

УДК 582.28:579.6

О. Л. Рахімова¹, асист., В. М. Тоцький², д-р біол. наук, проф.,
О. В. Бабаянц³, канд. біол. наук зав. відділом фітопатології,
В. О. Іваниця¹ д-р біол. наук, проф., зав. кафедри
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
¹ каф. мікробіології та вірусології,
² каф. генетики та молекулярної біології
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail:
ogumicro@te.net.ua(subj:Rakh:movva)

³ Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насінництва
та сортовивчення УААН,
Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна

ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ ЇСТІВНИХ ГРИБІВ НА МІКРООРГАНІЗМИ

Досліджували антимікробні властивості екстрактів двох сортів Атол і Отрада Гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*) і штаму Delta-50 Печериці двуспорої (*Agaricus bisporus*) по відношенню до штамів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter citreus* та *Candida albicans*. В хлороформних, спиртових та ацетонових екстрактах досліджуваних грибів виявлена антимікробна дія. Найбільш виражений антимікробний вплив виявлявся проти *Staphylococcus aureus*. Водні екстракти посилювали ріст бактерій за 24-годинну експозицію. Значна більшість екстрактів практично не впливали на ріст бактерії *P. aeruginosa*, дріжджеподібного грибка *Candida albicans* та актиноміцету *Arthrobacter citreus*.

Ключові слова: антимікробна дія, глива, печериця.

Глива (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm., *Pleurotaceae*) — дереворуйнівні гриби, які знайшли широке застосування у харчовій промисловості [1]. В їх плодових тілах знайдено продукти основного та специфічного метаболізму: ліпіди, стероли, ліпофільні вітаміни, вітаміни групи В, моно-, оліго- та полісахариди, амінокислоти, білки, деякі ферменти, похідні аліфатичних вуглеводнів [2, 3, 4, 5, 6]. Деякі з цих речовин виявляють антивіральну [7], гіпохолестерольну [3], антимутагенну [8], протипухлинну [9], імуномодулюючу [10], гіпотензивну [11] дію. Реклама гливи як продукту стверджує, що вживання страв з цих грибів поліпшує роботу кишкового тракту людини, у тому числі за рахунок нормалізації мікробіоти. Однак, у сучасній літературі нами не знайдено повідомлень про вплив цих грибів на нормальну або патогенну мікробіоту людини. Повідомляється лише про знайдену антибіотичну активність міцелію та культуральної рідини гливи [12].

Тому метою нашої роботи було оцінити вплив екстрактів грибів *Pleurotus ostreatus* сортів Атол та Отрада, що створені у СГІ — НАЦ

НАІС УААН, та *Agaricus bisporus* штаму Delta-50 (Франція) — на представників умовно-патогенної мікробіоти.

Матеріал і методи дослідження

Субстратом для вирощування грибів *P. ostreatus* слугувала подрібнена та термічно оброблена пшенична солома. Як іноклюм використовували міцелій, який вирощували без біододатків на ячмінному або пшеничному зерні з додаванням рапсу з метою збагачення азотом. Плодові тіла гриби вирощували за умов природної вентиляції при температурі 15—18 °С, освітлення — 8 годин лампами денного світла з розрахунку 5 Вт/м². Вологість повітря — 85—90 %, що досягалося за допомогою поливу та зрошення туманом. Для одержання соків наважки 10 г сирової біомаси попередньо промитих і продезінфікованих грибних капелюшків асептично подрібнювали механічним способом. У якості екстрагентів використовували воду, етанол, ацетон, хлороформ. Екстракцію провадили при кімнатній температурі протягом 24 годин. Екстракти, отримані за допомогою органічних розчинників, випарювали досуха, а осад розчиняли в стерильній дистильованій воді. Контролем слугувала стерильна дистильована вода. Екстракти фільтрували через ватно-марлевий фільтр і пастеризували при температурі 70 °С для знищення контамінуючих мікроорганізмів.

Для визначення впливу екстрактів грибів використовували метод дифузії в агар за допомогою ямок в агаровому гелі [13] і метод серійних розведень.

Для з'ясування впливу екстрактів, отриманих за допомогою органічних розчинників, використовували метод дифузії в агар. Моделями слугували референт-штами з колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, які використовуються для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 18804; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Arthrobacter citreus* ATCC 11624; а також клінічний штам *S. aureus*, що має множинну стійкість до антибіотиків і був люб'язно наданий нам бактеріологічною лабораторією дитячої обласної клінічної лікарні м. Одеси.

Активність екстрактів оцінювали, вимірюючи діаметр зони відсутності чи поліпшення росту тест-штаму навколо ямки з екстрактом у порівнянні з дистильованою водою. В якості контролю для порівняння антимікробної активності використовували розчин бензилпеніциліну у концентрації 6 мкг/мл.

Облік результатів здійснювали через 24 години інкубації при 37 °С. Усі досліді провадили в п'яти повторностях.

За допомогою методу розведень досліджували водний екстракт зі свіжих грибів та грибів, що зберігалися на протязі тижня при температурі побутового холодильника. Для цього в усі пробірки, що містили по 4,5 мл екстрактів (контрольні пробірки містили 4,5 мл стерильної дистильованої води), додавали 0,5 мл суспензії 24-годинних культур

тест-мікроорганізмів *S. aureus* у концентрації 10^6 мікробних тіл у 1 мл за оптичним стандартом. Інкубацію провадили при $37\text{ }^\circ\text{C}$ протягом години. Потім готували десятикратні серійні розведення, з яких відразу ж робили висів на агаризоване поживне м'ясо-пептонне середовище (МПА). По відношенню кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) у мілілітрі суспензії з екстрактом до кількості КУО у мілілітрі контрольної суспензії, судили про вплив водних екстрактів грибів на тест-мікроорганізми. Висіви провадили у трикратній повторності.

Визначали довірчий інтервал при 95 % рівні ймовірності [14].

Результати й обговорення

Практично в усіх досліджуваних екстрактах була виявлена антимікробна дія, що відрізнялася за спектром і ступенем антимікробного впливу (табл. 1). Всі досліджені екстракти, отримані з допомогою органічних розчинників, виявляли м'яку антибактеріальну дію як проти грампозитивних бактерій (*S. aureus*) і актиноміцетів (*A. citreus*), грамнегативних (*E. coli*) бактерій, так і фунгістатичну дію проти дріжджеподібних грибків (*C. albicans*). Найбільш чутливими до грибних екстрактів виявилися штами *S. aureus* і *E. coli*. Звертає на себе увагу те, що клінічний тест-штам *S. aureus* менш чутливий до екстрактів, ніж референс-штам *S. aureus*. Найбільш широкий спектр та ступінь антибактеріальної дії мав сорт гливи Атол. Органічні екстракти викликали появу найбільших зон відсутності росту тест-штамів, а водний екстракт виявляв антибактеріальну дію проти штаму *P. aeruginosa*, що є стійким до інших екстрактів.

Як видно з табл. 1, водні екстракти за період експозиції виявляли переважно стимулюючий вплив на ріст бактерій. Цей факт є загальновідомим для різних видів печериці, тому екстракти з цих грибів дуже часто використовують як компоненти поживних середовищ для гетеротрофних мікроорганізмів [15]. Для гливи цей феномен виявлено нами вперше.

У подальшому ми досліджували вплив водних екстрактів свіжих грибів і тих же грибів після їх тижневого зберігання у побутовому холодильнику на клінічний тест-штам *S. aureus* і референс-штам *S. aureus* (табл. 2). В цих дослідях інкубація зразків з тест-мікробом тривала лише годину.

Звертає на себе увагу різниця у прояві впливу водних екстрактів в залежності від тривалості експозиції. Якщо експозиція триває протягом години (табл. 2), то в протилежність 24-годинній експозиції (табл. 1), водні екстракти виявляють м'яку антимікробну дію по відношенню до референс-штаму. Однак на клінічний штам такої дії водні екстракти не виявляли. Найбільш активну антимікробну дію було виявлено у екстракту зі свіжих плодових тіл сорту Атол. Навіть при збереженні грибів протягом 7 днів при температурі побутового холодильника антимікробний вплив зберігається, хоч і в дещо ослабленому стані.

Таблиця 1

Вплив різних екстрактів грибів на тест-штами мікроорганізмів у вигляді зон відсутності або поліпшення росту (мм)

Екстрагуючі засоби	Гриб	Тест-штами					
		<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> Type	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. citreus</i>
Ацетон	<i>P. ostreatus</i> Отрада	-2,0±0,1	0,0	-1,0±0,05	-1,0±0,02	0,0	0,0
	<i>P. ostreatus</i> Атол	-2,0±0,1	-1,0±0,05	-1,0±0,1	-10,0±0,2	0,0	0,0
	<i>A. bisporus</i>	-1,0±0,1	0,0	-1,0±0,1	-1,0±0,02	0,0	0,0
Спирт	<i>P. ostreatus</i> Отрада	0,0	0,0	-1,0±0,01	-1,0±0,01	0,0	0,0
	<i>P. ostreatus</i> Атол	-2,0±0,1	0,0	-1,0±0,02	-1,0±0,1	0,0	0,0
	<i>A. bisporus</i>	0,0	0,0	-2,0±0,01	-1,0±0,03	0,0	0,0
Хлороформ	<i>P. ostreatus</i> Отрада	0,0	0,0	-1,0±0,02	-2,0±0,02	0,0	0,0
	<i>P. ostreatus</i> Атол	-1,0±0,1	0,0	-1,0±0,01	-1,0±0,01	0,0	-1,0±0,01
	<i>A. bisporus</i>	0,0	0,0	0	-1,0±0,02	0,0	0,0
Вода	<i>P. ostreatus</i> Отрада	+5,0±0,2	0,0	+1,0±0,1	+1,0±0,1	0,0	0,0
	<i>P. ostreatus</i> Атол	+6,0±0,2	0,0	+18,0±0,2	+4,0±0,1	-4,0±0,1	-3,0±0,05
	<i>A. bisporus</i>	+3,0±0,1	+5,0±0,2	+2,0±0,1	+6,0±0,1	+6,0±0,1	+6,0±0,1
Контроль	Бензилпеницилін	0,0	0,0	-29,0±0,9	-30,0±1,0	-20,0±1,0	0,0

Примітка: "+" — збільшення біомаси тест-штаму навколо ямки з екстрактом;
 "-" — відсутність росту тест-штаму

Таблиця 2

Вплив водних екстрактів свіжих та зі збережених протягом тижня грибів на ріст досліджуваних штамів *S. aureus* (відсоток КУО у порівнянні з контролем)

Гриби	Штами <i>S. aureus</i>			
	Клінічний		ATCC 25923	
	Екстракт свіжезібраних	Екстракт збережених	Екстракт свіжезібраних	Екстракт збережених
Контроль (дист. вода)	100	100	100	100
<i>P. ostreatus</i> Отрада	110	130	50	51
<i>P. ostreatus</i> Атол	105	126	41	51
<i>A. bisporus</i>	176	131	70	80

Таким чином, нами виявлено антимікробний вплив екстрактів гливи на досліджувані тест-штами. Показано, що на відміну від антибіотиків, антимікробна дія грибних екстрактів дуже м'яка, виявляється не до всіх штамів, тому ми можемо вважати цю дію нормалізуючою, а не лікувальною.

Література

1. Chang R. Functional properties of edible mushrooms // *Nutr. Rev.* — 1996. — 54. — N 11. — P. 91—93.
2. Bautista Justo M., Alanis Guzman M. G., Gonzalez de Mejia E., Garcia Diaz C. L. Chemical composition of three Mexican strains of mushrooms (*Pleurotus ostratus*) // *Arch. Latinoam. Nutr.* — 1998. — 48. — N 4. — P. 359—363.
3. Opletal L. Phytotherapeutic aspects of diseases of the circulatory system. 2. The oyster mushroom and its potential use // *Cesk. Farm.* — 1993. — 42. — N 4. — P. 160—166.
4. Cohen R., Persky L., Hadar Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2002. — 58. — N 5. — P. 582—594.
5. Будняк О. К., Бабаянц О. В., Косошкіна О. О., Запорожченко О. В., Петров С. А., Магла М. Г. Вміст деяких біологічно активних сполук в тканинах грибів *Pleurotus ostratus* // Вісник Одеського національного університету. — Одеса: ОНУ, 2003. — Т. 8, Вип. 2. — С. 7—11.
6. Tribak M., Ocampo J. A., Garcia-Romera I. Production of xyloglucanolytic enzymes by *Trichoderma viride*, *Paecilomyces farinosus*, *Wardomyces inflatus*, and *Pleurotus ostreatus* // *Mycologia.* — 2002. — V. 94. — N 3. — P. 404—410.
7. Wang H. X., Ng T. B. Isolation of a novel ubiquitin-like protein from *Pleurotus ostreatus* mushroom with anti-human immunodeficiency virus, translation-inhibitory, and ribonuclease activities // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — V. 276. — N 2. — P. 587—593.
8. Filipic M., Umek A., Mlinaric A. Screening of Basidiomycete mushroom extracts for antigenotoxic and bio-antimutagenic activity // *Pharmazie.* — 2002. — V. 57. — N 6. P. 416—420.
9. Grube B. J., Eng E. T., Kao Y.-C., Kwon A., Chen S. White Button Mushroom Phytochemicals Inhibit Aromatase Activity and Breast Cancer Cell Proliferation // *Journal of Nutrition.* — 2001. — V. 131. — P. 3288—3293.
10. Wasser S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2002. — V. 60. — N 3. — P. 258—274.
11. Tam S. C., Yip K. P., Fung K. P., Chang S. T. Hypotensive and renal effects of an extract of the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* // *Life Sci.* — 1986. — V. 38. — N 13. — P. 1155—1161.
12. Coletto M. A. B. Basidiomycetes in relation to antibiosis. II. Antibiotic activity of mycelia and culture liquids // *J. Bacteriol. Virol. Immunol.* — 1981. — V. 74. — N 7. — P. 267—74.
13. Егоров Н. С. Практикум по микробиологии. — 1976. — М.: МГУ. — С. 251—252.
14. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: МГУ, 1980. — 150 с.
15. *Prokaryotes*, 2nd edn. Balows A., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleiter K.H. (eds). New York: Springer-Verlag, 1992. — 3416 p.

Е. Л. Рахімова, В. Н. Тоцький, О. В. Бабаянц, В. А. Іваниця

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. микробиологии и вирусологии, каф. генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноводства и
сортоизучения УААН,
Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Резюме

Исследовали антимикробные свойства двух сортов Атолл и Отрада Вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) и штамма Delta-50 Шампиньона двуспорового (*Agaricus bisporus*) по отношению к штаммам *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter citreus* и *Candida albicans*. У хлороформных, спиртовых и ацетоновых экстрактов исследованных грибов обнаружено антимикробное действие. Наиболее выраженное антимикробное действие выявлено против *Staphylococcus aureus*. Водные экстракты усиливали рост бактерий при 24 часовой экспозиции. Значительное большинство экстрактов практически не влияло на рост бактерий *P. aeruginosa*, дрожжеподобного грибка *Candida albicans* и актиноциета *Arthrobacter citreus*.

Ключевые слова: антимикробное действие, вешенка, шампиньон.

O. L. Rakhimova, V. M. Totkii, O. V. Babajants, V. O. Ivanitsa

Odessa National University,
Microbiology and virology department, Department of Genetics and Molecular
Biology,
Dvoryanskaya 2, Odessa 65026, Ukraine

Plant Breeding and Genetics Institute UAAS,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

THE EDIBLE MUSHROOM EXTRACT INFLUENCE ON THE MICROORGANISMS

Summary

The antimicrobial properties of two grades of *Pleurotus ostreatus* Atoll and *Pleurotus ostreatus* Otrada and *Agaricus bisporus* against *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter citreus* and *Candida albicans* were studied. The antimicrobial influence was found out in chloroform, ethanol and acetone extracts. The strongest antimicrobial influence was shown against *Staphylococcus aureus*. The water extracts increase the bacterial growth after 24 hours exposure. The majority of extracts didn't influence the growth of bacteria *P. aeruginosa*, yeast *Candida albicans* and actinomicete *Arthrobacter citreus*.

Keywords: antimicrobial influence, oyster, mushroom.