

Скрининг антибактериальной и антифунгальной активностей экстрактов базидиомицетов

В. С. ЛЫСАКОВА, О. Н. СИНЕВА, О. П. БЫЧКОВА, *Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Базидиомицеты обладают высокими биосинтетическими возможностями. Их метаболиты способны проявлять антимикробные свойства, тем самым являясь перспективными молекулами для применения в медицине или для дальнейшей химической трансформации. **Цель.** Оценка антибактериальных и антифунгальных свойств экстрактов культуральной жидкости представителей отдела Basidiomycota из порядков Agaricales и Polyporales, отбор активных штаммов для дальнейших исследований. **Материал и методы.** Объектами исследования служили 10 штаммов 10 видов базидиомицетов из порядков Agaricales и Polyporales. Тестировали фильтраты культуральных жидкостей, полученных в результате погруженного культивирования базидиомицетов, их этилацетатные экстракты и постэкстракционные жидкости. Культуральную жидкость *Fomitopsis betulina* также экстрагировали хлороформом и бутанолом. Антибактериальное и антифунгальное действие изучали методом диффузии из лунок в агар. **Результаты.** Все исследованные штаммы базидиомицетов проявили антибактериальную активность. Наиболее высокая активность в отношении грамположительных и грамотрицательной бактерий была отмечена у штаммов 3 видов из порядка полипоровых: *Fomes fomentarius*, *F. betulina* и *F. pinicola*. Антифунгальную активность проявили 6 из 10 исследованных культур базидиомицетов. Составленный сравнительный ряд экстрагентов по их эффективности (этилацетат > бутанол > хлороформ) свидетельствовал о преимуществе использования полярных растворителей для извлечения антимикробных метаболитов *F. betulina* из культуральной жидкости. **Заключение.** Отобраны перспективные штаммы базидиомицетов — продуцентов антимикробных метаболитов. Среди изученных видов наибольшую активность показали представители порядка Polyporales. Полярные растворители эффективнее извлекали антимикробные метаболиты *F. betulina* из культуральной жидкости.

Ключевые слова: базидиомицеты; экстракт культуральной жидкости; антибактериальная активность; антифунгальная активность

Для цитирования: Лысакова В. С., Синева О. Н., Бычкова О. П., Краснополяская Л. М. Скрининг антибактериальной и антифунгальной активностей экстрактов базидиомицетов. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (5–6): 11–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-11-18>. EDN: IGJLEC.

Screening of Antibacterial and Antifungal Activities of Basidiomycetes Extracts

VALERIA S. LYSAKOVA, OLGA N. SINEVA,
OLGA P. BYCHKOVA, *LARISA M. KRASNOPOLSKAYA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Abstract

Background. Basidiomycetes have high biosynthetic capabilities. Their metabolites are capable of exhibiting antimicrobial properties, thereby being promising molecules for use in medicine or for further chemical transformation. **The aim of the work.** Evaluation of antibacterial and antifungal properties of culture liquid of basidiomycetes from the orders Agaricales and Polyporales, selection of active strains for further research. **Materials and methods.** The objects of the study were 10 strains of 10 basidiomycetes species from the orders Agaricales and Polyporales. Filtrates of culture liquids obtained as a result of submerged cultivation of fungi, their ethyl acetate extracts and post-extraction liquids were tested. The culture liquid of *Fomitopsis betulina* was also extracted with chloroform and butanol. Antibacterial and antifungal effects were studied by diffusion from wells into agar. **Results.** All the studied strains of basidiomycetes showed antibacterial activity. The highest activity against gram-positive and gram-negative bacteria was observed in strains of 3 species from the order Polyporales: *Fomes fomentarius*, *F. betulina* and *F. pinicola*. Antifungal activity was shown by 6 out of 10 studied cultures of basidiomycetes. The comparative series of extractants compiled by their effectiveness (ethyl acetate > butanol > chloroform) testified to the advantage of using polar solvents to extract antimicrobial metabolites of *F. betulina* from the its culture liquid. **Conclusion.** Three promising strains of basidiomycetes — producers of antimicrobial metabolites were selected.

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: lmkrasnopolska@gmail.com



EDN: IGJLEC

*Correspondence to:
E-mail: lmkrasnopolska@gmail.com



Among the studied species, representatives of the order Polyporales showed the greatest activity. Polar solvents extracted antimicrobial metabolites of *F. betulina* from its culture liquid more efficiently than non-polar chloroform. The obtained results demonstrate the ability of basidiomycetes to produce metabolites with antimicrobial properties. It is noted that species of the order Polyporales are more active than representatives of Agaricales.

Keywords: basidiomycetes; extract of culture liquid; antibacterial activity; antifungal activity.

For citation: Lysakova V. S., Sineva O. N., Bychkova O. P., Krasnopolskaya L. M. Screening of antibacterial and antifungal activities of basidiomycetes extracts. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (5–6): 11–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-11-18>. EDN: IJGLEC.

Введение

Поиск новых высокоактивных природных соединений с антимикробной активностью направлен прежде всего на создание антибиотических лекарственных препаратов для лечения инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными бактериями и грибами, в том числе резистентными к существующим препаратам. Кроме того, эти новые молекулы могут быть использованы для дальнейшей химической трансформации с целью повышения активности или, в случае необходимости, снижения токсичности.

Высшие грибы, обладающие широкими биосинтетическими возможностями, могут служить продуцентами ценных биологически активных природных соединений с высоким разнообразием химических структур и биологических свойств. Перспективным источником таких соединений, в частности, являются грибы отдела Basidiomycota, метаболиты которых проявляют иммуномодулирующие, противоопухолевые, антибактериальные, противовирусные, антидиабетические, антиоксидантные и др. свойства [1]. В последнее десятилетие возросло количество исследований антимикробных свойств метаболитов базидиомицетов.

В отличие от первичных метаболитов, вторичные, включающие в числе прочих и соединения с антимикробными свойствами, являются индивидуально производимыми соединениями, часто специфичными для одного вида или ограниченной группы видов [2]. Кроме того, разнообразие метаболитов может увеличиваться за счёт существенного количества химических производных основного соединения изучаемой группы, выделяемых одним и тем же видом или рядом родственных видов.

Метаболиты с антимикробной активностью обнаружены у широкого круга видов базидиальных грибов, относящихся к разным таксономическим и эколого-трофическим группам. Целевые метаболиты могут содержаться в плодовых телах, мицелии и культуральной жидкости базидиомицетов. Для их выделения преимущественно применяют метод экстракции, используя как полярные, так и неполярные органические растворители, горячую и холодную воду [3, 4]. К 2013 г. было выявлено более 280 видов базидиальных грибов, обладающих антибактериальной актив-

ностью в отношении, как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [5, 6].

Согласно полученным нами ранее результатам при погружённом культивировании базидиальных грибов метаболиты с антимикробными свойствами в основном аккумулируются в культуральной жидкости, а не в мицелии [7, 8]. Преимуществом работы с погружённой культурой базидиомицетов служит воспроизводимость результатов, облегченный процесс экстракции, доступность исходного материала и ускоренный процесс культивирования.

Изучение антимикробной активности экстрактов, содержащих метаболиты базидиомицетов, является важным этапом выявления новых перспективных соединений. На этом этапе традиционно очерчивают круг таксономических или эколого-трофических групп базидиомицетов, выбирают наиболее активные штаммы-продуценты, а также экстрагенты, обеспечивающие выделение действующих соединений. Успешное проведение этого этапа исследований позволяет перейти к химической очистке, идентификации уже известной или установлению новой структуры метаболитов с антимикробной активностью, изучению спектра их биологического действия, определения минимальных подавляющих концентраций. Среди синтезируемых базидиомицетами метаболитов с антибиотическими свойствами известны терпены [9, 10], органические кислоты [11, 12], пептиды [13, 14] и соединения другой химической природы [15, 16].

Цель работы — изучение антимикробной активности экстрактов культуральной жидкости 10 штаммов базидиомицетов, относящихся к 10 видам, входящих в порядки Agaricales и Polyporales, и отбору наиболее перспективных продуцентов.

Материал и методы

Культуры базидиальных грибов. В работе использовали штаммы следующих видов базидиомицетов из коллекции лаборатории ББВ ФГБНУ «НИИНА»: *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Fomitopsis pinicola*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Hypsizygus ulmarius*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus sajor-caju*, *Trametes versicolor*.

Культивирование базидиомицетов. Штаммы грибов выращивали на плотной питательной среде КГА до полного освоения культурой поверхности питательного агара в термостате при 26°C (7–14 дней), затем пробирки переносили в

холодильник (4°C). Погруженное культивирование проводили в два этапа, на первом из которых получали жидкий посевной мицелий, на втором — погруженную культуру для дальнейших исследований. Состав посевной среды приведен в [17]. Ферментационная среда содержала глюкозу — 20 г, пептон — 10 г, дрожжевой экстракт — 2 г, дигидрофосфат калия — 2,5 г, сульфат магния — 0,25 г, водопроводную воду до 1 л. Значение pH ферментационной среды до стерилизации 6,1. Все питательные среды стерилизовали при 0,25 атм. в течение 20 мин. Погруженное культивирование проводили на орбитальном большегрузном шейкере Infors RC-406) при 200 об./мин при температуре 25°C. Жидкий посевной мицелий выращивали в течение 6 сут, длительность непосредственно ферментации составляла 4–6 сут в зависимости от штамма. Количество жидкого инокулюма — 10%. Выращенный мицелий отделяли от культуральной среды фильтрованием через лавсан. Погруженную биомассу лиофилизировали (лиофильная сушилка ЛС-500, ООО «Проинтех», Россия) и определяли её массу весовым методом.

Получение экстрактов культуральной жидкости.

Экстракцию культуральной жидкости проводили однократно. В качестве экстрагентов использовали органические растворители, различающиеся по своей полярности — этилацетат (EtOAc), хлороформ (CHCl₃) и бутанол (BuOH). К образцам культуральной жидкости добавляли экстрагент в соотношении 1:1 и экстрагировали с помощью делительной воронки. Экстракты культуральной жидкости отделяли от постэкстракционной жидкости, после чего экстракты упаривали с использованием роторного испарителя KnF RC600 (KNE, Германия) при 45°C. Для исследования антимикробных свойств сухие экстракты растворяли в 25% этиловом спирте до получения раствора с концентрацией 10 мг/мл. Исследовали антимикробные свойства растворов экстрактов (э), а также образцов культуральных (кж) и постэкстракционных жидкостей (пж).

Определение антибиотической активности методом диффузии из лунок в агар. В качестве тест-объектов использовали штаммы бактерий и грибов из коллекции ФГБНУ «НИИНА». В их число входили грамположительные бактерии *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* (INA 00985), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), грамотрицательная бактерия *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), дрожжеподобный гриб *Candida albicans* (ATCC 14053), мицелиальные грибы *Fusarium oxysporum* (ВКПМ F-890), *Aspergillus niger* (ATCC 16404). Культивирование микроорганизмов проводили в чашках Петри на агаризированной среде Гаузе 2. Эта среда содержала глюкозу — 10 г, триптон — 3 г, пептон — 5 г, хлорид натрия — 5 г, агар-агар — 20 г, водопроводная вода до 1 л, pH среды 7,2–7,4. Готовили суспензии микроорганизмов со значениями 0,5 единиц МакФарланда для бактерий и грибов, измеряемые денситометром DEN-1 (BioSan, Латвия). Суспензии наносили на агаризированную среду в количестве 100 мкл/чашка.

В плотной среде с засеянными микроорганизмами делали отверстия диаметром 9 мм, в которые добавляли по 100 мкл подготовленного раствора экстракта. Культуры инкубировали в течение суток, *F. oxysporum* при 28°C, остальные культуры при 37°C. Оценивали наличие зоны ингибирования роста микроорганизма и её величину в мм.

Результаты и обсуждение

В качестве объектов исследования были выбраны виды базидиомицетов, относящиеся к двум порядкам: Agaricales и Polyporales. Рецепт жидкой питательной среды для их погруженного культивирования была составлена на основе предварительных исследований и отвечала двум требованиям. Во-первых, использованная жидкая

питательная среда представляла собой раствор и не содержала твёрдых частиц, во-вторых, она обеспечивала проявление достаточно высокой антимикробной активности у большинства предварительно изученных штаммов базидиомицетов.

Все штаммы на использованной среде росли в виде геоидных пеллет, размер которых различался в зависимости от культуры. Срок достижения максимума содержания биомассы в среде у разных штаммов варьировал от 4 до 6 сут, выход сухой биомассы — от 1,40 до 12,90 г/л культуральной жидкости (табл. 1). В условиях опыта наиболее быстро рос штамм гиспизигуса ильмового — *H. ulmaris*, он же показал максимальный выход биомассы. Самое низкое значение выхода биомассы было отмечено у штамма *G. frondosa*. Длительность погруженного культивирования каждого штамма соответствовала сроку максимального накопления его биомассы в среде.

Ранее нами было показано, что метаболиты базидиомицетов с антимикробной активностью преимущественно накапливаются в культуральной жидкости [7, 8]. Поэтому в настоящей работе в качестве источника целевых метаболитов была выбрана культуральная жидкость изучаемых штаммов. Изучали антимикробное действие фильтрата культуральной жидкости, его экстракта и постэкстракционной жидкости. На стадии скрининга активных штаммов-продуцентов экстракцию фильтрата культуральной жидкости проводили однократно этилацетатом. Этилацетат был выбран, как часто используемый полярный растворитель в подобных исследованиях [18, 19]. Тестирование антимикробного действия происходило в стандартных условиях с помощью метода диффузии из лунок в агар. Использовали панель тест культур, включающую грамположительные, грамотрицательные бактерии, дрожжеподобные и мицелиальные грибы.

Среди представителей порядка агариковых (табл. 2) наиболее широкий спектр активности был отмечен у штаммов *H. ulmarius* и *L. shimeji*. Только эти два штамма проявили активность в отношении грамотрицательной бактерии *P. aeruginosa*. Можно предположить, что действующие вещества, синтезируемые этими культурами, различаются, поскольку целевой метаболит (метаболиты) *H. ulmarius* переходил в этилацетатный экстракт, а целевые вещества *L. shimeji* в этилацетатном экстракте не были детектированы использованным методом. Из изученных штаммов, относящихся к видам, входящим в порядок Agaricales, активность в отношении *S. aureus* показали все образцы, полученные из погруженной культуры *L. shimeji*, а также культуральная и постэкстракционная жидкости *P. sajor-caju*. При изучении образцов *P. eryngii* были отмечены наибольшие зоны подавления роста двух тест-культур: *C. albicans*

Таблица 1. Характеристики процессов погруженного культивирования штаммов базидиомицетов
Table 1. Characteristics of submerged cultivation processes of basidiomycete strains

Штамм	Срок накопления максимальной биомассы, сут	Выход сухой биомассы, г/л
Порядок Agaricales		
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	5	6,75±0,07
<i>Hypsizygus ulmaris</i>	4	12,90±0,21
<i>Lyophyllum shimeji</i>	6	5,36±0,09
<i>Pleurotus eryngii</i>	6	6,45±0,14
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	6	6,07±0,11
Порядок Polyporales		
<i>Fomes fomentarius</i>	5	4,14±0,13
<i>Fomitopsis betulina</i>	6	3,60±0,09
<i>Fomitopsis pinicola</i>	6	3,28±0,08
<i>Grifola frondosa</i>	5	1,40±0,15
<i>Trametes versicolor</i>	6	1,27±0,11

Таблица 2. Антибиотическая активность базидиомицетов порядка Agaricales
Table 2. Antibiotic activity of basidiomycetes of the order Agaricales

Штамм	Антимикробная активность (зоны подавления роста, мм)						
	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. niger</i>
<i>Hypsizygus marmoreus</i>							
кж	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
э	н/а	н/а	14	н/а	н/а	16	н/а
пж	н/а	н/а	12	н/а	н/а	н/а	н/а
<i>Hypsizygus ulmaris</i>							
кж	н/а	15	12	14	н/а	13	н/а
э	н/а	14	12	12	н/а	13	н/а
пж	н/а	н/а	12	12	н/а	н/а	н/а
<i>Lyophyllum shimeji</i>							
кж	16	н/а	н/а	13	н/а	н/а	н/а
э	14	12	15	н/а	н/а	13	н/а
пж	16	н/а	н/а	15	н/а	н/а	н/а
<i>Pleurotus eryngii</i>							
кж	н/а	н/а	н/а	н/а	25	12	н/а
э	н/а	н/а	12	н/а	н/а	12	н/а
пж	н/а	20	13	н/а	11	н/а	н/а
<i>Pleurotus sajor-caju</i>							
кж	18	11	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
э	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
пж	18	12	н/а	13	н/а	н/а	н/а

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: н/а — нет активности.
Note. Here and in the tables 3, 4: н/а — no activity.

под воздействием фильтрата культуральной жидкости и *M. luteus* при внесении в лунку постэкстракционной жидкости. Исследованный штамм *P. eryngii* был единственным из представителей порядка агариковых, проявляющим активность в отношении *C. albicans*. Этилацетат не извлекал из культуральной жидкости метаболиты *P. eryngii*, ответственные за антимикробное действие в отношении *C. albicans* и *M. luteus*, а также метаболиты *P. sajor-caju*, активные в отношении *S. aureus*.

Результаты изучения антимикробной активности штаммов, виды которых входят в порядок Polyporales, приведены в табл. 3. Все использованные в работе штаммы из порядка полипоровых проявили антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий, включая *S. aureus*. Только *T. versicolor* не проявил ак-

тивность по отношению к *P. aeruginosa*. Высокая активность была обнаружена у штаммов видов *F. fomentarius*, *F. betulina* и *F. pinicola*. Антибактериальная активность штаммов этих видов была выше, чем аналогичная активность у *G. frondosa*, *T. versicolor* и изученных штаммов из порядка агариковых. Антибактериальная активность была выявлена у культуральных жидкостей, этилацетатных экстрактов и постэкстракционных жидкостей этих трёх штаммов. Высокая активность постэкстракционных жидкостей может быть связана как с неполным выделением действующего метаболита при проведении однократной экстракции, так и с наличием антимикробных метаболитов, не переходящих в этилацетатный экстракт.

Антифунгальная активность была обнаружена только у представителей рода *Fomitopsis* —

Таблица 3. Антибиотическая активность базидиомицетов порядка Polyporales
Table 3. Antibiotic activity of basidiomycetes of the order Polyporales

Штамм	Антимикробная активность (зоны подавления роста, мм)						
	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. niger</i>
<i>Fomes fomentarius</i>							
кж	33	33	25	24	н/а	н/а	н/а
э	20	28	17	20	н/а	н/а	н/а
пж	34	30	25	21	н/а	н/а	н/а
<i>Fomitopsis betulina</i>							
кж	27	35	23	23	н/а	н/а	н/а
э	28	30	20	23	н/а	14	н/а
пж	27	42	25	32	н/а	12	14
<i>Fomitopsis pinicola</i>							
кж	35	32	27	25	н/а	12	н/а
э	35	34	23	25	н/а	12	н/а
пж	30	34	27	23	н/а	н/а	н/а
<i>Grifola frondosa</i>							
кж	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
э	10	13	12	12	н/а	н/а	н/а
пж	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
<i>Trametes versicolor</i>							
кж	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
э	12	11	11	н/а	н/а	н/а	н/а
пж	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а

Таблица 4. Проверка различных экстрагентов для культуральной жидкости *F. betulina*
Table 4. Testing of various extractants for *F. betulina* culture fluid

Объект	Антимикробная активность (зоны подавления роста, мм)						
	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. niger</i>
Культуральная жидкость	36	40	30	29	н/а	15	н/а
Экстракт EtOAc	28	30	20	23	н/а	14	н/а
Пж, EtOAc	30	30	25	27	н/а	12	н/а
Экстракт BuOH	16	20	17	15	н/а	н/а	н/а
Пж BuOH	18	12	12	12	н/а	10	н/а
Экстракт CHCl ₃	н/а	12	12	н/а	н/а	н/а	н/а
Пж, CHCl ₃	35	42	30	33	н/а	10	н/а

штаммов *F. betulina* и *F. pinicola*. Рост *F. oxysporum* ингибировали этилацетатный экстракт и постэкстракционная жидкость *F. betulina*, а также культуральная жидкость и этилацетатный экстракт *F. pinicola*. Равная активность в отношении этого мицелиального гриба у культуральной жидкости и этилацетатного экстракта *F. pinicola* позволяет предположить, что однократная экстракция достаточно полно извлекает действующий метаболит/метаболиты. Ингибирующее действие на рост *A. niger* оказывала только постэкстракционная жидкость *F. betulina*. Ни один из изученных штаммов порядка Polyporales не проявил активности в отношении *C. albicans*.

Наибольшую антимикробную активность среди представителей порядка Polyporales показали изученные штаммы *F. fomentarius*, *F. betulina* и *F. pinicola*. Эти три вида широко применяются в народной медицине разных стран, как средства, улучшающие общее самочувствие, укрепляющее иммунитет, помогающие при кишечных заболеваниях и обладающие другими полезными свойствами. В настоящее время изучают

противовоспалительные [20], противоопухолевые [21], иммуномодулирующие, нейропротекторные и другие свойства метаболитов *F. fomentarius*, *F. betulina* и *F. pinicola* [22–24]. Немногочисленные исследования их антимикробных свойств [25] привели к выделению индивидуальных соединений, в частности в 2000 г. из культуральной жидкости *F. betulina* (прежнее название *Piptoporus betulinus*) был выделен антибиотик пиптамин [26], активный в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Далее была проведена проверка эффективности различных экстрагентов для извлечения антимикробных метаболитов *F. betulina*. Для этого кроме полярного непротонного растворителя этилацетата были выбраны: неполярный растворитель — хлороформ, а также полярный протонный — бутанол. Дополнительно были протестированы культуральная жидкость *F. betulina* и постэкстракционные жидкости для каждого экстрагента. Результаты опыта, представленные в табл. 4, показали, что при использовании для тестирования активности метода диффузии в агар

из лунок наиболее целесообразно использовать этилацетат. Бутанольный экстракт показал активность в отношении всех использованных бактериальных тест-культур, однако его активность была ниже этилацетатного экстракта. У хлороформного экстракта была обнаружена слабая активность в отношении только грамположительных бактерий *B. subtilis* и *M. luteus*.

Заключение

Таким образом, все исследованные в настоящей работе штаммы базидиомицетов из порядков Agaricales и Polyporales проявили антибактериальную активность. Метаболиты с такими свойствами в условиях опытов были обнаружены в фильтрах культуральной жидкости, их этилацетатных экстрактах и/или в постэкстракционных жидкостях. В отношении *S. aureus* были активны образцы, полученные из погруженных культур всех изученных штаммов из порядка полипоровых и 2 штаммов из порядка агариковых (*L. shimeji* и *P. sajor-caju*). Активностью в отношении *P. aeruginosa* обладали метаболиты из погруженных культур всех изученных штаммов из порядка Polyporales и трёх штаммов из порядка Agaricales: *H. ulmarius*, *L. shimeji* и *P. sajor-caju*. Антифунгальная активность была обнаружена у 6 из 9 исследованных в настоящей работе культур базидиомицетов. В их число вошли 4 штамма видов из порядка Agaricales (*H. marmoreus*, *H. ulmarius*, *L. shimeji* и *P. eryngii*) и 2 штамма, относящиеся к двум видам из порядка Polyporales (*F. betulina* и *F. pinicola*). Активность в отношении *A. niger* была обнаружена только в постэкстракционной жидкости штамма *F. betulina*. Наибольшая антибактериальная активность была обнаружена у штаммов 3 видов из порядка полипоровых: *F. fo-*

mentarius, *F. betulina* и *F. pinicola*. Высокая активность в отношении *C. albicans* обнаружена у культуральной жидкости *P. eryngii*. Сравнение хлороформа, этилацетата и бутанола в качестве экстрагентов для выделения антимикробных метаболитов из культуральной жидкости *F. betulina* показало, что наибольшей активностью обладал этилацетатный экстракт. Составленный сравнительный ряд экстрагентов по их эффективности (этилацетат > бутанол > хлороформ) свидетельствует о преимуществе использования полярных растворителей для извлечения антимикробных метаболитов *F. betulina* из культуральной жидкости.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. В. С. Лысакова — написание текста, выполнение экспериментальной части; О. Н. Синева, О. П. Бычкова — разработка модели, анализ и интерпретация результатов; Л. М. Краснопольская — написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи.

Additional Information

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest related to the publication of this article.

Authors' participation. Lysakova V. S. — writing the text, performing the experimental part; Sineva O. N., Bychkova O. P. — model development, analysis and interpretation of results; Krasnopolskaya L. M. — text writing, editing, final approval of the manuscript.

Литература/References

1. Chaturvedi V.K., Agarwal S., Gupta K.K., Ramteke P.W., Singh M.P. Medicinal mushroom: boon for therapeutics applications. 3 Biotech. 2018; 8: 334. doi:10.1007/s13205-018-1358-0.
2. Narayanan Z., Glick B.R. Secondary metabolites produced by plant growth-promoting bacterial endophytes. Microorganisms. 2022; 10(10): 2008. doi: 10.3390/microorganisms10102008.
3. Klančnik A., Megušar P., Sterniša M., Jeršek B., Bucar F., Smole Možina S. et al. Aqueous extracts of wild mushrooms show antimicrobial and antiadhesion activities against bacteria and fungi. Phytotherapy Research. 2017; 31(12): 1971–6. doi: 10.1002/ptr.5934.
4. Dokhaharani S.C., Ghobad-Nejhad M., Moghimi H., Farazmand A., Rahmani H. Biological activities of two polypore macrofungi (Basidiomycota) and characterization of their compounds using HPLC-DAD and LC-ESI-MS/MS. Folia Microbiologica. 2021; 66: 775–786. doi:10.1007/s12223-021-00884-y.
5. Ranadive K.R., Belsare M.H., Deokule S.S., Jagtap N.V., Jadhav H.K., Vaideya J.G. Glimpses of antimicrobial activity of fungi from World. J New Biol Rep. 2013; 2: 142–162.
6. Udu-Ibiam O. E., Ogbu O., Nworio O., Ibiam U.A., Agah M.V. et al. Antimicrobial activities of some selected edible mushrooms and spices against clinical isolates from Federal University Teaching Hospital Abakaliki (FETHA), Ebonyi State, Nigeria. International Journal of Scientific and Technology Research. 2014; 3: 251–255.
7. Лысакова В.С., Барашикова А.С., Рогожин Е.А., Куварина А.Е., Садькова В.С., Краснополянская Л. М. Скрининг метаболитов грибов из отделов Basidiomycota и Ascomycota, обладающих антибиотическими свойствами. Наука в интерпретации современного образовательного процесса. 2022; 36–38. [Lysakova V.S., Barashkova A.S., Rogozhin E.A., Kuvarina A.E., Sadykova V.S., Krasnopolskaya L. M. Screening of fungal metabolites from Basidiomycota and Ascomycota departments with antibiotic properties. // Science in the interpretation of the modern educational process. 2022; 36–38 (in Russian)]
8. Лысакова В.С., Барашикова А.С., Рогожин Е.А., Синева О.Н., Краснополянская Л.М. Скрининг метаболитов базидиомицетов и аскомицетов с антифунгальной и антибактериальной активностями. Современная микология в России. Материалы 5-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2022; 9: 393–394 [Lysakova V.S., Barashkova A.S., Rogozhin E.A., Sineva O.N., Krasnopolskaya L.M. Screening of metabolites of basidiomycetes and ascomycetes with antifungal and antibacterial activities. // Modern Mycology in Russia. Materials of the 5th Congress of Mycologists of Russia. Moscow: National Academy of Mycology. 2022; 9: 393–394 (in Russian)]
9. Chepkirui C., Yuyama K.T., Wanga L.A., Decock C., Matasyoh J.C., Abraham W-R. et al. Microporenic Acids A-G, biofilm inhibitors, and antimicrobial agents from the basidiomycete microporus species. Journal of Natural Products [Internet]. 2018; 81(4): 778–784. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00764.
10. Wu H., Yang H-X., Li Z-H., Feng T., Liu J-K. Psathyrellins A-E, antibacterial guanacastane diterpenoids from mushroom *Psathyrella candolleana*. Natural Products and Bioprospecting. 2021; 11(4): 447–452. doi: 10.1007/s13659-021-00316-x.
11. Smania E.F.A., Delle Monache F., Smania A., Yunes R.A., Cuneo R.S. Antifungal activity of sterols and triterpenes isolated from *Ganoderma annulare*. Fitoterapia. 2003; 74(4): 375–377. doi: 10.1016/s0367-326x(03)00064-9.
12. Woo E-E., Ha L.S., Kim J-Y., Lee I-K., Yun B-S. Rhizophins A and B, new sesquiterpenes from the culture broth of *Coprinus rhizophorus*. J Antibiot (Tokyo). 2019; 73(3): 175–178. doi: 10.1038/s41429-019-0263-z.
13. Wang H., Ng T.B. Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Peptides. 2006; 27(1): 27–30. doi: 10.1016/j.peptides.2005.06.009.
14. Wang H., Ng T.B. Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. Peptides. 2004; 25(1): 1–5. doi: 10.1016/j.peptides.2003.11.014
15. Garádi Z., Dékány M., Móricz Á.M., Gaál A., Papp V., Béni S. et al. Antimicrobial, antioxidant and antiproliferative secondary metabolites from *Inonotus nidus-pici*. Molecules. 2021; 26(18): 5453. doi: 10.3390/molecules26185453.
16. Béni Z., Dékány M., Kovács B., Csupor-Löffler B., Zomborszki Z., Kerekes E. et al. Bioactivity-guided isolation of antimicrobial and antioxidant metabolites from the mushroom *Tapinella atrotomentosa*. Molecules. 2018; 23(5): 1082. doi: https://doi.org/10.3390/molecules23051082.
17. Краснополянская Л.М., Белицкий И.В., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. *Pleurotus djator*: способы культивирования и антимикробные свойства. Мик. и фитопатол. 2001; 35(1): 62–67. [Krasnopolskaya L.M., Belitsky I.V., Fedorova G.B., Katrukha G.S. *Pleurotus djator*: cultivation methods and antimicrobial properties. Mic and phytopathol. 2001; 35(1): 62–67. (in Russian)]
18. Park G., Nam J., Kim J., Song J., Kim P.I., Min H.J. et al. Structure and mechanism of surfactin peptide from *Bacillus velezensis* antagonistic to fungi plant pathogens. Bulletin of the Korean Chemical Society. 2019; 40(7): 704–709. doi: https://doi.org/10.1002/bkcs.11757.
19. Inostroza A., Lara L., Paz C., Perez A., Galleguillos F., Hernandez V. et al. Antibiotic activity of Emerimicin IV isolated from *Emericellopsis minima* from Talcahuano Bay, Chile. Natural Product Research. 2017; 3: 32(11): 1361–1364. doi: 10.1080/14786419.2017.1344655.
20. Liu Y., Liu W., Li M., Yuan T. Lanostane triterpenoids from the fruiting bodies of *Fomitopsis pinicola* and their anti-inflammatory activities. Phytochemistry. 2022, 193: 112985. doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112985.
21. Kao C. H., Greenwood D. R., Jamieson S. M., Coe M. E., Murray P. M., Ferguson L. R. et al. Anticancer characteristics of *Fomitopsis pinicola* extract in a xenograft mouse model — A preliminary study. Nutrition and Cancer. 2020; 72(4): 645–652.
22. Pleszczyńska M., Lemieszek M. K., Siwulski M., Wiater A., Rzeski W., Szczodrak J. *Fomitopsis betulina* (formerly *Piptoporus betulinus*): the Iceman's polypore fungus with modern biotechnological potential. World J Microbiol Biotechnol. 2017; 33: 1–12. doi: 10.1007/s11274-017-2247-0.
23. Cheng X., Ji Y., Li X., Wang Z., Wang B., He F., Xue S. The beneficial effects of *Fomitopsis pinicola* chloroform extract on a dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis mice model. Ann Transl Med. 2023, 11(2). doi: 10.21037/atm-22-5143.
24. Alvandi H., Hatamian-Zarmi A., Ebrahimi Hosseinzadeh B., Mokhtari-Hosseini Z. B. Optimization of production conditions for bioactive polysaccharides from *Fomes fomentarius* and investigation of antibacterial and antitumor activities. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2020, 14(6): 596–611. doi: https://doi.org/10.30699/ijmm.14.6.596.
25. Dresch P., Rosam K., Grienke U., Rollinger J. M., Peintner U. Fungal strain matters: colony growth and bioactivity of the European medicinal polypores *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola* and *Piptoporus betulinus*. Amb Express. 2015; 5(1): 1–14. doi: 10.1186/s13568-014-0093-0.
26. Schlegel B., Luhmann U., Härtl A., Gräfe U. Piptamine, a new antibiotic produced by *Piptoporus betulinus* Lu 9-1. J Antibiotics (Tokyo). 2000, 53(9): 973–974. doi: 10.7164/antibiotics.53.973.

Поступила / Received 27.12.2023

Принята в печать / Accepted 02.02.2024

Информация об авторах

Лысакова Валерия Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386

Синева Ольга Николаевна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории таксономического изучения и коллекции культур микроорганизмов Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0063-4922

Бычкова Ольга Петровна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории разработки методов поиска биологически активных соединений. Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4107-3794.

Краснопольская Лариса Михайловна — д. б. н., ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339.

About the authors

Valeria S. Lysakova — Junior Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386

Olga N. Sineva — Ph. D. in Biology, Researcher at the Laboratory of Taxonomic Study and Collection of Microorganism Cultures, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0063-4922

Olga P. Bychkova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Laboratory for the Development of Methods for Searching for Biologically Active Compounds, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4107-3794

Larisa M. Krasnopolskaya — D. Sc. in Biology, Leading researcher, Head of the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339