



О.Б. МИХАЙЛОВА

Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України
вул. Велика Житомирська, 28, м. Київ, 01601, Україна
mikhajlov_e@ukr.net

МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ГРИБА *PIPTOPORUS BETULINUS* (*BASIDIOMYCETES*) НА АГАРИЗОВАНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

К л ю ч о в і с л о в а: *Piptoporus betulinus*, сканувальна електронна мікроскопія, морфологія, культуральні ознаки

Вступ

Значна увага до пізнання різних аспектів біології та біосинтетичної активності базидієвих грибів, що спостерігається останніми роками, обумовлена насамперед розширенням сфери їх практичного використання (Wasser et al., 1999; Chang, Miles, 2004; Бухало и др., 2012). Саме тому дослідження біологічних властивостей чистих культур макроміцетів, які, за сучасними даними, мають широкий лікувальний спектр, вкрай важливі й актуальні.

Piptoporus betulinus (Bull.) P. Karst. (губка березова) поширений у зонах із помірним кліматом, у природі трапляється зазвичай на відмерлих, зрідка — на живих березах з червня по грудень, спричинюючи жовто-буру або червоно-коричневу гниль деструктивного типу (Бондарцев, 1953; Рипачек, 1967; Дудка, Вассер, 1987). Цей вид добре відомий, має тривалу історію використання (Денисова, 1991; Бухало и др., 2012).

Сучасні дослідники (Bryce et al., 1991; Kandefér-Szarszen, Kaweckі, 1991; Schlegel et al., 2000;

Kawagishi et al., 2002; Keller et al., 2002; Kamo et al., 2003) детально аналізували біологічно активні речовини, що входять до складу як плодових тіл, так і міцелію *P. betulinus* і визначають його фармакологічні властивості. Однак, як засвідчив аналіз даних літератури, досі залишаються недостатньо дослідженими біологічні властивості *P. betulinus* у культурі. На даний час відомості про особливості росту штамів *P. betulinus*, морфологію міцеліальних колоній на агаризованих живильних середовищах, реагування культур на температуру інкубації є фрагментарними або взагалі відсутні. З огляду на це метою роботи було встановлення морфолого-культуральних характеристик вегетативного міцелію штамів *P. betulinus* із колекції Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України за умови вирощування на агаризованих живильних середовищах. Таке дослідження дасть можливість виявити додаткові ознаки виду, необхідні для коректної верифікації культур у вегетативній стадії розвитку, а також підібрати оптимальні живильні середовища для культивування та збереження штамів у належному фізіологічному стані.

© О.Б. МИХАЙЛОВА, 2014

Об'єкти та методи досліджень

Об'єктом досліджень стали культури *P. betulinus* (11 штамів), які зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України (ІБК). Морфологію і ріст культур досліджували в чашках Петрі на стандартних і модифікованих агаризованих живильних середовищах різного складу: мальць екстракт агар (МЕА), сусло-агар (4° за Балінгом) (СА), картопляно-декстрозний агар (DIFCO) (КДА), глюкозо-пептон-дріжджовий агар (ГПДА; г/л: глюкоза — 25,0; пептон — 5,0; дріжджовий екстракт — 3,0; агар-агар — 20; рН 6,5). Поверхневе культивування проводили за температур: 4±0.1, 22±0.1, 26±0.1, 28±0.1. Після повної колонізації чашок Петрі міцелієм їх утримували за умов денного освітлення. Культури, для перевірки життєздатності, інкубували на ГПДА за температур 30—36° С з кроком 1° С. Після третьої доби інкубації враховували наявність чи відсутність росту міцелію. Збереження або втрата життєздатності міцелію культур перевірялась при подальшому інкубуванні за температури 26° С. Радіальну швидкість росту розраховували за стандартною методикою (Соломко и др., 2000). Мікроструктури вегетативного міцелію *P. betulinus* досліджували в світловому мікроскопі МБИ—15, а також у сканувальному електронному мікроскопі JSM-35С (Японія), використовуючи модифікований метод Е. Квательбаума і Г. Карнера (Бухало, 1988). Наявність на вегетативному міцелії досліджуваних штамів грибів оксидаз (лакази, тирозинази, пероксидази) встановлювали за допомогою якісних ензиматичних реакцій (Бухало, 1988), наявність 8 ферментів, які характеризують метаболізм азотних сполук (протеїназа, уреаза, нітрат-редуктаза), вуглеводів (амілаза, целюлаза, ксиланаза, β-глюкозидаза), ліпідів (ліпаза), визначали за відомою методикою (Бухало и др., 2012).

Результати досліджень та їх обговорення

Мікроморфологічна характеристика культур враховує сукупність мікроскопічних ознак: наявність пряжок або псевдопряжок; ширину гіф; типи гіф за традиційною класифікацією Сталперса (генеративні, скелетні або зв'язні); наявність анастомозів і різноманітних структур, які утворюються під час диференціації гіф у культурі (гіфальні кільця, гіфальні тяжі та ризоморфи, інкрустовані

гіфи, кристали на гіфах тощо); наявність структур нестатевого розмноження (Псурцева, 2008). Однією з найважливіших таксономічних ознак під час ідентифікації базидієвих макроміцетів у культурі є наявність унікальної структури — пряжок, які трапляються на міцелії багатьох представників цього класу (Stalpers, 1978; Бухало, 1988). Різні види характеризуються певними відмінностями в розташуванні пряжок на міцелії, частоті їх утворення, розмірах тощо (Buchalo et al., 2009).

Вегетативний міцелій досліджених штамів *P. betulinus* переважно складався з тонкостінних, помірно розгалужених, регулярно септованих, незабарвлених генеративних гіф діаметром 2—4 мкм, які утворювали анастомози, міцеліальні тяжі. Всі штами мали численні пряжки на вегетативному міцелії. Особливості вегетативної системи, зокрема наявність пряжок, ми досліджували в світловому мікроскопі, тоді як про форму та структурні особливості цього утвору можна розмірковувати лише з використанням сканувального електронного мікроскопа (СЕМ). За даними А.С. Бухало зі співавторами (Buchalo et al., 2009), для *P. betulinus*, окрім поодиноких пряжок, характерні численні, мутовчасті та парні пряжки. Вони можуть значно варіювати за формою: великі та маленькі, короткі та довгі, слабо- та крутозігнуті, медальйонні та практично без шпарини між пряжкою і гіфою. Спостерігаються також пряжки, які переходять одна в іншу (рис. 1, А, Б). Наявність на вегетативному міцелії *P. betulinus* різних за формою, розташуванням на гіфі та кількістю пряжок є однією із мікроморфологічних характеристик цього виду на вегетативній стадії розвитку.

За даними літератури (Stalpers, 1978; Petre, Tănase, 2013), на середовищі певного складу штами *P. betulinus* здатні утворювати структури нестатевого спороношення — бластоконідії. В умовах нашого експерименту ми не спостерігали цих структур. Можливо, це пов'язано з тим, що склад живильних середовищ, з якими ми працювали, не стимулював утворення бластоконідій.

Таким чином, для *P. betulinus* встановлено мікроморфологічну характеристику вегетативного міцелію, а саме: наявність різноманітних за своєю формою та структурою пряжок, розташування їх на вегетативному міцелії (поодинокі, парні, мутовчасті), значна кількість пряжок, ширина генеративних гіф (1,5—2,0 мкм), утворення міцеліальних тяжів та анастомозів. Сукупність таких ознак, разом з ін-

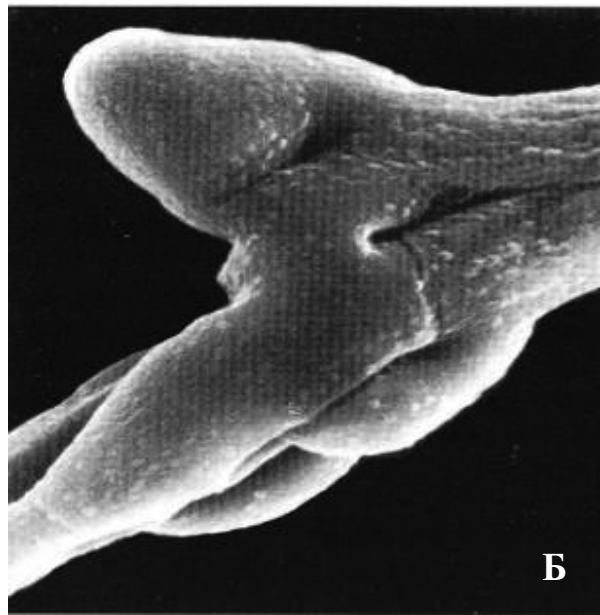


Рис. 1. *Piptoporus betulinus*: А — пряжки на гіфі, анастомози (СЕМ, $\times 4000$), Б — пряжка (СЕМ, $\times 5000$)

Fig.1. *Piptoporus betulinus*: А — clamps connections on a hyphae, anastomoses (SEM, $\times 4000$), Б — clamp on a hyphae (SEM, $\times 5000$)

шими характеристиками, необхідно враховувати для верифікації цього виду в колекціях культур.

Вивчення морфолого-культуральних особливостей штамів на агаризованих живильних середовищах дає можливість виявити додаткові таксономічні характеристики грибно́ї культури, а також підібрати оптимальні живильні середовища для культивування та збереження штамів у належному фізіологічному стані. Вибираючи живильні середовища для дослідження, ми керувалися тим, що всі вони традиційно використовуються в культивуванні широкого спектра видів макроміцетів. Ми дослідили ріст 11 штамів *P. betulinus* на 4 різних за складом агаризованих живильних середовищах: сушло-агар (СА), мальц-екстракт агар (МЕА), картопляно-декстрозний агар (КДА), глюкозо-пептон-дріжджовий агар (ГПДА). Враховували морфологію колоній на певному середовищі, інтенсивність розвитку вегетативного міцелію, визначали радіальну швидкість росту, фізіологічну активність культур, проводили фотофіксацію морфології міцеліальних колоній. Особливу увагу приділяли чиннику, що впливає на збереження життєздатності культур, — температурі інкубації.

Ріст міцелію досліджених штамів *P. betulinus* зафіксовано на всіх середовищах. Формувалися розріджені повстисті колонії білого кольору з не-

значною кількістю коротких, сплутаних, повітряних гіф, край колонії рівний, злегка піднятий, колір реверзую збігався із забарвленням середовища, ексудат відсутній. Після 20 діб культивування за наявності світла з'явилися примордії на всіх використаних середовищах (рис. 2).

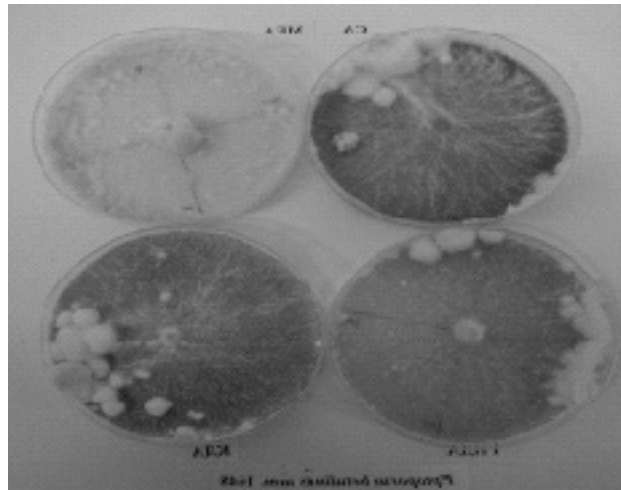


Рис. 2. *Piptoporus betulinus*: міцеліальні колонії на агаризованих живильних середовищах (СА; МЕА; ГПДА; КДА) за температури інкубації $26\pm 1^\circ\text{C}$

Fig. 2. *Piptoporus betulinus*: mycelium colonies on agar mediums: beer wort agar (BWA), malt extract agar (MEA), glucose-pepton-yeast agar (GPYA), potato-dextrose agar (PDA) ($t=26\pm 1^\circ\text{C}$)

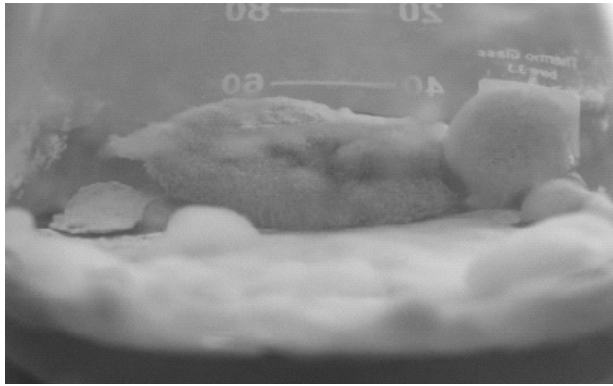


Рис. 3. *Piptoporus betulinus*: примордії під час культивування на рідкому живильному середовищі ГПД у стаціонарних умовах (30-а доба культивування)

Fig. 3. *Piptoporus betulinus*: fruit bodies on liquid media (GPY)

Слід зазначити, що утворення примордіїв та генеративної стадії в чистій культурі є одним із найважливіших критеріїв для підтвердження видової приналежності культури (Псурцева, 2008). Саме тому, коли культури зберігаються в умовах колекції, формуванню плодових тіл приділяється особлива увага. Кожний штам має свою здатність за певних умов утворювати генеративну стадію. Легко формують плодові тіла в чистій культурі на агаризованих живильних середовищах такі види: *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Schizophyllum commune* Fr.: Fr., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, *L. tigrinus* (Bull.) Fr. Деяким видам необхідно створювати сприятливі умови для переходу до генеративної стадії.

Усі досліджені нами штамми *P. betulinus* утворювали примордії не лише під час культивування на агаризованих живильних середовищах, а й на рідкому середовищі в стаціонарних умовах (рис. 3).

За даними літератури (Petre, Tănase, 2013), культивування штаму губки березової, виділеного з плодових тіл, зібраних на території Румунії, на агаризованих живильних середовищах (МЕА КДА) й адаптованому середовищі не зумовило утворення генеративної стадії. Можливо, це пов'язано з тим, що автори інкубували свої культури в темряві, тоді як більшість грибів для формування плодових тіл потребує освітлення (Поединок, 2013). Саме здатність легко утворювати генеративну стадію в культурі можна використовувати для верифікації штамів даного виду в колекціях.

Таблиця 1. Швидкість радіального росту вегетативного міцелію штамів *Piptoporus betulinus* на агаризованих живильних середовищах за різних температур інкубації (Vr, мм/доба)

| Штам | Температура інкубації, °C | Середовище | | | |
|------|---------------------------|------------|----------------|----------|----------------|
| | | СА | МЕА | ГПДА | КДА |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1554 | 22±0,1 | 4,0±0,1 | 5,7±0,3 | 5,8±0,1 | 7,6±0,2 |
| | 26±0,1 | 6,5±0,32 | 6,3±0,3 | 5,9±0,1 | 9,4±0,2 |
| 1555 | 22±0,1 | 3,7±0,1 | 5,3±0,3 | 5,0±0,2 | 6,3±0,1 |
| | 26±0,1 | 6,2±0,1 | 6,3±0,2 | 5,5±0,5 | 6,8±0,3 |
| 1556 | 22±0,1 | 3,0±0,1 | 6,8±0,1 | 5,3±0,2 | 6,0±0,2 |
| | 26±0,1 | 6,8±0,1 | 7,5±0,1 | 7,2±0,1 | 6,8±0,2 |
| 1647 | 22±0,1 | 3,0±0,2 | 4,0±0,1 | 6,6±0,2 | 5,7±0,2 |
| | 26±0,1 | 7,0±0,2 | 6,6±0,3 | 6,4±0,1 | 7,7±0,1 |
| 1648 | 22±0,1 | 3,6±0,2 | 5,9±0,2 | 3,07±0,1 | 4,8±0,2 |
| | 26±0,1 | 7,5±0,1 | 7,8±0,2 | 5,3±0,1 | 8,9±0,1 |
| 1650 | 22±0,1 | 5,3±0,1 | 6,3±0,1 | 5,0±0,4 | 6,6±0,1 |
| | 26±0,1 | 6,1±0,1 | 6,2±0,1 | 5,3±0,2 | 7,5±0,2 |
| 1651 | 22±0,1 | 4,7 ± 0,3 | 4,8 ± | 4,2 0,3 | 5,1± |
| | 26±0,1 | 6,7 ± 0,2 | 6,5 ± | 5,9 0,3 | 7,0± |
| 1652 | 22±0,1 | 3,5 0,3 | 3,2 ± | 3,0 ± | 3,9± |
| | 26±0,1 | 5,8 ± | 5,4 ± | 4,2 ± | 6,1± |
| 1653 | 22±0,1 | 3,2 ± | 2,5 ± | 2,0 ± | 3,3 ± |
| | 26±0,1 | 4,6 ± | 4,8 ± | 4,1 ± | 5,0 ± |
| 1654 | 22±0,1 | 3,4 ± | 3,2± | 3,1± | 3,6± |
| | 26±0,1 | 5,5 ± | 6,6 ± | 5,1 0,3 | 6,2 ± |
| 2020 | 22±0,1 | 6,6±0,1 | 7,5±0,3 | 4,8±0,1 | 7,0±0,2 |
| | 26±0,1 | 7,4±0,4 | 7,1±0,3 | 6,1±0, 1 | 9,5±0,4 |

П р и м і т к а: жирним шрифтом відзначено максимальну швидкість радіального росту культури.

На думку відомого міколога М. Ноблза (Nobles, 1971), ізоляти одного й того ж виду можуть значно різнитися за кольором, текстурою колоній, а більш сталими ознаками є мікроскопічні особливості гіфальної системи, швидкість росту, реагування на температуру. Тому швидкість росту вегетативного міцелію поряд зі здатністю до біосинтезу тих чи інших метаболітів є важливими критеріями характеристики штамів. За даними літератури, на швидкість росту істотно впливають склад живильних середовищ і температура інкубації (Соломко, 2000; Ломберг, 2005).

Аналіз отриманих нами даних свідчить, що для 73% досліджених штамів максимальну швидкість росту забезпечував картопляно-декстрозний агар. Для штамів 1554, 1555, 1648, 2020 характерні найвищі показники швидкості росту — понад 7 мм/добу (табл. 1). Г.В. Ільїна і Ю.С. Ликов (Ільїна, Лыков, 2010), які досліджували ріст 15 видів базидіоміцетів лісостепу правобережного Повол-

жя, наводять показники росту культур *P. betulinus* на КДА в межах 8–9 мм/добу. Таку швидкість росту на КДА показали лише 4 з 11 штамів, виділених із плодкових тіл, зібраних на території України. У 27 % досліджених нами штамів максимальні показники росту зафіксовано на МЕА. Слід зазначити, що СА, який широко застосовується дослідниками як універсальне середовище для зберігання культур у колекціях та характеристики морфолого-культуральних ознак базидіоміцетів, забезпечував хоч і не максимальну, але доволі високу середню швидкість росту всіх без винятку культур. Співробітники нашого відділу проводять багаторічні дослідження ростових характеристик штамів колекції. Аналіз опублікованих результатів засвідчує, що досліджені нами культури за показником радіальної швидкості росту наближені до таких видів, як *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr., *Lentinus edodes* і *L. tigrinus* (Соломко, 2000; Дзигун, 2005).

Таким чином, комплексне вивчення дало змогу встановити, що штами *P. betulinus* можна віднести до культур, які ростуть із середньою швидкістю (5–9 мм/добу), оптимальна температура — 26° С, максимальна швидкість росту колоній більшості штамів спостерігалася на КДА. Найактивнішими виявилися штами 1554, 1555, 1648 та 2020. Здатність культур легко утворювати генеративну стадію на агаризованих живильних середовищах можна використовувати як одну з додаткових таксономічних ознак для верифікації штамів даного виду в колекціях культур.

Загальновідомо, що міцелій грибів розвивається у природних і штучних умовах лише за певного діапазону температур. Визначення цього важливого чинника необхідне для створення оптимальних умов культивування і зберігання грибів. Ми дослідили ріст і морфологію культур за температур 4±0,1° С, 22±0,1° С, 26±0,1° С, 30–36° С з кроком 1±0,1° С. Ріст міцелію всіх вивчених штамів *P. betulinus* відбувався у температурному діапазоні 4–30° С, отож їх можна віднести до групи мезофільних грибів, оптимум росту яких коливається в межах 20–30° С. Слід зазначити, що вплив температури на морфологію колоній не був істотним і найбільше позначався на радіальній швидкості росту. Температура 26±0,1° С — оптимальна для росту міцелію *P. betulinus* на всіх досліджених середовищах, і це є важливою характеристикою конкретних штамів, що має

враховуватися у подальшому використанні культур. Одержані нами дані щодо значень оптимальної температури інкубації для росту культур *P. betulinus* збігаються з відомостями, наведеними в працях інших дослідників (Рипачек, 1967).

За результатами дослідження впливу низьких і високих температур на ріст і життєздатність міцелію *P. betulinus* визначено, що за умов низьких температур (4±0,1° С), незалежно від складу середовища, спостерігався слабкий вегетативний ріст (менше 0,5 мм/добу), міцеліальні колонії зберігали свої основні морфологічні ознаки. Здатність рости за температури 4° С властива грибам помірної кліматичної зони, до яких належить губка березова. Ця властивість враховується нами у підтриманні та збереженні культур в умовах колекції.

Слід зазначити, що досліджені штами *P. betulinus* погано реагували на підвищення температури. За температури 32° С ріст міцелію не спостерігався, проте культури не втрачали життєздатності і відновлювали ріст за 26° С протягом тижня. Температура 36±0,1° С з експозицією 3 доби для всіх штамів *P. betulinus* виявилася критичною. За результатами В. Рипачека (1967), критичною для культур *P. betulinus* була температура 32–33° С. Отримані нами дані щодо впливу високих температур на ріст культур *P. betulinus* свідчать, що за цим показником вони наближені до видів *Polyporus squamosus* (Дзигун, 2005), *Hypsizyguis ulmarius* (Bull.) Redhead і *Armillariella mellea* (Vahl) P. Karst. (Бухало, 1988).

Вивчення ферментів грибів необхідне для розуміння їхньої фізіології, біохімії, екології, а також встановлення ознак, які можуть бути додатковими таксономічними критеріями. У систематиці вищих базидіоміцетів на видовому рівні має значення наявність монофенол-монооксигеназ, передусім лакази, тирозинази і пероксидази. Щодо дереворуйнівних базидіоміцетів, то наявність тих чи інших ферментів є важливою ознакою для визначення культур за ключем (Stalpers, 1978).

Досліджено наявність 8 ферментів, що характеризують окисно-відновні процеси (лакази, тирозинази, пероксидази), метаболізм азотних сполук (протеази), вуглеводів (амілази, целюлази, β-глюкозидази) та ліпідів (ліпази).

Найбільшу позитивну реакцію всі досліджені штами *P. betulinus* виявляли на ферменти целюлозолітичного комплексу (целюлази та β-глюкозидази). Активність цих ферментів характерна для

Таблиця 2. Наявність ферментативної активності штамів *P. betulinus*

| Ферменти / культура | Целюлаза | β -глюкозидаза | Протеаза | Ліпаза | Лаказа | Пероксидаза | Тирозиназа | Амілаза |
|---------------------|----------|----------------------|----------|--------|--------|-------------|------------|---------|
| <i>P. betulinus</i> | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 |

Примітка: «0» — реакція відсутня; «1» — слабка реакція; «2» — помірна; «3» — сильна реакція.

дереворуйнівних грибів, які спричиняють гниль деструктивного типу (табл. 2).

Стосовно наявності окиснювальних ферментів (лакази, тирозинази та пероксидази) всі штами *P. betulinus* не показали лаказної активності, активність на пероксидазу і тирозиназу була надто слабкою. Відсутність лаказної активності характерна для дереворуйнівних грибів, що зумовлюють буру гниль деструктивного типу. За даними деяких авторів (Рипачек, 1967), поділ дереворуйнівних грибів на дві основні фізіологічні групи та різниця між ними за характером розкладення деревини (целюлозоруйнівні та лігнінруйнівні) ґрунтуються на відсутності або наявності в гриба оксидаз у формі екзоензимів. Гриби, що спричиняють буру гниль, у тому числі й *P. betulinus*, розкладають за допомогою гідролітичних ферментів лише полісахаридну частину і належать до целюлозоруйнівних. Відсутність лакази в грибів, які зумовлюють буру гниль, використовують як експрес-тест для підтвердження таксономічного статусу культур у колекціях (Псурцева, 2008).

Дослідження виявило, що штами *P. betulinus* мали неоднаковий ступінь прояву ензиматичної активності ліпази. Штами 1650, 1647 та 1556 відзначалися інтенсивнішою реакцією на даний фермент, аніж інші. Це можна пояснити штамовою специфічністю досліджених культур.

Проведені якісні ензиматичні тести показали, що ці культури мають значний набір гідролітичних ферментів, які зберігаються в умовах колекції і не втратили своєї фізіологічної активності. Відсутність лакази в культур березової губки можна вважати однією з ознак, яку необхідно враховувати для верифікації штамів даного виду.

Висновки

Отримані дані про ріст і морфологію культур *P. betulinus* на агаризованих живильних середовищах різного складу за різних температур інкубації.

За швидкістю росту штами *P. betulinus* можна віднести до культур, що ростуть із середньою швидкістю (5–9 мм/добу), максимальна швидкість спостерігалася на КДА.

Встановлено, що ріст міцелію всіх досліджених культур відбувався у температурному інтервалі 4–30° С, оптимальною була температура 26° С. За 36° С із експозицією 3 доби штами втрачали життєздатність. Якісні ензиматичні тести показали, що досліджені культури мають значний набір гідролітичних ферментів та за умов збереження в колекції не втратили своєї фізіологічної активності.

Проведене комплексне дослідження дало змогу встановити культуральні характеристики, які необхідно враховувати для верифікації культур *P. betulinus*. Особливості мікроморфології вегетативного міцелію такі: наявність прямих, різних за формою та будовою, значна їхня кількість, діаметр генеративних гіф, здатність утворювати міцеліальні тяжі й анастомози; формування генеративної стадії на живильних середовищах за наявності освітлення; морфологія міцеліальних колоній; відсутність лаказної активності; реакція на критичні температури.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Бондарцев А.С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. — М.: Изд-во АН СССР, 1953. — 1106 с.
- Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. — Киев: Наук. думка, 1988. — 144 с.
- Бухало А.С., Митропольська Н.Ю., Михайлова О.Б. Каталог культур Колекції культур шапинкових грибів (ІБК). — К.: Альтерпрес, 2011. — 100 с.
- Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Э.Ф. и др. Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре / Под ред. С.П. Вассера. — Киев: Альтерпрес, 2012. — 215 с.
- Денисова Н.П. Лечебные свойства грибов: Этномикологический очерк. — СПб.: Изд-во СПб. ГМУ, 1998. — 59 с.
- Дзигун Л.П. Культуральні особливості дереворуйнівного гриба *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. (*Basidiomycota*) // Укр. ботан. журн. — 2005. — 62, № 1. — С. 91–99.
- Дудка И.А., Вассер С.П. Грибы. Справочник миколога и грибника. — Киев: Наук. думка, 1987. — 535 с.
- Ильина Г.В., Лыков Ю.С. Биологические особенности видов ксилотрофных базидиомицетов лесостепи правобережного Поволжья *in situ* и *ex situ* // Поволжский экол. журн. — 2010. — № 3. — С. 263–273.
- Ломберг М.Л. Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2005. — 20 с.
- Поединок Н.Л. Перспективы использования искусственного света в биотехнологиях культивирования грибов // *Biotechnologia Acta*. — 2013. — 6(6). — Р. 115–121.
- Псурцева Н.В. Культуральная характеристика как основа верификации макромицетов при сохранении *ex situ* //

Высшие базидиальные грибы: индивидуумы, популяции, сообщества: Мат-лы юбилейной конф., посвящ. 110-летию М.В. Горленко. — М.: Изд-во «Восток—Запад», 2008. — С. 174—181.

- Рупачек В. Биология дереворазрушающих грибов. — М.: Лесная пром., 1967. — 276 с.
- Соломко Е.Ф., Ломберг М.Л., Митропольська Н.Ю. Ріст окремих видів лікарських макроміцетів на живильних середовищах різного складу // Укр. ботан. журн. — 2000. — 57, № 2. — С. 119—126.
- Bryce T.A., Campbell I.M., McCorkin N.J. Metabolites of Polyporaceae. Novel conjugates of polyporenic acid from *Piptoporus betulinus* // Tetrahedron. — 1991. — 72. — P. 51—53.
- Buchalo A.S., Mykchaylova O.B., Lomberg M.L., Wasser S.P. Microstructures of vegetative mycelium of macromycetes in pure cultures / Eds. P.A. Volz, E. Nevo. — K.: Alterpress, 2009. — 224 p.
- Chang S.T., Miles Ph.G. Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. Sec. edit. — London; NY; Washington: D.C. CRC Press, Boca Raton, 2004. — 451p.
- Kamo T., Asanoma M., Shibata H., Hirota M. Anti-inflammatory lanostane-type triterpene acids from *Piptoporus betulinus* // J. Nat. Prod. — 2003. — 66. — P. 65—70.
- Kandefér-Szerszen M., Kawecki Z. Ether extracts from the fruiting body of *Piptoporus betulinus* as interference inducers // Acta. Microbiol. Pol. — 1991. — 72. — P. 197—200.
- Kawagishi H., Hamajima K., Inoue Y. Novel hydroquinone as a matrix metallo-proteinase inhibitor from the mushroom *Piptoporus betulinus* // Biotechnol. Biochem. — 2002. — 66. — P. 46—50.
- Keller C., Maillard M., Keller J., Hostettmann K. Screening of European fungi for antibacterial, antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and free-radical scavenging activities and subsequent isolation of bioactive compounds // Pharm. Biol. — 2002. — 40. — P. 18—25.
- Nobles M. K. Cultural characters as a guide to the taxonomy of Polyporaceae // Inter. Sympos. Evolution in Higher Basidiomycetes / Eds R. Peterson. — Knoxville: Univ. Tenn. Press, 1971. — P. 169—192.
- Petre C.V., Tănase C. Description of the culture characteristics of some lignocolorous basidiomycetes species grown on three synthetic media // J. Plant Develop. — 2013. — 20. — P. 105—114.
- Petre C.V., Tănase C. Culture characteristics of 20 lignocolorous basidiomycetes species that synthesize volatile organic compounds // Analele Științifice ale Universității «Al. I. Cuza» Iași s. II a. Biol. vegetală. — 2013. — 59(2). — P. 37—57.
- Schlegel B., Luhmann U., Hartl A. Piptamine, a new antibiotic produced by *Piptoporus betulinus* Lu 9-1 // J. Antibiot. — 2000. — 9. — P. 13—24.
- Stalpers J. A. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture // Stud. Mycology. — 1978. — 16. — 248 p.
- Wasser S.P., Weis A.L. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review) // Inter. J. Medic. Mushrooms. — 1999a. — 1(1). — P. 31—62.

Рекомендує до друку
І.О. Дудка

Надійшла 23.06.2014 р.

О.Б. Михайлова

Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА *PIPTOPORUS BETULINUS* (*BASIDIOMYCETES*) НА АГАРИЗОВАННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Представлены результаты исследования морфологических и культуральных особенностей штаммов базидиального лекарственного макромицета *Piptoporus betulinus* из коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины. С использованием метода сканирующей электронной микроскопии изучены характерные для данного вида микроморфологические структуры, позволяющие идентифицировать его в чистой культуре. Культурально-морфологические исследования проводили на четырех агаризованных питательных средах. Для всех исследованных штаммов наиболее благоприятными для вегетативного роста были картофельно-дескстрозный агар (КДА), температура инкубации 26° С. Критической температурой для штаммов *P. betulinus* является 36° С. Изучено наличие 8 ферментов, которые характеризуют: окислительно-восстановительные процессы (лактаза, тирозиназа и пероксидаза); метаболизм азотных соединений (протеаза); углеводов: (амилаза, целлюлаза, β-глюкозидаза) и липидов (липаза). Установлены культуральные характеристики, по которым можно проводить идентификацию и верификацию культур *P. betulinus*.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Piptoporus betulinus*, сканирующая электронная микроскопия, морфология, культуральные признаки.

О.В. Mykchaylova

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

MORPHOLOGICAL AND CULTURAL PROPERTIES OF A MEDICINAL MUSHROOM, *PIPTOPORUS BETULINUS* (*BASIDIOMYCETES*), ON NUTRIENT AGAR MEDIA

The article presents results of the research on growth and morphological peculiarities of a valuable medicinal mushroom, *Piptoporus betulinus*, from the Culture Collection of Mushrooms of M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine. Using scanning electron microscopy, the micro-morphological structures specific to this species were studied in order to enable its identification in pure culture. Cultural-morphological studies were performed on four nutrient agar media. For all tested strains, potato-dextrose agar medium (PDA) and incubation temperature of 26° C were the most favorable for vegetative growth. Temperature of 36° C is critical. We have studied the presence of eight enzymes characterizing: redox processes (laccase, tyrosinase, peroxidase); metabolism of nitrogen compounds (protease), carbohydrates (amylase, cellulase, β-glucosidase) and lipids (lipase). The established cultural characteristics can be used for verification of *P. betulinus* cultures.

К е у w o r d s: *Piptoporus betulinus*, scanning electron microscopy, morphology, cultural properties.