-004	0,08 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,22 ± 0,12	0	0	0
<i>S. commune</i> Sc-10	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0	0	0
<i>S. commune</i> Sc-1101	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0	0	0
<i>S. commune</i> Sc-1102	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0	0	0
<i>L. edodes</i> Le-2	1,31 ± 0,13	2,65 ± 0,11	4,88 ± 0,05	0,18 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,29 ± 0,04
<i>L. edodes</i> Le-4	0,86 ± 0,03	1,22 ± 0,14	3,16 ± 0,25	0	0,21 ± 0,07	0,37 ± 0,09
<i>L. edodes</i> Le-10	1,55 ± 0,03	2,06 ± 0,08	4,66 ± 0,34	0,21 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01



Таким чином, встановлено, що більшість досліджених штамів здатні до накопичення цих речовин в міцелії та близько половини — в КФ, де вміст меланінів значно нижчий за такий в міцелії. Серед 50 видів базидіомицетів найбільший вміст меланінів виявлено у представників поліпоральних видів — *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola* та *Inonotus obliquus* і агарикальних видів — *Fistulina hepatica* та *Lentinus edodes*. Для подальших досліджень з оптимізації умов культивування і отримання меланінів міцеліального походження відібрано штами *F. fomentarius* T-10 та *L. edodes* Le-2 і Le-10.

А.К. Велигодская, О.В. Федотов

Донецкий национальный университет,
ул. Университетская, 24, Донецк, 83000, Украина,
тел.: +38 (062) 304 61 84, e-mail: bio.graff@yandex.ua

СОДЕРЖАНИЕ МЕЛАНИНОВ В БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБАХ ПОРЯДКОВ *POLYPORALES* И *AGARICALES*

Реферат

Целью работы было изучение общего содержания меланинов в карпофорах, мицелии и культуральном фильтрате некоторых видов базидиомицетов. **Методы.** Экстракцию меланинов из микологического материала проводили путем его щелочного гидролиза 2 N раствором NaOH в соотношении 1:10 с последующим осаждением концентрированной HCl. Осадок после добавления соляной кислоты растворяли в 5 мл 2 N раствора NaOH. Общее содержание пигментов определяли спектрофотометрическим методом и рассчитывали с помощью калибровочной кривой (по пирокатехину). Содержание меланина в культуральном фильтрате определяли прямым фотоколориметрированием. **Результаты.** Определено общее содержание меланина в карпофорах 50 видов базидиомицетов, из которых 27 относятся к порядку *Polyporales* и 23 — к порядку *Agaricales*. Проведено сравнительный анализ полученных данных на основе чего выделены карпофоры видов *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola*, *Inonotus obliquus* и *Lentinus edodes*, которые имеют высокое общее содержание меланинов. Выделено в мицелиальную культуру 30 штаммов 10 видов базидиальных грибов, для которых определена динамика роста и накопления меланинов в мицелии и культуральном фильтрате при культивировании на глюкозо-пептонной среде. **Вывод.** Из 50 видов базидиомицетов наибольшее содержание меланинов выявлено у представителей полипоральных видов — *Ganoderma applanatum*, *Fomitopsis pinicola* и *Inonotus obliquus* и агарикальных видов — *Fistulina hepatica* и *Lentinus edodes*. Отобраны штаммы видов *Fomes fomentarius* и *Lentinus edodes* — перспективные для дальнейших исследований с целью оптими-



зации условий культивирования для получения меланинов мицелиального происхождения.

Ключевые слова: меланины, базидиомицеты, карпофоры, мицелий, культуральный фильтрат.

A.K. Veligodska, O.V. Fedotov

Donetsk National University, 46, Shchorsa str., Donetsk, 83000, Ukraine,
tel.: +38 (062) 304 61 84, e-mail: bio.graff@yandex.ua

THE TOTAL MELANINS CONTENT OF BASIDIOMYCETES ORDERS *POLYPORALES* AND *AGARICALES*

Summary

The **aim** of the study was to investigate the total content of melanin in carpophorus, mycelia and culture filtrate species of Basidiomycetes. **Methods.** Extraction of melanin mycological material carried by its alkali hydrolysis 2 N NaOH solution in the ratio of 1:10, followed by precipitation with concentrated HCl. The precipitate after the addition of hydrochloric acid dissolved in 5 ml of 2 N solution of NaOH. The total pigment content was determined by spectrophotometric method and were calculated using a calibration curve (by pyrocatechol). The melanin content in the culture filtrate was determined by the direct colorimetry CF. **Results.** The total melanin content in fruiting bodies of 50 species of *Basidiomycetes*, 27 of which are belonging to order *Polyporales* and 23 to order *Agaricales* was investigated. The comparative analysis on the basis of the obtained data showed the highest total melanin content in *Ganoderma applanatum*, *Fistulina hepatica* and *Laetiporus sulfureus* carpophorus. Dynamics of growth and carotenoid synthesis in mycelium and cultural filtrate of 30 strains of 10 basidiomycetes species isolated in mycelial culture was studied on glucose-peptone medium. **Conclusion.** Selected strains of *Fomes fomentarius* and *Lentinus edodes* are promising for further studies to optimize the culture conditions for mycelial melanin origin.

Key words: melanins, basidiomycetes, carpophores, mycelium, cultural filtrate.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. — 1991. — Т. 111, Вып. 6. — С. 923–932.
2. Беккер Э.Э. Физиология и биохимия грибов. — М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1988. — 230 с.



3. Бухало А.С. Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре / А.С. Бухало, В.Г. Бабицкая, Н.А. Бисько, С.П. Вассер, И.А. Дудка, Н.Ю. Митропольская, О.Б. Михайлова, А.М. Негрейко, Н.Л. Поединок, Э.Ф. Соломко. — К.: — Альтерпрес, 2011. — 212 с.
4. Буценко Л.М. Технології мікробного синтезу лікарських засобів / Л.М. Буценко, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. — К.: НУХТ, 2010. — 323 с.
5. Ветчинкина Е.П. Динамика образования гликопротеинов и высокомолекулярных фенолов грибом *Lentinus edodes* в условиях глубокого культивирования / Е.П. Ветчинкина, В.Е. Никитина, В.Г. Бабицкая, В.В. Щерба, Т.А. Пучкова, Д.А. Смирнов, О.В. Осадчая // Самарская Лука. 2008. — Т. 17, № 2(24). — С. 367–372.
6. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. образоват. журн. — 2000. — № 12. — С. 13–19.
7. Государственная Фармакопея СССР. — XI изд. — Вып. 1. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
8. Жданова Н.Н. Экстремальная экология грибов в природе и эксперименте. / Н.Н. Жданова, А.И. Василевская // К.: Наукова думка, 1982. — 168 с.
9. Приседський Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів / Ю.Г. Приседський. — Донецьк: Кассіопея, 1999. — 210 с.
10. Федотов О.В. Колекція культур шапинкових грибів — основа мікологічних досліджень та стратегії збереження біорізноманіття базидіомицетів / О.В. Федотов, О.В. Чайка, Т.Є. Волошко, А.К. Велигодська // Вісник Донецького університету. — Донецьк: ДонНУ, 2012. — С. 209–213.
11. Babitskaya V.G. The Nature of Melanin Pigments of Several Micro- and Macromycetes / V.G. Babitskaya, V.V. Shcherba // Applied Biochemistry and Microbiology — Applied Biochemistry and Microbiology — May 2002, — Volume 38, — Issue 3, — P. 247–251.
12. Fedotov O.V. Antioxidizing activity of mycelium of mushroom stocks *Pleurotus* (Fr.) Kumm. and *Flammulina* (Curt.: Fr.) Sing. // International journal of medicinal mushrooms, 2001. — Vol. 3, № 2–3. — P. 143.
13. Kirk P.M. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. 9th ed. / P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers. — Wallingford, CAB International, 2001. — 655 p.
14. Velišek J. Biosynthesis of food constituents: natural pigment / J. Velišek, J. Davídek, K. Cejpek // Food Sci., 2007. — Vol. 25. — P. 291–315.

Стаття надійшла до редакції 12.03.2013 р.

