

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЪЕДОБНОГО ГРИБА АУРИКУЛЯРИИ ГУСТОВОЛОСИСТОЙ (*AURICULARIA POLYTRICHA* (MONT.) SACC.) В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Сушко С. Н.¹, Кадукова Е. М.¹, Гончаров С. В.¹, Трухоновец В. В.², Дубовик Л. Н.³

¹ Институт радиобиологии НАН Беларуси, svetsu50@mail.ru

² Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, truchanavets@tut.by

³ Белгослес

Поиск и разработка новых лечебно-профилактических средств и перспективных биотехнологий с использованием биоресурсов остаются по-прежнему актуальными. Препараты на основе природного сырья имеют высокую биологическую активность и меньшую вероятность побочных эффектов по сравнению с лекарственными средствами, полученными путем химического синтеза. При этом специалисты руководствуются не только многолетней практикой народной медицины, но и ведут поиск перспективных источников биологически активных веществ. Лекарственные грибы являются не только ценными пищевыми белковыми продуктами, но и источниками для получения биологически активных субстанций и создания новых препаратов. Во многих странах мира высшие базидиомицеты используются для создания лечебно-профилактических и лекарственных средств широкого спектра действия: энтеросорбентов, антиоксидантов, иммуномодуляторов, стимуляторов костномозгового кроветворения (Биологические особенности..., 2011; Краснопольская и др., 2005). Использование атомной энергии неизбежно ведет к дополнительному облучению человека – как персонала, так и населения, проживающего на загрязненных территориях. Разработанные радиопротекторы, помимо ряда побочных эффектов, имеют ограниченный диапазон применения и не способны устранять последствия облучения в диапазоне малых (до 100 мГр) и средних (до 1 Гр) доз.

Перспективным источником веществ пищевого и лечебно-профилактического назначения является дереворазрушающий базидиальный гриб аурикулярия густоволосистая (*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.). В Беларуси гриб не встречается, однако учитывая радиологическую обстановку в стране, введение *A. polytricha* в искусственную культуру позволит получить экологически чистую грибную продукцию, расширить ассортимент культивируемых грибов. Вопросами введения *A. polytricha* в условиях Беларуси, в основном, занимались в ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». В исследованиях В. И. Фоминой и Н. А. Бисько показана возможность использования для выращивания гриба на субстратах, состоящих из разнообразных растительных отходов лесного и сельского хозяйства: опилках, соломе, костре льна и т.д. (Фомина, Бисько, 1994). И. В. Бордоком с соавторами отмечено, что на опилочных субстратах выход плодовых тел штамма 174 *A. polytricha* составляет до 33,0–35,1 % за две волны плодоношения (Бордок и др., 2017).

Целью настоящей работы является изучение особенностей плодоношения и биохимического состава аурикулярии густоволосистой на опилочных субстратах, а также экспериментальная оценка биологической эффективности гриба на различных моделях патологических состояний с целью обоснования интродукции *A. polytricha* в промышленную культуру Беларуси.

Материал и методы. В исследованиях использовали штаммы 174 и 175 *A. polytricha* из Коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». Для получения плодовых тел гриба применяли стерильные субстраты из опилок, смешанных с отрубями в весовом соотношении 4:1 соответственно. Инокулированные мицелием гриба субстраты инкубировали при 20–24 °С в течение 60 суток. На 61-е сутки организовывали условия для получения плодовых тел гриба. Определение химического состава плодовых тел *A. polytricha* проводили в аналитической лаборатории РУП «Белгослес» (г. Минск) на оптико-эмиссионном спектрометре (ICP-спектрометр «Vista AX ICP – AES», Varian) с аксиальным обзрением плазмы.

В работе использовали растворы *A. polytricha*, полученные путем водной экстракции из биомассы высушенных плодовых тел культивированных грибов (ВЭ). Дана оценка состояния системы крови, опухолеобразования в легких и выживаемости животных при облучении в дозе 7,0 Гр. Работы проводили в соответствии с методическими указаниями (Постановка исследований..., 1994; Руководство..., 2005), а также Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 1986 г.

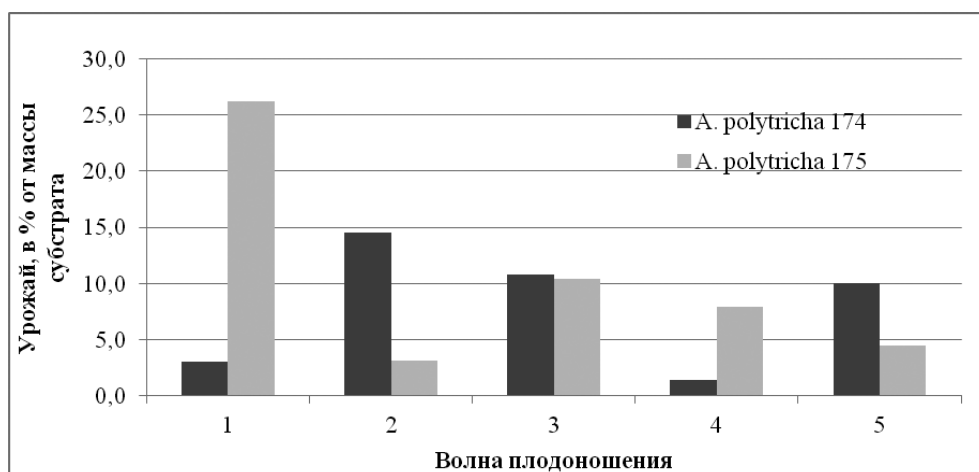
Оценка эффективности ВЭ выполнена на линейных мышцах Af. Животных содержали в условиях стационарного вивария Института радиобиологии НАН Беларуси на полноценном стандартном пищевом рационе. В ходе экспериментов мыши с питьем в течение 1-2 месяцев ежедневно получали ВЭ гриба. Однократное облучение проводили в дозах 0,35 Гр и 7,0 Гр на гамма-установке «ИГУР» (источник ¹³⁷Cs). В работе использована модель иммобилизационного стресса (5 дней ежедневно по 4 часа). Уретан вводили в дозе 1 мг/г массы мыши. Онкогенез в легких оценивали по числу аденом/мышь и количеству мышей с аденомами (%). Определение концентрации гемоглобина и метгемоглобина в крови осуществлялось по методу Evelyn-Malloo в модификации Кушаковского. Статистическую обработку данных проводили с помощью программных пакетов “Statistica 6.0”, “Sigma Plot 8.0”, Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Плодоношение изучаемых штаммов может происходить в широком диапазоне температур, но более активно оно происходило при температуре выше 20 °С. Отмечена возможность получения 5 волн плодоношения изучаемых штаммов *A. polytricha* на изучаемых опилочных субстратах. Общий урожай плодовых тел при этом составил от 39,9 % (штамм 174 *A. polytricha*) до 52,1 % (штамм 175 *A. polytricha*) от массы субстрата (рис.).

Как следует из рисунка, основной урожай плодовых тел гриба приходится на первые три волны плодоношения. В составе плодовых тел *A. polytricha* присутствуют все необходимые для человека макро- и микроэлементы. Содержание общего азота в плодовых телах аурикулярии густоволосистой составляет 1,421 % от сухой массы, грибы богаты калием (7185,62 мг/кг), фосфором (2252,53 мг/кг), серой (1052,29 мг/кг), магнием (1208,36 мг/кг), кальцием (519,14 мг/кг), в меньшей степени цинком (15,57 мг/кг), железом (53,28 мг/кг), натрием (192,1 мг/кг). В состав плодовых тел входит много важных микроэлементов: кремний (8,48 мг/кг), медь (3,39 мг/кг), марганец (3,42 мг/кг), бор (3,08 мг/кг), алюминий (14,49 мг/кг), барий (1,01 мг/кг). В грибах выявлены кадмий (0,07 мг/кг), молибден (0,22 мг/кг), никель (3,32 мг/кг), стронций (4,95 мг/кг), свинец (0,39 мг/кг), хром (7,22 мг/кг), олово (4,71 мг/кг), кобальт (0,12 мг/кг), ванадий (0,178 мг/кг), серебро (0,26 мг/кг). Ртуть в карпофорах не обнаружена.

Необходимо отметить, что содержание токсичных тяжелых металлов в плодовых телах *A. polytricha* ниже предельно-допустимых уровней, указанных в п. 6.1 Гигиенического норматива «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов» Санитарных норм и правил «Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам».

Одним из показателей радиационного повреждения молекулы гемоглобина является интенсификация образования метгемоглобина. Он является интегральным показателем сбалансированности процессов генерации в результате поступления и образования в организме окисляющих агентов и эффективности функционирования системы метгемоглобинредуктазы (табл. 1).



Распределение урожая плодовых тел *A. polytricha* по волнам плодоношения

Таблица 1. Оценка радиозащитной и стресс-протекторной эффективности *A. polytricha* (4 г/л) при приеме в течение 60 суток до воздействий (самцы)

Группы	MetHb, %	Hb, г/л	M _{MetHb} , %	M _{Hb} , г/л
Контроль	1,46 ± 0,18	103,82 ± 12,85	1,429	105,010
Облучение 0,35 Гр	1,59 ± 0,51	93,23 ± 18,95	1,580	93,115
<i>A. polytricha</i>	1,76 ± 0,78	95,00 ± 17,04	1,759	94,112
<i>A. polytricha</i> + облучение	2,01 ± 0,43	98,30 ± 37,35	1,826	100,392
Стресс	3,00 ± 1,12*	56,80 ± 33,98*	3,155	51,113
<i>A. polytricha</i> + стресс	2,71 ± 1,41	66,81 ± 24,07	2,282	60,148

* – различие статистически достоверно.

A. polytricha незначительно влияет на содержание метгемоглобина и гемоглобина в периферической крови и несущественно повышает их уровни при облучении в дозе 0,35 Гр. Иммунизационный стресс статистически достоверно повышает уровень метгемоглобина в крови и снижает содержание гемоглобина. При поступлении ВЭ аурикуляррии в сочетании с облучением и стрессовым воздействием выявлена тенденция к нормализации большинства показателей. Оценка выживаемости мышей после приема ВЭ *A. polytricha* в течение 30 суток (250 мг/кг) и облучения в дозе 7,0 Гр в среднем по группам животных (самцы и самки) выявила повышение выживаемости на 19,0 % по сравнению с группой облучения.

При исследовании влияния ВЭ на уровень спонтанного и индуцированного опухолеобразования в легких мышей было установлено, что у животных, употреблявших в течение 30 дней ВЭ аурикуляррии через 20 недель наблюдений количество спонтанных аденом в легких соответствовало уровню интактного контроля (табл. 2).

Таблица 2. Оценка опухолевого процесса в легких мышей, употреблявших с питьем ВЭ *A. polytricha*, через 20 недель после введения уретана

Группа животных	Количество животных	Аденом на группу	Количество аденом/мышь	Частота опухолеобразования, %
1. Контроль	12	4	0,33±0,21	33,3
2. Уретан	12	204	17,0±2,73*	100
3. <i>A. polytricha</i>	12	4	0,33±0,21*	33,3
4. <i>A. polytricha</i> + уретан	16	88	5,5±0,9**	100

* – различие статистически значимо при $p < 0,05$ по сравнению с контролем;

** – различие статистически значимо при $p < 0,05$ по сравнению с группой «уретан».

Введение интактным животным уретана привело к значительному росту числа аденом, а опухоли регистрировались у всех особей. Профилактический прием ВЭ аурикуляррии перед уретановой интоксикацией более чем в 3 раза снизил количество образующихся аденом по сравнению с группой «уретан» ($p < 0,05$). Однако, как и после уретановой интоксикации, аденомы регистрировались у 100 % животных.

Заключение. В результате исследований показаны особенности плодоношения *A. polytricha* на опилочных субстратах. В составе плодовых тел гриба присутствуют все необходимые для человека макро- и микроэлементы. Содержание токсичных тяжелых металлов в карпофорах гриба ниже предельно-допустимых уровней. ВЭ аурикулярии оказывают ингибирующее действие на спонтанный и индуцированный онкогенез в легких, повышают выживаемость при облучении в полудетальной дозе и могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения их фармакологических свойств с целью создания на их основе препаратов, в том числе и противоопухолевого действия. В целом, анализ особенностей роста и плодоношения *A. polytricha* на местных растительных субстратах, химического состава и биологически-активных свойств водных экстрактов гриба показывает перспективность интродукции аурикулярии густоволосистой в промышленную культуру Беларуси.

Литература

Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сб. научных трудов в двух томах. Т. 1 / Под ред. чл.-кор. НАН Украины С. П. Вассера. Киев: Альтерпрес, 2011. 212 с.

Бордок И. В., Евтушенко Л. В., Лубянова В. М. Интродукция ценного лекарственного гриба *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. в интенсивную культуру // Сахаровские чтения 2017 года: экологические проблемы 17-й междунар. научн. конф., 18–19 мая 2017 г., г. Минск, Республика Беларусь: в 2 ч. Ч. 2. С. 19–20.

Краснопольская Л. М., Белицкий И. В., Антимонova А. В. и др. Лекарственные базидиальные грибы: биотехнология культивирования и противоопухолевые свойства // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Материалы Третьего Московского Межд. конгресса (Москва, 14–18 марта 2005 г.) Ч. 2. Москва: ЗАО «Экспо-биохим.-технологии», РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2005. С. 72–73.

Фомина В. И., Бисёко Н. А. Рост *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. на растительных субстратах // Микология и фитопатология. 1994. Т. 28. Вып. 4. С. 24–28.

Постановка исследований в объеме первичной токсикологической оценки веществ: Метод. указания. Минск: 1994.

Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005. С. 28–216.