

379, 1984.

9. *Martens R.* Appl. and Environ. Microbiol., 31, 6, 833-858, 1976.
10. *Marthur S.P.* J. Environ. Qual., 3, 1, 207-209, 1974.
11. *Oshiro T., Hirata T., Izumi Y.* Appl. Microbiol. and Biotechnol., 44, 1-2, 249-253, 1995.
12. *Pathirana R.A., Seal K.J.* Int. Biodetn. Bull., 20, 4, 229-235, 1984.
13. *Williams G.R., Dale R.* Int. Biodetn. Bull., 19, 1, 37-38, 1983.

Поступила 25.XI.1998

Биол. Журн. Армении, 1-2 (51), 1998

УДК 582.287.238.581.19.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ В СОВМЕСТНОЙ КУЛЬТУРЕ

С. М. БАДАЛЯН, Дж. Г. АБРАМЯН, С. А. ГЕВОРКЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники, 375049

Приводятся результаты исследования антифунгальной активности (АФА) 22 видов базидиальных макромицетов к 10 видам микромицетов из 6 родов (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stemphylium* и *Hormiscium*). В 220 вариантах совместного роста высокую АФА проявили макромицеты группы ксилотрофов (*P. ostreatus*, *F. velutipes*, *P. tigrinus* и др.). Среди тест-микромицетов наибольшей антагонистической активностью отличались виды *Aspergillus niger* и *Aspergillus flavus*.

Տրված են 22 տեսակի բազիդիալ մակրոմիցետների հակասնկային ակտիվության (ՀԱԱ) ուսումնասիրության արդյունքները 6 ցեղերի (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Hormiscium*) 10 տեսակների միկրոմիցետների նկատմամբ: Համատեղ աճի 220 տարբերակներում բարձր ՀԱԱ են ցուցաբերել կսիլոտրոֆների էկոլոգիական խմբին պատկանող մակրոմիցետները (*P. ostreatus*, *F. velutipes*, *P. tigrinus* և այլն): Տեստ-միկրոմիցետներից մեծ անտագոնիստական ակտիվությամբ օժտված են *A. niger* և *A. flavus* տեսակները:

The results of antifungal activity (AFA) of 22 species of macromycetes against micromycetes of 10 species from 6 genera (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stemphylium* and *Hormiscium*) are presented. In 220 variants of combined growth the high AFA activity produce the macromycetes from the xylophag ecological group (*P. ostreatus*, *F. velutipes*, *P. tigrinus*). Among test-micromycetes the species of *A. niger* and *A. flavus* are differed with high antagonistic activity.

Антифунгальная активность - макромицеты - микромицеты.

После открытия пенициллина многие исследования были направлены на выявление новых источников биологически активных соединений (БАС) среди грибных организмов. Высшие грибы (*Basidiomycotina*) позже были включены в разные программы скрининга природных источников БАС.

Исследования активности базидиальных макромицетов к микроскопическим грибам, в частности, патогенным для человека и животных, проводились разрозненно [10]. Установлено, что антифунгальные

соединения высших грибов обладают одновременно антимикробной, а иногда и антиопухолевой активностью [6,7].

В работе Шомона с соавт. [9] приводятся результаты исследования АФА 225 видов макромицетов к 67 видам патогенных микромицетов. Авторы отмечают высокую степень АФА у представителей базидиальных грибов. Впервые Андари с соавт. [15] была протестирована АФА 38 видов дереворазрушающих грибов семейства *Polyporaceae. s.l.* по отношению к дрожжам и дерматофитам (микозы). Некоторые данные об АФА 12 видов макромицетов к 20 видам патогенных микромицетов приводятся в статье Сильва [14]. Из мицелия *Oudemansiella mucida* выделены антифунгальные антибиотики оудемазин и муцидин, препараты которых в Чехии используются для лечения дерматомикозов [12]. По данным Анке с соавт., антибиотики стробилурин А и В, выделенные из мицелия *Strobilurus (=Marasmius) tenacellus*, проявляют высокую активность по отношению к дрожжам и патогенным микромицетам, а также к клеткам карциномы Эрлиха в условиях *in vitro* [5]. Оудемазин, муцидин и стробилурин А и В имеют высокую АФА и ингибируют процессы дыхания в митохондриях клеток печени крыс, приостанавливая в них синтез РНК и ДНК. Отмечена также антиопухолевая активность этих соединений [6]. Антифунгальные метаболиты стробилуринов С и оудемазин В, изолированные из культур видов *Xerula longipes* и *X. melanotricha*, при очень низких концентрациях сильно ингибируют рост различных сапрофитных и фитопатогенных грибов [8]. Миценон, новый хиноновый метаболит, впервые выделенный из видов рода *Mycena*, также проявляет антифунгальную и антимикробную активность [7]. Отмеченные соединения сегодня составляют перспективную группу антифунгальных антибиотиков грибного происхождения.

Большая активность выделенных и очищенных до настоящего времени грибных антифунгальных соединений указывает на актуальность дальнейших исследований в этой области с целью выявления новых продуцентов этих соединений и их применения в производстве лекарственных препаратов.

Наши предварительные исследования установили АФА у штаммов ядовитого гриба *Nematoloma fasciculare (Strophariaceae)* к 21 виду макромицетов [1].

В связи с возрастающим антропогенным воздействием на биосферу наблюдается обильное развитие и активизация деятельности технофильных микроскопических почвенных грибов, приводящие к увеличению инфекционной нагрузки в атмосфере. Подавляющее большинство технофильных грибов обладает токсигенными свойствами. Особо следует отметить болезнетворное влияние аспергиллов на организм человека и животных. Виды *A. niger*, *A. flavus* и *A. versicolor* вызывают микозы, микотоксикозы и аллергические заболевания [3], а некоторые представители рода *Fusarium* - широко распространенные возбудители фузариозов многих сельскохозяйственных культур [2].

В настоящей работе приводятся результаты первичного отбора макромицетов с АФА к определенной группе тест-микромицетов.

Материал и методика: Для выявления АФА были исследованы 22 вида макромицетов, относящиеся к 10-и семействам и 14-и родам. Исследуемые виды являются представителями различных эколого-трофических групп: ксилотрофы, герботрофы, копротрофы, подстилочные, гумусовые и почвенные сапротрофы (табл. 1).

Культуры макромицетов выделяли тканевым методом из плодовых тел, собранных на территории Армении и Германии. Некоторые штаммы были получены из коллекций

Таблица 1. Исследованные штаммы макромицетов

Семейство, вид, штамм	Трофическая группа	Происхождение
<i>Pleurotaceae</i>		
<i>Pleurotus ostreatus</i> 155	Ксилотроф	Франция
<i>Pleurotus cornucopiae</i> 0762	"	Украина
<i>Pleurotus eryngii</i> MS-27	Гербофильный	Чехия
<i>Panus tigrinus</i> 1603	Сапротроф	Украина
<i>Dermolomataceae</i>	Ксилотроф	
<i>Flammulina velutipes</i> 317		Германия
<i>Tricholomataceae</i>	"	
<i>Lepista nuda</i>		"
<i>Armillariella mellea</i> 202	Подстилочный сапротроф	Франция
<i>Marasmiaceae</i>	Ксилотроф-паразит	
<i>Lentinus edodes</i> 351		Украина
<i>Agaricaceae</i>	Ксилотроф	
<i>Agaricus bisporus</i> 10		Армения
<i>Coprinaceae</i>	Гумусовый сапротроф	
<i>Coprinus cinereus</i> 50		"
<i>Coprinus comatus</i> V	Копротроф	"
<i>Coprinus atramentarius</i>	"	"
<i>Strophariaceae</i>	"	
<i>Kyehneromyces mutabilis</i> B2		Германия
<i>Pholiota adiposa</i> 1128	Ксилотроф	Франция
<i>Pholiota aurivella</i> 8	"	"
<i>Pholiota alnicola</i> 55	"	"
<i>Pholiota destruens</i>	"	Армения
<i>Nematoloma capnoides</i> 1135	"	Франция
<i>Nematoloma fasciculata</i> B2	"	Германия
<i>Boletaceae</i>	"	
<i>Suillus luteus</i>		Армения
<i>Amanitaceae</i>	Почвенный сапротроф	
<i>Amanita pantherina</i>	"	Германия
<i>Polyporaceae</i>		
<i>Polyporus varius</i> 10	ксилотроф	Армения

культур университетов Тулузы (Франция), Регензбурга (Германия), а также Института микробиологии Праги (Чехия) и Института ботаники НАН Украины (Киев).

Тест-организмами служили широко распространенные в почвах Армении виды родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stemphylium* и *Hormiscium*, известные как агенты биоповреждений промышленного сырья, материалов и изделий. С целью их идентификации использовали определители и монографии [2, 3, 4, 13].

АФА макромицетов изучали методом совместного роста культур с микромицетами на среде сусло-агар в 220 возможных вариантах (табл. 2).

Учитывая большую скорость роста макромицетов в культуре, их инокуляцию производили на третьи сутки роста макромицетов. Готовые чашки инкубировали в темноте при 24°. Продолжительность опыта 30 сут. В процессе наблюдений фиксировали скорость роста контактирующих организмов, тип их взаимоотношений, наличие пигментированных линий антагонизма, выделение экссудата, в частности, на месте контакта колоний. На 21 сутки совместного роста чашки переносили в условия переменного освещения при пониженной температуре для наблюдения за процессом плодообразования.

АФА грибов оценивали по формуле: $ИА = A(n \times 1) + B(n \times 2) + C(n \times 3)$, где ИА - индекс антагонизма; А, В и С - типы реакций; 1, 2, 3...- баллы в соответствии со шкалой

Таблица 2. Антифунгальная активность некоторых базидиомицетов*

Виды	ИА	<i>Aspergillus niger</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>P. jensenii</i>	<i>P. chrysogenum</i>	<i>Fusarium sambucinum</i>	<i>Cladosporium atroseptum</i>	<i>Stemphylium bothrysosum</i>	<i>Hermiscium sp.</i>
		35	20	24	10	10	8	11	1	9	7
<i>Pleorotus ostreatus</i>	36	С	А	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>P. cornucopiae</i>	30	В	С	С	С	А	С	С	С	С	С
<i>P. eryngii</i>	20	А	А	А	С	С	С	В	С	А	С
<i>P. tigrinus</i>	33	В	А	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>Flammulina velutipes</i>	38	С	С	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>Lepista nuda</i>	22	С	А	С	В	С	С	А	С	С	С
<i>Armillaria mellea</i>	15	А	А	В	А	В	А	А	С	В	А
<i>Lentinus edodes</i>	32	В	А	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>Agaricus bisporus</i>	19	А	В	А	С	А	А	А	С	С	В
<i>Coprinus cinereus</i>	29	С	С	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>C. comatus</i>	25	С	В	А	С	А	С	С	С	С	С
<i>C. atramentarius</i>	17	А	А	С	А	С	В	А	С	В	С
<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	32	В	С	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>Pholiota adiposa</i>	26	С	А	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>P. aurivella</i>	28	В	В	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>P. alnicola</i>	18	С	А	А	А	С	А	С	С	С	С
<i>P. destruens</i>	11	С	А	С	А	А	В	А	С	А	А
<i>Nematoloma capnoides</i>	13	А	А	А	В	А	А	А	А	А	В
<i>N. fasciculare</i>	32	С	В	С	С	С	С	С	С	С	С
<i>Suillus luteus</i>	20	А	С	А	С	С	С	А	С	А	А
<i>Amanita pantherina</i>	22	С	А	С	С	С	С	С	С	А	С
<i>Polyporus varius</i>	30	А	С	А	С	С	С	А	С	А	А

Примечание*: А - реакция торможения; В - реакция взаимоторможения; С - реакция нарастания; ИА - индекс антагонизма.

Джонсона и Карла [11] с некоторыми нашими модификациями:

- А - взаимное торможение роста обоих организмов при контакте - 1 балл;
- В - дистанционное взаимоторможение (зона отсутствия роста) - 2 балла;
- С - реакция нарастания активного компонента на пассивный - 3 балла.

Результаты и обсуждение. Наблюдения показали, что выявленные 3 типа реакций зависели от биологических и экологических особенностей контактирующих организмов: скорости и характера роста колоний, природы субстрата, географической точки сбора плодовых тел и др. (табл. 2).

Следует отметить, что описанные реакции имели сложную динамику. Так, типу С в большинстве случаев предшествовали типы А и В, а реакция В часто переходила в реакцию А. Реакция нарастания у макромицетов с высоким ИА часто переходила в реакцию обрастания. Нарастающие гифы многих макромицетов по морфологии отличались от гиф самой колонии. Так, у видов *C. comatus*, *K. mutabilis* и *N. fasciculare* образовывались тяжи, которые у *L.*

edodes, *Ph. aurivella* и *L. nuda* были более уплотненными и укороченными. У *C. cinereus* гифы в монокультуре желтые и приплюснутые, а при нарастании становятся белыми и хлопьевидными.

Выделение экссудата наблюдалось при антагонистических взаимоотношениях видов *P. ostreatus* и *L. edodes* с некоторыми микромицетами (*F. sambucinum*, *P. chrysogenum*, *P. jensenii*). Оценка этого явления в качестве признака дискомфорта физиологического состояния мицелия допускает факт отсутствия экссудата у них в монокультуре.

Многие микро- и макромицеты выделяли пигменты, диффундирующие в питательную среду и окрашивающие ее в разные оттенки желто-коричневого цвета. Кроме этого, на начальной стадии роста наблюдалось выделение в среду БАС совместно растущими видами, что приводило к проявлению дистанционных антагонистических взаимоотношений на уровне метаболитов.

Результаты наблюдений показали, что во всех вариантах макромицеты намного активнее микромицетов. Наибольшей АФА обладали представители группы ксилотрофов (14 видов). Высокую антагонистическую (биотическую) активность этой группы грибов подтвердили и наши опыты по их межвидовому скрещиванию. Среди ксилотрофов большим ИА обладал *F. velutipes* (38), а малым - *Ph. destruens* (11). О слабой АФА *Ph. destruens* сообщается также в работе Беккера с соавт. [9].

По ряду убывания ИА исследуемые ксилотрофы можно представить в следующем порядке: *F. velutipes* (38) > *P. ostreatus* (36) > *P. tigrinus* (33) > *K. mutabilis* (32), *N. fasciculare* (32), *L. edodes* (32) > *P. cornucopiae* (30), *P. varius* (30) > *Ph. aurivella* (28) > *Ph. adiposa* (26) > *Ph. alnicola* (18) > *A. mellea* (15) > *N. capnoides* (13) > *Ph. destruens* (11).

По АФА ксилотрофы можно разделить на 3 группы: очень активные (ИА=38-33; *F. velutipes*, *P. ostreatus*, *P. tigrinus*); активные (ИА=32-26; *K. mutabilis*, *N. fasciculare*, *L. edodes*, *P. cornucopiae*, *P. varius*, *Ph. aurivella*, *Ph. adiposa*) и менее активные (ИА=28-11; *Ph. alnicola*, *N. capnoides*, *Ph. destruens*).

Особо следует отметить реакцию взаимоторможения, стабильно проявляющуюся у *N. capnoides* (ИА=13) с тест-микромицетами. Можно предположить, что такое значение ИА является своеобразным рубежом степени АФА макромицетов, так как его увеличение приводит к проявлению реакции нарастания (тип С) между контактирующими организмами.

Образование плодовых тел (стадия телеоморфы) в культуре является не только дополнительным и надежным критерием уточнения видов исследуемых штаммов макромицетов, но в данном случае и показателем их физиологического состояния. Согласно одному из правил Клебса, при неблагоприятных условиях вегетативного роста мицелий переходит в генеративную стадию. Так, истощение питательной среды или антагонистические взаимоотношения приводят к быстрому ингибированию вегетативного роста мицелия и образованию примордиев или плодовых тел на месте контакта колоний. Образование примордиев и плодовых тел у *P. tigrinus* в паре со всеми тест-микробами, а у *F. velutipes* в паре с *A. versicolor*, *C. atroseptum* и *F. sambucinum* отмечено на 25-30-ые сутки роста.

Таким образом, плодообразование наблюдалось у видов с большим ИА.

По степени АФА следующей является группа копротрофов (*C. cinereus*, *C. comatus* и *C. atramentarius*, ИА=29, 25, 17 соответственно). По показателям ИА они близки к видам ксилотрофов.

Представители экологической группы почвенных и подстилочных сапротрофов (*L. nuda*, *A. pantherina*, *P. eryngii* и *S. luteus*, ИА=22-20) во взаимоотношениях с тест-микромикстами проявляли умеренную АФА.

Анализ АФА видов в пределах одного рода (*Pleurotus*, *Coprinus*, *Pholiota* и *Nematoloma*) показал, что среди исследованных наиболее активными были *P. ostreatus*, *C. cinereus*, *Ph. aurivella* и *N. fasciculare*.

Среди микромикстеров наибольшей активностью (ИА=20-35) обладали виды рода *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. versicolor*), а наименьшей - *C. atroseptum* (ИА=1).

Из всех тест-микромикстеров лишь *A. niger* совместно с *C. comatus*, *Ph. alnicola*, *C. cinereus*, *Ph. destruens*, *A. pantherina* и *A. flavus* совместно с *A. pantherina* и *L. nuda* в некоторых вариантах нарастали на макромиксты. Рост остальных микромикстеров был полностью или частично ингибирован макромикстами.

Относительно слабую антагонистическую активность (ИА=8-10) проявили виды рода *Penicillium* (*P. simplicissimum*, *P. jensenii*, *P. chrysogenum*).

По значению ИА тест-микромиксты распределены в следующем порядке: *A. niger* (35) > *A. flavus* (24) > *A. versicolor* (20) > *F. sambucinum* (11) > *P. jensenii*, *P. simplicissimum* (10) > *S. botryosum* (9) > *P. chrysogenum* (8) > *Hormiscium sp.* (7) > *C. atroseptum* (1).

Таким образом, можно заключить, что исследованные макромиксты, в частности ксилотрофы, обладают высокой степенью АФА по отношению к тест-микромикстам. Однако выделение ксилотрофов, как наиболее перспективных для дальнейшего поиска БАС с антифунгальным действием, не исключает поиск этих соединений у представителей других экологических групп.

Авторы выражают благодарность профессорам А. С. Бухало (Киев), А. Шовану (Тулуза), А. Брезинскому (Регензбург) и М. Семерджиевой (Прага) за предоставление штаммов макромикстеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадалян С. М. Биол. журн. Армении, 39, 4, 319-322, 1986.
2. Билай В. Н. Фузарии. 442 с., Киев, 1977.
3. Билай В. Н., Ковалев Э. З. Аспергиллы. 202 с., Киев, 1988.
4. Литвинов М. А. Определитель микроскопических грибов. 302 с., Л, 1967.
5. Anke T., Oberwinkler F., Steglich W., Schramm G. J. Antibiotics, 10, 30, 806-810, 1977.
6. Anke T., Hecht H. Y., Mocek U., Steglich W. J. Antibiotics, 6, 36, 661-666, 1983.
7. Anke T., Besl H., Antibiotics. Ser. B., 10, 43, 1240-1244, 1990.
8. Becker U., Anke T., Sterner O. Natural Product Letters, 5, 171-174, 1994.

9. Chaumont Y., Simeray Y., Marechal G. Cryptogamie, Mycol., 3, 3, 249-259, 1982.
10. Haurzel R., Anke H., Sheldrick W. S. J. Schramm G., Steglich W. J. Antibiotics, 11, 32, 1112-1117, 1979.
11. Johnson I.F., Carl E. A. Methods for Research on the Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens. Minnesota. USA: Bungess Publ. Co, 1978.
12. Musilek V., Cerna J., Aek V., Semerdzieva M., Vondracek M. Folia Microbiol. 1969.
13. Raper K. B., Thom C. A. Manual of the Penicillia. 975 p., Baltimore, 1949.
14. Silva A. Bol. Soc. Bot. Mex., 24, 1-13, 1959.
15. Steinmetz M.-D., Rascol Y. P., Regli P., Gargadennec A., Andary C. Mycoses, 38, 305-309, 1995.

Поступила 15.VII.1997

Биол. Журн. Армении, 1-2 (51), 1998

УДК 582.284:631.589.2

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ГИДРОПОННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ

П.А. АБОВЯН, М.К. ВАРТАНЯН, П.Г. ДАВТЯН, И.А. НАВАСАРДЯН

Ереванский государственный университет, кафедра экологии и охраны природы,
375049

Усовершенствована искусственная гидропоническая модель экосистемы для выращивания мицелия базидиальных грибов. Предлагается новая питательная среда с органическими добавками, создающая благоприятные условия для развития съедобных грибов.

Կառարելագործվել է բազիդիալ սնկերի միցելիումի աճեցման էկոսիստեմի արհեստական հիդրոպոնիկ մոդելը: Առաջարկվել է օրգանական լրացուցիչ նյութերով նոր սննդամիջավայր, որը ստեղծում է բարենպաստ պայմաններ սնկերի միցելումի աճեցման համար:

The artificial hydroponic model of ecosystem for growing of micelium of basidial fungi has been improved. A new nutrient medium with organic additions, with created favourable conditions for growing of edible mushrooms was suggested.

Съедобные макромицеты - хлорелла - гидропоническая модель

Метод гидропонного выращивания мицелия макромицетов, предложенный Коджоян и Мелик-Хачатрян [4,5], по сравнению с технологически сложным и дорогостоящим процессом стерильного культивирования мицелия на зерне методом Лемке [8] и способом глубинного культивирования [1,3] позволяет сэкономить такой дефицитный пищевой продукт, как зерно злаковых; полученный посадочный материал более устойчив к поражению микроорганизмами, при его получении значительно ниже процент брака; этот способ обеспечивает также и хорошую сыпучесть