

# ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛЯТОВ НЕКОТОРЫХ МАКРОМИЦЕТОВ

**П.С. Амелишко**

Белорусский государственный университет, г. Минск;  
AMELISHKOPolina@yandex.by  
науч. рук. – О. А. Шевелева, ст. преп.

**А.В. Муковозчик**

Белорусский государственный университет, г. Минск;  
Anton\_MAV@outlook.com  
науч. рук. – О. А. Шевелева, ст. преп.

Многие исследования показывают, что изоляты ксилотрофных макромицетов обладают антимикробной активностью. В условиях лаборатории экспериментальной микологии кафедры ботаники биологического факультета были выделены штаммы местных макромицетов *Daedalea quercina*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta* и исследованы их: антифунгальная активность в отношении таких фитопатогенных микромицетов как *Alternaria brassicae*, *A. petroselini*, *A. radicina*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum* и антибактериальная активность в отношении таких бактерий как *Bacillus polymyxa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium radiobacter*, *Sarcina lutea*, *Serratia marcescens*. Отобраны штаммы с высокой биологической активностью и широким спектром действия по отношению к фитопатогенным грибам и бактериям.

**Ключевые слова:** ксилотрофные макромицеты; антибактериальная активность; антифунгальная активность.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были использованы местные штаммы ксилотрофных базидиальных грибов, относящиеся к группе белой гнили выделенные из плодовых тел произраставших на лиственных деревьях: **И-7** – *Daedalea quercina* (L.) Pers., **И-13** – *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.) P. Karst., **В.Т.** – *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., **Б-14** – *Trametes versicolor* (L.) Lloyd., **И-12** – *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd [1].

Плодовые тела базидиомицетов были собраны в Барановичском районе, Брестской области в 2020 году в период практики по специализации. Таксономическую принадлежность плодовых тел устанавливали, используя определители. [2]

Для получения изолятов свежие собранные плодовые тела промывали, далее в стерильных условиях надламывали плодовое тело в области трамы и с помощью стерильного пинцета фрагменты мицелия переносили

на питательную среду КГА содержащую антибиотик ампициллин. Чашки инкубировали в термостате при 25°C. При появлении мицелия на инокулюме (2-3 дня) производили пересев на питательную среду без антибиотика. Развитие мицелия оценивали по показателям скорости роста, плотности и качества. Измерения *радиальной скорости роста* мицелия тест-изолятов проводили на агаризованной среде (КГА). Для этого высевали кусочки мицелия одинакового размера в центр чашек Петри, измеряли радиус каждые 24 часа. Далее вычисляли по данной формуле:  $K_r = \frac{r-r_0}{t}$ , где  $K_r$ - радиальная скорость роста колонии в мм/ч;  $r$  – радиус колонии в данный момент времени в мм.;  $r_0$  – радиус колонии в начальный момент времени в мм.;  $t$  - время от момента посева до того момента, когда радиус колонии достигнет  $r$ , час [1].

Исследования антимикробной активности грибных изолятов производилось методом агаровых блоков [3] и модифицированным методом лунок [4]. В лунки вносились: культуральная жидкость после 14 дней культивирования в жидкой картофельно-глюкозной среде; холодный экстракт; горячий экстракт.

Глубинное культивирование макромицетов производилось в картофельно-глюкозной среде в течении 14 суток при температуре 25-28°C 160 оборотов в минуту [5].

Холодный экстракт получали из мицелия, который культивировался глубинным методом. Соотношение пеллет и воды 1:10, температура 3-6 С, настаивались в течении 48 часов [4].

Горячий экстракт также получали из мицелия, культивируемого глубинным методом. Соотношение пеллет и воды 1:10, температура 60 °С, настаивались в течении 6 часов [4].

Исследования антибактериальной активности проводилось следующим образом: на КГА втирали шпателем по 100 мкл. ночных (16 ч. культивирования) суспензий бактерий (грамположительные: *Bacilluspolymyxa*, *Sarcinalutea*; грамотрицательные: *Pseudomonasfluorescens*, *Rhizobiumradiobacter*, *Serratiamarcesc*), далее на поверхность вносились агаровые блоки с мицелием, тестировались обе стороны блока, в лунки вносилась культуральная жидкость и экстракты, выделенные холодным и горячим экстрагированием. После чашки Петри выдерживались в холодильнике при температуре 3-6 °С в течении 12 часов, далее в течение 48 часов при температуре 25-27 °С [6]. Учёт результатов производился на третьи сутки.

Исследование антифунгальной активности проводилось методом встречного роста. На КГА с одной стороны чашки Петри засеивались исследуемые штаммы макромицетов, спустя 5 суток подсеивались фитопатогены (*Alternariabrassicae*, *A. petroselini*, *A. radicina*, *A.*

*solani, Botrytis cinerea, Fusarium culmorum, F. oxysporum*). Инкубирование производилось при температуре 25-27 °С [1]. Учёт взаимодействия и изменения окраски результатов производился в течении недели.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении радиальной скорости роста макромицетов на картофельно-глюкозной среде были получены следующие результаты: И-7 – *Daedalea quercina* = 0,016 мм/ч, И-13 – *Pycnoporus cinnabarinus* = 0,09 мм/ч, В.Т. – *Pleurotus ostreatus* = 0,12 мм/ч, Б-14 – *Trametes versicolor* = 0,10 мм/ч, И-12 – *Trametes hirsuta* = 0,074 мм/ч.

Самым быстрорастущим из штаммов оказался В.Т. – *Pleurotus ostreatus*, далее Б-14 – *Trametes versicolor*, И-13 – *Pycnoporus cinnabarinus*, И-12 – *Trametes hirsuta*, инаконец, самым медленно растущим оказался И-7 – *Daedalea quercina*. Предположение: для культивирования *Daedalea quercina* необходимо подобрать другую питательную среду.

Результаты, полученные при изучении антибактериальной активности представлены в таблице.

Таблица

Антибактериальная активность штаммов макромицетов методом агаровых блоков

Тест-культуры	<i>B. polymyxa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>R. radiobacter</i>	<i>S. lutea</i>	<i>S. marcescens</i>
Изоляты					
Б-14	+	+	+	+	+
В. Т.	-	-	-	+	-
И-7	-	-	-	-	-
И-12	+	+	+	-	-
И-13	+	+	+	+	+

Несомненными лидерами проявили себя штаммы Б-14 – *Trametes versicolor* и И-13 – *Pycnoporus cinnabarinus*. Совершенно никакой антибактериальной активности не проявил штамм И-7 – *Daedalea quercina*.

Антибактериальной активности штаммов макромицетов, выделенных методом холодного и горячего экстрагирования, а также культуральной жидкости, не было зафиксировано.

При изучении антифунгальной активности были получены результаты:

И-7 – *Daedalea quercina* – в основном проявлял фунгостатическую активность.

И-13 – *Ruynporuscinnabarinus* проявил фунгостатическую активность, в большинстве случаев И-13 останавливал рост фитопатогена на середине чашки Петри, также на границе двух грибов И-13 образовывал наросты.

В.Т. – *Pleurotusostreatus* – проявлял как фунгостатическую, так и миколитическую активность.

Б-14 – *Trametesversicolor* обладает антифунгальной активностью, т.е. полностью подавил рост фитопатогена и в отношении некоторых фитопатогенов (*A. solanii* и *A. petroselini*) колонизировал их.

И-12 – *Trameteshirsuta* – проявлял в основном антифунгальную активность.

Абсолютным лидером по антимикробным тестам себя показал штамм Б-14 – *Trametesversicolor*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов для коллекции базидиальных макромицетов кафедры ботаники были выявлены 3 перспективных штамма Б-14 – *Trametesversicolor*, И-12 – *Trameteshirsuta*, И-13 – *Ruynporuscinnabarinus*, которые могут использоваться для дальнейших исследований потенциала биологической активности и применения их в медицине, биоремедиации, пищевой промышленности.

### Библиографические ссылки

1. Поликсенова В. Д., Храмцов А. К., Пискун С. Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов». Мн.: БГУ, 2004. 36 с.
2. Шуканов А. С. [и др.] Альгология и микология: учеб. пособие. Минск: БГУ, 2009. 423 с.
3. Лысак В. В., Желдакова Р. А., Фомина О. В. Микробиология. Практикум: пособие. Минск: БГУ, 2015. 115 с.
4. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. Москва: Наука, 2004. 528 с.
5. Бисько Н. А. [и др.] Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 2. Киев, 2012. 459 с.
6. Дудка И. А. [и др.] Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.