

## АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АРМЯНСКИХ ШТАММОВ *FOMES FOMENTARIUS* В ОТНОШЕНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

Бадалян С.М., Гарибян Н.Г., Шахбазян Т.А.  
Ереванский государственный университет, Армения

В настоящее время наблюдается рост заболеваемости грибковыми инфекциями, а также повышение резистентности возбудителей к антигрибковым препаратам, используемым в современной медицинской практике. В связи с этим, поиск новых антимикотических средств природного происхождения, не имеющих побочных эффектов, является актуальной задачей.

Трутовые полипоровые грибы (Basidiomycota, Polyporales) являются природным источником биоактивных соединений с различным терапевтическим действием (антиопухолевое, антибактериальное, противовирусное, антифунгальное и др.) (Wasser, 2010; Grienke et al., 2014; Dresch et al., 2015). С биотехнологической точки зрения они являются перспективными, так как мицелий легко выделяется в чистую культуру, быстрорастущий и нетребователен к питательной среде. К полипоровым грибам относится и исследуемый нами вид – трутовик настоящий (*Fomes fomentarius*), который также обладает лекарственными свойствами, такими как противовирусное, противовоспалительное, антиопухолевое, антибактериальное и др. (Seniuk et al., 2011; 7]. Сведения об антифунгальной активности (АФА) этого вида малочисленны. Известно об АФА экстракта плодовых тел *F. fomentarius* в отношении *Aspergillus fumigatus* и *Absidia orchidis* (Dresch et al., 2015). Отмечается также о проявлении выраженной АФА мицелия *F. fomentarius* в отношении некоторых фитопатогенов (*Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Gaeumannomyces graminis*, *Rhizoctonia cerealis*, *R. solani*, *Verticillium dahliae*) и их антагонистов (*Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. pseudokoningii*, *T. viride*, *Gliocladium roseum*) в совместной культуре (Badalyan, Sakeyan, 2009).

Исследовали АФА трех армянских штамма *F. fomentarius* различного происхождения: Ffa-2 (бук, г. Ноемберян, 2011г.); Ff-3 (граб, г. Иджеван, 2005г.) и Ff-8 (ореховое дерево, г. Ноемберян, 2014 г.). В качестве тест-микромикетов использовались потенциально патогенные для человека и животных виды микромикетов, выделенные из различных типов почв Армении: *Chrysosporium*

*keratinophilum* (Chk-1430, г. Абовян, 2000 г.), *Penicillium griseofulvum* (Peg-1, регион Арагацотн, 2000 г.) и *Penicillium* sp. (г. Гегард, 2000 г.). Все штаммы хранятся в коллекции грибных культур лаборатории биологии и биотехнологии грибов Ереванского государственного университета [7].

АФА мицелия оценивалась в совместной культуре на среде КДА (картофельно-декстрозный агар) тремя подходами: при совместном росте, воздействием культуральной жидкости (КЖ) и экстракта мицелия (ЭМ). В ходе опыта при совместном росте культур отмечались скорость роста мицелия, характер взаимоотношений контактирующих колоний по специальной шкале 3 типов и 4 подтипов реакций антагонизма (А и В – взаимоторможение соответственно при контакте и на дистанции; С – спокойное нарастание; СА1, СА2 частичное и полное нарастание после контактного взаимоторможения; СВ1, СВ2 – частичное и полное нарастание после дистанционного взаимоторможения), а также их морфологические изменения (наличие и интенсивность пигментации мицелия и агара, образование демаркационной линии и выделение экссудата на месте контакта мицелиев и др.) (Badalyan et al., 2002, 2004). Наблюдения проводились ежедневно, в течение 30 сут. Полученные результаты фотографировались.

Для оценки АФА КЖ, ее образцы добавлялись к КДА в соотношении 1:1, которая затем разливалась в чашки Петри (по 25 мл), инокулировалась тест-микромицетами и инкубировалась при 25 °С. По ходу опыта определялась скорость роста мицелиальных колоний и описывались их морфологические изменения.

АФА образцов ЭМ исследовалась на среде КДА методом диффузии в агар – с помощью бумажных дисков (5 мм). После формирования колоний тест-микромицетов (в диаметре около 20 мм) на расстоянии около 2 см от ее края ставились диски, смоченные в 4% ЭМ *F. fomentarius*, разбавленном в ДМСО. Активность оценивалась по величине зоны ингибции роста микромицета (стерильная зона или зона редких гиф вокруг дисков), а также по морфологическим изменениям их колоний (подавление скорости роста, споруляции и др.) по сравнению с контролем.

В условиях совместного роста штаммы *F. fomentarius* проявили антагонистическую/антифунгальную активность, выраженную реакциями взаимоторможения (А) и нарастания на микромицет (СА1, СА2, СВ1). Высокой АФА отличился штамм Ff-8, который во всех вариантах опыта полностью нарастал (СА2) на тест-микромицеты. Штамм Ff-3 проявил реакции частичного (СА1) и полного (СА2) на-

растания на все микромицеты. Более слабым оказался штамм Ffa-2, у которого в совместном росте с видами рода *Penicillium* отмечались реакции взаимоторможения (А) и частичного нарастания (СВ1) на колонии микромицетов.

Таким образом, в 88,9% вариантов опыта *F. fomentarius* полностью (66,7%) и частично (22,2%) нарастал на микромицеты, а реакция типа А составила лишь 11,1%. При этом, наблюдалось как уменьшение (на 4,0–27,0%, с *Penicillium* sp.), так и увеличение (на 5,3–21,6%, со всеми микромицетами) скорости роста мицелия штаммов *F. fomentarius*, по сравнению с контролем, тогда как скорость роста тест-микромицетов была подавлена на 13%.

На месте контакта колоний наблюдались морфологические проявления реакции антагонизма: образование валика, темно-коричневой демаркационной линии на агаре и выделение мелких капель желтоватого эксудата. Степень антагонизма по отношению к тест-микромицетам была выше у штамма Ff-8. Во всех вариантах совместного роста наблюдались приплюснутость края колоний тест-микромицетов, изменение их пигментации и подавление споруляции.

Образцы КЖ в различной степени подавляли скорость роста *S. keratinophilum* (на 31,1–61,1%) и видов рода *Penicillium* (на 12,2–41,3%) по сравнению с контролем. При этом, колония *S. keratinophilum* стала менее плотной, с прозрачным краем, а колонии видов *Penicillium* – радиально сморщенными, прозрачными и зонально растущими, указывающее на выраженную подавленность их роста со стороны *F. fomentarius*.

Образцы ЭМ *F. fomentarius* также подавляли скорость роста тест-микромицетов, в частности видов рода *Penicillium*, однако в меньшей степени (на 8,7–39,3%), чем образцы КЖ. По сравнению с контролем и действием образцов КЖ наблюдалось ингибирование споруляции, ослабление пигментации колоний.

Итак, мицелий тестированных армянских штаммов *F. fomentarius* обладает выраженной АФА в отношении трех потенциально патогенных для человека и животных тест-микромицетов, что свидетельствует о синтезе вне- и внутриклеточных антифунгальных соединений этого гриба. Причем, антифунгальное действие КЖ, по сравнению с ЭМ, оказалось более эффективным. По активности отличился штамм Ff-8, который можно рекомендовать для дальнейших исследований в качестве потенциального источника антимикотических соединений.

*Работа была выполнена при финансовой поддержке Армяно-Российского совместного проекта ГКН МОН Республики Армения № 15RF-064 и РФФИ гранта 15-54-05065\_Arm.*

### **Список литературы**

1. Wasser SP. Medicinal mushroom science: History, current status, future trends and unsolved problems. *Int J Med Mushrooms*. 2010; 12(1): 1-16.
  2. Grienke U, Zöll M, Peintner U, Rollinger JM. European medicinal polypores – A modern view on traditional uses. *J Ethnopharmacol*. 2014; 564-83.
  3. Dresch P, D'Aguzzo MN, Rosam K et al. Fungal strain matters: colony growth and bioactivity of the European medicinal polypores *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola* and *Piptoporus betulinus*. *AMB Express*. 2015; 5: 4.
  4. Seniuk OF, Gorovoj LF, Beketova GV et al. Anti-infective properties of the melanin – glucan complex obtained from medicinal tinder bracket mushroom, *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr. (Aphyllophoromycetidae). *Int J Med Mushrooms*. 2011; 13(1): 7-8.
  5. Krupodorova T, Rybalko S, Barshteyn V. Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A (serotype H1N1) and herpes simplex virus type 2 in cell culture. *Virologica Sinica*. 2014; 29(5): 284-90.
  6. Badalyan SM, Sakeyan CZ. Study of antifungal activity of several medicinal mushrooms (Aphyllophoromycetidae). *IMMC5*, Sep. 5-8. Nantong, China. 2009: 189-90.
  7. Badalyan SM, Gharibyan NG. Characteristics of mycelial structures of different fungal collections (Catalogue and atlas of culture collections of Yerevan state university). Afrikyan E.G. (ed.) Yerevan: 2016. YSU Press.
  8. Badalyan SM, Innocenti G, Garibyan NG. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathol. Mediterranea*. 2002; 41(3): 220-5.
  9. Badalyan SM, Innocenti G, Gharibyan NG. Interactions between xylotrophic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathol Mediterranea*. 2004; 43: 44-8.
-