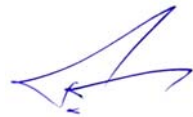


МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

ФЕДОТОВ ОЛЕГ ВАЛЕРІЙОВИЧ



УДК 582.287:547.92

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ЗАСАДИ РЕГУЛЮВАННЯ І ВИКОРИСТАННЯ
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ
БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ**

03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового степеня
доктора біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Донецькому національному університеті імені Василя Стуса МОН України та Донецькому національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий консультант: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки **БІСЬКО Ніна Анатоліївна**, Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, провідний науковий співробітник відділу мікології.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **ГОРОВИЙ Леонтій Федорович**, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, головний науковий співробітник відділу молекулярної генетики, радник директора;

доктор технічних наук, професор, академік НААН України **ЄЖОВ Валерій Микитович**, Інститут садівництва НААН України, завідувач лабораторії квітково-декоративних і лікарських культур;

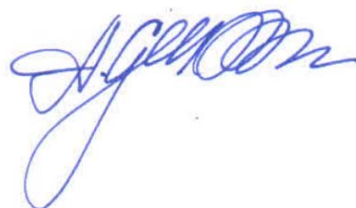
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **ПОЄДИНОК Наталія Леонідівна**, ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», старший науковий співробітник відділу клітинної біології і біотехнології.

Захист відбудеться 02 березня 2018 р. о 10-30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.002.28 при Національному технічному університеті України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України (03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37, корп. 4, ауд. 258).

З дисертацією можна ознайомитися у Науково-технічній бібліотеці ім. Г.І. Денисенка Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України (03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37). Відгуки на автореферат просимо надсилати за адресою: 03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37, корп. 1, кімната 158, відділ вченого секретаря КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Автореферат розісланий «___» січня 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.002.28
д-р біол. наук, доц.



О.Ю. Галкін

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Базидієві гриби є джерелом різноманітних природних біологічно активних речовин з широким спектром практичного застосування. Їх використовують в якості дієтичного харчування, харчових добавок, грибних лікарських препаратів, біопрепаратів для захисту рослин і космоцевтиків тощо (В.Г. Бабицкая та ін., 2004-2008; Н.А. Бісько та ін. 2003-2017; W. Chen, 2008; S.P. Wasser et al., 2002-2014). Актуальність вивчення базидієвих грибів обумовлена встановленням їх корисних властивостей, пошуком нових хімічних сполук, вивченням закономірностей і спрямованої регуляції метаболічних шляхів біологічно активних речовин, визначенням біологічної ролі активних метаболітів, зокрема у пристосуванні до різноманітних субстратів та у адаптогенних реакціях і, нарешті, широким застосуванням в біотехнології, екології та господарстві (Л.М. Краснопольская та ін. 2008; W. Chen, 2008; S. Wasser et al., 2002-2014; Н.Л. Поєдинок, 2015). Як наслідок, розробка нових інтенсивних біотехнологій культивування різних видів базидієвих грибів з метою отримання як міцелію, так і біологічно активних сполук з кожним роком стає все більш актуальною.

Створення нових біотехнологій вимагає глибокого вивчення факторів, що регулюють біосинтетичні функції клітин гриба та максимально розкривають їх потенціал. Адаптаційні перебудови полягають у зміні балансу прооксидантно-антиоксидантної системи: активації процесів перекисного окислення ліпідів і ферментних систем, утворення прооксидантно-антиоксидантних речовин, здатних активно реагувати на дії певних факторів. До функціонально лабільних антиоксидантних речовин, зокрема, відносяться окисно-відновні ферменти каталази (КФ 1.11.1.6), супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1), пероксидази (КФ 1.11.1.7), поліфеноли, пігменти і інші (Т.А. Белозерская та ін. 2007; Н.Н. Гесслер та ін. 2006; А.Н. Karich et al., 2008-2011; М.У. Lung et al., 2011).

Ксилотрофні базидіомікотові здатні утворювати високоактивні кисневі радикали, які беруть участь у деструкції високомолекулярних речовин, в першу чергу фенольних сполук, лігніну, целюлози тощо. Передбачається, що вивчення механізмів такої деструкції може відкрити шляхи до розробки екологічно чистих енергозберігаючих біотехнологій біодеструкції та біоутилізації хімічно стійких відходів промисловості та переробки лігноцелюлозної сировини. Велике значення в процесі деградації лігніну ксилотрофами відіграють реакції вільно-радикального окислювання, а також синтез цими грибами різних речовин окисно-відновної дії і біоантиоксидантів (А.Н. Karich et al., 2008-2011; М.Д. Asatiani et al., 2010). Разом з цим, вивчаються взаємозв'язок між пігментацією і утворенням вторинних метаболітів, антиоксидантна і гензахисна властивості грибних пігментів – каротиноїдів і меланіну (Н.Н. Гесслер та ін. 2006; V.G. Babitskaya et al., 2008-2011).

Детальні дослідження лікарських грибів (*medicinal mushrooms*) показують, що їх фізіологічна дія значною мірою може бути обумовлена наявністю в їх складі антиоксидантних сполук та збалансованістю у системі прооксиданти-антиоксиданти. Проте, дані щодо прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів уривчасті і поодинокі, бракує

систематичних досліджень антиоксидантних властивостей біологічно активних сполук цих грибів (С.О. Сирчін, 2015; M.D. Asatiani et al., 2010; V. Elisashvili et al., 2009). Щойно розпочаті дослідження стосовно використання базидіомікотових у мікотестуванні навколишнього середовища (Г.Л. Антоняк та ін., 2015; І.О. Дудка, 2016).

Таким чином, тема дослідження відповідає актуальним проблемам розвитку біотехнології, мікології та екології і дасть змогу більш повно вивчити прооксидантно-антиоксидантні властивості базидієвих грибів; виявити нові штами – продуценти біоантиоксидантів, пігментів та поліфенолів, антиокисних ензимів; розробити способи регуляції біосинтезу цих біологічно активних речовин, їх виділення та методи оцінки реакції грибних організмів на умови культивування чи довкілля. Отримана під час виконання роботи інформація про фізіологічну активність лікарських грибів, дозволить оцінити біотехнологічний потенціал цих організмів і відкриє перспективи використання їх в промисловості, екології та медицині, послужить основою для одержання препаратів нового покоління, різноманітних харчових добавок та функціональних продуктів грибного походження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась з 1996 року в наукових лабораторіях кафедри фізіології та біохімії рослин Донецького національного університету імені Василя Стуса МОН України в рамках держбюджетних науково-дослідних проектів, що виконувались за замовленням МОН України та з 2016 року – на кафедрі медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології Донецького національного медичного університету МОЗ України: «Вивчення механізмів розвитку і біопродуктивності базидіальних грибів і на їх основі розроблення технології одержання ферментних препаратів, біопрепаратів і харчових продуктів» (1999-2001 рр.), № ДР 0100U001964; «Вивчення біопродуктивності базидіоміцетів і розроблення біотехнології одержання біопрепаратів та харчових продуктів» (2002-2004 рр.), № ДР 0103U003363; «Індукція протеїназ і селекція вищих базидіоміцетів для одержання біопрепаратів та харчових продуктів» (2005-2006 рр.), № ДР 0106U001946; «Розробка засобів біоіндикації екологічного стану Донбасу» (2006-2007 рр.), № ДР 0105U002768; «Діагностика екологічного стану середовища індустріального регіону за допомогою розробленої технології комплексної біоіндикації» (2007-2009 рр.), № ДР 0108U001589; «Визначення порогів чутливості біоіндикаторів на дію екологічно несприятливих факторів середовища» (2009-2011 рр.), № ДР 0110U003462; «Одержання ферментних препаратів, підвищення продуктивності базидіоміцетів за культивування на відходах в лабораторних та напівпромислових умовах» (2015-2016 рр.), № ДР 0115U000090. В дослідженнях з названих проектів автор був виконавцем розділів та керівником останньої НДР.

Мета і задачі дослідження. *Метою* роботи була розробка наукових засад використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів для підвищення ефективності процесів їх біотехнологічного культивування.

Для досягнення мети поставлені наступні *завдання*:

- виділити та вивчити ростові характеристики штамів базидієвих грибів;
- встановити рівень та взаємозв'язок показників накопичення біомаси, перекисного окислення ліпідів і прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;
- виявити ефективні фактори, що впливають на рівень перекисного окислення ліпідів; прооксидантної, антиоксидантної і оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;
- розробити методичні підходи регуляції перекисного окислення ліпідів та прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;
- розробити методичні підходи використання показників прооксидантно-антиоксидантної системи для селекції та підвищення ефективності процесів біотехнологічного культивування штамів базидієвих грибів – продуцентів біологічно активних речовин;
- розробити методичні підходи інтенсифікації і оптимізувати схему біотехнології ферментних препаратів грибних оксидоредуктаз та визначити їх основні фізико-біохімічні характеристики;
- визначити вміст поліфенолів та пігментів – каротиноїдів і меланінів та провести відбір штамів – перспективних продуцентів цих речовин;
- розробити та апробувати способи використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів в біотехнології.

Об'єкти дослідження: ферментативна і неферментативна складові прооксидантно-антиоксидантної системи 58 штамів 13 видів 9 родин порядків *Polyporales* та *Agaricales* базидієвих грибів в процесі їх біотехнологічного культивування.

Предмет дослідження: особливості регуляції прооксидантно-антиоксидантної активності штамів базидієвих грибів з перспективою їх біотехнологічного використання.

Методи дослідження: біотехнологічні, мікологічні, мікробіологічні, фізико-біохімічні та статистичні: виділення, культивування та дослідження культурально-морфологічних і біосинтетичних характеристик штамів; спектрофотометричне визначення прооксидантної, антиоксидантної, каталазної і пероксидазної активності, вмісту малонового діальдегіду, поліфенолів і пігментів, водорозчинних білків та їх амінокислотного складу.

Наукова новизна одержаних результатів. Результати проведених експериментальних досліджень розширюють фундаментальні знання про біологічні і прооксидантно-антиоксидантні властивості та біосинтетичну активність ряду видів базидієвих грибів у культурі, створюючи наукові основи їх подальшого практичного використання. Розроблені наукові засади біотехнології отримання і використання прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів.

Вперше комплексно вивчено та кількісно охарактеризовано прооксидантно-антиоксидантну систему 58 штамів 13 видів 9 родин відділу *Basidiomycota*. На основі отриманих даних простежено взаємозв'язок показників накопичення біомаси, перекисного окислення ліпідів та

прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів базидієвих грибів в умовах періодичної поверхневої культури.

Вперше виявлено чинники культивування, які відкривають можливість регуляції синтезу прооксидантно-антиоксидантних речовин, активності ферментів і інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів. Розроблено науково обґрунтовані методичні підходи інтенсифікації біотехнології культивування біосинтетично активних штамів, що мають переваги перед відомими.

Шляхом модифікації схеми біотехнологічного процесу, удосконалення складу живильного середовища і методів виділення, експериментально одержано нові екстра- і інтрацелюлярні грибні ферментні препарати каталаз і пероксидаз. Вперше досліджено їх основні фізико-біохімічні характеристики, визначено вміст білку і кількісний амінокислотний склад.

Встановлено вміст поліфенолів та пігментів – каротиноїдів і меланінів в культурах штамів базидієвих грибів. На основі отриманих даних виявлені штами – перспективні продуценти поліфенолів, каротиноїдів та меланінів.

Розроблені та перевірені в напівпромислових умовах науково обґрунтовані способи регулювання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів при культивуванні штамів-продуцентів біологічно активних речовин та біодеструкції полютантів.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення роботи полягає у вирішенні актуальної проблеми суспільства – залученні нових об'єктів біотехнології до процесів отримання затребуваних біологічно активних речовин та способів біоконверсії і біоутилізації відходів. Одержано такі практичні результати.

Створено наукові засади біотехнологічного використання прооксидантно-антиоксидантних властивостей базидієвих грибів. Інтродуковано в культуру 58 штамів, що належать до 13 видів 9 родин порядків *Polyporales* та *Agaricales* базидієвих грибів (відділ *Basidiomycota*). Штами депоновано у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК), що має статус Національного надбаня України. Розроблені нові живильні середовища для культивування штамів базидієвих грибів, що забезпечують підвищення біосинтетичних можливостей штамів. Запропоновані модифіковані технології, що дозволили виділити нові грибні ферментні препарати каталаз і пероксидаз. Отримані нові дані з кількісного амінокислотного складу ферментних препаратів та їх біохімічних характеристик; вмісту поліфенолів і пігментів та динаміки синтезу каротиноїдів.

Нові технологічні рішення культивування штамів базидієвих грибів з підвищеним вмістом прооксидантно-антиоксидантних речовин по відношенню до традиційних джерел цих речовин та використання грибних ферментних препаратів апробовано та впроваджено на Донецькому міському молочному заводі № 2, ТОВ «УкрМіцелій», ТОВ «Біотехнологія», Інституті хімічних технологій СХУ ім. В. Даля (м. Рубіжне).

Наукові і науково-практичні результати дисертаційної роботи

використано в навчальному процесі на біологічному факультеті Донецького національного університету імені Василя Стуса.

Особистий внесок здобувача. Робота є самостійним дослідженням здобувача. Автором особисто обрано напрям досліджень, розроблено концепцію роботи, здійснено пошук та аналіз літературних даних, розроблено робочі гіпотези та обґрунтована методологія постановки експериментів. Здійснено експедиційні виїзди з метою збору мікологічного матеріалу, аналіз видового складу та виділення чистих культур базидіомікотових, проведені дослідження та статистична обробка результатів. Окремі розділи експериментальної роботи виконувались за участю співробітників, аспірантів і студентів біологічного факультету ДонНУ під керівництвом автора, що знайшло відображення у співавторстві в публікаціях і патентах. Здобувачем проаналізовано і узагальнено результати досліджень, сформульовано висновки, оформлено їх в вигляді публікацій. Обговорення результатів та висновків проведено здобувачем у творчому співробітництві з науковим консультантом д.б.н. Н.А. Бісько і д.б.н. Е.Ф. Соломко, яким здобувач висловлює особливу вдячність за підтримку та поради під час аналізу й обговорення результатів роботи.

Апробація результатів дисертації. Результати наукових досліджень за темою дисертації були представлені та доповідалися на всеукраїнських і міжнародних наукових конференціях та з'їздах, включаючи зокрема:

X з'їзд Українського ботанічного товариства (Полтава, 1997); International conference «Molecular genetics and biotechnology» (Minsk, 1998); International conference «Modern problems of mycology, algology and phytopathology» (Moscow, 1998); International conference «Problems of microbiology and biotechnology» (Minsk, 1998); XI з'їзд Українського ботанічного товариства (Харків, 2001); International conference «On molecular biology and genetics» (Kyiv, 2001); International conference «Successes of medical mycology» (Moscow, 2003); International conference «Mycology and Algology» (Moscow, 2004); International conference «Plant and Microbial Enzymes: isolation, characterization and biotechnology applications» (Tbilisi, 2007); Міжнародна конференція «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Київ, 2007); Міжнародна конференція «Харчові добавки. Харчування здорової людини» (Донецьк, 2009); Міжнародна конференція «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 2010); China International Patent Fair (CIPF, Dalian, 2010), Всеукраїнська конференція «Ботаніка та мікологія: проблеми і перспективи на 2011-2020 роки» (Київ, 2011), Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання розвитку біології та екології» (Вінниця, 2016) тощо.

Публікації. Основні положення та результати дисертаційної роботи опубліковано у 60 працях, серед яких: 36 наукових фахових статей (у т.ч. 2 статті у виданнях іноземних країн, 15 статей у вітчизняних журналах, які представлено у міжнародних наукометричних базах даних), 7 статей у інших наукових виданнях України, 9 тез доповідей, 7 патентів України на корисні моделі і 1 деклараційний патент України.

Структура та обсяг роботи. Загальний обсяг дисертації становить 325

сторінок, зокрема основний зміст роботи викладено на 288 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація містить розширену анотацію (українською і англійською мовами), зміст, вступ, огляд літератури, розділ 2 «Матеріали і методи досліджень», експериментальні дослідження, викладені в розділах 3, 4, 5, 6, 7, 8 і 9, висновки, список використаних джерел, додатки до дисертації. Робота включає 23 таблиці і 38 рисунків. Список використаних джерел містить 425 найменувань, з-поміж яких 245 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

У **вступі** обґрунтовано актуальність обраної теми, представлено загальну характеристику роботи, сформульовані мета і задачі досліджень, наукова новизна і практичне значення отриманих результатів.

Огляд літератури (розділ 1). Розглянуто сучасний рівень знань та узагальнено результати досліджень вітчизняних і зарубіжних учених щодо стану та перспектив використання культур базидієвих грибів у біотехнології; особливостей базидієвих грибів, як об'єктів культивування; класифікації та основних напрямків практичного використання антиоксидантів; стану дослідження антиоксидантних властивостей базидієвих грибів; біологічне значення та біотехнологічні аспекти процесів перекисного окислення ліпідів; антиоксидантні властивості оксидоредуктаз та пігментів – каротиноїдів і меланінів. На основі проведеного аналізу обґрунтовано актуальність та напрями дослідження.

Матеріали і методи досліджень (розділ 2). Для дослідження за результатами скринінгу були відібрані біотехнологічно цінні 58 штамів, що належать до 13 видів відділу *Basidiomycota*, порядків *Polyporales*: Dq-08 *Daedalea quercina*, Gl-2 *Ganoderma lucidum*, Il-4k *Irpex lacteus*, T-10 *Fomes fomentarius*, Ls-08 *Laetiporus sulphureus* та *Agaricales*: 167, 218 і 960 *Agrocybe cylindracea*, Fh-08 *Fistulina hepatica*, 523 *Lentinula edodes*, F-03, F-06, F-073, F-1, F-10, F-102, F-104, F-107, F-112, F-2, F-202, F-204, F-610 і F-vv *Flammulina velutipes*, P-citr *Pleurotus citrinopileatus*, P-er *Pleurotus eryngii*, D-140, Hk-35, P-004, P-01, P-035, P-039, P-081, P-082, P-083, P-087, P-088, P-089, P-105, P-107, P-12к, P-191, P-192, P-203, P-206, P-208, P-209, P-210, P-2175, P-447, P-6v, P-кл, P-14, P-4к, P-91, P-94 і P-998 *Pleurotus ostreatus*, Sc-10 *Schizophyllum commune*. Систематичне положення штамів, переважна більшість яких інтродукована в культуру автором, встановлено згідно сучасних літературних джерел (Р.М. Kirk, 2001; Ю.Т. Дьяков, 2005). Всі досліджувані штами передані до Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК), що має статус Національного надбаня України (Н.А. Бісько і ін., 2016).

Вивчення культурально-морфологічних характеристик штамів проводили на натуральному – агаризоване пивне сусло (СА) та комплексному – картопляно-глюкозний агар (КГА) живильних середовищах.

Для вивчення біосинтетичних характеристик культур, вегетативний міцелій вирощували в стандартних умовах: періодичним поверхневим методом на глюкозо-пептонному середовищі (ГПС) наступного складу (г/дм³): глюкоза –

10,0; пептон – 3,0; KH_2PO_4 – 0,6; K_2HPO_4 – 0,4; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,5; CaCl_2 – 0,05; $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,001, дистильована вода – до 1 дм^3 ; в колбах Ерленмейера об'ємом 250 см^3 , що містили 50 см^3 живильного середовища. Вихідне значення рН середовища та температура культивування були індивідуальними і оптимальними для кожного штаму в залежності від значень, що були встановлені на попередньому етапі досліджень (Т.Є. Волошко і ін., 2011). Підбір співвідношення компонентів вихідного ГПС проводили математичним плануванням за методом повного факторного експерименту – ПФЕ-2⁴ (Ю.П. Адлер і ін., 1976; Н.А. Бісько і ін., 2012). При вивченні впливу, на 10-ту добу культивування штамів, у дослідні колби додавали стерильні водні розчини таніну, лігносульфонату натрію, галової кислоти та перекису водню до 1%, у контрольні – дистильовану воду в рівних об'ємах. Біосинтетичні показники вимірювали через 24 і 48 годин експозиції речовин.

Дослідження параметрів росту (абсолютна суха біомаса, використання джерел вуглецю), підготовку міцелію та культурального фільтрату (КФ) проводили з використанням стандартних методик (Е.Ф. Соломко, 2003; Н.А. Бісько і ін., 2012). Кислотність живильних середовищ, культуральної рідини та робочих розчинів визначали потенціометричним методом (рН-метри «рН-340» і «рН-150 МИ»). Вміст цукрів в дослідних розчинах визначали мікрометодом А.С. Швецова та Е.Х. Лук'яненко (А.И. Ермаков і ін., 1987). Оцінювання процесу ферментації здійснювали за показниками: концентрація біомаси (X) та перерахунку її на абсолютно суху біомасу (АСБ), продуктивність за біомасою (Q_x), продуктивність за продуктом (Q_p), вихід продукту від субстрату (Y_{p/s}) (Т.П. Пирог і ін., 2009). Ефективність знебарвлення (E_{зн}) анілінового барвника у розчинах розраховували за їх оптичною щільністю при 595-625 нм (ФЕК КФК-2) (Y.N. Lee et al., 2006).

Для встановлення рівня самочинної (спонтанної) інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), до 1,5 см^3 водної витяжки міцелію або 0,5 мл КФ (контроль – дистильована вода) додавали розчини трихлороцтової кислоти (ТХО) та тіобарбітурової кислоти (ТБК) до кінцевих концентрацій в реакційній суміші 0,61 та 0,37 моль/ дм^3 , відповідно. Суміш кип'ятили 15 хв. на водяній бані та швидко охолоджували до +20°C; центрифугували 15 хв. при 1700 г. З метою визначення рівня індукованої (аскорбатом заліза) інтенсивності процесів ПОЛ, до вказаних об'ємів водної витяжки міцелію або КФ (контроль – дистильована вода) додавали $1 \cdot 10^{-3}$ моль/ дм^3 розчин сірчаноокислого заліза і $1 \cdot 10^{-2}$ моль/ дм^3 аскорбінової кислоти. Інкубацію суміші при 40°C проводили протягом 90 хв. Екстинкцію супернатанту дослідної проби вимірювали проти контрольної на спектрофотометрі при 532 нм і 590 нм. Розрахунок самочинної (A_c) за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) та індукованої (A_i) інтенсивності ПОЛ міцелію або КФ здійснювали за стандартною формулою (И.Д. Стальная і ін., 1977). За отриманими даними розраховували показник прооксидантної активності (ПОА), який є співвідношенням значень самочинної до індукованої інтенсивності ПОЛ та характеризує активність прооксидантної складової прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС). Також обраховували показник резерву субстратів перекисного окислення (СПО), який

вказує на можливість індукції ПОЛ за умов дії факторів середовища і є співвідношенням різниці індукованої і самочинної до індукованої інтенсивності ПОЛ у відсотках. Загальну антиоксидантну активність (АОА) мікологічного матеріалу оцінювали за інтенсивністю гальмування накопичення продуктів ПОЛ в модельній реакції окислення Твін-80 киснем повітря (А.Н. Каріч et al., 2008-2011; М.Д. Asatiani et al., 2010). Показники АОА та ПОА використовували для розрахунку коефіцієнту рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи ($K_{\text{РПАС}}$) мікологічного матеріалу, який дорівнює величині їх співвідношення.

Визначення загального вмісту поліфенолів (ПФ) проводили у спиртових витяжках за модифікованою методикою Фоліна-Чокальтеу, загального вмісту каротиноїдів – у ацетонових витяжках за формулою Ветштейна, загального вмісту меланінів – шляхом лужного гідролізу міцелію з подальшим осадженням концентрованою HCl чи прямим фотоколориметруванням КФ (Н.Н. Жданова і ін., 1988; М.М. Мусієнко і ін., 2001). Вміст водорозчинних білків у рідинах і міцелію визначали спектрофотометричним методом Варбурга-Христіана на спектрофотометрі при довжині хвилі 260 нм и 280 нм.

Каталазну активність (КА) визначали у міцелії (водна витяжка, на одиницю маси, г) та КФ (на одиницю об'єму, cm^3) спектрофотометричним методом (410 нм, 10 мм), який заснований на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. За одиницю КА приймали ту кількість ферменту, яка бере участь у перетворенні 1 мкат перекису водню за 1 секунду при заданих умовах (N.N. Gessler et al., 2007). Пероксидазну активність (ПА) визначали у міцелію (водна витяжка, на одиницю маси, г) та КФ (на одиницю об'єму, cm^3) за допомогою ФЕК КФК-2 (460 нм, 10 мм) інтенсивності забарвлення продукту окиснення о-діанізидину перекисом водню. Одиниця активності пероксидази відповідає кількості ферменту, що окислює 1 мкм о-діанізидину за 1 хвилину (В.Н. Борисова і ін., 1971). За отриманими даними розраховували питому ферментативну активність, яка дорівнює співвідношенню рівня відповідної активності до концентрації білку. Встановлювали вміст білку за величиною оптичної густини (260 і 280 нм), амінокислот – в гідролізатах білків (ААА-881).

Біотехнологія одержання грибних ферментних препаратів (ФП) каталаз і пероксидаз включала культивування продуцента, фракційне висолювання білків КФ чи цитозолу сульфатом амонію, діаліз, гельфільтрацію, ліофільну сушку (М. Dixon et al., 1982; Т.П. Пирог і ін., 2009).

Методи статистичної обробки даних. Результати статистично оброблені ($P < 0,05$) з використанням дисперсійного аналізу та програм Microsoft Excel 2003 і Statistica 6.0.

Ростові показники досліджуваних штамів базидієвих грибів (розділ 3).

Накопичення біомаси штамами за стандартних умов культивування. Результати накопичення біомаси штамами базидієвих грибів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування підтверджують попередньо отримані дані та терміни фаз їх експоненціального росту (Т.Є. Волошко і ін., 2011). Всі досліджені штами досягають максимуму накопичення біомаси за значеннями

АСБ на 12-ту добу культивування. За показником АСБ у 12-ти добовому віці, штами можна умовно розподілити на три групи (рис. 1).

Перша, найбільш чисельна група містить 32 штами з повільним ростом, які в запропонованих умовах культивування накопичують АСБ до 4 г/дм^3 . До другої групи відноситься 21 штама з АСБ від 4 до 8 г/дм^3 . Третя група нараховує 5 швидкозростаючих штамів Р-12к *P. ostreatus* ($Q_x=2,83 \times 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \times \text{год}$), Р-203 *P. ostreatus* ($Q_x=4,43 \times 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \times \text{год}$), D-140 *P. ostreatus* ($Q_x=4,43 \times 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \times \text{год}$), Р-er *P. eryngii* ($Q_x=5,86 \times 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \times \text{год}$) та F-610 *F. velutipes* ($Q_x=5,93 \times 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \times \text{год}$), які розташовані в порядку наростання АСБ.

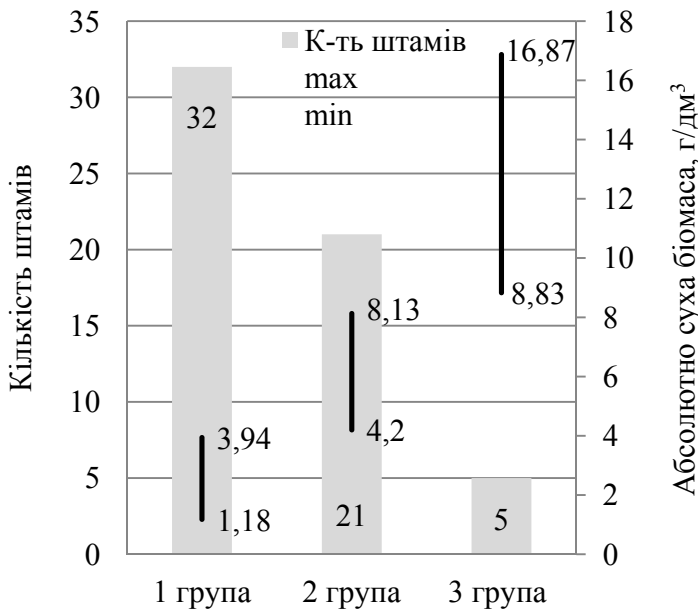


Рис. 1. Розподіл штамів базидієвих грибів за рівнем накопичення біомаси на 12-ту добу культивування

Отже, досліджені штами мають індивідуальні значення росту – накопичення абсолютно сухої біомаси в застосованих умовах культивування. Виявлені значні коливання цього показника в межах одного виду, що пояснюється індивідуальною мінливістю штамів. Найпродуктивніші за ростовим показником штами F-610 *F. velutipes*, D-140, Р-203 і Р-12к *P. ostreatus* та Р-er *P. eryngii* можуть бути рекомендовані для застосування в біотехнології отримання міцелію їстівних базидієвих грибів.

Біотехнологічні аспекти інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів штамів базидієвих грибів (розділ 4).

Самочинна і індукована інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів. Разом із встановленням накопичення біомаси, визначали самочинну інтенсивність процесів ПОЛ міцелію, КФ і інші показники прооксидантно-антиоксидантної системи штамів.

З'ясовано, що самочинна інтенсивність процесів ПОЛ міцелію всіх штамів значно вища за цей показник КФ. Інтенсивність процесів ПОЛ міцелію нарастає з віком культури, що можна пояснити зростаючою нестачею певних живильних речовин (перш за все вуглецевмісних) та збільшенням кількості і концентрації продуктів метаболізму в культуральній рідині.

За рівнем самочинної інтенсивності процесів ПОЛ 12-ти добового міцелію, досліджувані штами можна розподілити на три умовні групи (рис. 2).

До першої групи, з низьким рівнем самочинної інтенсивності процесів ПОЛ – нижче 40 нмоль/г АСБ , відносяться 9 штамів. Зафіксовані значення A_c , ймовірно, пов'язані з незначними показниками їх росту та відповідних біосинтетичних процесів. Найбільш чисельна група, з помірними значеннями A_c від 40 до 80 нмоль/г АСБ включає 32 штами. В третю умовну групу можна

віднести 17 культур з високим вмістом ТБК-АП – понад 80 нмоль/г. Це штами різної систематичної приналежності Dq-08 *D. quercina*, T-10 *F. fomentarius*, 960 *A. cylindracea*, 523 *L. edodes*, Fh-08 *F. hepatica*, F-202 *F. velutipes*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii*, P-035, P-089, P-191, P-кл, P-14, P-94, P-447 і P-2175 *P. ostreatus* та Sc-10 *S. commune*. Виходячи з зафіксованої високої інтенсивності процесів ПОЛ, ці культури мають перспективи використання у біотехнологіях деструкції хімічно стійких сполук.

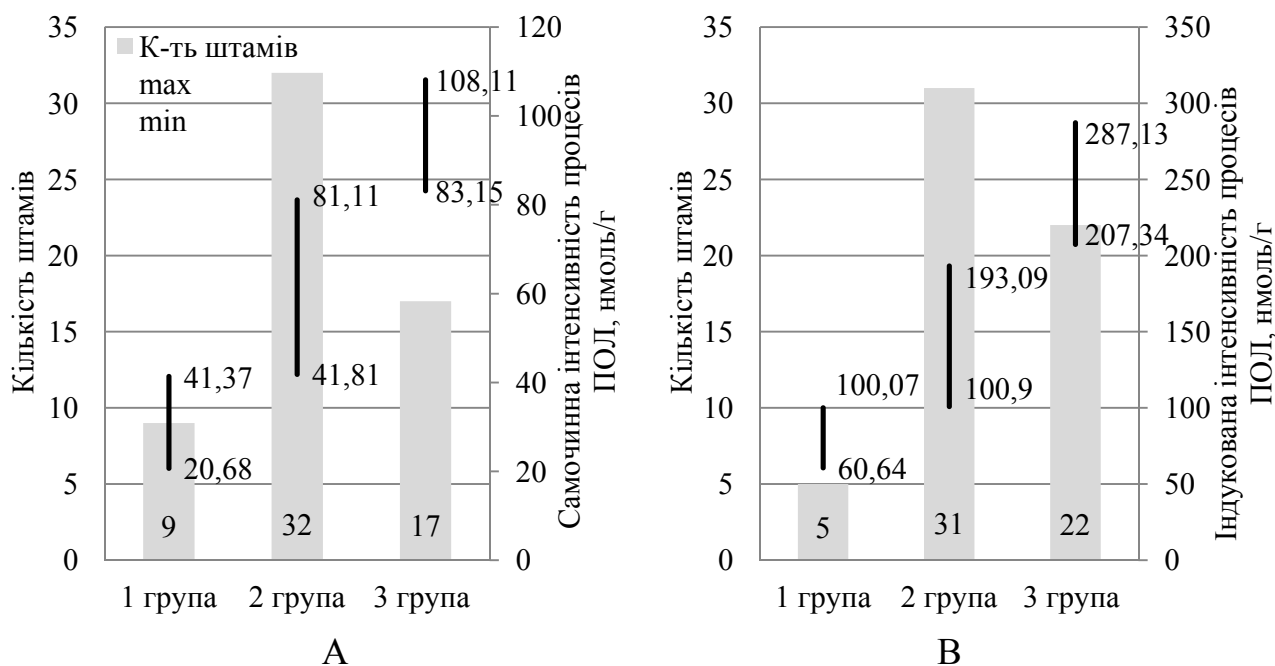


Рис. 2. Розподіл штамів базидієвих грибів за рівнем самочинної (А) та індукованої (В) інтенсивності процесів ПОЛ міцелію на 12-ту добу культивування

Вміст продуктів ПОЛ в КФ штамів значно нижчий за такий у міцелії та має тенденцію до їх збільшення на 12-ту добу культивування. Цьому є декілька причин: по-перше, клітини активно регулюють синтез та потрапляння цих продуктів назовні, по-друге, позаклітинні ензими і хімічно нестабільні АФК викликають спонтанні вільнорадикальні ланцюгові реакції руйнування сполук і їх подальший метаболізм, по-третє, ГПС не містить складних і хімічно стійких біополімерів, перетравлення яких інтенсифікувало б екзогенні процеси ПОЛ.

Результати визначення вмісту продуктів ПОЛ в КФ дозволяють виділити культури, де рівень ТБК-АП значно перевищує середні значення і перевищує позначку в 10 нмоль/см³. Це штами 960 *A. cylindracea*, 523 *L. edodes*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii*, P-081, P-082, P-087, P-кл і P-4к *P. ostreatus*. Вони, разом зі штамми з високою інтенсивністю ПОЛ міцелію, мають перспективи використання у біотехнологіях деструкції хімічно стійких сполук.

Індукція процесів ПОЛ виявляє ті або інші токсичні властивості речовин-ініціаторів чи продуктів ПОЛ, або показує стійкість (чи реакцію) проби до таких впливів (Pham-Huu et al., 2008). Її результати дають обґрунтування використання показників прооксидантно-антиоксидантної системи, в т.ч.

інтенсивності процесів ПОЛ, в діагностиці певних процесів у біотехнології, медицині і екології.

Результати індукованої інтенсивності процесів ПОЛ міцелію та КФ штамів виявили різну відповідь мікологічного матеріалу на дію індуктора. У всіх варіантах досліду спостерігалась осібна для кожного штаму активація процесів ПОЛ. Як наслідок, співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ є індивідуальним для кожного штаму і не залежить від його систематичного положення.

Таким чином, експериментальні дані самочинної та індукованої інтенсивності процесів ПОЛ штамів базидієвих грибів у 9-ти та 12-ти добовому віці при поверхневому періодичному культивуванні на ГПС дозволяють стверджувати, що ці процеси мають осібний рівень і плин. Виявлені групи культур базидієвих грибів з різним рівнем вмісту продуктів ПОЛ. Самочинна та індукована інтенсивність процесів ПОЛ в міцелії всіх досліджених штамів суттєво вища за цей показник в КФ. Інтенсивність процесів ПОЛ як міцелію, так і КФ наростає з часом культивування, що можна пояснити зростаючою нестачею певних поживних речовин (перш за все вуглецевмісних) та збільшенням кількості і концентрації продуктів метаболізму в середовищі.

Співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ є індивідуальним для кожного штаму і не залежить від його систематичного положення. Зміщення A_c - A_i рівноваги відносно самочинного (стаціонарного) рівня ПОЛ є ознакою розвитку стрес-реакції. При цьому продукти ПОЛ можуть бути як індукторами, так і первинними медіаторами стресу як особливого стану біологічної системи. За результатами цього дослідження, низка визначених штамів з високими рівнем та індукцією процесів ПОЛ можуть бути рекомендовані до залучення у біотехнологіях деструкції хімічно стійких сполук чи індикації певних процесів і забруднень.

Вплив хімічних речовин на інтенсивність та можливість регуляції процесів ПОЛ штамів базидієвих грибів. Оскільки особливо важливе значення процеси ПОЛ відіграють у життєдіяльності ксилотрофів, а процес розкладання лігніну і похідних полімерів каталізується лігнолітичними ферментами та має вільнорадикальний характер, наступним етапом вивчали характер впливу певних хімічних речовин на інтенсивність ПОЛ штамів P-er *P. eryngii*, Fh-08 *F. hepatica* та 960 *A. cylindracea* (рис. 3).

Зареєстровано індивідуальну реакцію ПОЛ культур на речовини і час їх експозиції. Виявлена можливість регуляції процесів ПОЛ хімічними факторами культивування. Найвищий ступінь індукції процесів ПОЛ зафіксовано при додаванні: таніну – на 161%, через 48 годин експозиції, в міцелії штаму Fh-08; лігносульфонату натрію – на 192%, 48 год., в міцелії штаму P-er; галової кислоти – на 182%, 24 год., в міцелії штаму P-er; перекису водню – на 257%, 24 год., в КФ штаму 960. Біотехнологічне значення цього – можливість регуляції (індукція чи репресія) ПОЛ штамів-продуцентів.

Отже, процеси ПОЛ мають певний індивідуальний для кожного штаму рівень, плин і відгук на дію факторів середовища. Аналізуючи вплив хімічних речовин на процеси ПОЛ, не можна не погодитись з Т.П. Пирог, яка зазначає,

що дія якогось певного фактора не пов'язана з функціонуванням лише одного відповідного адаптаційного механізму. У клітинах організму функціонує комплекс індукованих реакцій, який контролюється складними регуляторними шляхами, тобто існує система інтегральних механізмів (до яких відноситься і прооксидантно-антиоксидантна) стійкості до факторів середовища.

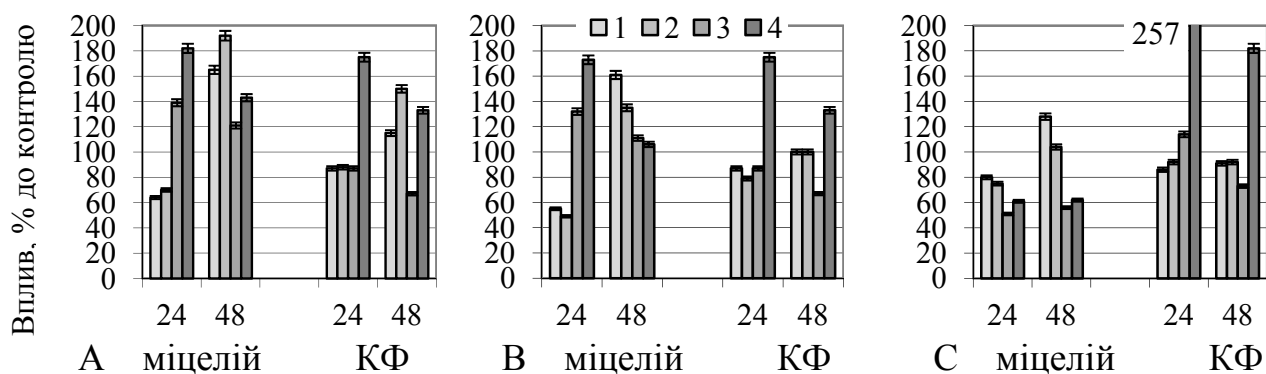


Рис. 3. Вплив таніну (1), лігносульфонату натрію (2), галової кислоти (3) та перекису водню (4) на інтенсивність процесів ПОЛ штамів *P-er Pleurotus eryngii* (A), *Fh-08 Fistulina hepatica* (B) та *960 Agrocybe cylindracea* (C)

Вивчення опірних реакцій при дії різноманітних факторів дає можливість з нових позицій підійти до вирішення багатьох ключових проблем біології. Ці дослідження важливі і для розвитку біотехнології, оскільки організми-продуценти потрібно розглядати як об'єкти, властивості яких змінюються залежно від умов середовища і дозволяють регулювати біотехнологічні процеси.

Біотехнологічні аспекти регуляції антиоксидантної активності штамів грибів порядків *Agaricales* s.l. та *Polyporales* s.l. (розділ 5)

Загальна антиоксидантна активність міцеліальних культур базидієвих грибів. Визначали ще один показник ПАС – загальну АОА міцелію та КФ штамів.

У всіх варіантах дослідів спостерігали вікове зростання показника АОА, що пояснюється знаходженням культур в експоненціальній фазі росту. При цьому фіксували індивідуальне для кожного штаму зниження рН культуральної рідини. Це відбувається внаслідок декількох причин: по-перше, поглинанням кисню та виділенням CO_2 культурою і утворенням карбонатної кислоти – H_2CO_3 , по-друге, біосинтезом сполук кислоти природи, по-третє, вичерпанням з різною швидкістю поживних речовин та поступовим накопиченням в культуральній рідині продуктів метаболізму. В подальшому, вказані процеси негативно впливатимуть на ріст та продуктивність міцеліальних культур базидієвих грибів, чого можна уникнути переходом на керований глибинний спосіб їх культивування.

За значеннями загальної АОА міцелію на 12-ту добу росту, штами умовно поділяються на три групи (рис. 4).

На увагу тут заслуговує група штамів з високим рівнем АОА міцелію, що перевищує позначку 20%. До неї відносяться 19 штамів: *Dq-08 D. quercina*, *T-10*

F. fomentarius, 960 *A. cylindracea*, 523 *L. edodes*, Fh-08 *F. hepatica*, F-202 *F. velutipes*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii*, P-035, D-140, P-089, P-191, P-209, P-кл, P-14, P-94, P-447 і P-2175 *P. ostreatus* та Sc-10 *S. commune*. Лідером серед цих культур є штам P-er *P. eryngii*, далі в порядку зниження АОА йдуть штами P-citr *P. citrinopileatus*, P-035 *P. ostreatus*, Fh-08 *F. hepatica*, 960 *A. cylindracea*, які можуть бути рекомендовані як продуценти міцеліальних антиоксидантів та АО функціональних продуктів. Встановлено високу загальну АОА КФ, яка обумовлена екстрацелюлярними метаболітами штамів базидієвих грибів та розподілення штамів за цим показником.

У групу з найвищими значеннями АОА КФ – понад 20%, входять 16 штамів: Т-10 *F. fomentarius*, 960 *A. cylindracea*, 523 *L. edodes*, Fh-08 *F. hepatica*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii*, P-01, P-081, P-082, P-087, P-089, P-105, P-кл, P-14 і P-4к *P. ostreatus* та Sc-10 *S. commune* – потенційні продуценти біотехнології позаклітинних антиоксидантів. Лідерами тут є штами роду *Pleurotus*: P-081, P-082, P-087 та P-citr. Варто відмітити, що в цю групу не входить жодний штам роду *Flammulina*.

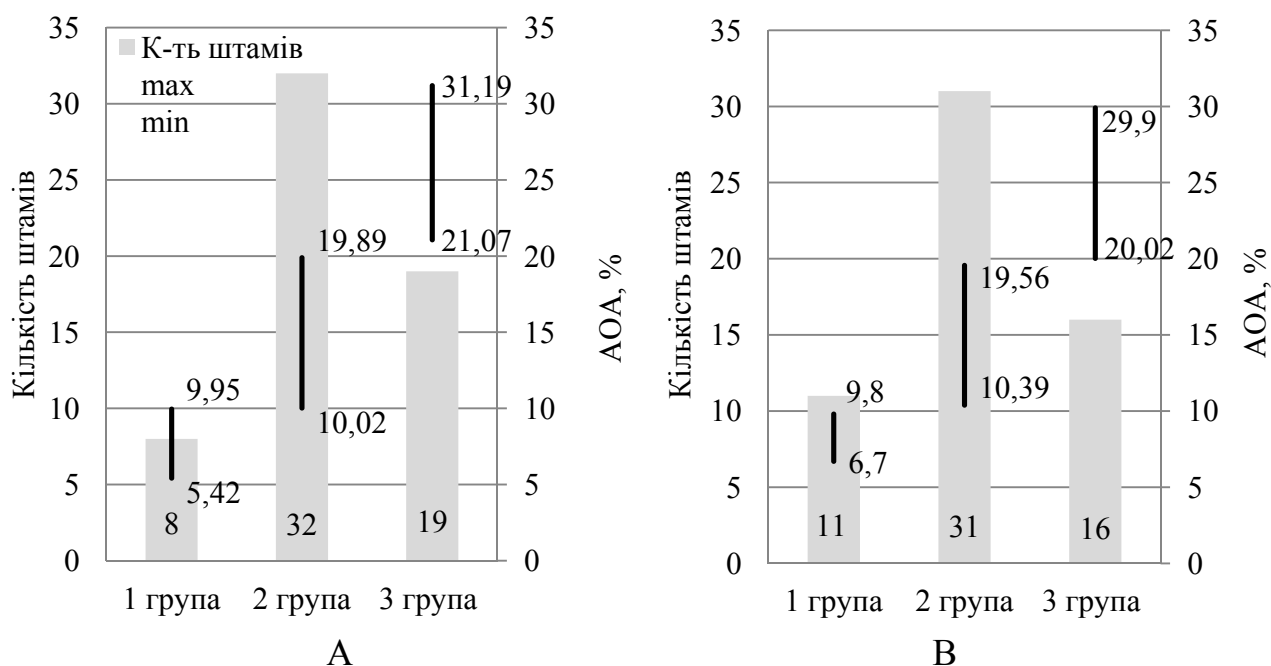


Рис. 4. Розподіл штамів базидієвих грибів за рівнем загальної антиоксидантної активності міцелію (А) та культурального фільтрату (В) на 12-ту добу культивування

Таким чином, визначення та порівняння загальної АОА дозволили виявити найпродуктивніші штами базидієвих грибів за рівнем цього показника міцелію: P-er *P. eryngii*, > P-citr *P. citrinopileatus*, > P-035 *P. ostreatus*, > Fh-08 *F. hepatica* > 960 *A. cylindracea*. Лідерами за рівнем загальної АОА КФ є штами: P-081 > P-082 > P-087 *P. ostreatus* > P-citr *P. citrinopileatus*. Не встановлено залежності між реестрованими показниками АСБ та АОА 9-ти та 12-ти добових культур грибів. Біосинтетично активні штами базидієвих грибів – продуценти природних антиоксидантів можуть бути використані в якості біологічних

агентів у біотехнології функціональних продуктів.

Вплив хімічних речовин та можливість регуляції антиоксидантної активності штамів базидієвих грибів. Наступним етапом виконання цього розділу роботи було вивчення характеру впливу хімічних речовин на АОА міцелію біосинтетично активних штамів Р-ег *P. eryngii*, Fh-08 *F. hepatica* та 960 *A. cylindracea* (рис. 5).

Встановлено індивідуальну реакцію АОА культур на застосовану речовину і час її експозиції. Найвищий ступінь індукції АОА міцелію зафіксовано при додаванні: таніну – на 147%, через 48 годин експозиції, штаму Fh-08; лігносульфонату натрію – на 164%, 48 год., штаму 960; галової кислоти – на 121%, 48 год., штаму 960; перекису водню – на 114%, 48 год., штаму Fh-08.

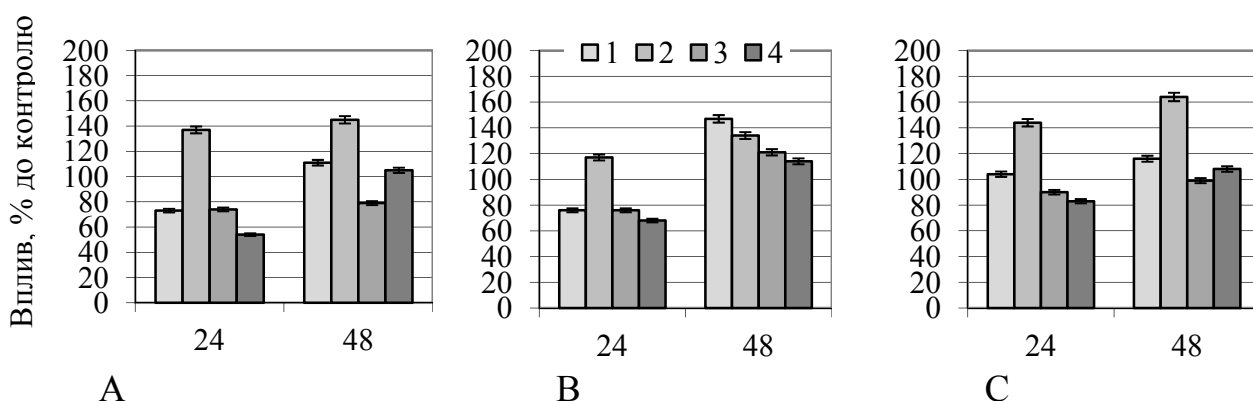


Рис. 5. Вплив таніну (1), лігносульфонату натрію (2), галової кислоти (3) та перекису водню (4) на АОА міцелію штамів Р-ег *Pleurotus eryngii* (А), Fh-08 *Fistulina hepatica* (В) та 960 *Agrocybe cylindracea* (С)

Таким чином показана можливість регуляції (індукція чи репресія) АОА ксилотрофів в біотехнології природних антиоксидантів хімічними речовинами, які містяться в деревині (таніни, лігнін – фенольні сполуки; галова кислота – антиоксидант фенольної природи) або утворюються при її деструкції (лігносульфонат, галова кислота; пероксид водню – відноситься до реактивних форм кисню і при підвищеному утворенні в клітині викликає оксидативний стрес).

Стан та біотехнологічне застосування прооксидантно-антиоксидантної системи штамів базидієвих грибів (розділ 6).

Прооксидантна активність. Показники прооксидантної активності (ПОА) міцелію та КФ досліджених штамів мають індивідуальні значення і характеризуються наступними позначками.

ПОА міцелію переважної більшості штамів на 9-ту та 12-ту добу культивування знаходиться в межах від $0,15 \pm 0,1$ (штам F-610 *F. velutipes*, 9 ДК) до $0,51 \pm 0,2$ (штам Dq-08 *D. quercina*, 12 ДК). Виключенням тут є штами Р-citr *P. citrinopileatus*, Р-089 і Р-082 *P. ostreatus*, Р-ег *P. eryngii*, активність прооксидантної складової ПАС міцелію на 9-ту добу культивування яких має найвищі значення $0,96 \pm 0,2$; $0,71 \pm 0,1$ і $0,58 \pm 0,2$ та $0,61 \pm 0,1$ відповідно. Цікаво, також, відмітити в цій групі штам Р-447 *P. ostreatus*, ПОА міцелію якого на 12 добу перевищує цей показник на 9-ту добу культивування і дорівнює $0,55 \pm 0,2$.

Активність прооксидантної складової прооксидантно-антиоксидантної системи в КФ вища за цей показник у міцелії. За найвищими значеннями на 12-ту добу культивування тут виділяються штами P-089 *P. ostreatus* і G1-2 *G. lucidum*. Далі, в порядку убутання ПОА КФ йдуть штами F-107 *F. velutipes*, P-035 *P. ostreatus*, 960 *A. cylindracea* і ін. Найнижчі значення ПОА КФ зафіксовані на 12-ту добу культивування штаму F-104 *F. velutipes*.

За максимальними значеннями ПОА у 9-ти чи 12-ти добовому віці штами базидієвих грибів розподіляються на умовні групи (рис. 6).

Узагальнюючи отримані експериментальні дані, треба відмітити, що для всіх досліджених штамів базидієвих грибів характерне значне переважання активності прооксидантної складової ПАС в КФ порівняно з цим показником міцелію. Найвищі значення ПОА КФ відмічаються на 12-ту добу культивування штаму P-089 *P. ostreatus* і штаму G1-2 *G. lucidum*, а міцелію – на 9-ту добу культивування штамів P-citr *P. citrinopileatus*, P-089 і P-082 *P. ostreatus*, P-er *P. eryngii*. Встановлено, що є пряма залежність між показниками ПОА КФ і міцелію кожного штаму, однак, ця залежність та рівень показника не відображають їх систематичного положення. Штами з високим рівнем ПОА, особливо в КФ, мають перспективи застосування в біотехнології, зокрема окисної біодеструкції хімічно стійких сполук і поллютантів.

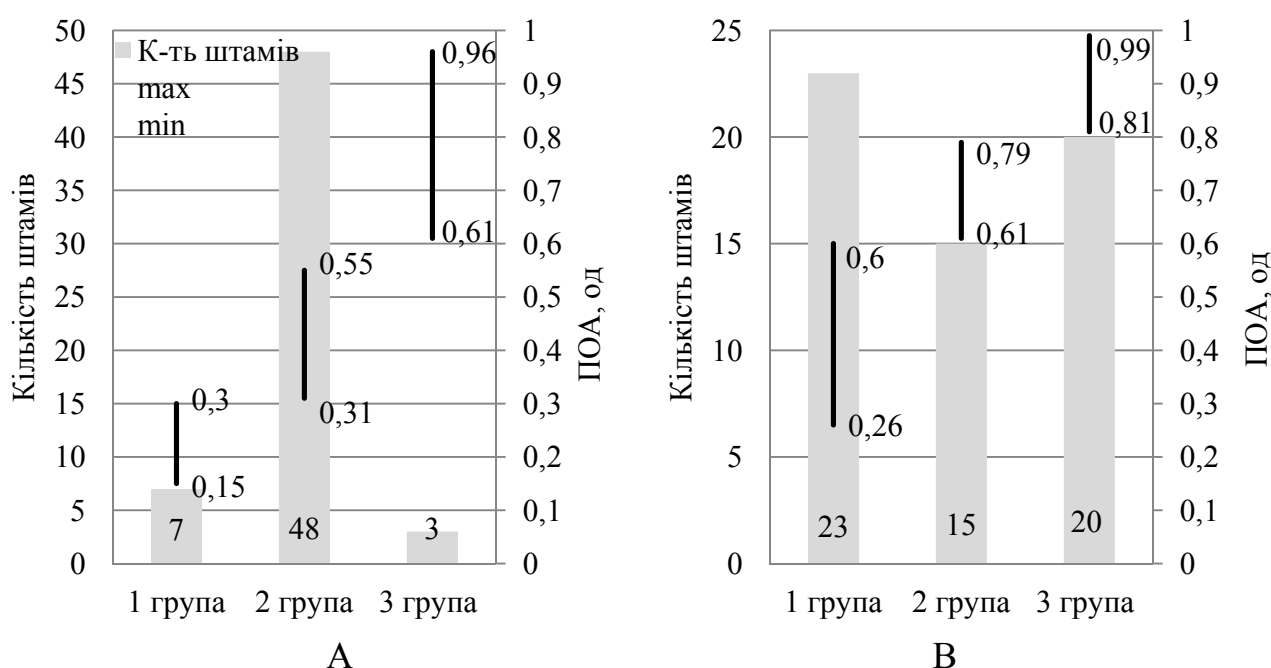


Рис. 6. Розподіл штамів базидієвих грибів за рівнем прооксидантної активності міцелію (А) та культурального фільтрату (В)

Резерв субстратів перекисного окислення. Наступним етапом розраховували показник резерву субстратів перекисного окислення (СПО), до яких, переважно, входять ліпідні сполуки, зокрема, поліненасичені жирні кислоти. Його рівень вказує на можливість індукції процесу ПОЛ за умов дії різноманітних факторів і є однією з характеристик стану прооксидантно-антиоксидантної системи.

За рівнем СПО міцелію і культурального фільтрату на 12-ту добу культивування, досліджені штами умовно поділяються на групи (рис. 7).

Встановлено, що показник резерву СПО КФ значно нижчий цього показника міцелію. Штами з низькими значеннями показнику резерву СПО мають високу інтенсивність процесів ПОЛ із залученням більшості доступних субстратів. Для штамів з високими значеннями показнику резерву СПО характерна низька інтенсивність процесів ПОЛ із залученням незначної кількості доступних субстратів та, ймовірно, високим вмістом АО. Найвищі значення резерву СПО міцелію зафіксовані у штамів P-447, P-998, P-039, P-94, P-2175 і D-140 *P. ostreatus*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii* та F-107 і F-610 *F. velutipes*. До штамів з високими значеннями показнику резерву СПО КФ відносяться F-104, F-204, F-610, F-202 і F-vv *F. velutipes* та P-208, P-206, P-2175, P-203 і P-998 *P. ostreatus*.

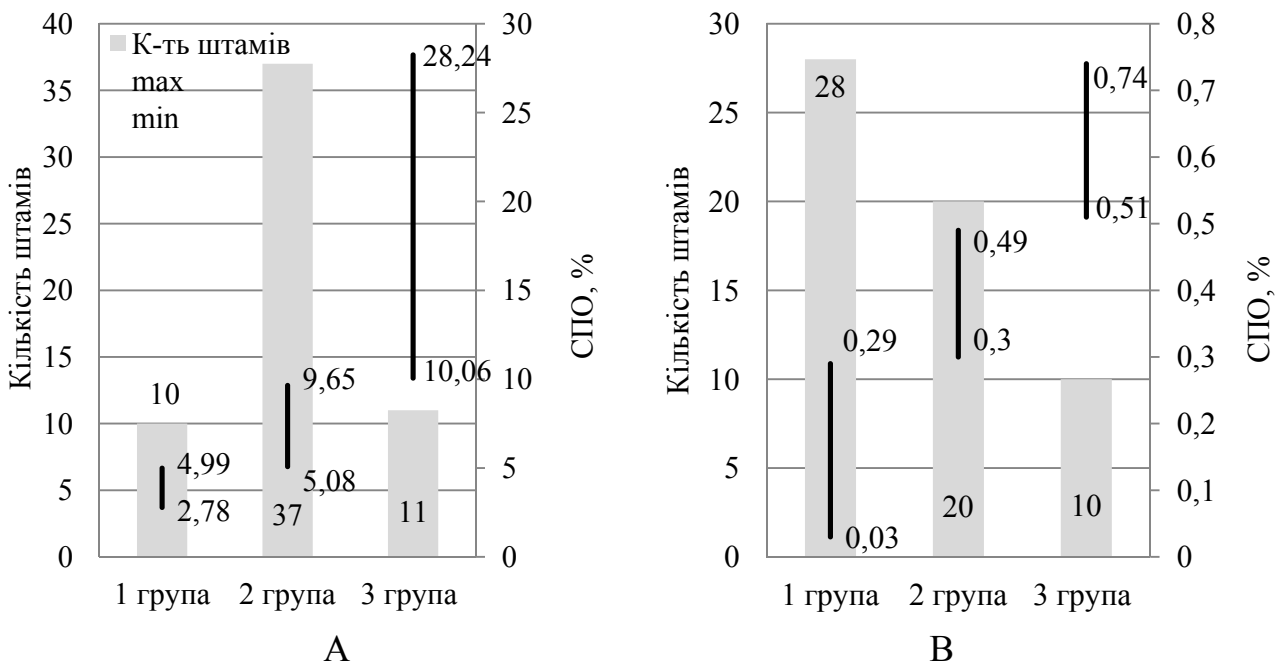


Рис. 7. Розподіл штамів базидієвих грибів за показником резерву субстратів перекисного окислення міцелію (А) та культурального фільтрату (В) на 12-ту добу культивування

Узагальнюючи отримані на цьому етапі роботи дані, зазначимо виявлену для переважної більшості штамів суттєву перевагу показників резерву субстратів перекисного окислення міцелію над таким показником КФ. Найвищі значення резерву СПО міцелію зафіксовані для восьми штамів P-447, P-998, P-039, P-94, P-2175, P-citr, P-er, D-140 роду *Pleurotus* та двох штамів F-107, F-610 роду *Flammulina*. Названі штами в силу встановлених характеристик перспективні для застосування у індикації певних біотехнологічних чи екологічних процесів.

Коефіцієнт рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи. Коефіцієнт рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи відображає співвідношення значень активності антиоксидантної та прооксидантної систем.

При переважанні останньої – посиленні неконтрольованих реакцій вільнорадикального окислення, значення K_{PAC} мають тенденцію до значного зниження. При зростанні активності захисних систем, в т.ч. антиоксидантної – показники K_{PAC} зростають до порівняно високих значень.

Зіставлення коефіцієнтів рівноваги ПАС міцелію і КФ досліджених штамів базидієвих грибів дозволяє поділити їх на групи (рис. 8).

Так, на 9-ту добу культивування до першої групи входять п'ять штамів F-202 і F-204 *F. velutipes*, P-083, P-12к і P-206 *P. ostreatus* з однаковими в межах штаму значеннями K_{PAC} міцелію і КФ. До другої – п'ять штамів P-081, P-082, P-087, P-203 і P-209 *P. ostreatus* з вірогідно вищими значеннями K_{PAC} КФ. Найбільша, третя група об'єднує сорок вісім штамів з вірогідно вищими значеннями K_{PAC} 9-добового міцелію. Максимальні значення коефіцієнтів рівноваги ПАС міцелію в цій групі зафіксовані для п'яти штамів T-10 *F. fomentarius* та D-140, P-035, P-01 і P-105 *P. ostreatus*. Ці штами вирізняються високим рівнем АОА міцелію на 9-ту добу культивування і можуть бути рекомендовані як продуценти антиоксидантних речовин.

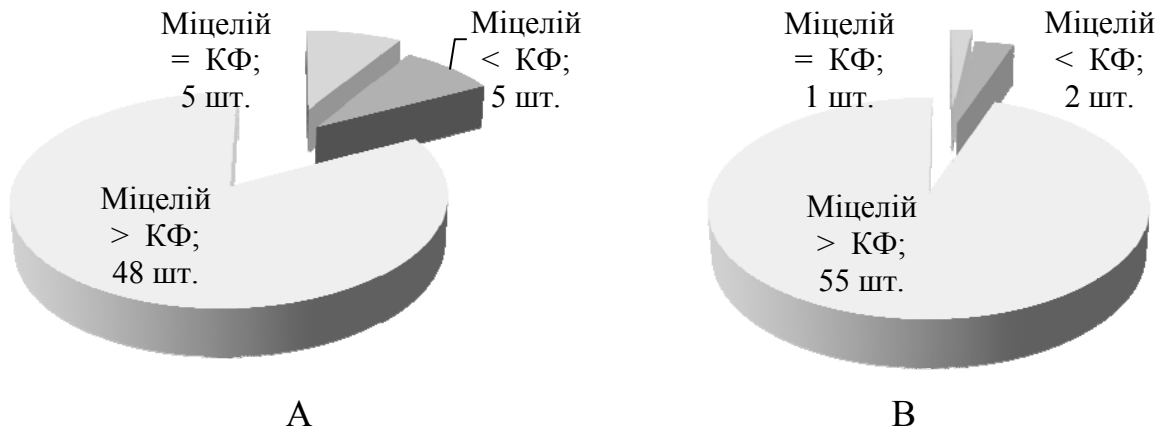


Рис. 8. Розподіл штамів базидієвих грибів за співвідношенням коефіцієнтів рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи міцелію і КФ штамів на 9-ту (А) та 12-ту (В) добу культивування

Подовження терміну культивування до 12-ти діб підтверджує виявлену для переважної більшості штамів тенденцію до переважання значень коефіцієнтів рівноваги ПАС міцелію над такими КФ (рис 9).

З цієї групи треба відзначити п'ять штамів – Sc-10 *S. commune*, P-кл і P-14 *P. ostreatus*, P-er *P. eryngii* та 960 *A. cylindracea*. Названі штами вирізняються найвищими серед зафіксованих значеннями K_{PAC} 12-ти добового міцелію. Вони доповнюють групу штамів з високим рівнем АОА міцелію на 9-ту добу культивування і також можуть бути рекомендовані як продуценти антиоксидантних речовин. Треба відмітити, що групи з однаковими та переважаючими у КФ значеннями K_{PAC} на 12-ту добу культивування зменшились до одного штаму F-102 та двох – F-1 і F-104 *F. velutipes*, відповідно.

Таким чином, встановлення та порівняння показників стану ПАС в динаміці росту штамів базидієвих грибів при їх поверхневому періодичному культивуванні на ГПС дозволяють стверджувати наступне. Для штамів

характерне значне переважання активності прооксидантної складової ПАС в КФ порівняно з цим показником міцелію. Найвищі значення прооксидантної активності КФ відмічаються на 12-ту добу культивування штаму P-089 *P. ostreatus* і штаму G1-2 *G. lucidum*, а міцелію – на 9-ту добу культивування штамів P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii*, P-089 і P-082 *P. ostreatus*.

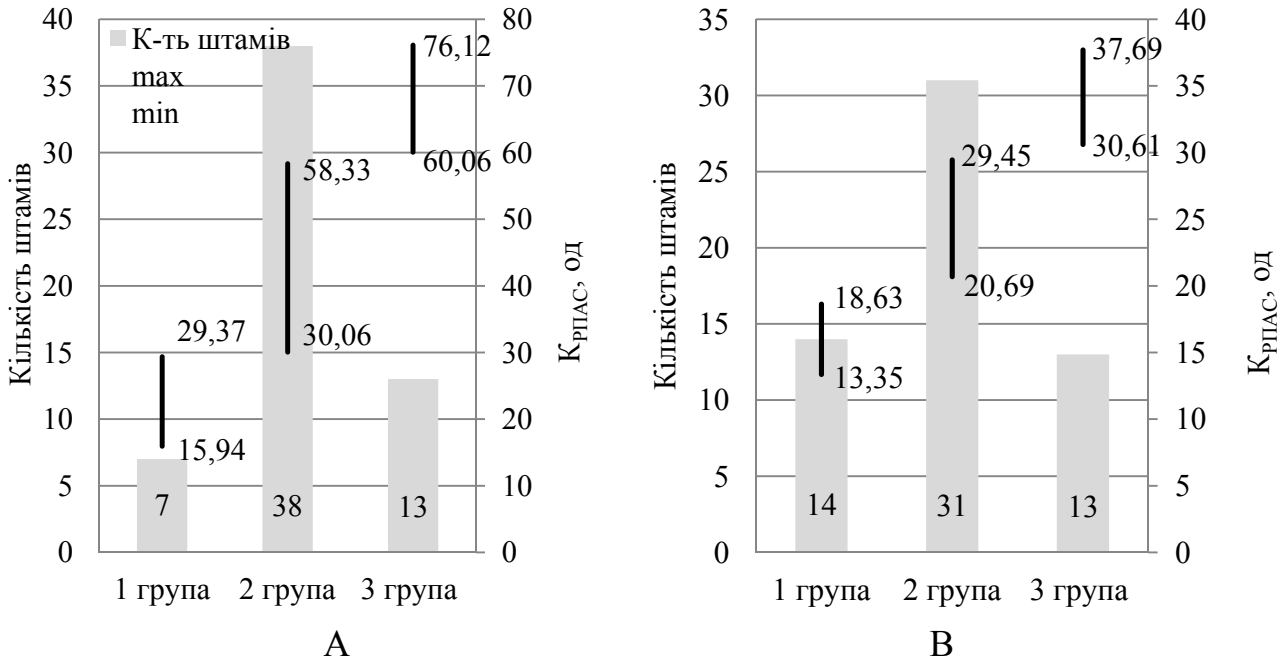


Рис. 9. Розподіл штамів базидієвих грибів за показником коефіцієнту рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи міцелію (А) і КФ (В) на 12-ту добу культивування

Є пряма залежність між показниками ПОА КФ і міцелію кожного штаму, ця залежність та рівень показника не відображають їх систематичного положення. Виявлена суттєва перевага показників резерву СПО міцелію більшості штамів над таким показником КФ. Найвищі значення резерву СПО міцелію зафіксовані для штамів P-447, P-998, P-039, P-94, P-2175 і D-140 *P. ostreatus*, P-citr *P. citrinopileatus*, P-er *P. eryngii* та штамів F-107 і F-610 *F. velutipes*. Для абсолютної більшості штамів характерне переважання значень коефіцієнтів рівноваги ПАС міцелію над такими КФ. Максимальні значення коефіцієнтів рівноваги ПАС 9-ти добового міцелію зафіксовані для штамів T-10 *F. fomentarius* і D-140, P-035, P-01, P-105 *P. ostreatus* та 12-ти добового – штамів Sc-10 *S. commune*, P-кл, P-14 *P. ostreatus*, P-er *P. eryngii*, 960 *A. cylindracea* і 523 *L. edodes*. Названі штами вирізняються високим рівнем АОА міцелію на встановлену добу культивування і можуть бути рекомендовані як продуценти антиоксидантів грибного походження.

Порівняльна характеристика базидієвих грибів – продуцентів антиоксидантних оксидоредуктаз (розділ 7).

Каталазна активність штамів базидієвих грибів. Каталаза (КФ 1.11.1.6) є одним із головних компонентів комплексного ферментативного захисту клітин за умов окислювального стресу. Основна її функція – розщеплення

пероксида водню на воду та молекулярний кисень, а також участь у ряді окислювально-відновлювальних реакцій за участі різноманітних субстратів. У зв'язку з високою каталітичною активністю та мультифункціональністю, каталаза є широко затребуваною, що зумовило активний пошук її продуцентів серед різних груп організмів.

Через те, на цьому етапі роботи встановлювали та порівнювали каталазну активність (КА) штамів базидієвих грибів. Встановлено, що штами Т-10 *F. fomentarius*, F-2 і F-vv *F. velutipes* є перспективними продуцентами для біосинтезу інтрацелюлярної, а P-208 і P-01 *P. ostreatus*, F-vv *F. velutipes*, P-citr *P. citrinopileatus* – екстрацелюлярної каталази.

Удосконалення складу живильного середовища для культивування штамів-продуцентів каталаз показало, що співвідношення компонентів, г/дм³: глюкоза – 12; пептон – 1; КН₂РО₄ – 0,8; К₂НРО₄ – 0,2; MgSO₄ × 7Н₂О – 0,5; СаСl₂ – 0,05; ZnSO₄ × 7Н₂О – 0,001; лігносульфонат натрію – 7-10% (для штаму P-01) і 4-7% (для штаму F-vv); дистильована вода – до 1 дм³ є оптимальним для культивування, відповідно, штамів P-01 *P. ostreatus* і F-vv *F. velutipes* – продуцентів каталази.

Встановлено, також, індивідуальну реакцію КА культур P-er *P. eryngii*, Fh-08 *F. hepatica* та 960 *A. cylindracea* на деякі хімічні речовини (рис. 10). Найвищий ступінь індукції КА міцелію зафіксовано при додаванні: таніну – на 108±2%, через 48 годин експозиції, всіх штамів; лігносульфонату натрію – на 125%, 24 год., штаму 960; перекису водню – на 115%, 48 год., штаму P-er. При внесенні до культуральної рідини галової кислоти спостерігали або відсутність реакції, або репресію КА – найбільша – на 82%, 24 год., штаму P-er. Біотехнологічне значення цього – можливість регуляції (індукція чи репресія) КА потенційних продуцентів ферменту каталази.

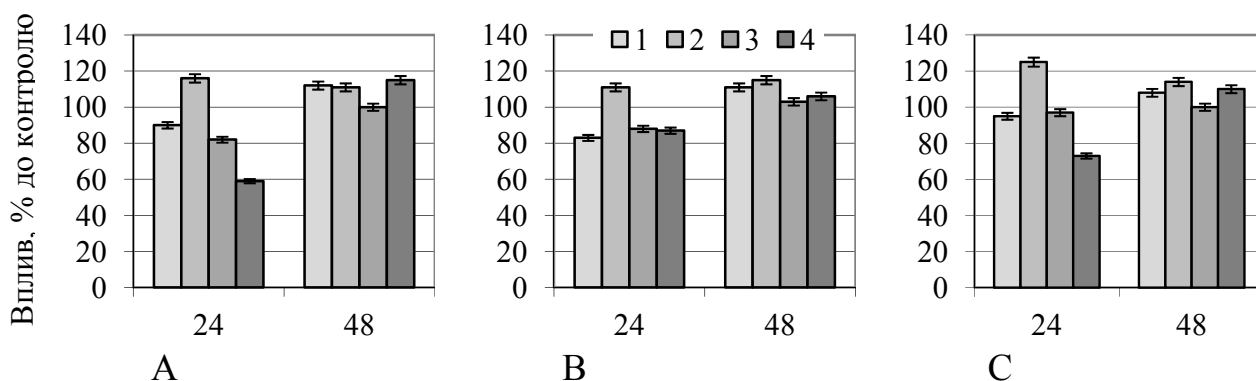


Рис. 10. Вплив таніну (1), лігносульфонату натрію (2), галової кислоти (3) та перекису водню (4) на каталазну активність міцелію штамів P-er *Pleurotus eryngii* (A), Fh-08 *Fistulina hepatica* (B) та 960 *Agrocybe cylindracea* (C)

У промисловості для одержання препаратів БАР з використанням мікроорганізмів-продуцентів застосовують поверхневий, глибинний, гетерофазний методи культивування. Кожний з цих методів має свої переваги і недоліки. Враховуючи це, крім поверхневого, був випробуваний і глибинний метод вирощування штамів-продуцентів на удосконаленому ГПС у колбах

Ерленмейера на шейкерній мішалці при 20 об/ хв., 27,5°C. Результати такого культивування дозволили скоротити його термін до 10 діб та підвищити вихід біомаси до 14 г/дм³, збільшення КА культур не зафіксоване. Отже, підбір складу живильного середовища та вибір способу ферментації може спростувати і здешевлювати виробництво цільового продукту.

Модифікація способів виділення та основні фізико-біохімічні властивості ферментних препаратів каталаз. Проведений скринінг дозволив виявити штами з високим рівнем КА в культурі, удосконалення живильного середовища та способу ферментації – продовжити роботи з експериментального культивування штамів-продуцентів з метою отримання ферментних препаратів (ФП) каталази та дослідження їх основних фізико-біохімічних властивостей.

Модифікацію способів виділення ФП здійснювали шляхом експериментального визначення співвідношення кількості внесеного інокулюму до об'єму поживного середовища, асептичності і терміну культивування продуцентів, аналітичної розтитровки концентрації (NH₄)₂SO₄ осадження потрібного ферменту, терміну і умов діалізу.

Осадження білків за фракціями з водного екстракту гомогенату міцелію здійснювали шляхом додавання сульфату амонію в інтервалі 60-80%. Вихід ФП КА становив 0,18±0,02 г з 1 кг міцелію (Qp=6,25×10⁻⁴ г/дм³×год; Yp/s=1,5×10⁻² г/г) та 0,15±0,02 г з 1 дм³ КФ (Qp=5,21×10⁻⁴ г/дм³×год; Yp/s=1,3×10⁻² г/г).

Каталазна активність (Е) отриманих ферментних препаратів не поступається активності промислових препаратів і становить:

- штаму F-vv *F. velutipes* – E_{МГ} = 1320,5 мкат/мг, E_{КФ} = 4077,9 мкат/мг.
- штаму P-01 *P. ostreatus* – E_{МГ} = 1500,3 мкат/мг, E_{КФ} = 9593,5 мкат/мг.

Масовий процент вмісту зв'язаних амінокислот і білка у ФП КА має індивідуальний характер (рис. 11), амінокислоти розташовані залежно від природи радикалів – амфотерності. Вміст білка в ФП міцеліальної каталази перевищує 55%. Це, скоріше за все, пояснюється фракціонуванням і ступенем очистки: наявністю в них високополімерних полісахаридів і інших сполук.

На вміст гліцину з полярних, гідрофільних амінокислот в ФП впливає, скоріше за все, внесення у живильне середовище пептону

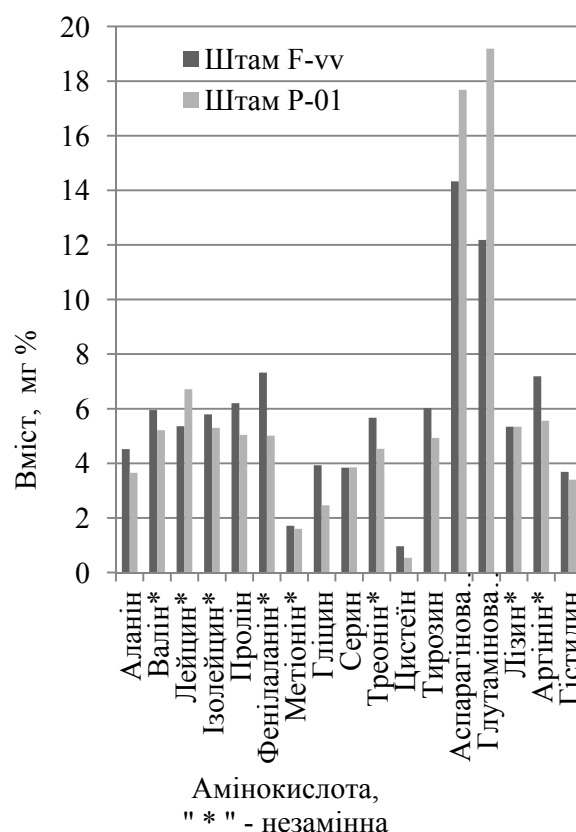


Рис. 11. Амінокислотний склад ферментних препаратів міцеліальних каталаз штамів F-vv *F. velutipes* і P-01 *P. ostreatus*

ферментативного, що має у складі до 2,22% цієї амінокислоти від вмісту азоту.

Досліджені білки ФП можна було б віднести до кислих вже тільки за кількістю негативно заряджених аспарагінової і глутамінової амінокислот. Але це припущення вірне в тому разі, коли в білках вони не знаходяться у вигляді глутаміну і аспарагіну, що при кислотному гідролізі довести не можливо.

Побічним показником переваги у структурі білків ФП кислих амінокислот може бути те, що 0,1%-ний водний розчин ферменту

- штаму F-vv мав 6,2 рН;
- штаму P-01 – 5,3 рН.

Вміст у ферментних білках основних, позитивно заряджених амінокислот аргініну та гістидину є значно нижчим, ніж попередніх і не може суттєво впливати на природу протеїну.

Кожен із зазначених класів амінокислот вирізняється особливостями спеціалізованих шляхів обміну, їх метаболізм має важливе фізіологічне значення. Так, завдяки процесам обміну трьох амінокислот з полярними (гідрофільними) незарядженими R-групами – гліцину, глутаміну та цистеїну – утворюється надзвичайно важлива біологічно активна речовина – глутатіон. Він є надзвичайно важливим компонентом антиоксидантного захисту та виконує відповідні численні функції.

Таким чином, вперше отримані грибні ФП каталаз штаму F-vv *F. velutipes* і штаму P-01 *P. ostreatus* мають індивідуальні характеристики. Встановлено масовий процент вмісту білка і амінокислот у білках грибних ФП каталаз, який свідчить про їх кислу природу і підтверджується значеннями рН водних розчинів. В атестованих лабораторіях проведено експертизу та дослідження токсичності ферментних препаратів каталаз, які підтвердили їх характеристики та відповідність вимогам за показниками безпеки.

Пероксидазна активність штамів базидієвих грибів. Пероксидази (КФ 1.1.11.7) – ензими класу оксидоредуктаз, що каталізують окислення різних електронодонорних субстратів за допомогою H_2O_2 . Відомо, що пероксидаза має не лише пероксидазні, а й оксидазні властивості: каталізує окислення цілого ряду сполук за рахунок неактивованого молекулярного кисню. Зокрема, цей ензим бере активну участь у процесах делігніфікації деревини і регуляції процесів ПОЛ, що може лягти в основу розробки нових енергоощадних біотехнологій переробки складних і хімічно стійких сполук. Як наслідок, пероксидази знайшли широке практичне застосування, що стимулювало активний пошук нових джерел його одержання.

Отже, виходячи з вищезазначеного, метою цього етапу роботи був скринінг штамів базидієвих грибів – активних продуцентів пероксидази. Встановлено найбільш продуктивні за пероксидазною активністю (ПА) міцелію штами 167 *A. cylindracea*, P-кл *P. ostreatus* та КФ – штами 960 і 218 *A. cylindracea*, 523 *L. edodes* та P-кл, P-01 *P. ostreatus* і інші.

Удосконалення складу живильного середовища для культивування штамів-продуцентів пероксидаз. Встановлено характер впливу деяких хімічних речовин на ПА штамів P-er *P. eryngii*, Fh-08 *F. hepatica* та 960 *A. cylindracea* (рис. 12).

Найвищий ступінь індукції ПА міцелію зафіксовано при додаванні: таніну – на 109%, через 48 годин експозиції, штаму Fh-08; лігносульфонату натрію – на $119 \pm 1\%$, 24 год., штамів P-er і 960 та 48 год., штамів Fh-08 і 960; перекису водню – на 121%, 48 год., штаму P-er. Додавання до культуральної рідини галової кислоти веде або до відсутності реакції, або до репресії ПА – найбільша – на 77%, 24 год., штаму P-er.

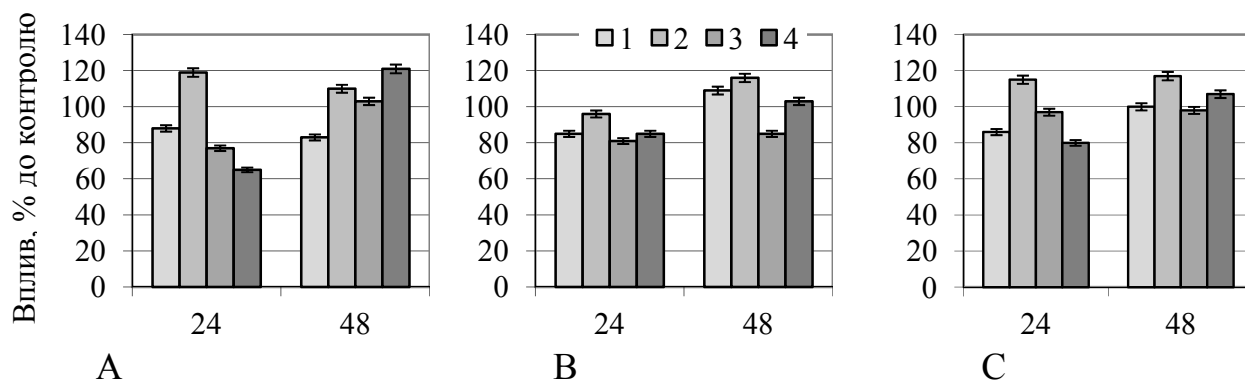


Рис. 12. Вплив таніну (1), лігносульфонату натрію (2), галової кислоти (3) та перекису водню (4) на пероксидазну активність міцелію штамів P-er *Pleurotus eryngii* (A), Fh-08 *Fistulina hepatica* (B) та 960 *Agrocybe cylindracea* (C)

Також встановлено вплив вітамінів – аскорбінової та нікотинової кислот на ПА штамів. Піки максимальної ПА відповідають концентрації вітаміну С – 0,5 і 10,0 мкмоль/дм³ та концентрації вітаміну РР – 0,5 і 10,0 мкмоль/дм³ для штаму F-vv *F. velutipes* і штаму 523 *L. edodes* та 0,5 і 5,0 мкмоль/дм³ – для штаму P-01 *P. ostreatus*. Застосовані вітаміни С і РР слід розглядати як фактори росту, адже як зазначається (Т.П. Пирог, О.А. Ігнатова, 2009) застосування терміна «індукція» не завжди коректне. Здебільшого може йтися про первинний фізіологічний сигнал. Справжній (істинний) індуктор локалізований у клітині, отже необхідною є наявність відповідної транспортної системи для перенесення даної речовини в клітину.

Модифікація способів виділення та основні фізико-біохімічні властивості ферментних препаратів пероксидаз. Проводили культивування штамів базидієвих грибів з високим рівнем пероксидазної активності.

Осадження білків за фракціями з водного екстракту гомогенату міцелію та КФ здійснювали шляхом додавання сульфату амонію в інтервалі 40-70% та 40-60% насичення відповідно.

Вихід ФП становив $0,16 \pm 0,02$ г з 1 кг міцелію ($Q_p = 5,56 \times 10^{-4}$ г/дм³ × год; $Y_p/s = 1,3 \times 10^{-2}$ г/г) та $0,15 \pm 0,02$ з 1 дм³ КФ ($Q_p = 5,21 \times 10^{-4}$ г/дм³ × год; $Y_p/s = 1,3 \times 10^{-2}$ г/г).

ПА ФП не поступається активності промислових препаратів і дорівнює:

- штаму 523 *L. edodes* – $X_{KF} = 4,47$ Е/ мг, $X_{MG} = 4,47$ Е/ мг;
- штаму F-vv *F. velutipes* – $X_{KF} = 4,77$ Е/ мг, $X_{MG} = 9,10$ Е/ мг;
- штаму P-01 *P. ostreatus* – $X_{KF} = 3,43$ Е/ мг, $X_{MG} = 3,23$ Е/ мг.

Амінокислотний склад отриманих ФП надано на рис. 13-14, де амінокислоти розташовані залежно від природи радикалів (амфотерності)

білкових молекул. Вміст амінокислот і білку свідчать про індивідуальний характер складу досліджених ферментних препаратів.

Вміст білка в ФП_{КФ} пероксидази досліджених штамів знаходиться в межах від 20,06 до 39,63; а в ФП_{МГ} – від 39,72 до 50,49 %.

Найвищий вміст білку у ФП зафіксовано для штаму F-vv *F. velutipes*, найнижчий – для штаму 523 *L. edodes*. ФП, отримані з КФ містять меншу частку білку та незамінних амінокислот в порівнянні з ФП міцеліальної пероксидази, що пояснюється відносно низькою (в порівнянні з іншими) ферментативною активністю мікологічного матеріалу.

Як зазначалося, на вміст гліцину з полярних, гідрофільних амінокислот в ФП впливає, скоріше за все, внесення у живильне середовище ферментативного пептону, що має у складі до 2,22% цієї амінокислоти від вмісту азоту.

Досліджені білки ФП можна було б віднести до кислих вже тільки за кількістю негативно заряджених аспарагінової і глутамінової амінокислот. Але це припущення вірне в тому разі, коли в білках вони не знаходяться у вигляді глутаміну і аспарагіну, що при кислотному гідролізі довести не можливо.

Побічним показником переваги у структурі білків ФП кислих амінокислот може бути те, що 0,1%-ні водні розчини ферментних препаратів виявили низький рівень рН, який дорівнював:

- штаму 523 *L. edodes* ФП_{КФ} – 4,85 та ФП_{МГ} – 5,10;
- штаму F-vv *F. velutipes* ФП_{КФ} – 5,75 та ФП_{МГ} – 5,80;
- штаму P-01 *P. ostreatus* ФП_{КФ} – 5,38 та ФП_{МГ} – 5,80.

Вміст у ферментних білках основних, позитивно заряджених амінокислот аргініну та гістидину є значно нижчим, ніж попередніх і не може суттєво впливати на природу протеїну.

Таким чином, вперше отримані ферментні препарати грибних пероксидаз екзо- і ендogenous походження штаму 523 *L. edodes*, штаму F-vv *F. velutipes* і штаму P-01 *P. ostreatus*. ФП пероксидаз мають індивідуальні характеристики вмісту білка, а білки – зв'язаних амінокислот. Встановлено масовий процент вмісту амінокислот у білках ФП грибних пероксидаз, який свідчить про кислу природу білків та підтверджується значеннями рН їх водних розчинів. В

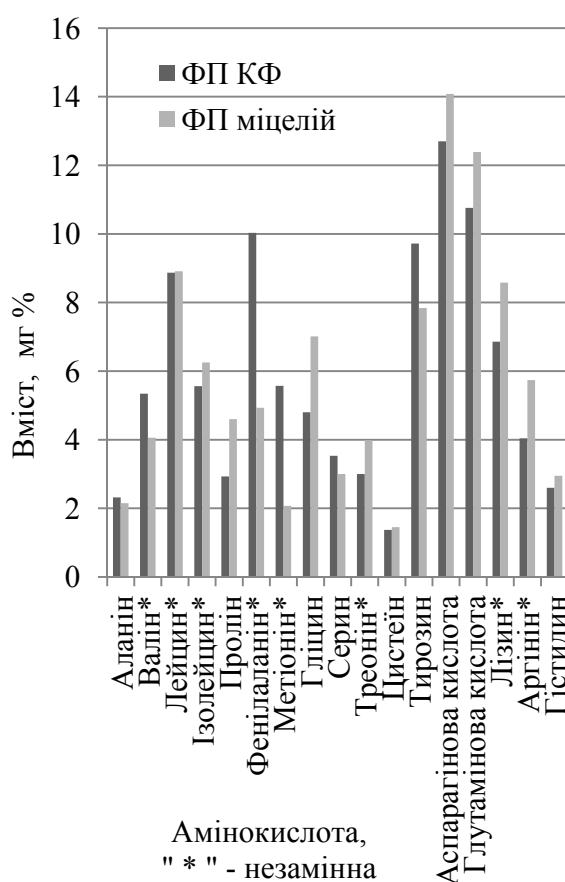


Рис. 13. Амінокислотний склад ферментних препаратів пероксидаз штаму F-vv *Flammulina velutipes*

атестованих лабораторіях проведено експертизу та дослідження токсичності ФП пероксидаз, які підтвердили їх характеристики та відповідність вимогам за показниками безпеки.

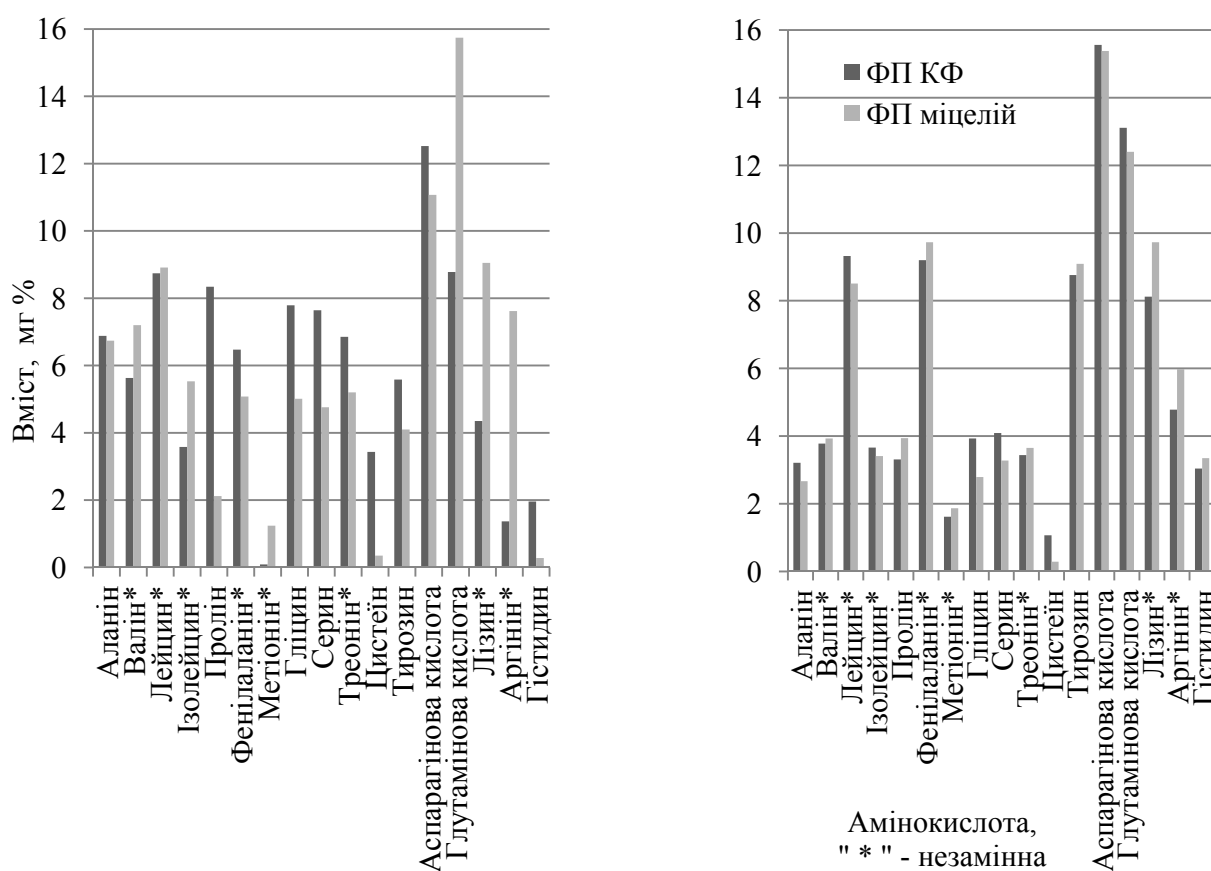


Рис. 14. Амінокислотний склад ферментних препаратів пероксидаз штаму 523 *Lentinula edodes* та штаму P-01 *Pleurotus ostreatus*

Біосинтез поліфенольних речовин та деяких пігментів базидієвими грибами і перспективи їх біотехнологічного використання (розділ 8).

Загальний вміст поліфенольних речовин. Встановлено, що всі досліджені штами здатні до синтезу та накопичення поліфенолів в запропонованих умовах культивування. Загальний вміст поліфенолів в КФ вищий за цей показник мицелію. Виявлені шість штамів з найвищим рівнем накопичення поліфенолів: у КФ та мицелію – штами Fh-08 *F. hepatica*, T-10 *F. fomentarius* та Ls-08 *L. sulphureus*; у КФ – штами F-03 *F. velutipes* та P-er *P. eryngii*; у мицелію – штама Gl-2 *G. lucidum*.

Загальний вміст каротиноїдів. З'ясовано, що загальний вміст каротиноїдів в мицелії вище такого показника КФ. Наявність каротиноїдів в КФ зафіксована у 46% дослідів. Виявлені перспективні штами-продуценти інтрацелюлярних каротиноїдів: Ls-08 *L. sulphureus*, Fh-08 *F. hepatica*, Gl-2 *G. lucidum* і Dq-08 *D. quercina* та екстрацелюлярних каротиноїдів: Fh-08 *F. hepatica*, P-citr *P. citrinopileatus*, Ls-08 *L. sulphureus*, Hk-35, P-01, P-035, P-107, P-203, P-208, P-6v і P-кл *P. ostreatus*.

Загальний вміст меланінів. Вивчено вміст меланінів в плодових тілах та культурах базидієвих грибів. Встановлено, що переважна більшість досліджених штамів здатні до накопичення меланінів в міцелії та понад половини – в КФ, де вміст цих речовин значно нижчий за такий в міцелії. Найбільший вміст меланінів в міцелії виявлено у штамів Т-10 *F. fomentarius*, Gl-2 *G. lucidum* з порядку *Polyporales* та F-vv *F. velutipes* з порядку *Agaricales*. За результатами аналізу плодових тіл, є перспективним залучення до пошуку продуцентів меланінів штамів поліпоральних видів – *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum* і *Fomes fomentarius* та агарикальних видів – *Fistulina hepatica* і *Lentinula edodes*.

Таким чином, встановлено загальний вміст поліфенолів і пігментів в культурах базидієвих грибів. Ці показники мають індивідуальний характер і вірогідно не корелюють з іншими показниками прооксидантно-антиоксидантної системи досліджених культур. Виявлені штами, перспективні в біотехнологічному використанні, як продуценти поліфенолів і пігментів.

Розробка біотехнологічних способів використання прооксидантно-антиоксидантних властивостей базидієвих грибів (розділ 9).

Антиоксидантна активність ферментних препаратів грибного походження. Дослідження ПАС штамів базидієвих грибів показало, що БАР, в тому числі і антиоксиданти, синтезовані в клітинах міцелію, переходять у КФ. Можемо припустити, що ці речовини потрапляють і в грибні препарати при їх отриманні з культуральної рідини чи вегетативного міцелію.

Для перевірки цього припущення, визначали АОА отриманих нами ФП грибного походження.

Встановлено, що ФП суттєво відрізняються за рівнем АОА, яка вірогідно не пов'язана з вмістом в препаратах протеїнів. Також, АОА ФП не корелює з такою активністю вихідного мікологічного матеріалу. Ймовірно, АОА ФП обумовлена присутністю в їх складі різних речовин, наприклад глутатіону і проліну (взаємодії проліну з антиоксидантними ферментами до цих пір остаточно не з'ясовані) та низькомолекулярних АО речовин, які з різною швидкістю потрапляють в препарати.

Таким чином, зареєстровані дані АОА ФП, ймовірно, відповідають не початковому загальному вмісту біоантиоксидантів (ферментів, пігментів тощо) у мікологічному матеріалі, з якого вони були виділені. Вони, скоріш за все, на пряму залежать від вмісту антиоксидантів білкової природи та швидкості дифузії низькомолекулярних прооксидантів і антиоксидантів в отримуваний препарат. Отримані дані з АОА грибних препаратів вказують на необхідність такого аналізу всієї грибної продукції для більш повної оцінки її властивостей.

Розробка способу біоіндикації стану довкілля з використанням показників прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів. Багатофакторність забруднення посилює задачу удосконалення існуючих та розробки нових способів тестування стану довкілля. Такі способи мають фіксувати не тільки появу і рівень тих чи інших факторів, а й виявляти в інтегральній формі ступінь і інтенсивність їх комплексного впливу на біоту. Саме цим вимогам відповідають біологічні способи індикації стану довкілля.

При практичній апробації використання показників ПАС культур базидіоміцетів у біоіндикації стану довкілля застосовували культивування тест-об'єктів на модифікованому ГПС, де глюкозу було замінено на певний спеціально підготовлений рослинний субстрат різних локацій тестованої території у кількості, еквівалентній за вмістом вуглецю. Встановлено, що таке культивування веде до вірогідного зміщення рівноваги ПАС культур відносно контролю. З'ясовано також, що в якості тест-об'єктів можуть бути використані як типові види ксилотрофів, так і види, які не зростають на тестованій території і мають добрі ростові показники на ГПС_м. Для деяких штамів зафіксоване адаптивне компенсаторне підвищення АОА міцелію та КФ, що може обмежувати їх використання в якості тест-об'єктів у зв'язку з високими захисними можливостями їх міцеліальної культури.

Розробка способу біоконверсії лігноцелюлозних відходів з використанням базидієвих грибів – продуцентів каротиноїдів. На сьогодні лігноцелюлозні відходи не підлягають повторному використанню, спалюються або викидаються без переробки, що є екологічно небезпечним способом утилізації. Для дереворуйнівних грибів (ксилотрофів) характерним субстратом є деревина та різноманітні рослинні залишки, які містять лігноцелюлозу.

Виходячи з вищезазначеного, на цьому етапі роботи проводили практичну апробацію розробленого способу біоконверсії лігноцелюлозних відходів переробки олійних культур (ЛВОК: лушпиння соняшника, ріпаку тощо) шляхом твердофазної ферментації (ТФФ) базидієвого гриба *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill – продуцента каротиноїдів.

Для характеристики біологічної якості протеїну отриманого продукту, застосована методика хімічного еквіваленту – зіставлення складу незамінних амінокислот дослідного і ідеального протеїну. Використовували шкалу, яка рекомендована об'єднаним експертним комітетом ФАО/ВОЗ. Встановлено, що запропонований спосіб біоконверсії ЛВОК шляхом вирощування на них штамів дереворуйнівного базидієвого гриба *Laetiporus sulphureus* дозволяє переробити різні види рослинної сировини і її відходи у кормові добавки зі збільшеним вмістом цінних протеїнів і біологічно активних речовин грибного походження (зокрема, каротиноїдів), що веде до спрощення, екологізації і здешевлення біотехнології виробництва.

Розробка способу біодеструкції органічних сполук, що утворюються при окисленні аніліну з використанням базидієвих грибів – продуцентів пероксидаз і прооксидантних сполук. Наявність у стічних водах певних виробництв високих концентрацій токсичних хімічних забруднювачів створює значні труднощі при їх очищенні. Так, мікроорганізми активного мулу біологічних очисних споруд продуктивні в процесах переробки господарсько-побутових стоків та малоефективні при знешкодженні промислових ксенобіотиків. Через те, актуальними є розробки сучасних способів деструкції хімічно стійких сполук.

В основу цього етапу роботи поставлено завдання розробки і апробації в лабораторних умовах способу деструкції анілінового барвника (С.І. 27950) при внесенні у розчини барвника культуральної рідини і міцелію високоактивного штаму Р-01 *P. ostreatus*.

Апробація біотехнології довела, що запропонований спосіб деструкції анілінового барвнику (С.І. 27950) при внесенні у його розчини культуральної рідини (побічного продукту при отриманні міцелію їстівного гриба) штаму P-01 *P. ostreatus* є ефективним, новим за організмом-деструктором, дешевим та доступним за технологією при використанні в очисних спорудах промислових підприємств, відходи яких містять органічні сполуки – окислений анілін. Застосований у способі вид базидієвого гриба є типовим, широко розповсюдженим їстівним, що унеможливорює мікробіологічне забруднення довкілля.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Сьогодення характеризується двома взаємопротилежними тенденціями розвитку ринку біологічно активних речовин. З одного боку, відмічаються значні успіхи в створенні і застосуванні численних штучних лікарських засобів і харчових добавок, а з іншого – стале повернення до використання в лікувальних і профілактичних цілях біологічно активних речовин природного походження. Останні позитивно зарекомендували себе протягом багатомісячної історії використання та знаходять все нові сфери застосування. Відмічається нестача природної сировини – джерела затребуваних в промисловості сполук. Отже, перед біотехнологією постають задачі не тільки залучення до виробництва нових продуцентів, а й розробка екологічно чистих інтенсивних технологій їх культивування. Базидієві гриби здатні до синтезу в культурі численних біологічно активних речовин. Залучення їх до біотехнологій потребує глибокого знання як методів діагностики, так і факторів регуляції життєдіяльності і біосинтетичної активності міцеліальних культур.

Аналіз літератури показав, що світова наука і практика вивчила біологію та розробила інтенсивні біотехнології культивування різних видів базидієвих грибів з метою отримання як міцелію, так і біологічно активних сполук. Роботи в цьому напрямку розширюються як в напрямку вивчення нових систематичних груп грибів, так і їх метаболітів. Цікавими тут є дослідження прооксидантно-антиоксидантної системи грибів.

Проведене нами комплексне дослідження, аналіз та узагальнення результатів дали змогу встановити біотехнологічні засади регулювання і використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів.

Встановлено, що рівень інтенсивності процесів ПОЛ як в міцелії так і в культуральній рідині наростає з часом культивування штамів. Це пояснюється зростаючою нестачею, перш за все, вуглецевмісних живильних речовин та збільшенням кількості і концентрації продуктів метаболізму в середовищі. Виходячи з цього, зміна інтенсивності процесів ПОЛ може бути використана для індикації біотехнологічних і екологічних процесів. Крім того, зміщення рівноваги самочинне-індуковане ПОЛ відносно самочинного (стаціонарного) його рівня є ознакою розвитку стрес-реакції, де продукти ПОЛ можуть бути як індукторами, так і первинними медіаторами такого стресу.

Виявлені штами базидієвих грибів, загальна антиоксидантна активність міцелію та культурального фільтрату яких не поступається активності

використовуваної у промисловості рослинної сировини антиоксидантів. Крім того, встановлені штами з протилежною АОО, високою прооксидантною активністю культурального фільтрату та штами зі значним резервом субстратів перекисного окислення міцелію. Їх запропоновано використовувати в біотехнологіях деструкції хімічно стійких сполук та індикації відповідних факторів середовища.

Доведено, що коефіцієнт рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи є інтегральним показником стану грибної культури. Для значної більшості штамів характерне переважання значень коефіцієнту рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи міцелію над такими культурального фільтрату. Штами зі значеннями цього коефіцієнту близьким до 1 можуть бути рекомендовані як продуценти антиоксидантів міцеліального походження.

Показана можливість регуляції (індукції чи репресії) показників прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів на прикладі біосинтетично активних штамів P-er *Pleurotus eryngii*, Fh-08 *Fistulina hepatica* та 960 *Agrocybe cylindracea* шляхом окремого додавання в живильне середовище таніну, лігносульфонату натрію, галової кислоти і перекису водню.

На основі удосконалення складу живильного середовища та біотехнології отримання, вперше виділені грибні ферментні препарати інтрацелюлярних каталаз штамів *Pleurotus ostreatus* і *Flammulina velutipes* та ферментні препарати інтра- і екстацелюлярних пероксидаз штамів *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* і *Lentinula edodes*. Встановлено їх ферментативну (не поступається активності промислових препаратів) і антиоксидантну активність, вміст білку і масовий процент вмісту амінокислот у білках препаратів, який свідчить про їх кислу природу.

Результати дослідження показали, також, здатність штамів до синтезу та накопичення поліфенолів при їх культивуванні періодичним, поверхневим способом на глюкозо-пептонному середовищі. Загальний вміст ПФ в культуральній рідині вищий за цей показник міцелію. Виявлені штами з найвищим рівнем накопичення поліфенолів: Fh-08 *Fistulina hepatica*, T-10 *Fomes fomentarius*, Ls-08 *Laetiporus sulphureus*, F-03 *Flammulina velutipes*, P-er *Pleurotus eryngii* та Gl-2 *Ganoderma lucidum*; каротиноїдів: Ls-08 *Laetiporus sulphureus*, Fh-08 *Fistulina hepatica*, Gl-2 *Ganoderma lucidum*, Dq-08 *Daedalea quercina*, P-citr *Pleurotus citrinopileatus*; меланінів: T-10 *Fomes fomentarius*, Gl-2 *Ganoderma lucidum* і F-vv *Flammulina velutipes*.

Особлива увага в роботі була приділена практичній реалізації отриманих експериментальних даних та теоретичних положень. Напіввиробничі і виробничі випробування способів практичного використання прооксидантно-антиоксидантної системи інтродукованих штамів базидієвих грибів в біотехнології: отримання оксидоредуктаз, встановлення антиоксидантної активності ферментних препаратів, біоконверсія лігноцелюлозних відходів з використанням штамів – продуцентів каротиноїдів, біодеструкція органічних сполук-похідних аніліну і інші переконливо показали ефективність пропонованих методів і підходів, які забезпечують отримання продукції нової якості, діагностику і інтенсифікацію біотехнологічного виробництва.

ВИСНОВКИ

У дисертації представлені та проаналізовані нові дані комплексного вивчення прооксидантно-антиоксидантної системи 58 штамів, що належать до 13 видів порядків *Polyporales* та *Agaricales* відділу *Basidiomycota*; здійснені дослідження широкого спектру їх біохімічних показників, що відображають зміни у процесах синтезу фізіологічно активних сполук (прооксидантів, антиоксидантів, оксидоредуктаз, каротиноїдів тощо) під впливом факторів культивування; висунуті теоретичні положення та експериментально доведені можливості індукції або/чи гальмування певних прооксидантно-антиоксидантних процесів; зроблені на їх основі обґрунтування доцільності використання показників і продуктів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту цих організмів; вперше розроблені біотехнології використання прооксидантно-антиоксидантної системи (перекисного окислення ліпідів, прооксидантно-антиоксидантної і оксидоредуктазної активності, утворення пігментів) базидієвих грибів.

1. Виявлені групи штамів базидієвих грибів за рівнем інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів. Встановлено, що самочинна та індукована інтенсивність процесів ПОЛ в міцелії всіх досліджених штамів вища за цей показник в культуральному фільтраті. Інтенсивність процесів ПОЛ як міцелію, так і культурального фільтрату змінюється під впливом факторів чи наростає з часом культивування, що пояснюється зростаючою нестачею певних живильних речовин (перш за все вуглецевмісних) та збільшенням кількості і концентрації продуктів метаболізму в середовищі. А отже, показник інтенсивності процесів ПОЛ може бути використаний для індикації біотехнологічних і екологічних процесів.
2. Доведено, що співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ є індивідуальним для кожного штаму і не залежить від його систематичного положення. Зміщення рівноваги самочинне-індуковане ПОЛ відносно самочинного (стаціонарного) рівня є ознакою розвитку стрес-реакції. При цьому продукти ПОЛ можуть бути як індукторами, так і первинними медіаторами стресу як особливого стану біологічної системи.
3. Встановлено, що найпродуктивніші штами базидієвих грибів за рівнем загальної антиоксидантної активності міцелію можна представити у вигляді послідовності: P-er *Pleurotus eryngii* > P-citr *Pleurotus citrinopileatus* > P-035 *Pleurotus ostreatus* > Fh-08 *Fistulina hepatica* > 960 *Agrocybe cylindracea* > 523 *Lentinula edodes*; а культурального фільтрату – P-081 > P-082 > P-087 *Pleurotus ostreatus* > P-citr *Pleurotus citrinopileatus*. Вищезазначені штами рекомендовано в якості продуцентів антиоксидантів. Залежності між реєстрованими показниками накопичення біомаси та антиоксидантної активності досліджених культур грибів не виявлено.
4. Виявлено, що для досліджених штамів характерне значне переважання активності прооксидантної складової ПАС в культуральному фільтраті порівняно з цим показником міцелію. Найвищі значення прооксидантної активності КФ відмічаються на 12-ту добу культивування штамів P-089

Pleurotus ostreatus і Gl-2 *Ganoderma lucidum*, а міцелію – P-citr, P-089, P-er та P-082 роду *Pleurotus*. Є пряма залежність між показниками ПОА КФ і міцелію кожного штаму, ця залежність та рівень показника не відображають їх систематичного положення. Штами з високим рівнем прооксидантної активності, на прикладі деструкції анілінового барвника, запропоновано використовувати в біотехнологіях деструкції хімічно стійких сполук.

5. Виявлена суттєва перевага показників резерву субстратів перекисного окислення міцелію більшості штамів над таким показником КФ. Найвищі значення резерву СПО міцелію зафіксовані для штамів P-447, P-998, P-039, P-94, P-2175, P-citr, P-er, D-140 роду *Pleurotus* та штамів F-107, F-610 роду *Flammulina*. Вищезазначені штами мають резерв індукції ПОЛ та здатні до індикації зміни факторів середовища.
6. Встановлено, що для значної більшості штамів характерне переважання значень коефіцієнтів рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи міцелію над такими КФ. Максимальні значення коефіцієнтів рівноваги ПАС 9-ти добового міцелію зафіксовані для штамів T-10 *Fomes fomentarius* і D-140, P-035, P-01, P-105 *Pleurotus ostreatus* та 12-ти добового – штамів Sc-10 *Schizophyllum commune*, P-кл, P-14 *Pleurotus ostreatus*, P-er *Pleurotus eryngii* і 960 *Agrocybe cylindracea*. Названі штами вирізняються високим рівнем АОА міцелію на встановлену добу культивування і можуть бути рекомендовані як продуценти антиоксидантів міцеліального походження.
7. Встановлено каталазну та пероксидазну активності штамів базидієвих грибів. Відібрані перспективні штами: T-10 *Fomes fomentarius*, F-2 і F-vv *Flammulina velutipes* – продуценти інтрацелюлярних каталаз; P-208, P-01 *Pleurotus ostreatus*, F-vv *Flammulina velutipes*, P-citr *Pleurotus citrinopileatus* – екстрацелюлярних каталаз; 167 *Agrocybe cylindracea*, P-кл *Pleurotus ostreatus* – продуценти інтрацелюлярних пероксидаз та 960, 218 *Agrocybe cylindracea*, 523 *Lentinula edodes* та P-кл, P-01 *Pleurotus ostreatus* – екстрацелюлярних пероксидаз.
8. Вперше показана можливість регуляції (індукції чи репресії) показників прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів на прикладі штамів P-er *Pleurotus eryngii*, Fh-08 *Fistulina hepatica* та 960 *Agrocybe cylindracea* шляхом несення до культуральної рідини таніну, лігносульфонату натрію, галової кислоти і перекису водню.
9. На основі удосконалення складу живильного середовища та способу отримання, вперше виділені грибні ферментні препарати інтрацелюлярних каталаз штамів *Pleurotus ostreatus* і *Flammulina velutipes* та ферментні препарати інтра- і екстрацелюлярних пероксидаз штамів *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* і *Lentinula edodes*. Встановлено їх ферментативну і антиоксидантну активність, вміст білку і масовий процент вмісту амінокислот у білках препаратів, який свідчить про їх кислу природу.
10. Встановлено, що всі досліджені штами здатні до синтезу та накопичення поліфенолів в запропонованих умовах культивування. Загальний вміст ПФ в культуральній рідині вищий за цей показник міцелію. Виявлені штами з

найвищим рівнем накопичення поліфенолів: у культуральній рідині та міцелію – Fh-08 *Fistulina hepatica*, T-10 *Fomes fomentarius* та Ls-08 *Laetiporus sulphureus*; у культуральній рідині – F-03 *Flammulina velutipes* та P-er *Pleurotus eryngii*; у міцелію – Gl-2 *Ganoderma lucidum*.

11. Доведено, що загальний вміст каротиноїдів в міцелії вище такого показника культуральної рідини. Наявність каротиноїдів в КФ зафіксована у 46% штамів. Виявлені перспективні штами-продуценти міцеліальних каротиноїдів: Ls-08 *Laetiporus sulphureus*, Fh-08 *Fistulina hepatica*, Gl-2 *Ganoderma lucidum* та Dq-08 *Daedalea quercina* та екстрацелюлярних каротиноїдів: Fh-08 *Fistulina hepatica*, P-citr *Pleurotus citrinopileatus*, Ls-08 *Laetiporus sulphureus*, Hk-35, P-01, P-035, P-107, P-203, P-208, P-6v і P-кл *Pleurotus ostreatus*.
12. Виявлено, що 97% досліджених штамів здатні до накопичення меланінів в міцелії та 52% – в культуральній рідині, де вміст цих речовин значно нижчий за такий в міцелії. Найбільший вміст меланінів в міцелії виявлено у штамів T-10 *Fomes fomentarius*, Gl-2 *Ganoderma lucidum* з порядку *Polyporales* та F-vv *Flammulina velutipes* з порядку *Agaricales*. За результатами аналізу плодових тіл, є перспективним залучення до пошуку продуцентів меланінів штамів поліпоральних видів – *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum* і *Fomes fomentarius* та агарикальних видів – *Fistulina hepatica* і *Lentinula edodes*.
13. Вперше розроблені та опрацьовані способи практичного використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів в біотехнології: отримані оксидоредуктази і рекомендовані продуценти антиоксидантів, проведена біоконверсія лігноцелюлозних відходів з використанням штамів – продуцентів каротиноїдів, біодеструкція органічних сполук – похідних аніліну і інші.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових вітчизняних та іноземних виданнях:

1. **Федотов О.В.** Стан прооксидантно-антиоксидантної системи деяких штамів базидіомікотових грибів / О.В. Федотов // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. – 2017. – 8(1). – С. 77-84. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: *Web of Science, IndexCopernicus, OAJI, Global Impact Factor, Universe Impact Factor* і ін.).
2. **Федотов О.В.** Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штамів грибів порядків *Agaricales* і *Polyporales* / О.В. Федотов // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2016. – 24(2). – С. 314-323. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: *Web of Science, IndexCopernicus, OAJI, Global Impact Factor, Universe Impact Factor* і ін.).
3. Велигодська А.К. Отримання та аналіз препаратів каротиноїдів деяких штамів ксилотрофних базидіоміцетів / А.К. Велигодська, **О.В. Федотов** // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2016. – 24(2). – С. 290-294. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: *Web of Science, IndexCopernicus, OAJI, Global Impact Factor, Universe Impact Factor* і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та

- аналізі експериментальних даних, написанні статті)
4. Чайка О.В. Оцінка екологічного стану довкілля з використанням прооксидантно-антиоксидантної активності культур базидіоміцетів / О.В. Чайка, **О.В. Федотов** // Біоресурси і природокористування. – 2014. – 6(1-2). – С. 5-11. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: EBSCO Publishing, Ulrichsweb Global Serials Directory, IndexCopernicus, AGRIS, Google Scholar і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 5. **Fedotov O.V.** Search producers of polyphenols and some pigments among *Basidiomycetes* / O.V. Fedotov, A.K. Velygodska // *Biotechnologia Acta*. – 2014. – 7(1). – P. 110-116. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: CrossRef, DOAJ, бібліотека Корнельського університету імені Альберта Р. Манна, Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO, IndexCopernicus і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 6. Чайка О.В. Ефективність біодеградації ксенобіотику *Methyl orange* культурами ксилотрофів у залежності від концентрацій пептону та глюкози / О.В. Чайка, **О.В. Федотов** // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2013, – 1(13). – С. 221-227. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 7. Велигодська А.К. Вміст меланінів у базидіальних грибів порядків *Polyporales* та *Agaricales* / А.К. Велигодська, **О.В. Федотов** // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – 3(23). – С. 72-83. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 8. Biotechnological aspects of xylotrophic basidiomycetes culture fluid interfacial tensiometry and rheometry / A.V. Chaika, **O.V. Fedotov**, V.B. Fainerman, S.V. Lylyk // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – 6(6). – P. 120-131. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: CrossRef, DOAJ, бібліотека Корнельського університету імені Альберта Р. Манна, Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO, IndexCopernicus і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 9. Voloshko T.E. Active producers of peroxidase Basidiomycetes strains screening / T.E. Voloshko, **O.V. Fedotov** // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – 6(5). – P. 137-142. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: CrossRef, DOAJ, бібліотека Корнельського університету імені Альберта Р. Манна, Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO, IndexCopernicus і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
 10. Voloshko T.E. Comparative characteristics of basidiomycetes – producers of catalase / T.E. Voloshko, **O.V. Fedotov** // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – 6(3). – P. 89-94. (Індексується в міжнародних наукометричних базах: CrossRef, DOAJ, бібліотека Корнельського університету імені Альберта Р. Манна, Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO, IndexCopernicus і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)

11. Волошко Т.Є. Вплив деяких мікроелементів на активність оксидоредуктаз базидіоміцетів / Т.Є. Волошко, **О.В. Федотов** // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – 1(21). – С. 63-80. *(Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
12. Велигодська А.К. Порівняльна характеристика загального вмісту каротиноїдів у деяких видів базидіальних грибів / А.К. Велигодська, **О.В. Федотов** // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – 4(20). – С. 84-101. *(Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
13. **Федотов О.В.** Загальний вміст поліфенольних речовин у деяких видів базидіоміцетів / О.В. Федотов, А.К. Велигодська // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – 3(19). – С. 44-55. *(Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
14. **Федотов О.В.** Вплив бензопірену на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штаму *Pleurotus ostreatus* P-107 / О.В. Федотов, О.В. Чайка, О.Г. Метрусенко // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2012. – 1(12). – С. 252-258. *(участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
15. **Федотов О.В.** Колекція культур шапинкових грибів – основа мікологічних досліджень та стратегії збереження біорізноманіття базидіоміцетів / О.В. Федотов, О.В. Чайка, Т.Є. Волошко, А.К. Велигодська // Вісник Донецького університету, Сер. А: Природничі науки. – 2012. – 1. – С. 209–213. *(участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
16. **Федотов О.В.** Фізико-хімічні показники мікологічних об'єктів у біоіндикації довкілля / О.В. Федотов // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2011. – 1(11). – С. 261-265.
17. Волошко Т.Є. Скринінг штамів базидіоміцетів за активністю антиоксидантних оксидоредуктаз / Т.Є. Волошко, **О.В. Федотов** // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – 4(16). – С. 69-84. *(Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
18. Чайка О.В. Ріст та інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штаму *Pleurotus ostreatus* P-107 / О.В. Чайка, **О.В. Федотов** // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – 3(15). – С. 88-96. *(Індексується в міжнародних наукометричних базах: IndexCopernicus, Google Scholar, Джерело, Україніка наукова). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)*
19. **Федотов О.В.** Мікотестування забруднення навколишнього середовища

- фенолом / О.В. Федотов, М.С. Перцевой // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2010. – 1(10). – С. 208-214. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
20. Чайка О.В. Порівняльна характеристика динаміки перекисного окиснення ліпідів штамів їстівних лікарських грибів *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. та *Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. / О.В. Чайка, **О.В. Федотов** // Вісник Донецького національного університету. Сер. А: Природничі науки. – 2010. – 1. – С. 241-245. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
21. **Федотов О.В.** Вплив джерел вуглецевого живлення на ріст і каталазну активність штаму Р-6v *Pleurotus ostreatus* / О.В. Федотов, О.М. Брусніцина // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2008. – 1(8). – С. 248-253. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
22. **Федотов О.В.** Вплив нікотинової кислоти на пероксидазну активність штамів їстівних лікарських базидіоміцетів *Pleurotus ostreatus* та *Lentinula edodes* / О.В. Федотов, Т.Є. Волошко // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2008. – 1(8). – С. 253-256. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
23. **Федотов О.В.** Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів в лікарських базидіоміцетах національного природного парку «Святі гори» / О.В. Федотов // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія. – 2005. – 260. – С. 254-259.
24. **Федотов О.В.** Активність пероксидаз їстівних лікарських базидіоміцетів у залежності від температури культивування та місцезростання / О.В. Федотов // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2004. – 4. – С. 183-188.
25. **Федотов О.В.** Динаміка росту та вмісту продуктів перекисного окислювання ліпідів в культурах *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. / О.В. Федотов, О.А. Крюков // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2003. – 32(44). – С. 22-25. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
26. **Федотов О.В.** Динаміка росту та каталазної активності штамів *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. з різних екологічних місць зростання / О.В. Федотов // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2003. – 3. – С. 194-198.
27. **Федотов О.В.** динаміка активності пероксидази та ростових показників штаму F-vv *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. / О.В. Федотов, Ю.В. Горяшник // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2003. – 25(37). – С. 42-44. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)

28. **Федотов О.В.** Ріст та каталазна активність штамів грибів роду *Pleurotus* (Fr.) Kumm. / О.В. Федотов, Г.В. Гавриленко // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2003. – 22(34). – С. 82-84. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
29. **Федотов О.В.** Вміст продуктів перекисного окислювання ліпідів в міцелії грибів родів *Pleurotus* (Fr.) Kumm. та *Lentinus* (Berk.) Sing. / О.В. Федотов // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2003. – 22(34). – С. 79-81.
30. **Федотов О.В.** Антиокисна активність міцелію штамів грибів родів *Pleurotus* (Fr.) Kumm. і *Flammulina* (Curt.: Fr.) Sing. / О.В. Федотов // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2002. – 16(28). – С. 63-66.
31. Гавриленко Г.В. Зміна каталазної активності культур *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. під час культивування / Г.В. Гавриленко, **О.В. Федотов** // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Біологічні науки». – 2002. – 15(27). – С. 52-54. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
32. **Федотов О.В.** Біоконверсія лушпиння соняшника дереворуйнівним сапрофітним грибом *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ryv. / О.В. Федотов, С.Ф. Негруцький // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2002. – 2. – С. 186-190. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
33. **Федотов О.В.** Зв'язані амінокислоти і білок ферментних препаратів молокозсідальної дії у афілофорових грибів / О.В. Федотов, М.І. Бойко, С.Ф. Негруцький // Український ботанічний журнал. – 2002. – 59(1). – С. 45-48. (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
34. **Федотов О.В.** Молокозсідальна і антиокисна активність ферментних препаратів штамів афілофорових грибів / О.В. Федотов // Збірник наукових праць ЛДАУ. Сер. «Біологічні науки». – 2001. – 9(21). – С. 136-141.
35. **Fedotov O.V.** Milk-clotting and antioxidant activity of enzyme preparations of fungi strains of the order Polyporales s.l. / O.V. Fedotov, A.K. Velygodska // The scientific heritage. Biological Sciences. – 2016. – V.1. – 2(2). – P. 71-76. (Науковий журнал (Угорщина). <http://www.tsh-journal.com>. Індексується в міжнародних наукометричних базах: Calaméo, Issuu, Zenodo і ін.). (участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті)
36. **Fedotov O.V.** Antioxidizing activity of mycelium of mushroom stocks *Pleurotus* (Fr.) Kumm. and *Flammulina* (Curt.: Fr.) Sing. / O.V. Fedotov // International journal of medicinal mushrooms. – 2001. – 3(2-3). – P. 143-144. (Міжнародний науковий фаховий журнал. <http://www.begellhouse.com/journals/medicinal-mushrooms.html>. Індексується в міжнародних наукометричних базах: Thomson Reuters, the BIOSIS Database, in International

Інші наукові видання

37. **Федотов О.В.** Загальна антиоксидантна активність деяких штамів базидіальних грибів в динаміці росту / О.В. Федотов // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету ім. Богдана Хмельницького. – 2016. – 2(6). – С. 158-165. (*Наукове видання України. Індексується в міжнародних наукометричних базах: Web of Science, PubMed, Agricola, Agris, IndexCopernicus i in.*)
38. Велигодська А.К. Скринінг вмісту та динаміка накопичення поліфенольних речовин у деяких видів базидіоміцетів / А.К. Велигодська, **О.В. Федотов** // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету ім. Богдана Хмельницького. – 2015. – 5(3). – С. 43-54. (*участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті*)
39. **Федотов О.В.** Розробка способів отримання і аналіз ферментних препаратів пероксидаз та каталаз деяких видів базидіоміцетів / О.В. Федотов, Т.Є. Волошко // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету ім. Богдана Хмельницького. – 2013. – 1(7). – С. 113-127. (*участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті*)
40. Соломко Е.Ф. Вплив хімічних речовин на інтенсивність перекисного окислення ліпідів грибів *Flammulina velutipes* (Curt. ex fr.) Sing. та *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. / Е.Ф. Соломко, **О.В. Федотов**, О.В. Чайка // Природа Західного Полісся та прилеглих територій. – 2010. – 7. – С. 146-149. (*Наукове видання України.*) (*участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті*)
41. **Федотов О.В.** Активність ПОЛ і каталази макроміцетів – як можливі біоіндикаційні показники екологічного стану їх місця зростання / О.В. Федотов, А.М. Євсєєнкова, М.С. Перцевой // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Сер. «Сільськогосподарські науки». – 2008. – 82. – С. 73-81. (*Наукове видання України.*) (*участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні статті*)
42. **Федотов О.В.** Амінокислотний склад ферментних препаратів пероксидаз їстівних лікарських грибів *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes* і *Pleurotus ostreatus* / О.В. Федотов // Вісник Донецького університету. Сер. А: Природничі науки. – 2006. – 2. – С. 270-274. (*Наукове видання України.*)
43. **Федотов О.В.** Амінокислотний склад ферментних препаратів каталази їстівних лікарських грибів *Flammulina velutipes* і *Pleurotus ostreatus* / О.В. Федотов // Вісник Донецького університету. Сер. А: Природничі науки. – 2005. – 2. – С. 247-250.

Тези і матеріали конференцій

44. **Федотов О.В.** Інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів штамів базидієвих грибів. / О.В. Федотов // Актуальні питання розвитку

- біології та екології. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. – Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД». – 2016. – С. 294-297.
45. Регуляція росту та антиоксидантної активності культур базидіоміцетів вуглець- та азотовмісними речовинами / О.В. Чайка, Я.А. Зборовська, **О.В. Федотов** // Біотехнологія: звершення та надії. Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції. – К.: НУБіПУ, 2013. – С. 24-25.
46. Вплив джерел вуглецевого живлення на синтез поліфенольних речовин базидіоміцету *Fistulina hepatica* Fh-08/ А.К. Велигодська А.С. Петреєва, **О.В. Федотов** // Біотехнологія: звершення та надії. Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції. – К.: НУБіПУ, 2013. – С. 44-45.
47. **Федотов О.В.** Вплив рН живильного середовища на активність антиоксидантних оксидоредуктаз *Fistulina hepatica* / О.В. Федотов, Т.Є. Волошко // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів. – К.: ІФРiГ НАНУ, 2012. – С. 233-234.
48. Волошко Т.Є. Вплив вітаміну В₁₂ на активність антиоксидантних оксидоредуктаз базидіоміцету *Flammulina velutipes* / Т.Є. Волошко, **О.В. Федотов** // Матеріали XIII з'їзду Українського ботанічного товариства. – Львів, 2011. – С. 419.
49. **Fedotov O.V.** Wood-destroying fungi as bio-sources of ferments for medicinal and nutritional purposes / O.V. Fedotov // Plant and Microbial Enzymes: isolation, characterization and biotechnology applications. – Tbilisi: Myza, 2007. – P. 125-131.
50. **Федотов О.В.** Пероксидазная активность штаммов *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. / О.В. Федотов, Р.Б. Такташов // Микология и альгология – 2004. Материалы юбилейной конференции к 85-летию кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова. – М.: Прометей МПГУ, 2004. – С. 130-131.
51. **Fedotov O.V.** Mycelia antioxidant activity of the strains of genera *Pleurotus* (Fr.) Kumm. and *Flammulina* (Curt.: Fr.) Sing. / O.V. Fedotov, Y.U. Bugrim // The success of medical Mycology. – Vol. 3. – М.: National Academy of Mycology, 2003. – P. 252-254.
52. **Федотов О.В.** Амінокислотний склад білків ферментних препаратів молокозсідальної дії з ксилотрофа *Irpex lacteus* Fr. / О.В. Федотов // Проблеми ботаніки і мікології на порозі третього тисячоліття. Матеріали X з'їзду УБТ. – Київ-Полтава, 1997. – С. 109.

Патенти

53. Пат. на корисну модель 110849 Україна, МПК А01G1/04(2006.01). Спосіб біоконверсії лігноцелюлозних відходів переробки олійних культур з використанням дереворуйнівного базидіоміцету *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill / **О.В. Федотов**, А.К. Велигодська. № u201603509, заявл. 04.04.2016, опубл. 25.10.2016, Бюл. № 20. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень,

- статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
54. Пат. на корисну модель 91411 Україна, МПК С12N1/14(2006.01), А01G1/04(2006.01). Спосіб одержання ферментного препарату каталази штаму *Pleurotus ostreatus* Р-208 / **О.В. Федотов**, Т.Є. Волошко. № u201310997, заявл. 16.09. 2013, опубл. 10.07.2014, Бюл. № 13. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 55. Пат. на корисну модель 91413 Україна, МПК С12N1/14(2006.01), А01G1/04(2006.01). Спосіб одержання ферментного препарату пероксидази штаму *Agrocybe cylindracea* 167 / **О.В. Федотов**, Т.Є. Волошко. № u201311000, заявл. 16.09.2013, опубл. 10.07.2014, Бюл. № 13. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 56. Пат. на корисну модель 38623 Україна, МПК (2009), А01Н15/00, С12N1/14. Спосіб індукції пероксидазної активності базидіоміцетів *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. та *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. аскорбіновою кислотою / **О.В. Федотов**, Т.Є. Волошко. № u200809174, заявл. 14.07.2008, опубл. 12.01.2009, Бюл. № 1. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 57. Пат. на корисну модель 39027 Україна, МПК (2009), А01G7/00, А01Н3/00. Спосіб індукції пероксидазної активності базидіоміцетів *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. та *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. нікотиновою кислотою / **О.В. Федотов**, Т.Є. Волошко. № u200809154, заявл. 14.07.2008, опубл. 26.01.2009, Бюл. № 2. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 58. Пат. на корисну модель 8739 Україна, МПК 7С12N9/58. Спосіб одержання ферментного препарату пероксидази *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. / **О.В. Федотов**, О.Ю Кваско. № 200501510, заявл. 18.02.2005, опубл. 15.08.2005, Бюл. № 8. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 59. Пат. на корисну модель 8713 Україна, МПК 7С12N9/58, А61К38/00. Спосіб одержання ферментних препаратів каталази *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. і *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. / **О.В. Федотов**. № 200501341, заявл. 14.02.2005, опубл. 15.08.2005, Бюл. № 8. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)
 60. Деклараційний патент на винахід 40900А Україна, МПК 7С12M1/04, С12M1/38. Лабораторна ферментаційна установка для культивування базидіоміцетів. / С.Ф. Негруцький, М.І. Бойко, **О.В. Федотов**, В.О. Полях. № 2000105818, заявл. 16.10.00, опубл. 15.08.2001, Бюл. № 7. (провів патентний пошук найближчих аналогів, прийняв участь у плануванні, підготовці та

проведенні досліджень, статистичній обробці та аналізі експериментальних даних, написанні патенту)

АНОТАЦІЯ

Федотов О.В. Біотехнологічні засади регулювання і використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, Київ, 2018.

У дисертації представлено та проаналізовано нові дані вивчення прооксидантно-антиоксидантної системи 58 штамів, що належать до 13 видів порядків *Polyporales* та *Agaricales* відділу *Basidiomycota*.

Здійснено дослідження широкого спектру біохімічних показників базидієвих грибів, що відображають зміни у процесах синтезу фізіологічно активних сполук (антиоксидантів, оксидоредуктаз, каротиноїдів тощо) під впливом факторів культивування.

Висунуто теоретичні положення та експериментально доведено можливості індукції або/чи пригнічення певних прооксидантно-антиоксидантних процесів базидієвих грибів.

Обґрунтовано біотехнологічне використання показників і продуктів прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів.

Розроблено способи використання біосинтетичної активності (перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної і оксидоредуктазної активності, утворення пігментів) в біотехнології, галузях виробництва, екології.

Ключові слова: біотехнологія, перекисне окислення ліпідів, антиоксиданти, оксидоредуктази, пігменти, *Basidiomycota*.

АННОТАЦИЯ

Федотов О.В. Биотехнологические основы регуляции и использования прооксидантно-антиоксидантной активности базидиальных грибов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского» МОН Украины, Киев, 2018.

В диссертации представлены и проанализированы новые данные изучения прооксидантно-антиоксидантной системы 58 штаммов, относящихся к 13 видам порядков *Polyporales* и *Agaricales* отдела *Basidiomycota*.

Проведено исследование широкого спектра биохимических показателей базидиальных грибов, отражающих изменения в процессах синтеза физиологически активных соединений (антиоксидантов, оксидоредуктаз, каротиноидов и т.д.) под действием факторов культивирования.

Выдвинуто теоретические положения и экспериментально доказано возможности индукции и/или ингибирования определенных прооксидантно-антиоксидантных процессов базидиальных грибов.

Обоснованно биотехнологическое использование показателей и продуктов прооксидантно-антиоксидантной системы базидиевых грибов.

Разработаны способы использования биосинтетической активности (перекисного окисления липидов, антиоксидантной и оксидоредуктазной активности, синтеза пигментов) в биотехнологии, отраслях производства и экологии.

Ключевые слова: биотехнология, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, оксидоредуктазы, пигменты, *Basidiomycota*.

SUMMARY

Fedotov O.V. Biotechnological basics of regulation and using of prooxidant-antioxidant activity of Basidiomycetes. – Manuscript.

His thesis for the degree of doctor of biological sciences, specialty 03.00.20 – biotechnology. – National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute" Education of Ukraine, Kyiv, 2018.

The thesis presented and analyzed new data study prooxidant-antioxidant system 58 strains belonging to 13 species and order *Polyporales* and *Agaricales* Division *Basidiomycota*.

Executed complex research, analysis and generalization of results provided an opportunity to establish biotechnological basics of obtaining and using of prooxidant-antioxidant system of basidiomycetes.

It was established that intensity level of processes POL both in mycelium and in the culture fluid increases with time the cultivation of strains. This is explained increasing shortage, first of all carbon-containing nutrients and increase in quantity and concentration of metabolic products in the environment. Based on this change of the intensity of processes POL can be used for indication of biotechnological and ecological processes. In addition, shift the balance self-induced POL relatively initial (stationary) its level is indication of the development of stress-reaction, where products POL can be both inductors and primary mediators of such stress.

Detected strains of basidiomycetes have total antioxidant activity of mycelium and culture filtrate, that does not concede the activity used in industry of vegetable raw materials of the antioxidant. Furthermore established strains with the opposite AOA, high prooxidant activity of the culture filtrate and strains with a significant reserve of substrates of peroxide oxidation of mycelium. They are suggested to use in biotechnologies for the destruction of chemically stable compounds and the indication of relevant environmental factors.

It was proved that the coefficient of balance of prooxidant-antioxidant system is an integral indicator of the state of mushroom culture. For a large majority of strains, the predominance of the values of the balance coefficient of the prooxidant antioxidant system of mycelium over such a culture filtrate is characteristic. Strains with values of this coefficient of close to 1 can be recommended as producers of antioxidants of a micellar origin.

The possibility of regulation (induction or repression) of indications of prooxidant-antioxidant system of basidiomycetes is shown on the example of

biosynthetic active strains P-er *Pleurotus eryngii*, Fh-08 *Fistulina hepatica* та 960 *Agrocybe cylindracea*.

Based on the improvement of the composition of the culture medium and the biotechnology of obtaining, for the first time allocated mushroom enzyme preparations of Intracellular catalase of strains *Pleurotus ostreatus* and *Flammulina velutipes* and enzyme preparations of intra- and extracellular peroxidases of strains *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* і *Lentinula edodes*. It was established their enzymatic (not concede activity of industrial preparations) and antioxidant activity, Protein content and the mass percentage content of amino acids in proteins drugs, that show their acidic nature. The results of the study also showed the ability of strains to synthesize and accumulate polyphenols, carotenoids and melanins in the proposed cultivation conditions.

Particular attention was paid to the practical realization of experimental data and theoretical positions. Semi-productive and industrial testing of methods of practical use of prooxidant-antioxidant system of introduced strains of basidiomycetes in biotechnology: obtaining oxidoreductase, establishment of antioxidant activity of enzyme preparations, bioconversion of lignocellulosic waste using strains - carotenoid producers, biodegradation of organic derivatives of aniline, and others convincingly showed the efficiency of the proposed methods and approaches that provide production of new quality, diagnostics and intensification of biotechnological manufacture.

Keywords: Biotechnology, lipid peroxidation, antioxidants, oxidoreductase, pigments, *Basidiomycota*.