

УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Под общей научной редакцией академика РАЕН
Ю.В. Сергеева

Том VII

**МАТЕРИАЛЫ ЧЕТВЕРТОГО ВСЕРОССИЙСКОГО КОНГРЕССА
ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

Москва
Национальная Академия Микологии
2006

ББК 28.591
УДК 58.616.5
У78

Редакционная коллегия:

Сергеев Ю. В. (главный редактор)
Лещенко В. М. (ответственный секретарь)
Бибикова М. В.
Дьяков Ю. Т.
Левитин М. М.
Кравченко Л. М.
Мусселиус С. Г.
Озерская С. М.
Панин А. Н.
Саркисов К. А.
Сергеев А. Ю.
Тутельян В. А.
Феофилова Е. П.

У78 Успехи медицинской микологии. — Т. 7. — М.: Национальная академия микологии, 2006. — 346 с.

Седьмой том периодического сборника «Успехи медицинской микологии» включает научные труды, посвященные морфологии, физиологии и биохимии патогенных, токсигенных и аллергенных грибов, их распространенности в современном окружении человека. Рассмотрены проблемы аллергии и иммунопатологии, обусловленной грибами, а также микозов, ассоциированных с особыми формами иммунодефицита. В главе, посвященной микотоксикозам и отравлениям грибами, приведены новые сведения о грибных токсинах, вызываемых ими заболеваниях и способах борьбы с ними. В главе «Перспективные антимикотики» уделено внимание не только разрабатываемым противогрибковым препаратам, но и другим соединениям с фунгицидным потенциалом, а также металикам, позволяющим деконтаминацию биологических субстратов и технических объектов. Эти вопросы обсуждаются в тесной связи с проблемами чувствительности и устойчивости возбудителей микозов к современным противогрибковым средствам, способам их изучения и преодоления. Традиционно большой раздел сборника объединяет материалы по новым грибным биотехнологиям в медицине, отечественному и международному опыту их внедрения и использования, в том числе – лекарственных препаратов, биологически активных веществ, а также медицинскому применению культивируемых съедобных грибов. Завершает том глава по вопросам организации микологической службы в России, ее совершенствованию и преподаванию медицинской микологии. Издание составлено на основе материалов Четвертого Всероссийского конгресса по медицинской микологии.

ББК 28.591
УДК 58-616.5

*Издано в Российской Федерации в рамках программы
Национальной академии микологии*

© Национальная академия микологии, 2006

РНказы и ДНказы [см.: Проблемы экспериментальной ботаники. — Мн.: Бел. наука, 1997, с. 185—199].

Протеазы начинают выделяться мицелием *P. teres* практически с начала его роста *in vitro* и секреция этих ферментов продолжается весь период культивирования гриба. Пики более активной секреции протеаз происходят волнообразно: на 4—5, 7—12, 15—17, 20—24 и 27—29 дни культивирования. Нуклеазы (РНказы и ДНказы) в культуральной среде *P. teres* обнаруживаются несколько позже — на 4—5 дни роста, показывая пики активности РНказ на 5—7 и 17—29 дни (т.е. на первых и последних этапах развития) и ДНказ — на 5—7 дни (второго пика активности не отмечено). Пики протеазных активностей (в качестве субстрата протеаз использовали казеин) в основном составляют 20—60 μ /мг тирозина; пики РНказ — 200—800 усл. ед./мл/мг белка; пики ДНказ — 150 % кислоторастворимого материала/мг белка. В весовом отношении по приблизительной оценке суммарная доля протеаз и нуклеаз может достигать 10—30% от всей массы экстрацеллюлярных белков. Эти ферменты отличаются от хозяин-специфичных и неспецифичных фитотоксинов по молекулярной массе и легко делимы.

Следовательно, культуральная среда *P. teres* представляет собой источник высокоактивных протеаз, РНказ и ДНказ, которые суммарно могут использоваться для борьбы с вирусными патогенами: например, в виде тампонов для наружной обработки герпетических язв, в виде влажных прокладок марлевых повязок для предохранения от заражения вирусными частицами в местах массового скопления людей, или иным образом.

ВЫСШИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* И *LAETIPORUS SULPHUREUS* КАК ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Липовицкая В.М.¹, Дзыгуи Л.П.¹, Клечак И.Р.¹, Бухало А.С.²

¹ — Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт»

² — Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины
Киев

Современная биотехнология, используя опыт восточной и народной медицины, постоянно расширяет круг объектов природного происхождения, которые могут быть использованы в качестве как пищевых добавок, так и лекарственных препаратов. Одним из таких источников новых биологически активных веществ являются высшие базидиальные, и, в частности, дереворазрушающие грибы.

Примером использования грибов этой группы в медицинской биотехнологии являются базидиомицеты *Schizophyllum commune* и *Laetiporus sulphureus*. Так, из культурального фильтрата, полученного при культивировании *Schizophyllum commune*, выделяют экзополисахарид пизофилин, обладающий противоопухолевыми, антимикробными, противовоспалительными и антивирусными свойствами. Высушенный мицелий *S. commune* может быть использован в качестве пищевой добавки с иммуномодулирующей, гепатопротекторной и онкостатической активностью. Высший базидиомицет *Laetiporus sulphureus* также содержит ряд биологически активных соединений (лектины, каротиноиды, ферменты и т.п.) и может быть использован в качестве пищевой добавки, обладающей антимикробным, антиоксидантным и радиопротекторным действием.

Исходя из вышеизложенного, представляет определенный научный и практический интерес проведение скрининга музейных и новых, выделенных из природной среды, штаммов *S. commune* и *L. sulphureus* с целью создания современных биотехнологий получения биологически активных веществ, в том числе используемых в медицинской практике.

На первом этапе были проведены работы по исследованию физиолого-биологических особенностей штаммов высших базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus* и *Schizophyllum commune* в условиях глубинного культивирования на питательных средах разного состава.

Объектами исследований были четыре штамма базидиомицета *Schizophyllum commune* Fr. (441, 1714, 1760 и 5009) и четыре штамма *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill (1518, 1774, 1772, 1773), полученные как из коллекции шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, так и изолированные авторами из плодовых тел, собранных в разных регионах Украины.

Глубинное культивирование во всех исследованиях проводилось в колбах Эрленмейера разного объема на качалке (160–170 об/мин) при температуре +28° С.

Определение влияния различных источников азота и углерода на интенсивность роста исследуемых штаммов проводили по методике предложенной Бухало (1988). При этом, для каждого варианта питательной среды в качестве единственного добавляемого источника углерода использовали одно из следующих веществ в концентрации эквивалентной 20 г глюкозы: инулин, ксилозу, лактозу, мальтозу, маннит, глицерин, крахмал, сахарозу, фруктозу или глюкозу. Азотсодержащие соединения (гистидин, лейцин, лизин, триптофан, NH_4NO_3 , NaNO_3 , NaNO_2 , NH_4Cl , пептон) вносились в концентрации эквивалентной 0,33 г/л азота. Влияние выбранных источников азота и углерода на рост исследуемых штаммов определяли по уровню накопления биомассы (весовым методом) на десятые сутки культивирования.

Было также проведено глубинное культивирование четырех штаммов *S. commune* на комплексных питательных средах, т.е. на синтетической

среде с глюкозой (15 г/л) [Бухало, 1988] с добавлением одного из компонентов: пептон — 10 г/л, кукурузный экстракт — 100 мл/л, мяеса — 100 мл/л, пивное сусло — 10 мл/л, экстракт кормовых дрожжей — 5 г/л. Отбор проб осуществляли каждые 12 часов в течение 10 суток. В отобранных образцах определяли количество биомассы весовым методом и содержание в культуральной жидкости полисахаридов.

В результате проведенных исследований роста четырех штаммов *L. sulphureus* и штамма *S. commune* 1760 на средах с различными источниками азота, было установлено, что у *S. commune* наибольшее количество биомассы накапливалось на средах с добавлением триптофана или пептона (концентрация биомассы 1,3 и 1,2 г/л соответственно). Минимальное количество биомассы наблюдалось на средах с добавлением NaNO_2 и NH_4NO_3 (0,3–0,4 г/л), что свидетельствует о преимущественном потреблении аминного азота. В то же время, для штаммов *L. sulphureus* высокий уровень накопления биомассы был отмечен не только в случае использования в качестве единственного источника азота пептона или лизина (например, для штамма 1773 концентрация биомассы составляла соответственно 15,8 г/л и 15,3 г/л), но и NaNO_2 или NH_4NO_3 (15,6 г/л и 14,2 г/л соответственно для того же штамма). При этом максимальное количество биомассы было получено для штамма 1773 на всех средах (3,9–15,6 г/л), и значительно меньшее содержание биомассы наблюдалось для штаммов 1518 (1,2–2,1 г/л), 1772 (2,9–7,0 г/л), 1774 (0,8–5,8 г/л), причем уровень накопления биомассы зависел от состава среды. Таким образом, базидиомицет *L. sulphureus* способен утилизировать более широкий спектр источников азота, чем *S. commune* — как аминный, так и в виде нитратов, нитритов и солей аммония.

При определении оптимального для получения биомассы источника углерода у двух исследуемых базидиомицетов также проявлялись видовые и штаммовые отличия. Для всех четырех штаммов *L. sulphureus* максимальное накопление биомассы значительно зависело от штамма и наблюдалось на среде с крахмалом (от 0,3 г/л для 1518 штамма до 18,9 г/л для 1773 штамма) и глюкозой (от 0,1 г/л для 1518 штамма до 18,8 г/л для 1773 штамма). При этом, для штамма *S. commune* 1760 наилучший результат был получен при использовании в качестве источника углерода фруктозы — 1,2 г/л биомассы.

Лекарственные свойства базидиального гриба *S. commune* в первую очередь обусловлены действием на иммунную систему экзополисахаридов. Поэтому нами также были проведены исследования влияния состава питательной среды на уровень накопления, как биомассы, так и полисахаридов в культуральной жидкости для четырех штаммов этого гриба.

Наиболее высокие показатели количества экзополисахаридов в культуральной жидкости наблюдались на средах с пептоном или с кукурузным экстрактом для всех изученных штаммов (5–8 г/л в зависи-

мости от штамма). Минимальная концентрация полисахаридов регистрировалась на средах с пивным суелом либо с глюкозой (0,3–0,6 г/л в зависимости от штамма). В то же время, максимальное накопление биомассы для всех штаммов (5,9 г/л для штамма 441 и 8,8 г/л для штамма 1760) отмечено на среде с мялясой, а минимальное (до 2,7 г/л) на среде с пивным суелом. Таким образом, для получения биомассы и экзополисахаридов оптимальной является питательная среда разного состава: с высоким содержанием углеводов (мяляса) для накопления биомассы и с повышенным содержанием ростовых веществ, углеводов и азотсодержащих соединений (кукурузный экстракт, пептон) для получения экзополисахаридов.

Для дальнейших исследований с целью создания новых биотехнологий получения, как пищевых добавок, так и биологически активных веществ с использованием высших базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus* и *Schizophyllum commune* можно рекомендовать штамм *L. sulphureus* 1773 и штамм *S. commune* 1760. В качестве источников азота и углерода в средах для получения биомассы *L. sulphureus* предлагается пептон, либо нитрат натрия и крахмал. Для *S. commune* наилучшим источником азота является пептон, углерода – фруктоза, а также комплексная среда с добавлением мялясы для получения экзополисахаридов в условиях глубинного культивирования.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Лиховидов В.Е., Наумов А.П., Ариповский А.В.

*Федеральное государственное учреждение науки «Государственный
научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»*

(ФГУН «ГНЦ ПМБ»)

п. Оболенск, Московская область

В последнее время в медицине, пищевой промышленности и в косметологии все шире используются биоактивные липиды, особенно эссенциальные, эйкозаполиеновые жирные кислоты. Продуцентами последних могут быть жиры некоторых видов промысловых рыб, семена определенных видов растений, а также микромицеты из различных таксонов. Есть мнение, что технология синтеза биоактивных липидов с использованием микромицетов имеет ряд преимуществ по сравнению с другими источниками получения ценных липидов (Конова и др., 2004). Водные грибы в этом отношении изучены крайне недостаточно. В связи с этим нами были изучены 20 штаммов водных грибов из рабочей коллекции ФГУН «ГНЦ ПМБ», принадлежащих к классам *Oomycetes* и *Chytridiomycetes*.

Phallus impudicus (L.: PERS), <i>Hericium erinaceus</i> (BULL.: FR) PERS И Trametes versicolor (FR.) QUEL – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Филимонова Т.В., Рожкова З.А., Поединок Н.Л., Трухоновец В.В., Осадчая О.В.</i>	220
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ГРИБОВ <i>Flammulina velutipes</i> И <i>Ganoderma lucidum</i> <i>Бабицкая В.Г., Трухоновец В.В., Осадчая О.В., Рожкова З.А., Филимонова Т.В., Черноок Т.В.</i>	222
<i>Hericium erinaceus</i> : БИОТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА <i>Белицкий И.В., Автономова А.В., Исакова Е.Б., Леонтьева М.И., Баканов А.В., Усов А.И., Бухман В.М., Краснопольская Л.М.</i>	225
ВЛИЯНИЕ НА-ИУК НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ШТАММА M-81 <i>HIRSCHPORUS LARICINUS</i> (KARST.) RYU <i>Бойко М.И.</i>	228
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ ПЕКТОЛИТИЧЕСКОГО И МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ <i>Бойко С.М., Филиппова Ю.О.</i>	230
ОБРАЗОВАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ АНТИБИОТИКОВ С АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ <i>Борисова Н.А., Бибикова М.В., Спиридонова И.А., Катлинский А.В.</i>	232
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРИБОВ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ДРЕВЕСНЫХ ОСТАТКОВ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ <i>Волчатова И.В., Медведева С.А., Иконникова Н.В., Смирнов Д.А., Капич А.Н., Бабицкая В.Г., Щерба В.В.</i>	236
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СИНТЕЗ МЕЛАНИНА ГРИБАМИ <i>Rhellinus robustus</i> И <i>Inonotus obliquus</i> В ПОВЕРХНОСТНОЙ КУЛЬТУРЕ <i>Иконникова Н.В., Бабицкая В.Г., Щерба В.В.</i>	238
ПОИСК МЕТАБОЛИТОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ С ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ <i>Исангалин Ф.Ш., Артюхин В.И., Лиховидов В.Е., Косарева Н.И., Коробова Н.А., Быстрова Е.В.</i>	241
НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ <i>Капич А.Н.</i>	243
ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ ПРОТЕАЗЫ И НУКЛЕАЗЫ <i>RYRENORHORA TERES DRECHS</i> И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ <i>Карпук В.В.</i>	245
ВЫСШИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ <i>Schizophyllum commune</i> И <i>Lactiporus sulphureus</i> КАК ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ <i>Липовлянская В.М., Дзыгул Л.Н., Клечак И.Р., Бухало А.С.</i>	246

Гулкова Ю.И. 83
Гуменюк А.П. 259
Гуськова Т.А. 156
Гутько Н.И. 302

Д

Дедюшко Н.А. 198
Денъсюк Н.Н. 143, 151
Денева Е.А. 42
Дзыгун Л.П. 246
Дигтярь А.В. 144
Дорофеева Е.С. 137, 145
Дубчак В.Е. 201

Е

Евдокимова О.А. 279
Евсенко М.С. 217
Егоров В.И. 98
Ершова Е.Ю. 280
Ефременкова О.В. 280, 311

Ж

Жданова Н.Н. 10, 44, 46
Желтикова Т.М. 36, 71
Жилин О.В. 48
Жирков В.М. 272

З

Заболотная Д.Д. 138
Задорожная Л.В. 183
Зайкина М.Ю. 190, 195
Зайцева Г.А.1 73
Зарицкая И.С. 138, 146
Зароченцева И.А. 38
Захарова Е.А. 167
Захарова Л.П. 124
Захарченко В.А. 44
Зачиняев Я.В. 101, 318

И

Ибадова Г.А. 169
Иванова А.Е. 10
Иванов А.А. 280
Иванов А.В. 104, 106
Иванов Д.М. 283
Иванушкина Н.Е. 14, 45
Иванченко О.Б. 109

Иконникова Н.В. 236, 238, 263
Исакова Е.Б. 217, 225
Исангалин Ф.Ш. 241
Исмагилов А.И. 77

К

Калягина С.Ю. 285
Камзолкина О.В. 280
Капич А.Н. 236, 243, 262
Караулов А.В. 72
Карпенко Ю.В. 10, 46
Карпук В.В. 245
Катлинский А.В. 232
Катруха Г.С. 280, 307
Кахаберидзе В.В. 149
Кизленко О.И. 114
Клечак И.Р. 246
Климко Н.Н. 174
Клясова Г.А. 170, 172
Кляуз Н.В. 183
Кобзистая О.П. 113
Кобякова В.И. 38
Ковалев В.А. 183
Коваленко Ю.Б. 173
Коваль Э.З. 54, 152
Колб З.К. 83, 174
Кондратюк Т.А. 44
Копоненко Г.П. 94, 95, 97
Коробова Н.А. 241
Короткий Ю.В. 143
Косарева Н.И. 241
Котрехова Л.П. 83
Кочкина Г.А. 14, 45
Кошкин С.В. 73
Крапивина Е.А. 286
Краснопольская Л.М. 217, 225, 307
Крипичер О.А. 19
Круподерова Т.А. 288
Кручинский Н.Г. 200
Кузьмин С.Г. 153
Куимова Н.Г. 48
Куляева В.В. 280
Курочкин С.А. 316
Курченко В.П. 255
Кутырева М.П. 6