

УДК 582.284:543.062:615.322

Подбор питательных сред для глубинного культивирования дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer

© 2018 М.А. ПРОЦЕНКО^{1,*}, Н.Е. КОСТИНА², Т.В. ТЕПЛЯКОВА¹

¹ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») Роспотребнадзора, Новосибирская обл., Новосибирский район, п. Кольцово, 630559

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090

e-mail: protsenko_ma@vector.nsc.ru*

Поступила 29.09.2017 г.

Принята в печать 20.12.2017 г.

Проведено глубинное культивирование трех штаммов дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* на питательных средах различного состава. Отмечено, что наибольший выход биомассы мицелия наблюдался при культивировании исследуемых штаммов на среде, содержащей крахмал и кукурузный экстракт; в частности указанный показатель для штамма Db-14 составил 14,4±0,6 г/л. Проведен анализ содержания суммарного белка, полисахаридов, каротиноидов, фенольных соединений и флавоноидов, а также антиоксидантной активности образцов препаратов, полученных из мицелия гриба путем водной или этанольной экстракции. Показано, что содержание указанных биологически активных соединений в этих препаратах варьирует в зависимости от условий выращивания и способа экстракции. Наиболее высокая антиоксидантная активность среди препаратов мицелия трех штаммов гриба выявлена у *D. tricolor* Db-14, что в совокупности с другими его характеристиками позволяет считать этот штамм наиболее перспективным для получения лекарственных средств на основе гриба *D. tricolor*.

Ключевые слова: *Daedaleopsis tricolor*, культивируемый мицелий, методики анализа содержания биологически активных соединений, антиоксидантная активность.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-1-45-51

Высшие базидиомицеты широко используются человеком в различных сферах жизни, в первую очередь в качестве пищевых продуктов и для получения медицинских препаратов. Тысячелетний опыт стран Юго-Восточной Азии доказывает высокий потенциал базидиальных грибов как источника различных лекарственных средств.

Интенсивное развитие биотехнологических схем в промышленной микологии позволило выращивать грибы в условиях чистой культуры. Мицелиальная биомасса, полученная биотехнологическими методами, имеет преимущества перед лесными плодовыми телами, так как в первом случае обеспечиваются экологическая чистота грибных препаратов и независимость сырьевой

базы от урожая грибов, а также появляется возможность влияния на выход и качество конечного продукта путем варьирования условий культивирования грибных культур [1].

Выращивание биомассы базидиомицетов в чистой культуре является актуальным направлением в разработке новых лекарственных препаратов, получении продуктов пищевого и кормового назначения и переработке лигнинсодержащих отходов.

Среди разнообразных групп базидиомицетов наиболее перспективными объектами биотехнологии следует считать дереворазрушающие (ксилотрофные) грибы. Это связано с тем, что большинство из них относительно легко выделяются из природных объектов в чистую культуру,

Список сокращений: АОА – антиоксидантная активность; ГПС – глюкозо-пептонная среда; ГС – среда, содержащая глюкозу и соевую муку; КЖ – культуральная жидкость; ККЭ – среда, содержащая крахмал и кукурузный экстракт.

Состав питательных сред для глубинного культивирования гриба *Daedaleopsis tricolor***Composition of nutrient media for submerged culturing of *Daedaleopsis tricolor* mushroom**

Компоненты, г/л	Среда		
	ГПС	ККЭ	ГС
Крахмал	–	45	–
Кукурузный экстракт	–	15	–
Глюкоза	30	–	30
Соевая мука	–	–	15
Пептон	5,0	–	–
Дрожжевой экстракт	2,0	–	–
Дигидрофосфат калия	1,0	0,50	2,0
Сульфат магния	0,5	0,25	0,3
Гидрофосфат калия	–	0,50	–

характеризуются быстрым ростом и не требуют сложного состава питательных сред при культивировании. Кроме того, использование несъедобных грибов в процессах получения лекарственных средств имеет ряд преимуществ, одним из которых является отсутствие конкуренции с рынком продуктов питания [2]. Ксилотрофные базидиомицеты содержат широкий спектр различных метаболитов, таких как полисахариды, белки, три-терпены, меланины, каротиноиды, фенольные соединения и флавоноиды, обладающих широким спектром биологической активности.

Одним из перспективных, но малоизученных грибных объектов является ксилотрофный базидиомицет дедалеопсис трехцветный (*Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer) из семейства полипоровых (Polyporaceae). Данный вид распространен на территории России от западных рубежей до Дальнего Востока. Согласно литературным данным, тритерпены, выделяемые из плодовых тел гриба *D. tricolor*, обладают антибактериальной и антиоксидантной активностью [3]. Показано, что водорастворимые метаболиты, в том числе полисахариды, из плодового тела проявляют антиопухолевую активность [4, 5].

Ранее нами была опубликована работа, посвященная сравнительному анализу культивируемого мицелия и лесных плодовых тел гриба *D. tricolor* [6]. Наши опыты подтвердили, что экстракты биомассы *D. tricolor* обладают антиоксидантной и противоопухолевой активностью, причем препараты из культивируемого мицелия показывают в большинстве случаев достоверно более высокую биологическую активность по сравнению с препаратами из лесных плодовых тел. Настоящая работа является продолжением начатых исследований [6] и направлена на дальнейшее изучение культур *in vitro* штаммов ксилотрофного базидиомицета *D. tricolor*.

Цель настоящей работы – подбор питательных сред для суспензионного выращивания культуры мицелия *Daedaleopsis tricolor*.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Объекты исследования

В работе использовали штаммы *Daedaleopsis tricolor* Db-14 (F-1315), *D. tricolor* Db-18 (F-1314) и *D. tricolor* Dr-17 (F-1330), депонированные в коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Штаммы выделены в чистую культуру из плодовых тел *D. tricolor*, собранных в 2013 г. близ с. Вьюны Новосибирской

обл. с погибшей березы и в окрестностях п. Кольцово Новосибирской обл. с погибшей березы и живой ивы [6]. Штаммы хранились в холодильнике на скошенном агаре при температуре 2–4 °С.

Условия культивирования

Для глубинного культивирования гриба *D. tricolor* использовали питательные среды, содержащие глюкозу («Реахим», Россия), соевую муку («Диа-веста», Россия), крахмал (ТУ 9187-022-51021647-05), кукурузный экстракт («СибБИО-ФАРМ», Россия, содержание белка 22,5%), пептон (Becton Dickinson, Vasto, США), дрожжевой экстракт (Applichem, Biochemica, Германия), дигидрофосфат калия («АльфаХим», Россия), гидрофосфат калия («АльфаХим») и сульфат магния («Химреактив», Россия). Значение pH используемых сред составляло 6,0±0,5; состав указан в табл. 1.

В питательные среды (колбы емкостью 500 мл со 100 мл среды) помещали фрагменты 6–7-суточной культуры гриба, выращенной на твердом агаризованном овсяном отваре (Becton Dickinson, Vasto), и проводили культивирование на ротационной качалке при скорости вращения 190 об/мин, температуре 26±2 °С в течение 5–7 сут. В качестве посевного материала в жидкие среды вносили 3-суточный инокулят глубинной культуры в объеме 20% [6].

Подготовка препаратов из биомассы

Сухую биомассу мицелия *D. tricolor* использовали для получения препаратов в виде сухих этанольных и водных экстрактов по разработанной

нами технологии [6]. Этанольные экстракты получали путем четырехкратной экстракции 70%-ным этанолом (разведенный 95%-ный этанол производства «РФК», Россия) при температуре 60 °С и соотношении сырье–экстрагент = 1:50. При получении водных экстрактов грибное сырье дважды экстрагировали дистиллированной водой при температуре 95–100 °С. Охлажденные этанольные и водные экстракты отфильтровывали от твердой фракции, упаривали и сушили в сушильном шкафу при температуре 50–60 °С до влажности 5%. Перед экспериментом сухой препарат разводили дистиллированной водой до концентрации 5 мг/мл.

Количественное определение суммарного белка

В микропробирку емкостью 1,5 мл помещали 200 мкл экстракта, разведенного дистиллированной водой, добавляли 800 мкл реактива Брэдфорд (приготовлен в лаборатории с использованием ку-масси G-250 (Sigma, США)) и аккуратно перемешивали вращательными движениями, стараясь избегать появления пены. В контрольную пробирку вносили 200 мкл дистиллированной воды и 800 мкл реактива Брэдфорд. Измерения проводили на спектрофотометре SmartSpec Plus (BioRad, США) при длине волны 595 нм не ранее чем через 5 мин и не позднее 1 ч после приготовления реакционной смеси. Концентрацию суммарного белка (мг/мл) определяли с помощью калибровочного графика для бычьего сывороточного альбумина («Реахим», Россия), а затем рассчитывали содержание суммарного белка в сухом экстракте (мг/г).

Количественное определение полисахаридов

В микропробирку емкостью 1,5 мл вносили 75 мкл раствора экстракта, разведенного дистиллированной водой, добавляли 225 мкл 0,2%-ного антронового реактива (Fluka, Индия), перемешивали на качалке и затем кипятили на водяной бане в течение 10 мин. После этого пробирку охлаждали в холодной проточной воде, добавляли 700 мкл спирта и сразу встряхивали на качалке. В контрольную пробирку вместо раствора образца вносили дистиллированную воду. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре SmartSpec Plus при длине волны 430 нм. Концентрацию полисахаридов (мг/мл) определяли по калибровочному графику, построенному с использованием глюкозы, а затем рассчитывали содержание полисахаридов в сухом экстракте (мг/г).

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на дигидрокверцетин

В микропробирку емкостью 1,5 мл вносили 200 мкл анализируемого раствора, добавляли 100 мкл 2%-ного раствора хлорида алюминия (Panreac Sintesis, Испания) и инкубировали при комнатной температуре в течение 40–60 мин. По истечении времени инкубации к смеси добавляли 650 мкл 96%-ного этилового спирта и 50 мкл 4%-ного спиртового раствора натрия ацетата («Реахим»). Параллельно готовили контрольную пробу: в микропробирку вносили 200 мкл пробы и добавляли 800 мкл 96%-ного этанола. Оптическую плотность образцов измеряли на спектрофотометре SmartSpec Plus при длине волны 380 нм. Концентрацию флавоноидов в анализируемом растворе (мг/мл) определяли по калибровочному графику, построенному для дигидрокверцетина («Фитопанацея», Россия), после чего рассчитывали содержание флавоноидов в сухом экстракте (мг/г) [7].

Количественное определение фенольных соединений

В микропробирку емкостью 1,5 мл вносили 200 мкл пробы, 450 мкл дистиллированной воды, 100 мкл реактива Фолина-Чикольте и перемешивали. Через 3–5 мин к смеси добавляли 400 мкл 7,5%-ного раствора натрия карбоната и смесь выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 60–80 мин. При выпадении осадка его удаляли центрифугированием при 5–6 тыс. об/мин (1400–2000 г) в течение 10–15 мин. Контрольную пробу готовили аналогично, но вместо препарата вносили в нее дистиллированную воду. После реакции оптическую плотность проб измеряли на спектрофотометре SmartSpec Plus при длине волны 765 нм. Концентрацию фенольных соединений в анализируемом растворе определяли по калибровочному графику, построенному по галловой кислоте (мг/мл), а затем рассчитывали содержание фенольных соединений в сухом экстракте (мг/г) [7].

Количественное определение каротиноидов в пересчете на β-каротин

В микропробирку емкостью 1,5 мл помещали 100 мг экспериментального образца препарата, вносили 500 мкл 96 %-ного этанола и смесь центрифугировали при 900–1400 г в течение 3–4 мин. Спиртовой раствор сливали в градуированную пробирку емкостью 5 мл с завинчивающейся

Выход сухой биомассы мицелия штаммов *D. tricolor* при культивировании на различных питательных средах (см. табл. 1)Yield of *D. tricolor* dry mycelium biomass when grown on various nutrient media (see Table 1)

Штамм	Выход сухой биомассы, г/л КЖ, на среде		
	ГПС	ККЭ	ГС
Db-14	7,4±0,3	14,4±0,6	3,4±0,1
Db-18	5,1±0,1	10,6±0,4	2,1±0,1
Dr-17	6,4±0,1	10,3±0,2	4,8±0,1

крышкой. Осадок в пробирке экстрагировали 5-кратно гексаном в объеме 500 мкл (общий объем 2500 мкл), растирая образец стеклянной или тефлоновой палочкой. После центрифугирования раствор сливали в ту же градуированную пробирку. К объединенному (гексан-этанольному) раствору добавляли 1000 мкл дистиллированной воды. Смесь встряхивали и центрифугировали при 900–1400 g в течение 3–4 мин. Гексановый слой отбирали автоматической пипеткой и переносили в чистую градуированную пробирку; нижний водно-этанольный слой отбрасывали. Фиксировали объем гексановой фракции раствора и измеряли ее оптическую плотность в помощью спектрофотометра SmartSpec Plus при длине волны 451 нм против чистого гексана. На основании калибровочного графика, построенного по β -каротину, определяли содержание каротиноидов в анализируемом растворе (мг/мл), после чего рассчитывали содержание каротиноидов в сухом экстракте (мг/г).

Антиоксидантная активность

АОА препаратов *D. tricolor* определяли по ингибированию железо-аскорбат-индуцированного окисления твина-80 [7] («Химреактив М», Россия) до малонового диальдегида. При взаимодействии малонового диальдегида с 2-тиобарбитуровой кислотой («Реактив», Россия) образовывался триметиновый комплекс, окрашенный в розовый цвет и имеющий максимум поглощения при длине волны 532 нм [8].

В качестве референс-препаратов для изучения АОА использовали соединения, обладающие доказанной антиоксидантной активностью: галловую кислоту, дигидрокверцетин и арбутин («Фитопанацея») [9–11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**Влияние среды культивирования на выход мицелия *Daedaleopsis tricolor***

В результате глубинного культивирования штаммов *D. tricolor* Db-14, Db-18 и Dr-17 были получены образцы биомассы мицелия. В табл. 2 показан выход сухой биомассы мицелия разных штаммов *D. tricolor* в зависимости от состава среды культивирования.

Как видно из табл. 2, наибольший выход биомассы мицелия у всех исследованных штаммов наблюдался при их культивировании в среде, содержащей крахмал и кукурузный экстракт, наименьший – в среде, содержащей глюкозу и сое-

вую муку. Следует учесть, что технология приготовления питательной среды на основе соевой муки осложняется ее плохой растворимостью в воде, что могло стать причиной более низкого выхода биомассы в сравнении с другими используемыми средами.

Из биомассы мицелия *D. tricolor* были получены препараты в виде сухих экстрактов (см. раздел «Условия эксперимента»). Они представляли собой порошки горьковатого вкуса и специфического запаха. При этом продукты на основе этанольных экстрактов были преимущественно светло-коричневого цвета, а на основе водных экстрактов – светло-коричневого и темно-коричневого цвета.

Исследование химического состава препаратов *Daedaleopsis tricolor*

Для анализа содержания белков, полисахаридов, фенольных соединений, флавоноидов и каротиноидов в образцах препаратов использовали разработанные нами экспресс-методики [6, 7]. Эти методики просты, позволяют проводить определение с высокой скоростью в сериях до 40 образцов, а также использовать общеупотребительное лабораторное оборудование и малые объемы исследуемых проб и реактивов.

Ранее нами уже проводилось исследование содержания биологически активных соединений в препаратах мицелия *D. tricolor*, выращенного на ГПС [6]. Для настоящей работы проведена новая статистическая обработка данных, полученных в этой работе; результаты обработки совместно с данными настоящего исследования, полученными на средах ГС и ККЭ, приведены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, содержание белка в водных экстрактах мицелия, выращенного на ККЭ (штаммы Db-14, Db-18 и Dr-17) и ГПС (штамм Db-18) достоверно выше, чем в этанольных

Содержание компонентов (мг/г) в образцах препаратов на основе мицелия штаммов *Daedaleopsis tricolor*, выращенных в различных средах

Content of components (mg/g) in preparations based on *Daedaleopsis tricolor* strains mycelium grown on various media

Компонент	ГПС			ККЭ			ГС		
	Db-14	Db-18	Dr-17	Db-14	Db-18	Dr-17	Db-14	Db-18	Dr-17
Этанольный экстракт (M±m)									
Б	≤5	≤5*	≤5	≤5*	≤5*	≤5*	≤5	12±1	≤5
ПС	153±16	70±19	37±4*	162±7*	161±16*	158±14*	471±20*	142±38	335±24
ФС	2,4±0,1	2,6±0,3	3,6±0,3	7,4±0,4*	1,9±0,2*	≤1,8*	≤1,8	4,0±0,1*	≤1,8
ФЛ	10±3	7±1	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5
КАР	45±2	36±4	29±3	34±3	5±2	17±2	11±3	4±2	4±1
Водный экстракт (M±m)									
Б	≤5	10±1	≤5	15±1	17±1	19±1	≤5	11±1	≤5
ПС	150±15	104±27	86±9	257±22	77±21	80±9	263±10	214±26	300±22
ФС	2,3±0,1	1,9±0,1	3,2±0,4	1,9±0,1	5,2±0,3	4,6±0,1	≤1,8	3,0±0,3	≤1,8
ФЛ	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5	≤5
КАР	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечания: Б – белок; ПС – полисахариды; ФС – фенольные соединения; ФЛ – флавоноиды; КАР – каротиноиды. Здесь и в табл. 4: М – среднее арифметическое; m – ошибка среднего; число опытов – n = 4;

* отличие данного показателя от соответствующего показателя водного экстракта по t-критерию Стьюдента при p ≤ 0,05.

Footnote: B, protein; PS, polysaccharides; FS, phenolic compounds; FL, flavonoids; CAR, carotenoids. Here and in Table 4: M is arithmetic mean; m is error of mean; number of experiments, n = 4;

* difference of given index from corresponding indices for aqueous extract according to Student t criterion at p ≤ 0.05.

экстрактах мицелия, что объясняется низкой растворимостью белков в спирте.

Содержание же полисахаридов достоверно выше в этанольных экстрактах мицелия *D. tricolor*, выращенного на ККЭ (штаммы Db-18 и Dr-17) и ГС (штамм Db-14), чем в соответствующих водных экстрактах. Наряду с этим, содержание полисахаридов в этанольных экстрактах из мицелия, выращенного на ГПС (штамм Dr-17) и ККЭ (штамм Db-14), достоверно ниже, чем в соответствующих водных экстрактах. Отмечено более высокое содержание экстрагируемых полисахаридов в образцах препаратов из мицелия, полученных на среде ГС, для которой, однако, выявлен наименьший выход мицелия.

Что касается содержания фенольных соединений в водных экстрактах из мицелия, выращенного на ККЭ (штаммы Db-18 и Dr-17), то оно достоверно выше, чем в соответствующих этанольных экстрактах. При этом доля фенольных соединений в водных экстрактах из мицелия, выращенного на ККЭ (штамм Db-14) и ГС (штамм Db-18), достоверно ниже, чем в соответствующих этанольных экстрактах.

Антиоксидантная активность штаммов

Результаты анализа АОА препаратов, полученных из мицелия *Daedaleopsis tricolor*, приведены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, все водные экстракты мицелия штаммов *D. tricolor*, выращенного с использованием ГПС, показали АОА на уровне референс-препаратов. Наибольшую активность имели препараты на основе водных экстрактов мицелия штамма *Daedaleopsis tricolor* Db-14.

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что использование питательных сред различного состава для глубинного выращивания дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* позволяет регулировать выход мицелия. Наибольшая продукция мицелия происходила на среде ККЭ (14,4±0,6 г/л, штамм Db-14), наименьшая – на ГС (2,1±0,1 г/л, штамм Db-18) (см. табл. 2).

Содержание суммарного белка, полисахаридов, каротиноидов, фенольных соединений и флавоноидов в препаратах из мицелия *D. tricolor* варьировало в зависимости от условий

Антиоксидантная активность препаратов из мицелия штаммов *Daedaleopsis tricolor*Antioxidant activity of preparations from *Daedaleopsis tricolor* mycelium

Питательная среда	Штамм	Сухое вещество, мг/мл	АОА (M±m), %	
			Этанольный экстракт	Водный экстракт
ГПС	Db-14	5,0	13±3*	33±1
	Db-18	»»	10±1*	17±3**
	Dr-17	»»	21±3	26±4
ККЭ	Db-14	5,0	5±1*	26±1
	Db-18	»»	8±3*	1±1*
	Dr-17	»»	12±1*	11±4*
ГС	Db-14	5,0	4±1*	21±1
	Db-18	»»	12±2*	22±4
	Dr-17	»»	1±1*	2±1*
Препараты сравнения				
	Дигидрокверцетин	0,5		34±5
	Кислота галловая	2,5		31±5
	Арбутин	5,0		26±3

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели АОА, присущие наиболее эффективному штамму Db-14.

*Отличие показателя от показателей для всех образцов сравнения по *t*-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$.

**Отличие данного показателя от показателя для дигидрокверцетина по *t*-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$.

Footnote: Characteristics of the most efficient strain, Db-14, are typed bold.

*Difference of given index from all all the samples of comparison according to Student *t*-criterion at $p \leq 0,05$

**Difference of given index from that for dihydroquercetin according to Student *t*-criterion at $p \leq 0,05$.

выращивания. Например, наивысшее содержание полисахаридов наблюдалось в образцах препаратов, полученных из мицелия, выращенного на среде ГС (см. табл. 3).

Самая высокая антиоксидантная активность была характерна для водного экстракта мицелия штамма *D. tricolor* Db-14 при росте на среде ГПС (см. табл. 4). Этот штамм признан наиболее перспективным для разработки и получения биологически-активных препаратов на основе гриба *D. tricolor*, так как помимо высокой АОА данный штамм является самым продуктивным по биомассе и полисахаридам при росте на средах ККЭ и ГПС.

Полученные данные, а также результаты работы [6], показавшие, что экстракты из культивируемого мицелия *D. tricolor* в большинстве случаев обладают более высокой биологической активностью, чем препараты, выделенные из плодовых тел гриба, позволили сделать вывод, что биомасса дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor*, полученная биотехнологическим путем при глубинном культивировании, обладает высоким потенциалом как сырье для производства грибных медицинских препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева Г.К., Громовых Т.И. Биологические свойства и продуктивность нового штамма базидиомицета G.a.-04 *Ganoderma applanatum* (Pers. ex Wallr.) Pal. *Вестник Красноярского гос. аграрн. ун-та*, 2008, (1), 70–73.
2. Киселева О.В., Миронов П.В., Литовка Ю.А. Морфологические особенности базидиального гриба *Laetiporus sulphureus* в поверхностной и глубинной культуре. *Вестник Красноярского гос. аграрн. ун-та*, 2012, (1), 91–95.
3. Kim E., Jung H., Min T. Purification, Structure Determination and Biological Activities of 20(29)-lupen-3-one from *Daedaleopsis tricolor* (Bull. ex Fr.) Bond. et Sing. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2001, 22(1), 59–62.
4. Ikekawa T., Nakanishi M., Uehara N. et al. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Jap. J. Canc. Res*, 1968, 59, 155–157.
5. Nianwu H.E. Vitro activity study of the wild *Daedaleopsis Tricolor* Polysaccharide. *Editorial Department J. Shangluo Univ.*, 2012, 1(6), 55–59.
6. Проценко М.А., Трошкова Г.П., Косогова Т.А., Теплякова Т.В. Биологически активные соединения

- плодовых тел и культивируемого мицелия базидиального гриба *Daedaleopsis tricolor*. *Фундаментальные исследования*, 2014, (12–1), 136–140.
7. Проценко М.А., Костина Н.Е. Разработка и валидация методик количественного анализа фенольных соединений и флавоноидов в экстрактах из высших грибов. *Химия растительного сырья*, 2015, (3), 117–126.
 8. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. *Клин. лаб. диагностика*, 1998, (6), 10–14.
 9. Мисин В.М., Клименко И.В., Журавлева Т.С. О пригодности галловой кислоты в качестве стандартного образца состава антиоксиданта. *Компетентность*, 2014, 118(7), 46–51.
 10. Брюханов В.М., Смирнов И.В., Бондарев А.А. и др. Влияние арбутина и гидрохинона на процессы свободно-радикального окисления в крови крыс. *Биомедицина*, 2011, 1(1), 41–49.
 11. Потапович А.И., Костик В.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов. *Биохимия*, 2003, 68(5), 632–638.

Selection of Nutrient Media for Submerged Culturing of Wood-Destroying Mushroom of *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer

M.A. PROTSENKO^{1,*}, N.E. KOSTINA², and T.V. TEPLYAKOVA¹

¹The State Research Center for Virology and Biotechnology Vector, Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protection and Human Well-Being of RF, 630559, Novosibirskaya oblast, Novosibirskii rayon, Kol'tsovo Russia

²The Federal Research Center Institute for Cytology and Genetics, Russ. Acad. Sci., Siberian Branch, 630090, Novosibirsk, Russia

e-mail: protsenko_ma@vector.nsc.ru*

Received September 29, 2017

Accepted December 20, 2017

Abstract—A submerged culturing of three strains of the wood-destroying mushroom *Daedaleopsis tricolor* on various nutrient media has been performed. The greatest yield of mycelium biomass was observed on the medium containing starch and corn extract; in particular, the above characteristic was $14,4 \pm 0,6$ g/L for the Db-14 strain. The analysis of total protein, polysaccharides, carotenoids, phenolic compounds and flavonoids, as well as of antioxidant activity in aqueous and ethanol extracts of the mushroom mycelium was carried out. It was shown that the content of the above biologically active compounds varies in the preparations depending on culturing conditions and way of extraction. The highest antioxidant activity among the three mycelium preparations was observed in the *D. tricolor* Db-14 strain which in combination with its other properties makes it most promising for obtaining medicines on the basis of the *D. tricolor* mushroom.

Key words: *Daedaleopsis tricolor*, cultured mycelium, quantitative protocols for analysis of biologically active compounds, antioxidant activity.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-1-45-51