

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ /
BIOTECHNOLOGY OF FOOD AND BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.47.2>

ВЛИЯНИЕ ДРЕВЕСНОГО СУБСТРАТА НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МИЦЕЛИЯ *INOCUTIS DRYOPHILA* (BULL.) P. KARST

Научная статья

Горностай Т.Г.^{1,*}

¹ ORCID : 0000-0002-1120-2148;

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (t.g.gornostay[at]yandex.ru)

Аннотация

Проведен сравнительный анализ жирных кислот общих липидов мицелия *I. dryophila*, полученного на двух породах древесного субстрата *B. pendula* и *P. tremula*. Была выявлена субстратная зависимость в синтезе жирных кислот. Основные изменения насыщенных жирных кислот пришлись на стеариновую, гептадекановую, арахидиновую, бегеновую и миристиновую кислоты; для ненасыщенных жирных кислот на линолевую, пальмитиновую, олеиновую и цис-вакценовую кислоты. Мицелий *I. dryophila* полученный на субстрате *P. tremula* характеризовался увеличением ненасыщенных жирных кислот, индекса двойных связей и коэффициента ненасыщенности, в связи с этим может быть рекомендован в качестве потенциального сырья для дальнейшего практического применения.

Ключевые слова: *Inocutis dryophila*, древесный субстрат, жирные кислоты, *Betula pendula*, *Populus tremula*.

INFLUENCE OF WOOD SUBSTRATE ON THE FATTY ACID COMPOSITION OF MYCELIUM OF *INOCUTIS DRYOPHILA* (BULL.) P. KARST

Research article

Gornostai T.G.^{1,*}

¹ ORCID : 0000-0002-1120-2148;

¹ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

* Corresponding author (t.g.gornostay[at]yandex.ru)

Abstract

A comparative analysis of fatty acids of total lipids of *I. dryophila* mycelium obtained on two species of wood substrate *B. pendula* and *P. tremula* was carried out. Substrate dependence in fatty acid synthesis was detected. The main changes in saturated fatty acids were in stearic, heptadecanoic, arachidic, behenic and myristic acids; for unsaturated fatty acids in linoleic, palmitic, oleic and cis-vaccenic acids. The mycelium of *I. dryophila* obtained on *P. tremula* substrate was characterized by an increase in unsaturated fatty acids, double bond index and unsaturation coefficient, therefore it can be recommended as a potential raw material for further practical application.

Keywords: *Inocutis dryophila*, wood substrate, fatty acids, *Betula pendula*, *Populus tremula*.

Введение

В последнее десятилетие грибы занимают одну из ведущих ролей в качестве продуцентов в биотехнологических производствах. С увеличением спроса на БАД грибы рассматриваются как наиболее прогрессивные источники получения эссенциальных жирных кислот [1]. Для грибов характерно преобладание диеновой линолевой кислоты (C18:2) и высокая степень ненасыщенности липидов (1,2-1,4), что выгодно отличает их липиды от бактериальных и дрожжевых с позиции практического применения [2]. Учитывая гетеротрофный способ питания дереворазрушающих грибов, субстрат является основным фактором окружающей среды, влияющий на все важные процессы жизнедеятельности и распространение видов [3]. Изменения в субстрате при получении плодовых тел или мицелия грибов несет значительные изменения в физиологических процессах [4] и влияет на их биохимический состав [5]. Липиды служат показателем состояния клеточных мембран, отражая тем самым специфику адаптации мицелия к условиям культивирования, в том числе и на изменение в субстрате [6]. Правильно подобранный субстрат ведет к получению качественного сырья или функционального продукта нужного состава. Возможное получение незаменимых ЖК – линолевой, линоленовой и арахидоновой из малоизученных видов, является актуальной задачей биотехнологии грибов. Ранее нами показано, что мицелий *I. dryophila* способен активно накапливать мицелиальную массу на древесном субстрате [7].

Цель данного исследования – изучить и сравнить относительный состав жирных кислот общих липидов мицелия *Inocutis dryophila* полученного на разных породах древесного субстрата *Betula pendula* и *Populus tremula*.

Методы и принципы исследования

В работе использовали мицелий *Inocutis dryophila*, чистая культура была получена из коллекции культур высших базидиальных грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE BIN). Далее штамм поддерживался в ЦКП «Биоресурсный центр» СИФИБР СО РАН. Мицелиальную массу получали выращиванием на древесных дисках в стерильных емкостях в стационарных камерах KBF 720 (Binder, Tuttlingen, Deutschland) при температуре 25 °C на субстрате двух разных древесных пород *Betula pendula* Roth (Betulaceae) и *Populus tremula* L. (Salicaceae) в темноте.

Полученную чистую мицелиальную массу высушивали до воздушно-сухого состояния при температуре не выше 45 °С, измельчали в однородную массу с величиной частиц не больше 2 мм и далее использовали для выделения липидной фракции и получения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК). Процедура выделения, а также анализ методом ГХ/МС, был описан ранее [8].

В ходе статистического анализа все данные были выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение после статистического анализа, осуществленного с помощью пакета SigmaPlot 12.0.

Основные результаты и обсуждение

В ходе анализа жирнокислотного состава общих липидов мицелия *I. dryophila*, полученного на древесном субстрате *B. pendula* и *P. tremula* в темноте на долю насыщенных (НЖК) приходилось 34,91-39,92%, с преобладанием пальмитиновой (С16:0), стеариновой (С18:0) и бегеновой (С22:0) кислот. Ненасыщенные жирные кислоты (ННЖК) составляли 60,08-65,09% липидного комплекса, мажорным компонентом была линолевая (С18:2(п-6)) кислота, что согласуется с результатами ЖК анализа мицелия разных видов базидиомицетов рода *Ganoderma*, полученного при глубинном культивировании [9]. Не зависимо от субстрата, компонентный состав липидов мицелия *I. dryophila* был представлен жирными кислотами с длинной цепи С14-С22. Для синтеза пентадециловой (С15:0), пальмитиновой (С16:0) и генэйкозановой (С21:0) кислот не было выявлено зависимости от субстратного фактора (табл.1).

При использовании в качестве субстрата березовых дисков наблюдалось повышение количества стеариновой, гептадекановой, арахидиновой НЖК на 5,3%, 1% и 0,9%, соответственно, больше чем на осине, при этом содержание бегеновой и миристиновой НЖК на 1,9 и 0,37%, соответственно, становилось меньше.

Таблица 1 - Характеристика состава жирных кислот мицелия *I. dryophila* при культивировании на разном древесном субстрате

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.47.2.1>

Кислота		Субстрат, вес. %	
		<i>B. pendula</i>	<i>P. tremula</i>
Миристиновая	С14:0	0,84 \pm 0,19	1,21 \pm 0,19
Пентадекановая	С15:0	1,48 \pm 0,26	1,74 \pm 0,33
Пальмитиновая	С16:0	20,36 \pm 2,15	19,72 \pm 1,64
Изомеры Пальмитолеиновой кислоты	С16:1(п-5)	0	0,17 \pm 0,28
	С16:1(п-7)	0,35 \pm 0,05	0,83 \pm 0,23
Гептадекановая	С17:0	1,57 \pm 0,21	0,61 \pm 0,13
Стеариновая	С18:0	10,93 \pm 1,02	5,62 \pm 0,34
Олеиновая	С18:1(п-9)	6,22 \pm 0,28	4,89 \pm 0,12
Цис-вакценовая	С18:1(п-7)	5,06 \pm 0,41	3,90 \pm 0,4
Линолевая	С18:2(п-6)	48,44 \pm 2,16	55,31 \pm 3,18
Арахидиновая	С20:0	1,32 \pm 0,24	0,42 \pm 0,08
Генэйкозановая	С21:0	0,64 \pm 0,27	0,90 \pm 0,21
Бегеновая	С22:0	2,78 \pm 0,26	4,70 \pm 0,31
DBI		1,09 \pm 0,03	1,20 \pm 0,06
Σ SFA		39,92 \pm 1,10	34,91 \pm 3,41
Σ USFA		60,08 \pm 1,10	65,09 \pm 3,41
Σ USFA / Σ SFA		1,51 \pm 0,06	1,88 \pm 0,29

Примечание: в таблице представлены средние значения и стандартное отклонение; в статистическую значимость отличий ($p \leq 0,05$) определяли, используя *H*-критерий Краскела-Уоллиса. DBI (Double Bond Index) – индекс двойной связи; Σ SFA – сумма насыщенных жирных кислот; Σ USFA – сумма ненасыщенных жирных кислот; Σ USFA / Σ SFA – отношение суммы ненасыщенных жирных кислот к сумме насыщенных жирных кислот

Субстратная зависимость выявлена для сумм НЖК и ННЖК, что согласуется с данными мицелия *Inonotus rhododes*, полученного на разных субстратах [8]. Повышение суммы НЖК на 5%, главным образом, связано с увеличением содержания стеариновой кислоты и, вероятно, частично обусловлено снижением содержания линолевой кислоты при использовании березы в качестве субстрата на столько же процентов. Основные изменения в пользу увеличения количества ННЖК наблюдали при использовании осины в качестве субстрата, были связаны с линолевой и пальмитиновой кислотой. Изомер (п-5) пальмитиновой кислоты был обнаружен только в мицелии, полученном на осине, а количество изомера (п-7) возросло на 0,5%, по литературе пальмитолеиновую кислоту удается обнаружить не у всех базидиомицетов, она считается редкой. Содержание олеиновой и цис-вакценовой кислоты уменьшалось на 1,3 и 1,17%, соответственно, относительно мицелия, полученного на березе. Повышение ненасыщенности ЖК мицелия,

полученного на осине, также подтверждается соответствующими изменениями коэффициента ненасыщенности и в содержании индекса двойных связей. Стоит отметить, что грибы по-разному реагируют на изменения субстрата, так мицелий *I. rheades*, полученный на тех же субстратах, проявляет обратную зависимость в содержании ННЖК, их количество увеличивается при использовании березы, в большей степени за счет линолевой кислоты [8]. С позиции практического использования большую ценность имеет сырье с высоким показателем ненасыщенности.

Полученные данные демонстрируют содержание в мицелии *I. dryophila* эссенциальных жирных кислот необходимых для организма человека. Линолевая кислота критически важна для функционирования клеточных мембранах, является их структурным элементом. Использование линолевой кислоты в диетологии оказывает положительное влияние на метаболический статус больных ожирением [10]. Повышение содержания линолевой кислоты на 6,9% при использовании осины в качестве субстрата, очень важный аргумент с точки зрения регуляции количественного выхода и получения кислоты из природного источника. Также важно наличие в мицелии *I. dryophila* арахидоновой кислоты, условно эссенциальной, используемые в медицине для профилактики и лечения ряда заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, артериальная гипертензия, гипертриглицеридемия и сахарный диабет [11], неалкогольная жировая болезнь печени, болезни суставов, центральной нервной системы, аутоиммунные и кожные заболевания [12].

Наличие незаменимых жирных кислот в мицелии *I. dryophila* дает предпосылки для более детального изучения химического состава данного сырья, с целью его дальнейшего практического применения.

Заключение

Исследование состава ЖК общих липидов мицелия *I. dryophila* при культивировании на древесине разных пород *B. pendula* и *P. tremula* в темноте показало, что этот состав может значительно изменяться под действием субстратного фактора. В зависимости от использованного субстрата наблюдалось изменение в накоплении стеариновой, олеиновой, линоленовой и бегеновой кислот. Мицелий, полученный на субстрате *P. tremula*, характеризовался более высоким содержанием ННЖК. Полученные данные дают основания рекомендовать мицелий *I. dryophila* в качестве сырья, как для целенаправленного получения незаменимых жирных кислот, так и в качестве побочного продукта.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (Госрегистрационный номер проекта – 122041100049-0).

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of RAS (Project State Registration No – 122041100049-0).

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Феофилова Е.П. Мицелиальные грибы как источники получения новых лекарственных препаратов с иммуномодулирующей, противоопухолевой и ранозаживляющей активностями / Е.П. Феофилова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2004. — 1. — с. 27-32.
2. Пучкова Т. Перспективы использования биологически активных соединений лекарственных грибов / Т. Пучкова, В. Бабицкая, В. Щерба // Наука и инновации . — 2006. — 12(46). — с. 37-40.
3. Мухин А.В. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины / А.В. Мухин — Екатеринбург: УИФ "Наука", 1993. — 231 с.
4. Sharma S. Growth and yield of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates / S. Sharma, R.K.P. Yadav, S.P. Pokhrel // Journal on New Biological Reports. — 2013. — 2(1). — р. 3-8.
5. Проценко М.А. Биологически активные соединения плодовых тел и культивируемого мицелия базидиального гриба *Daedalopsis tricolor* / М.А. Проценко, Г.П. Трошкова, Т.А. Косонова // Фундаментальные исследования. — 2014. — 12. — с. 136-140.
6. Ивашечкин А.А. Влияние лигнина и кислорода на рост и липидообразование *Lentinus tigrinus* / А.А. Ивашечкин, Я.Э. Сергеева, В.В. Лунин и др. // Прикладная биохимия и микробиология. — 2014. — 50(3). — с. 318-323.
7. Горноста́й Т.Г. Химический состав, способ получения и фармакогностическая характеристика мицелия *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae) : дис. ...канд. : 14.04.02 : защищена 2019-12-10 : утв. 2020-10-15 / Т.Г. Горноста́й — 2019: 2020. — 208 с.
8. Горноста́й Т.Г. Липиды *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae): влияние субстрата и светового режима на жирнокислотный профиль мицелия / Т.Г. Горноста́й, М.С. Полякова, Г.Б. Боровский и др. // Химия растительного сырья. — 2018. — 1. — с. 105-111.
9. Цивилева О.М. Липидные компоненты пигментированного и глубинного мицелия *Ganoderma* разных климатических зон / О.М. Цивилева, Л.Н. Нгуен, Л.Н. Ву и др. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. — 2015. — 3(14). — с. 37-47.

10. Богданов А.Р. Конъюгированная линолевая кислота в диетотерапии ожирения: состояние проблемы / А.Р. Богданов, М.В. Зейгарник, Б.С. Каганов и др. // Вопросы диетологии. — 2012. — 2(3). — с. 15-24.
11. Плотникова Е.Ю. Роль Омега-3 ненасыщенных кислот в профилактике и лечении различных заболеваний (Часть 1) / Е.Ю. Плотникова, М.Н. Синькова, Л.К. Исаков // Лечащий врач. — 2018. — 7. — с. 63-67.
12. Плотникова Е.Ю. Роль Омега-3 ненасыщенных кислот в профилактике и лечении различных заболеваний (Часть 2) / Е.Ю. Плотникова, М.Н. Синькова, Л.К. Исаков // Лечащий врач. — 2018. — 8. — с. 56-61.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Feofilova E.P. Mitselial'nye griby kak istochniki polucheniya novykh lekarstvennykh preparatov s immunomodulirujushej, protivopuholevoj i ranozazhivljajushej aktivnostjami [Mycelial fungi as potential sources of new drugs with immunomodulatory, anti-tumor and wound-healing properties] / E.P. Feofilova // Immunopathology, allergology, infectology. — 2004. — 1. — p. 27-32. [in Russian]
2. Puchkova T. Perspektivy ispol'zovanija biologicheski aktivnykh soedinenij lekarstvennykh gribov [Prospects for the use of biologically active compounds of medicinal mushrooms] / T. Puchkova, V. Babitskaja, V. Scherba // Science and Innovations. — 2006. — 12(46). — p. 37-40. [in Russian]
3. Muhin A.V. Biota ksilotrofnyh bazidiomitsetov Zapadno-Sibirskoj ravniny [Biota of xylophilic basidiomycetes of the West Siberian Plain] / A.V. Muhin — Ekaterinburg: UIF "Nauka", 1993. — 231 p. [in Russian]
4. Sharma S. Growth and yield of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates / S. Sharma, R.K.P. Yadav, S.P. Pokhrel // Journal on New Biological Reports. — 2013. — 2(1). — p. 3-8.
5. Protsenko M.A. Biologicheski aktivnye soedinenija plodovyh tel i kultiviruemogo mitselija bazidial'nogo griba *Daedaleopsis tricolor* [Biologically active compounds fruiting bodies and mycelium of the basidiomycete *Daedaleopsis tricolor*] / M.A. Protsenko, G.P. Troshkova, T.A. Kosogova // Fundamental research. — 2014. — 12. — p. 136-140. [in Russian]
6. Ivashchkin A.A. Vlijanie lignina i kisloroda na rost i lipidobrazovanie *Lentinus tigrinus* [Influence of lignin and oxygen on the growth and the lipid formation of the fungus *Lentinus tigrinus*] / A.A. Ivashchkin, Ja.E. Sergeeva, V.V. Lunin et al. // Applied Biochemistry and Microbiology. — 2014. — 50(3). — p. 318-323. [in Russian]
7. Gornostaj T.G. Himicheskij sostav, sposob polucheniya i farmakognosticheskaja harakteristika mitselija *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae) [Chemical composition, method of obtaining and pharmacognostic characteristics of the mycelium of *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae)] : dis...of PhD in Medicine : 14.04.02 : defense of the thesis 2019-12-10 : approved 2020-10-15 / T.G. Gornostaj — 2019: 2020.— 208 p. [in Russian]
8. Gornostaj T.G. Lipidy *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae): vlijanie substrata i svetovogo rezhima na zhirmokislотноj profil' mitselija [Lipids of *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae): Influence of substrate and light mode on fatty acid profile of mycelium] / T.G. Gornostaj, M.S. Poljakova, G.B. Borovskij et al. // Chemistry of plant raw materials. — 2018. — 1. — p. 105-111. [in Russian]
9. Tsivileva O.M. Lipidnye komponenty pigmentirovannogo i glubinnogo mitselija *Ganoderma* raznykh klimaticheskikh zon [Lipidic components of pigmented and submerged mycelium of *Ganoderma* from different climatic zones] / O.M. Tsivileva, L.N. Nguen, L.N. Vu et al. // News of universities. Applied chemistry and biotechnology. — 2015. — 3(14). — p. 37-47. [in Russian]
10. Bogdanov A.R. Kon'jugirovannaja linolevaja kislota v dietoterapii ozhireniya: sostojanie problemy [Conjugated linoleic acid in diet therapy of obesity: the state of the problem] / A.R. Bogdanov, M.V. Zejgarnik, B.S. Kaganov et al. // Dietetics issues. — 2012. — 2(3). — p. 15-24. [in Russian]
11. Plotnikova E.Ju. Rol' Omega-3 nenasyschennykh kislot v profilaktike i lechenii razlichnykh zabolevanij (Chast' 1) [The role of Omega-3 unsaturated acids in the prevention and treatment of various diseases (Part 1)] / E.Ju. Plotnikova, M.N. Sin'kova, L.K. Isakov // Attending Doctor. — 2018. — 7. — p. 63-67. [in Russian]
12. Plotnikova E.Ju. Rol' Omega-3 nenasyschennykh kislot v profilaktike i lechenii razlichnykh zabolevanij (Chast' 2) [The role of Omega-3 unsaturated acids in the prevention and treatment of various diseases (Part 2)] / E.Ju. Plotnikova, M.N. Sin'kova, L.K. Isakov // Attending Doctor. — 2018. — 8. — p. 56-61. [in Russian]