



ISBN 978-1-948507-16-5

SCIENTIFIC ELECTRONIC
LIBRARY
LIBRARY.RU

Google
scholar

[HTTPS://SCIENTIFIC-CONFERENCE.COM](https://scientific-conference.com)



**LIBRARY OF
CONGRESS (USA)**

**II INTERNATIONAL CORRESPONDENCE
SCIENTIFIC SPECIALIZED CONFERENCE
INTERNATIONAL SCIENTIFIC
REVIEW OF THE PROBLEMS
OF NATURAL SCIENCES AND MEDICINE**

Boston. USA. April 27-28, 2018

ISBN 978-1-948507-16-5

UDC 08

**II INTERNATIONAL CORRESPONDENCE
SCIENTIFIC SPECIALIZED CONFERENCE
«INTERNATIONAL SCIENTIFIC REVIEW OF
THE PROBLEMS OF NATURAL SCIENCES
AND MEDICINE»
(Boston. USA. April 27-28, 2018)**

BOSTON. MASSACHUSETTS
PRINTED IN THE UNITED STATES OF AMERICA
2018

**INTERNATIONAL SCIENTIFIC REVIEW OF THE PROBLEMS OF NATURAL SCIENCES AND
MEDICINE / COLLECTION OF SCIENTIFIC ARTICLES. II INTERNATIONAL
CORRESPONDENCE SCIENTIFIC SPECIALIZED CONFERENCE (Boston, USA, April 27-28,
2018). Boston. 2018**

EDITOR: EMMA MORGAN
TECHNICAL EDITOR: ELIJAH MOORE
COVER DESIGN BY DANIEL WILSON

CHAIRMAN OF THE ORGANIZING COMMITTEE: VALTSEV SERGEI
CONFERENCE ORGANIZING COMMITTEE:

Abdullaev K. (PhD in Economics, Azerbaijan), *Alieva V.* (PhD in Philosophy, Republic of Uzbekistan), *Akbulaev N.* (D.Sc. in Economics, Azerbaijan), *Alikulov S.* (D.Sc. in Engineering, Republic of Uzbekistan), *Anan'eva E.* (D.Sc. in Philosophy, Ukraine), *Asaturova A.* (PhD in Medicine, Russian Federation), *Askarhodzhaev N.* (PhD in Biological Sc., Republic of Uzbekistan), *Bajtasov R.* (PhD in Agricultural Sc., Belarus), *Bakiko I.* (PhD in Physical Education and Sport, Ukraine), *Bahor T.* (PhD in Philology, Russian Federation), *Baulina M.* (PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Blejh N.* (D.Sc. in Historical Sc., PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Bobrova N.A.* (Doctor of Laws, Russian Federation), *Bogomolov A.* (PhD in Engineering, Russian Federation), *Borodaj V.* (Doctor of Social Sciences, Russian Federation), *Volkov A.* (D.Sc. in Economics, Russian Federation), *Gavrilenkova I.* (PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Garagonich V.* (D.Sc. in Historical Sc., Ukraine), *Glushhenko A.* (D.Sc. in Physical and Mathematical Sciences, Russian Federation), *Grinchenko V.* (PhD in Engineering, Russian Federation), *Gubareva T.* (PhD Laws, Russian Federation), *Gutnikova A.* (PhD in Philology, Ukraine), *Datij A.* (Doctor of Medicine, Russian Federation), *Demchuk N.* (PhD in Economics, Ukraine), *Divnenko O.* (PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Dmitrieva O.A.* (D.Sc. in Philology, Russian Federation), *Dolenko G.* (D.Sc. in Chemistry, Russian Federation), *Esenova K.* (D.Sc. in Philology, Kazakhstan), *Zhamuldinov V.* (PhD Laws, Kazakhstan), *Zholdoshev S.* (Doctor of Medicine, Republic of Kyrgyzstan), *Ibadov R.* (D.Sc. in Physical and Mathematical Sciences, Republic of Uzbekistan), *Il'inskih N.* (D.Sc. Biological, Russian Federation), *Kajrakbaev A.* (PhD in Physical and Mathematical Sciences, Kazakhstan), *Kaftaeva M.* (D.Sc. in Engineering, Russian Federation), *Koblanov Zh.* (PhD in Philology, Kazakhstan), *Koval'ov M.* (PhD in Economics, Belarus), *Kravcova T.* (PhD in Psychology, Kazakhstan), *Kuz'min S.* (D.Sc. in Geography, Russian Federation), *Kulikova E.* (D.Sc. in Philology, Russian Federation), *Kurmanbaeva M.* (D.Sc. Biological, Kazakhstan), *Kurpajanidi K.* (PhD in Economics, Republic of Uzbekistan), *Linkova-Daniels N.* (PhD in Pedagogic Sc., Australia), *Lukienko L.* (D.Sc. in Engineering, Russian Federation), *Makarov A.* (D.Sc. in Philology, Russian Federation), *Macarenko T.* (PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Meimanov B.* (D.Sc. in Economics, Republic of Kyrgyzstan), *Muradov Sh.* (D.Sc. in Engineering, Republic of Uzbekistan), *Nabiev A.* (D.Sc. in Geoinformatics, Azerbaijan), *Nazarov R.* (PhD in Philosophy, Republic of Uzbekistan), *Naumov V.* (D.Sc. in Engineering, Russian Federation), *Ovchinnikov Ju.* (PhD in Engineering, Russian Federation), *Petrov V.* (D.Arts, Russian Federation), *Radkevich M.* (D.Sc. in Engineering, Republic of Uzbekistan), *Rakhimbekov S.* (D.Sc. in Engineering, Kazakhstan), *Rozyhodzhaeva G.* (Doctor of Medicine, Republic of Uzbekistan), *Romanenkova Yu.* (D.Arts, Ukraine), *Rubcova M.* (Doctor of Social Sciences, Russian Federation), *Rumyantsev D.* (D.Sc. in Biological Sc., Russian Federation), *Samkov A.* (D.Sc. in Engineering, Russian Federation), *San'kov P.* (PhD in Engineering, Ukraine), *Selitretnikova T.* (D.Sc. in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Sibircev V.* (D.Sc. in Economics, Russian Federation), *Skipko T.* (D.Sc. in Economics, Ukraine), *Sopov A.* (D.Sc. in Historical Sc., Russian Federation), *Strekalov V.* (D.Sc. in Physical and Mathematical Sciences, Russian Federation), *Stukalenko N.M.* (D.Sc. in Pedagogic Sc., Kazakhstan), *Subachev Ju.* (PhD in Engineering, Russian Federation), *Sulejmanov S.* (PhD in Medicine, Republic of Uzbekistan), *Tregub I.* (D.Sc. in Economics, PhD in Engineering, Russian Federation), *Uporov I.* (PhD Laws, D.Sc. in Historical Sc., Russian Federation), *Fedos'kina L.* (PhD in Economics, Russian Federation), *Khiltukhina E.* (D.Sc. in Philosophy, Russian Federation), *Cuculjan S.* (PhD in Economics, Republic of Armenia), *Chiladze G.* (Doctor of Laws, Georgia), *Shamshina I.* (PhD in Pedagogic Sc., Russian Federation), *Sharipov M.* (PhD in Engineering, Republic of Uzbekistan), *Shevko D.* (PhD in Engineering, Russian Federation).

PROBLEMS OF SCIENCE
PUBLISHED WITH THE ASSISTANCE OF NON-PROFIT ORGANIZATION
«INSTITUTE OF NATIONAL IDEOLOGY»
VENUE OF THE CONFERENCE:
1 AVENUE DE LAFAYETTE, BOSTON, MA 02111, UNITED STATES
TEL. OF THE ORGANIZER OF THE CONFERENCE: +1 617 463 9319 (USA, BOSTON)
THE CONFERENCE WEBSITE:
[HTTPS://SCIENTIFIC-CONFERENCE.COM](https://scientific-conference.com)

PUBLISHED BY ARRANGEMENT WITH THE AUTHORS
Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0)
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.en>

Содержание

GENERAL BIOLOGY	4
<i>Kalko E.I.</i> (Republic of Belarus) EFFICIENCY SEPARATION IN THE CULTURE OF <i>STEREUM HIRSUTUM</i> – PRODUCER OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES / <i>Калько Е.И.</i> (Республика Беларусь) ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ В КУЛЬТУРУ <i>STEREUM HIRSUTUM</i> – ПРОДУЦЕНТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ.....	4
<i>Kalko E.I.</i> (Republic of Belarus) THE INFLUENCE OF MANGANESE (II) CHLORIDE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF SURFACE CULTURE <i>STEREUM HIRSUTUM</i> / <i>Калько Е.И.</i> (Республика Беларусь) ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА МАРГАНЦА (II) НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПОВЕРХНОСТНОЙ КУЛЬТУРЫ <i>STEREUM HIRSUTUM</i>	11
<i>Kalko E.I.</i> (Republic of Belarus) ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUBMERGED MYCELIUM EXTRACTS FROM HIGHER BASIDIOMYCETES MUSHROOMS / <i>Калько Е.И.</i> (Республика Беларусь) АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ	17
CLINICAL MEDICINE	21
<i>Makarova R.V., Safiullina A.I., Styazhkina S.N.</i> (Russian Federation) CLINICAL CASE OF ASEPTIC PANCREATIC NECROSIS / <i>Макарова Р.В., Сафиуллина А.И., Стяжкина С.Н.</i> (Российская Федерация) КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ АСЕПТИЧЕСКОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗА	21

GENERAL BIOLOGY

EFFICIENCY SEPARATION IN THE CULTURE OF *STEREUM HIRSUTUM* – PRODUCER OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Kalko E.I. (Republic of Belarus) Email: Kalko51@scientifictext.ru

*Kalko Elena Ivanovna – Postgraduate Student,
BIOTECHNOLOGICAL FACULTY,
POLESSKY STATE UNIVERSITY, PINSK, REPUBLIC OF BELARUS*

Abstract: conservation of Basidiomycetes *ex situ* in culture collections is considered as a promising way of fungal preservation. The number of known fungal species in the world is increasing continuously as well as the number of fungal cultures maintaining in culture collections. Mushrooms *Stereum hirsutum* contain bioactive connections showing antioxidant action, antiviral and immunomodulating activities. Work on the allocation perspective in the medical purposes in culture of the species of mushrooms *Stereum hirsutum* and their preservation in the collection of cultures is started.

Keywords: basidiomycetes, medicinal mushrooms, fruit bodies, vitrification of fung, collection of cultures.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *STEREUM HIRSUTUM* – ПРОДУЦЕНТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Калько Е.И. (Республика Беларусь)

*Калько Елена Ивановна – аспирант,
кафедра биотехнологии,
Полесский государственный университет, г. Пинск, Республика Беларусь*

Аннотация: перспективным способом сохранения грибов считается сохранение Basidiomycetes *ex situ* в коллекции культур. Количество известных видов грибов в мире постоянно растет, соответственно и количество культур грибов, сохраняемых в коллекциях культур. Грибы *Stereum hirsutum* содержат биологически активные соединения, проявляющие антиоксидантное действие, противовирусную и иммуномодулирующую активность. Проводится работа по выделению перспективных в лечебных целях видов грибов *Stereum hirsutum* в культуру и сохранению их в коллекции культур.

Ключевые слова: базидиальные грибы, лекарственные грибы, плодовые тела, витрификация грибов, коллекция культур.

УДК 60:582.284.3

Природные антиоксиданты являются интересным объектом исследования из-за их потенциальных терапевтических и пищевых эффектов. Постоянно возрастающий интерес к поиску естественной замены синтетических антиоксидантов приводит к необходимости оценки антиоксидантной активности высших грибов.

Базидиомицеты содержат различные компоненты, многие из которых обладают антиоксидантной активностью [1-3]. По литературным данным одним из наиболее перспективных грибов рода *Stereum*, обладающим данным характером воздействия, является *Stereum hirsutum* [4, 5]. Благодаря присутствию широкой гаммы биологически активных соединений, гриб *S. hirsutum* может быть использован в качестве сырья для целенаправленного создания препаратов фармацевтического, косметического, пищевого и другого целевого назначения [6-8]. Изучение антиоксидантной активности *S. hirsutum* является важной научной и практической задачей. Это послужило предпосылкой для введения *S. hirsutum* в чистую культуру с дальнейшей разработкой технологий культивирования и применения для развития грибной промышленности Республики Беларусь.

В настоящее время стоит задача получения штамма *S. hirsutum* – продуцента биологически активных веществ, для более широкого его применения в составе лечебно-профилактических препаратов целевого назначения с антиоксидантными свойствами, которые являются востребованными как на территории Беларуси, так и в других регионах мира [4-6].

Таким образом, практическая необходимость исследований продиктована острой потребностью в создании лечебно-профилактических препаратов и новых видов кормовых добавок для животноводства на основе местного сырья с повышенной биологической активностью, что одновременно позволит исключить или значительно снизить использование синтетических антиоксидантов.

Чистая культура – важнейший источник для морфологических, физиологических, биохимических и генетических исследований, которые являются основой для развития фундаментальной и прикладной науки.

Одним из первостепенных приемов, предваряющих любые лабораторные исследования, связанные с микроорганизмами, является выделение и поддержание чистых культур, что подразумевает выделение в чистую мицелиальную культуру, создание и сохранение коллекции. Выращивание микроорганизмов в чистой культуре гарантирует, что биомасса будет содержать ДНК только данной культуры. Для получения коллекции ствольных маточных культур необходимо выделить чистые мицелиальные культуры базидиомицетов из плодовых тел [9, 10]. Все вышеизложенное и определило актуальность нашей работы.

Целью настоящей работы явилось получение штамма *S. hirsutum* (стереум жестковолосистый) – продуцента биологически активных веществ. В дальнейшем полученные штаммы применяются как объекты для научно-исследовательской работы.

Исследования выполнены в научно-исследовательской лаборатории прикладной и фундаментальной биотехнологии на базе УО «Полесский государственный университет». Для исследований был выбран гриб *S. hirsutum* (стереум жестковолосистый). Материал для введения в культуру (гриб *S. hirsutum*) отобран из природы в начале апреля 2017 года. Место отбора – город Пинск. Отобранный материал вводили в культуру *in vitro* по методике [9].

Для транспортировки и предотвращения загрязнения плодовые тела *S. hirsutum* поместили в одноразовые пластиковые контейнеры. Для исследования взяли наиболее молодые неповрежденные плодовые тела, так как старые подвержены загрязнению бактериями и плесневыми грибами (из плодовых тел с явными признаками разложения не удастся получить культуру). Для того, чтобы в дальнейшем анализировать связи морфологических признаков с молекулярно-

генетическими и культуральными признаками, выделенный в культуру образец дублировали в гербарий образцом засушенных плодовых тел, культуре и гербарному образцу присваивали единый инвентаризационный номер.

Базидиальные грибы быстро плесневеют, поэтому *S. hirsutum* слегка подсушили и поместили в холодильник с температурным режимом $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ и хранили там до получения инокулюма. Если, невзирая на тщательную промывку инокулюма, при нескольких повторных выделениях наблюдается стойкое бактериальное загрязнение, то для устранения значительной части бактериальной инфекции требуется умеренное подсушивание *S. hirsutum* в холодильнике при температуре $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ в течение 7–10 дней. Перед выделением в культуру *in vitro* гриб необходимо выдержать при температуре $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов (в ходе четырехкратного эксперимента плодовые тела, извлеченные из холодильника непосредственно перед введением в культуру, роста не давали).

Перед выделением чистой мицелиальной культуры плодовое тело обтирали 70°этиловым спиртом, затем клали на фильтровальную бумагу, разламывали и из середины стерильным скальпелем отрезали фрагменты плодового тела размером 0,5–1 мм, содержащие среднюю часть или среднюю и гимениальную часть для уменьшения посторонних микробиологических загрязнений. Фрагменты складывали на дно металлического сита, переворачивали и омывали с разных сторон под сильной струей водопроводной воды в течение 3–5 мин, далее промывали дистиллированной водой, затем укладывали фрагменты в стерильную чашку Петри.

По литературным данным высшие базидиомицеты в культуре предпочитают дисахариды (сахароза, мальтоза, лактоза) и крахмал другим источникам углеводов [9, 10], поэтому в качестве питательной среды была выбрана картофельно-сахарозная среда, которая является хорошим доступным субстратом для выращивания *S. hirsutum in vitro* [11, 12].

Выделение гриба в культуру *in vitro* проводили в ламинарном боксе, в стерильных условиях, на чашках Петри с полноценной питательной средой, содержащей агар-агар. Для приготовления среды очищенные, нарезанные клубни картофеля отварили до готовности, отвар отфильтровали, объем фильтрата доводили дистиллированной водой до 1 л, добавляли сахарозу и агар-агар (100 г/л картофельного отвара, 10 г/л сахарозы, 1,5% агар-агара), рН 5,0–6,0. Для картофельно-сахарозной среды использовались: картофель сорта «Скарб», пищевая сахароза ГОСТ 21–94, дистиллированная вода. Среду нагревали до полного растворения агар-агара. Приготовленную среду по 200–300 мл разливали в стерильные колбы объемом 500 мл (колбы заполняли на 2/3 объема). Среду в колбах с ватно-марлевыми пробками стерилизовали в автоклаве 112°C (0,5 атм.), в течение 40 мин, для предотвращения засева среды инородными микроорганизмами. Значение рН среды влияет на стойкость и усвояемость ряда составляющих, для грибов рН лежит в пределах от 5 до 7. Величину рН среды перед автоклавированием доводили до 6,5–7, так как в дальнейшем она немного уменьшается в результате образования сахарозных кислот во время автоклавирования.

На каждый изолят готовили по 2 стерильные чашки Петри, со средой в количестве 12 мл. Чашка Петри № 2 служит для промежуточной пересадки гриба, в качестве посредника между чашкой Петри № 1 с кусочками плодовых тел и пробиркой для закладки изолята на хранение. Для предотвращения загрязненности инокулюма бактериями в питательную среду добавляли антибиотик тетрациклин из

расчета 30 мкг на 1 мл среды (можно добавлять стрептомицин – 40 мкг на 1 мл среды). Так как антибиотики не термостойки, их следует наносить на охлажденную, но еще не начавшую застывать среду в чашке Петри. Дозатором со сменным наконечником добавляли антибиотик из сток-раствора нужной концентрации и размешивали круговыми движениями чашки Петри.

Каждый кусочек плодового тела накалывали одноразовой стерильной иглой и опускали в 3% раствор перекиси водорода, затем осторожно, стерильным пинцетом переносили инокулюм на поверхность плотной питательной среды в чашке Петри №1, в центр. Чашки Петри заклеили пленкой (это предохраняет кусочек плодового тела от высыхания), далее помещали в термостат, и выдерживали в течении 14 дней, в темноте, при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$, до появления молодого коврика мицелия вокруг инокулюма, $d \geq 1\text{ см}$, в процессе роста проводили микробиологический контроль.

Через 14 дней на дне чашки Петри №1 маркером поместили место ближе к краевой зоне, из которого пересадили на новую питательную среду (на чашку Петри №2) агаровый блок размером 2–5 мм с участком мицелиального коврика. Важно, чтобы при пересадке молодого мицелия *S. hirsutum* гифы проникли в агар-агар и закрепились в нем. На чашках Петри №2 с пересевом записывали дату инокуляции, штамм. Культивирование длилось в термостате при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$, в темноте, в течение 14 дней.

Морфологические особенности мицелия *S. hirsutum* анализировали с помощью микроскопа Olympus CX41. В капле дистиллированной воды готовили микроскопический препарат мицелия, вырезанного стерильным скальпелем, чтобы убедиться, что растет целевой объект. Мицелий *S. hirsutum in vitro* имел характерные для него морфологические особенности: редкие пряжки, расположенные в мутовках, и коричневатую-желтоватую пигментацию мицелия. Диагностические признаки мицелия *S. hirsutum in vitro*: широкие гифы с редкими пряжками в мутовках по 2–3; гифы среднего диаметра с редкими одиночными пряжками; слаборазветвленные тонкие гифы (рисунок 1).

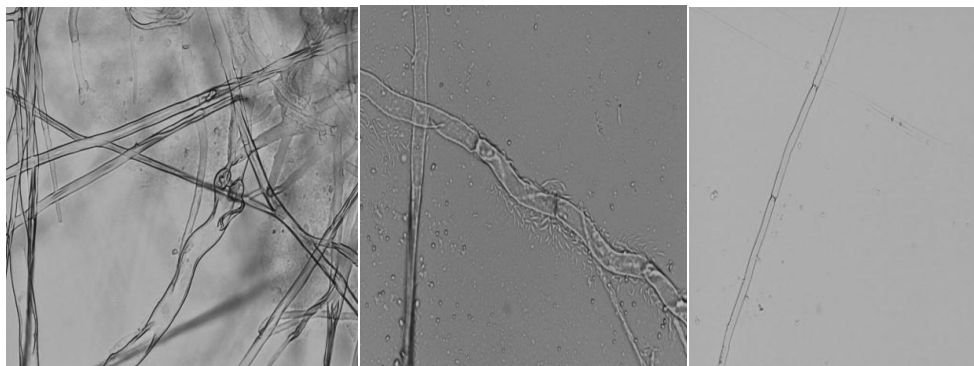


Рис. 1. Морфологические особенности мицелия *S. hirsutum in vitro*

В результате исследований удалось выделить в чистую мицелиальную культуру *S. hirsutum*.

Для получения стволовых маточных культур через 14 дней готовили плотную питательную среду (100 г/л картофельного отвара, 10 г/л сахарозы, 1,2% агар-агара) и разливали в стерильные стеклянные пробирки (20x200 мл) по 15 мл, закрывали пробирки ватно-марлевыми пробками и стерилизовали в автоклаве 112°C (0,5 атм.) в течение 40 мин. После этого пробирки с расплавленной средой доставали из

автоклава и укладывали в наклонном положении с таким расчетом, чтобы среда не заходила за 2/3 объема пробирки, иначе произойдет смачивание пробки, что недопустимо. После застывания среды пробирки ставили вертикально и давали стечь конденсату. Соблюдая условия стерильности из чашек Петри № 2, ближе к краевой зоне, брали инокулюм в виде фрагментов ковра мицелия площадью 1 см², вырезаемый вместе с тонким слоем среды около 1 мм толщиной и пересевали в пробирку с питательной средой. Края пробирки и пробки проводили через пламя горелки для стерилизации, и пробирку с культурой закрывали пробкой. Пересеянные культуры поместили в термостат при температуре 25±1°C на 14 дней (поверхность косяка покроется мицелием). На пробирке с пересевом отметили: вид гриба, тип изолята (из плодового тела), номер соответствующего гербарного образца, место сбора, растение-хозяин, автор выделения, год выделения, дату инокуляции [13, с. 230].

Основные принципы хранения, предотвращающие мутации штамма при хранении культур: оптимизация питательных сред, используемых для хранения; использование обедненных питательных сред; сокращение частоты пассажей; соблюдение условий хранения, максимально замедляющих процессы роста и метаболизма; использование питательных сред одного состава при каждом очередном пассаже культуры; многолинейность хранения. Влажность культуры должна быть такова, чтобы в течение года не делать пересевов из-за ее пересыхания. Одним из важных параметров хранения является его длительность, чем реже коллекция пересевадается, тем меньше создается возможностей для мутации исходной культуры. Количество единиц каждого хранения одного штамма должно хватать минимум на год, чаще пересевать культуру не рекомендуется, чем реже происходит пересев коллекции, тем меньше клеточных делений претерпевает культура и тем ближе она по своим свойствам к исходному изоляту. Поэтому, чтобы избежать частых пересевов, количество единиц хранения должно быть таким, чтобы не пришлось делать дополнительных пассажей в течение срока, на который культура заложена на хранение.

Наиболее доступным методом хранения чистых культур является метод вегетативных пассажей. Чистые культуры хранятся в пробирках на агаризованных питательных средах. Для поддержания культур и сохранения коллекции в лаборатории проводят пересев мицелия на свежие питательные среды. Благодаря проведению периодических пересевов культура постоянно находится в работе, при этом контролируется чистота культуры. Температура 4±1°C является оптимальной для хранения культур между пересевами.

Возможен и другой способ хранения чистой культуры *S. hirsutum*, для этого применяется среда с большим содержанием воды, в состав среды входит 1,5% разведенное сусло и 1,2% агар-агар. В пробирку переносится агаровый блок, и пробирки с косяками помещаются в термостат при температуре 26°C, культивирование продолжается до той стадии, пока вся поверхность косяка не покроется мицелием. Затем пробирки в вертикальном положении заливают до верхнего края косяка вазелиновым маслом (вазелиновое масло автоклавируют 45 мин. при 1,05 атм.) и помещают в штатив для дальнейшего хранения. Каждый образец коллекции изолятов маркируется этикеткой: вид гриба, тип изолята (из плодового тела, моноспоровый, полиспоровый), номер соответствующего гербарного образца, место сбора, растение-хозяин, автор выделения, год выделения, дата заливки косяка маслом. Хранится в штативе, в вертикальном положении в

холодильнике при температуре $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Необходимо субкультивировать каждые 3 года, допускается увеличение срока до 5 лет [14, с. 418].

Приводим сведения о хранении чистых культур грибов в жидком азоте. Перед закладкой на хранение мицелий выдерживают при температуре $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ в течение 1–7 суток. Затем в одно- или двухмиллиметровые стеклянные ампулы кладут по 6–8 зерен, обросших мицелием, и добавляют защитную суспензионную среду – 0,5 мл диметилсульфоксида глицерина. Перед замораживанием ампулы с мицелием выдерживают при температуре $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ в течение 60 мин. Замораживание проводят медленно, по технологии, обеспечивающей контроль за процессом охлаждения. Хранят замороженные культуры в рефрижераторе с жидким азотом при температуре от -160°C до -196°C . Для восстановления замороженного мицелия ампулы держат на водяной бане при температуре 38°C до полного исчезновения следов льда. Перед тиражированием данный мицелий необходимо проверить на жизнеспособность и силу роста. Данный метод позволяет сохранить штаммы длительное время без существенных изменений его генотипа [14, с. 420]. Однако метод требует наличия специального оборудования и экономически выгоден только при хранении больших объемов материалов.

Метод вегетативных пассажей является наиболее приемлемым, доступным и экономически выгодным для хранения коллекции *S. hirsutum*. Полученные штаммы будут использованы в дальнейшем для исследований антиоксидантных свойств *S. hirsutum in vitro*.

Автор выражает благодарность научному руководителю доценту кафедры биотехнологии Е.О. Юрченко за помощь в предоставлении материала для настоящих исследований.

Список литературы / References

1. Вассер С.П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, доказательства и вызовы // Биосфера, 2015. Т. 7. № 2. С. 238–248.
2. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: сб. науч. тр.: в 2 т. Т 1 // под ред. чл. кор. НАН Украины С.П. Вассер. Киев, 2011. 212 с.
3. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: сб. науч. тр.: в 2 т. Т 2 // под ред. чл. кор. НАН Украины. С.П. Вассер. Киев, 2012. 459 с.
4. Lee J. et al. The antioxidant properties of solid-culture extracts of basidiomycetous fungi // J. Gen. Appl. Microbiol, 2013. Vol. 59. № 4. P. 279–285.
5. Yun B.S. et al. Sterins A and B new antioxidative compounds from *Stereum hirsutum* // J. Antibiot, 2002. Vol. 55. P. 208–210.
6. Qin H. et al. Cell factories of higher fungi for useful metabolite production // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol, 2016. Vol. 155. P. 199–235.
7. Ma K. et al. New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum* // Food Chemistry, 2014. Vol. 143. P. 239–245.
8. Bu M. et al. Natural bioactive sterol 5a,8a-endoperoxides as drug lead compounds // Med. Chem, 2014. Vol. 4. P. 709–716.
9. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев: Наукова думка, 1988. 144 с.

10. Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. и др., под ред. Дудки И.А. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. Киев: Наукова думка, 1983. 312 с.
 11. Калько Е.И. Экология и грибная биотехнология / Ecology and fungal biotechnology // International scientific review of problems and prospects of modern Science and education: XLII International scientific and practical conference: collection of scientific articles, Boston, USA, 25-26 February 2018. Boston: Massachusetts printed in the United States of America, 2018. Vol. 2 (44). P. 16–22.
 12. Калько Е.И. Влияние питательных сред и условий глубинного культивирования на эффективность выращивания стереума жестковолосистого (*Stereum hirsutum*) // Научные исследования: ключевые проблемы III тысячелетия : материалы XXIV международной научно-практической конференции, Москва, 1-2 апреля, 2018 года. / Научно-практический журнал «Научные исследования». Москва, 2018. № 4 (24). С. 12–15.
 13. Дудка И.А., Вассер С.П. Бухало А.С. и др., под ред. Дудки И.А. Промышленное культивирование съедобных грибов. Киев: Наукова думка, 1978. 264 с.
 14. Дудка И.А., Вассер С.П. Грибы. Справочник миколога и грибника. Киев: Наукова думка, 1987. 536 с.
-

THE INFLUENCE OF MANGANESE (II) CHLORIDE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF SURFACE CULTURE *STEREUM HIRSUTUM*

Kalko E.I. (Republic of Belarus) Email: Kalko52@scientifictext.ru

*Kalko Elena Ivanovna – Postgraduate Student,
DEPARTMENT BIOTECHNOLOGICAL,
POLESSKY STATE UNIVERSITY, PINSK, REPUBLIC OF BELARUS*

Abstract: *in this paper, it is shown that the addition of manganese (II) chloride in concentrations of 0.025 mg/l, 0.1 mg/l, 0.5 mg/l, 2.5 mg/l, 10.0 mg/l, 20.0 mg/l, 30.0 mg/l, 40.0 mg/l affects the growth and development of this surface culture *S. hirsutum* in a nutrient medium. A significant increase in the mycelium compared to the control was received for the surface culture *S. hirsutum* at a concentration of 0.1 mg /l (18,4%). Determination of the nature of the dependence of the influence of manganese (II) chloride on the *S. hirsutum* in vitro on the totality of other factors seems very interesting and promising for the further development of biotechnology.*

Keywords: *basidiomycetes, surface cultivation, manganese (II) chloride.*

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА МАРГАНЦА (II) НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПОВЕРХНОСТНОЙ КУЛЬТУРЫ *STEREUM HIRSUTUM* Калько Е.И. (Республика Беларусь)

*Калько Елена Ивановна – аспирант,
кафедра биотехнологии,
Полесский государственный университет, г. Пинск, Республика Беларусь*

Аннотация: *в данной работе показано, что добавление в питательную среду хлорида марганца (II) в концентрациях 0,025 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 2,5 мг/л, 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л влияет на рост и развитие поверхностной культуры *S. hirsutum*. Значительный прирост мицелия, по сравнению с контролем, получен для поверхностной культуры *S. hirsutum* при концентрации 0,1 мг/л (18,4 %). Выяснение характера зависимости влияния хлорида марганца (II) на *S. hirsutum* in vitro от совокупности других факторов представляется весьма интересным и перспективным для дальнейшего развития биотехнологии.*

Ключевые слова: *базидиомицеты, поверхностное культивирование, хлорид марганца (II).*

УДК 60:582.284.3

В настоящее время вопрос о возможности искусственного выращивания высших лечебных грибов становится все более актуальным. Исследования, проводимые в данной области, свидетельствуют, что многие виды базидиомицетов являются перспективными продуцентами биологически активных веществ [1-12].

Способ выращивания грибов в условиях естественного произрастания требует определенных условий и является продолжительным по времени. Альтернативой, позволяющей решить проблемы выращивания базидиальных грибов для получения

качественного и безопасного сырья для фармакологической промышленности, являются биотехнологические приемы культивирования *ex situ* [13, 14].

Среди множества групп базидиомицетов грибов-ксилотрофов наиболее перспективными для культивирования считаются дереворазрушающие грибы, которые характеризуются быстрым накоплением биомассы и не требуют сложных и дорогостоящих питательных сред. Одним из представителей этой группы грибов является лигнотрофный сапрофит *S. hirsutum* (стереум жестковолосистый) [15], глубинная биомасса и плодовые тела которого обладают лечебными свойствами [1-10]. Сбор плодовых тел гриба *S. hirsutum* в природе лимитируется несколькими факторами: непродолжительный период развития для мясистых плодовых тел, редкая встречаемость или малочисленность гриба в природе, и урон, который может быть нанесен экосистеме процедурой изъятия плодовых тел [16]. С этой точки зрения, биотехнологическое производство удобно благодаря круглогодичности и ресурсосберегающему отношению к окружающей среде. Для биотехнологических приемов культивирования *ex situ* основой для экстракции может являться мицелий, получаемый в чистой культуре, при этом возникает необходимость изучить особенности роста и развития поверхностной культуры *S. hirsutum*.

Для успешного проведения поверхностного культивирования необходимо применение строго сбалансированных условий [17], в нашей работе стимулятором роста выступит соль (хлорид марганца (II)). Марганец является одним из важнейших микроэлементов для жизнедеятельности организма. Марганец входит в состав Mn-содержащей пероксидазы *S. hirsutum* – фермента, участвующего в расщеплении лигнина.

Цель данной работы – изучение влияния хлорида марганца (II) на рост и развитие поверхностной культуры *Stereum hirsutum*.

Материалы и методы. Объектом настоящего исследования являлся штамм базидиального гриба *S. hirsutum*, чистая культура которого была выделена из плодовых тел [18, с. 36]. Для изучения особенностей роста и развития культуры гриба *S. hirsutum* в присутствии хлорида марганца (II) проводили культивирование в поверхностных условиях [19, с. 119]. Поверхностное культивирование осуществляли на агаризованной картофельно-сахарозной среде в чашке Петри при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 14 суток. Для приготовления среды использовались: картофель сорта «Скарб», пищевая сахароза *ГОСТ 21–94*, дистиллированная вода (100 г/л картофельного отвара, 10 г/л сахарозы, 1,5% агар-агара), pH 5,0–6,0. В качестве посевного материала для поверхностного культивирования использовали агаровые блоки воздушного мицелия, вырезанные из краевой зоны роста культуры, выращенной на чашке Петри в течение 14 суток. Среду предварительно стерилизовали в автоклаве в течение 40 мин при 112°C (0,5 атм.). В питательную среду (кроме контроля) дополнительно вносили раствор хлорида марганца (II) до конечной концентрации 0,025 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 2,5 мг/л, 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л. Эксперименты выполнены четырехкратно.

Рост и развитие мицелия ежедневно оценивали органолептически, на 7-е и 14-е сутки исследовали морфологию. Морфологические особенности мицелия *S. hirsutum* анализировали с помощью микроскопа *Olympus CX41*.

Измеряли диаметр колонии, высоту и плотность колонии и высчитывали ростовой коэффициент (РК) по формуле (1) [20, с. 203].

$$PK = d \times h \times g \div t \quad (1)$$

d – диаметр колонии, мм; h – высота колонии, мм; g – плотность колонии, балл; t – возраст колонии, сутки.

Полученные результаты обработали статистически в программах «Statistika 6», «Excel 2010».

Результаты и методы исследования. Влияние хлорида марганца (II) на рост и развитие культуры *S. hirsutum* при поверхностном культивировании. На плотной питательной среде уже на 7-е сутки культивирования мицелий *S. hirsutum* имел характерные признаки – бело-желтоватая, войлочная колония, реверзум не изменен, поверхность колонии зональная. По характеру развития воздушного мицелия форма колонии неравномерная с увеличением от центра, центральная часть колонии кратерообразная, зона роста концентрическая. Цвет колонии в контроле в динамике роста не изменялся, экссудата не отмечено. Культуре *S. hirsutum* был присущ специфический запах, близкий к запаху препаратов пенициллина.

При внесении в питательную среду хлорида марганца (II) к 14-м суткам культивирования в питательной среде, содержащей 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л соли, отмечено потемнение реверзума, при этом, чем выше концентрация, тем ярче выражено потемнение. Остальные морфологические характеристики колоний остались неизменными.

Для изучения линейного роста диаметр колонии измеряли в двух взаимно перпендикулярных направлениях на 7, 14 сутки культивирования [20, с. 203]. В таблице 1 представлены полученные результаты линейного роста колонии *S. hirsutum* при поверхностном культивировании с обогащением питательной среды $MnCl_2$ в концентрациях 0,025 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 2,5 мг/л, 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л и 40,0 мг/л.

Таблица 1. Линейный рост колонии *S. hirsutum* при поверхностном культивировании на агаризованной среде в зависимости от концентрации хлорида марганца (II), культивирование 14 сут.

Концентрация $MnCl_2$ в среде, мг/л	Радиус колонии, мм	
	7-сутки	14-сутки
0(контроль)	21,50±0,74	40,38±0,13
0,025	22,10±0,12	42,25±0,32
0,1	22,65±0,16	42,65±0,16
0,5	21,60±0,22	41,33±0,27
2,5	20,90±0,17	40,83±0,12
10,0	20,00±0,46	39,70±0,12
20,0	19,50±0,16	38,87±0,18
30,0	18,48±0,21	37,40±0,17
40,0	18,08±0,15	36,90±0,14

Вычисляли скорость линейного роста мицелиальных колоний, выраженную в виде дроби, где числитель - это диаметр колонии, а знаменатель – возраст измеряемой колонии в сутках [20, с. 203]. В таблице 2 представлены полученные результаты скорости линейного роста колонии *S. hirsutum* при поверхностном культивировании с обогащением питательной среды $MnCl_2$ в концентрациях 0,025 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 2,5 мг/л, 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л.

Таблица 2. Скорость линейного роста колонии *S. hirsutum* при поверхностном культивировании на агаризованной среде в зависимости от концентрации хлорида марганца (II), культивирование 14 сут.

Концентрация $MnCl_2$ в среде, мг/л	Скорость линейного роста, мм/сут	
	7-сутки	14-сутки
0(контроль)	6,14± 0,21	5,77± 0,02
0,025	6,32±0,03	6,03±0,05
0,1	6,47±0,04	6,09±0,02
0,5	6,17±0,06	5,91±0,04
2,5	5,97±0,05	5,84±0,02
10,0	5,72±0,13	5,67±0,02
20,0	5,47±0,04	5,55±0,02
30,0	5,34±0,08	5,36±0,03
40,0	5,16±0,04	5,27±0,02

Одной из важнейших, наиболее стабильных характеристик вида в культуре, является скорость роста на агаризованной среде [20, с. 203]. Добавление в питательную среду хлорида марганца (II) в концентрациях 0,025 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 2,5 мг/л стимулировало рост культуры на 8,9%, 18,4%, 5,7%, 3,6% соответственно, а в концентрациях 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л угнетало рост культуры на 2,4%, 6%, 12,7%, 18,8% соответственно, по сравнению с контролем (таблица 3).

Таблица 3. Прирост мицелия поверхностной культуры *S. hirsutum* в зависимости от концентрации хлорида марганца (II), 14 сут.

Концентрация $MnCl_2$ в среде, мг/л	Ростовой коэффициент <i>S. hirsutum</i> in vitro, 14-е сутки
0(контроль)	54,05± 0,75
0,025	58,85±0,83*
0,1	63,98±0,23*
0,5	57,11±0,34*
2,5	55,99±0,16*
10,0	52,75±1,03*
20,0	50,81±0,29*
30,0	47,19±0,74*
40,0	43,89±1,65*

Примечание -*: изменения статистически достоверны при $P < 0,05$

Однофакторный дисперсионный анализ полученных данных показал, что действие варьирующего фактора (концентрация $MnCl_2$) оказывает статистически значимое влияние на скорость роста колонии *S. hirsutum* при поверхностном культивировании, так как t-критерий Стьюдента ($t = 7,808475$) больше t-критического (2,12), $P < 0,05$. $F = 6,146976$.

Вывод. При поверхностном культивировании культуры *S.hirsutum* добавление хлорида марганца (II) влияет лишь на изменение цвета колоний в концентрациях 10,0 мг/л, 20,0 мг/л, 30,0 мг/л, 40,0 мг/л, но не изменяет другие морфологические признаки. Оптимальное значение концентрации хлорида марганца (II) в питательной среде для наибольшего прироста поверхностной культуры *S. hirsutum* составляет 0,1 мг/л. Влияние хлорида марганца (II) на рост и развитие мицелия гриба носит сложный характер и результат их воздействия на культуру *S. hirsutum* зависит от совокупности других факторов. Однако прояснение этого момента требует проведения дополнительных исследований.

Список литературы / References

1. Cell factories of higher fungi for useful metabolite production / H. Qin [et al.] // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol., 2016. Vol. 155. P. 199–235.
2. New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum* / K.L. Ma [et al.] // Food Chemistry, 2014. Vol. 143. P. 239–245.
3. Natural bioactive sterol 5a, 8a-endoperoxides as drug lead compounds / M. Bu [et al.] // Med. Chem., 2014. Vol. 4. P. 709–716.
4. The antioxidant properties of solid-culture extracts of basidiomycetous fungi / J. Lee J. [et al.] // J. Gen. Appl. Microbiol., 2013. Vol. 59. № 4. P. 279–285.
5. Sterins A and B new antioxidative compounds from *Stereum hirsutum* / B.S. Yun [et al.] // J. Antibiot., 2002. Vol. 55. P. 208–210.
6. Free-radical scavenging activity of submerged mycelium extracts from higher basidiomycetes mushrooms / M.D. Asatiani, V.I. Elisashvili, S.P. Wasser, A.Z. Reznick, E. Nevo // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007. Vol. 71. № 12. P. 3090–3092.
7. Epicorazine C, an antimicrobial metabolite from *Stereum hirsutum* HKI 0195 / P. Kleinwächter, H.M. Dahse, U. Luhmann, B. Schlegel, K. Dornberger // J. Antibiot. Tokyo, 2001. Vol. 54. № 6. P. 521–525.
8. Rai M. Mycotechnology: present status and future prospects / Eds. M. Rai // New Delhi: I.K. International, 2007. 306 p.
9. Dubin G.-M. Acetylenic aromatic compounds from *Stereum hirsutum* / G.-M.Dubin, A. Fkyerat, R. Tabacchi // Phytochemistry, 2000. Vol. 53. Pp. 571–574.
10. Antibacterial and antitumor activity of crude methanolic extracts from various macrofungi species / B. Poyraz [et al.] // BİBAD, 2015. Vol. 8. № 1. P. 5–10.
11. Schwartz B. The use of edible mushroom water-soluble polysaccharides in the treatment and prevention of chronic diseases: a mechanistic approach. / B. Schwartz, Y. Hadar, D. Sliva. In: Fang E.F.; Ng, N.B. (ed.). Antitumor potential and other emerging medicinal properties of natural compounds. Dordrecht et al.: Springer, 2013. P. 263–283.
12. Zjawiony J.K. Biologically active compounds from Aphyllophorales (polypore) fungi / J.K. Zjawiony // J. Nat. Prod., 2004. Vol. 67. № 2. P. 300–310.
13. Petre M. (ed.) Mushroom biotechnology: Development and applications / M. Petre [et al.] // Amsterdam et al.: Elsevier, 2016. 222 p.

14. Popov A. Hypocholesterolic effect of some higher basidiomycetes / A. Popov [et al.]; In: Zaikov, G.E. (ed.) // Research progress in biotechnology. N.Y.: Nova Biomedical Books, 2008. P. 53–58.
 15. Рипачек В. Биология дереворазрушающих грибов / В. Рипачек. М.: Лесная промышленность, 1967. 276 с.
 16. Koune, J.-P. Threatened mushrooms in Europe [Nature and Environment Series. № 122] / J.-P. Koune. Council of Europe Publishing, 2001. 23 pp.
 17. Особенности роста и развития культуры гриба вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) в присутствии ионов марганца (II) / О.Н. Жук, О.А. Бокова, В.В. Сакович, В.В. Никандров // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук, 2017. № 2. С. 43-50.
 18. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А.С. Бухало. Киев: Наукова думка, 1988. 144 с.
 19. Дудка И.А. Методы экспериментальной микологии / И.А. Дудка. Киев: Изд.: Наук. думка, 1982. 550 с.
 20. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре / Н.А. Бисько, А.С. Бухало, С.П. Вассер [и др.]. Под ред. И.А. Дудки. Киев: Наукова думка, 1983. 312 с.
-

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUBMERGED MYCELIUM EXTRACTS FROM HIGHER BASIDIOMYCETES MUSHROOMS

Kalko E.I. (Republic of Belarus) Email: Kalko52@scientifictext.ru

*Kalko Elena Ivanovna – Postgraduate Student,
DEPARTMENT BIOTECHNOLOGICAL,
POLESSKY STATE UNIVERSITY, PINSK, REPUBLIC OF BELARUS*

Abstract: *the alternative and promising approach is to search for new, safe natural antioxidants from mushroom submerged cultures. Surprisingly, very scarce information is available on the capability of fungi to produce antioxidants in submerged cultures. Therefore, the aim of this study was analysis of chemical composition and biological activity of wild growing mushroom species, including saprophytic.*

Keywords: *antioxidant activity, Basidiomycetes, submerged mycelium.*

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Калько Е.И. (Республика Беларусь)

*Калько Елена Ивановна – аспирант,
кафедра биотехнологии,
Полесский государственный университет, г. Пинск, Республика Беларусь*

Аннотация: *альтернативным и перспективным подходом является поиск новых, безопасных природных антиоксидантов из глубинных культур грибов. Однако мало информации о способности грибов продуцировать антиоксиданты в погруженных культурах. Поэтому целью этого исследования был анализ химического состава и биологической активности дикорастущих видов грибов, в том числе сапрофитных.*

Ключевые слова: *антиоксидантная активность, базидиомицеты, глубинный мицелий.*

УДК 616-003.725:582.284.3

Oxygen-centered free radicals and other reactive oxygen species are continuously produced in vivo. Although almost all organisms are well-protected against free-radical damage by enzymes such as superoxide dismutase and catalase or by compounds such as ascorbic acid, glutathione and tocopherols, these systems are insufficient to prevent damage entirely [1].

Among many sources of natural bioactive substances, mushrooms constitute a huge and almost unexplored group. The number of mushroom species all over the world is estimated at about 150 000. However only 22 000 species are known to science and only approximately 5% of them has been studied [2]. Since ancient times, mushrooms have been valued as both food and medicines. Mushrooms *P. ostreatus* are widely recognized as a functional food and as a source of various physiologically active compounds [3-7]. Fungal compounds have been repeatedly reported to exert biological effects which have

prompted their use in pharmaceutical and cosmetic industry. Moreover, bioactive compounds from mushrooms have been reported to exert immunomodulating, antiviral, antitumor, antioxidant, radical scavenging and antibacterial effects [3, 4, 8-21].

Antiradical activity of extracts is calculated by the following formula (1):

$$\% \text{ Inhibition} = [(AB - AA) \div AB] \times 100 \quad (1)$$

Where: AB – absorption of a blank sample (DPPH• solution and methanol instead of the test extract), AA – absorption of a tested sample with DPPH• reagent.

Recently, certain mushrooms have been found to possess antioxidant activity. It can be related to the presence of other groups of compounds with antioxidant activity in mushrooms, e.g. tocopherols, ascorbic acid and carotenoids [8-10]. Numerous wild growing mushrooms possess significant antioxidant potential which is often related to the phenolic compound content [8] (table 1-2).

Table 1. Total phenolic content (TPC) and antiradical activity of mushroom extracts

Species	Mean values of three replicate assays with standard deviations				
	TPC	IC50	AE	TE	VCE
<i>S. hirsutum</i>	8.70±0.37	18.84±0.34	0.05	140.60	129.04

TPC expressed as mg of gallic acid equivalents per gram of dried extract; IC50 expressed as mg of dry extract per mg DPPH•; AE – antiradical efficiency (1/IC50); TE – Trolox equivalent; VCE – ascorbic acid equivalent. Equivalents were calculated by dividing extract mean IC50 by standard mean IC50. For Trolox IC50 = 0.134 mg/mg DPPH•; for ascorbic acid IC50 = 0.146 mg/mg DPPH•.

Table 2. Phenolic acid contents in mushroom extracts expressed in µg per g of dry weight of mushrooms (mean values of three replicate assays with standard deviation)

Species	Phenolic acids content [µg/g DW]								
	Protocatechuc	4-OH-benzoic	Vanillic	Caffeic	Syringic	p-coumaric	Ferulic	Salicylic	Sum
<i>S. hirsutum</i>	–	0.74 ± 0.02	–	–	–	0.2 ± 0.0	–	0.03 ± 0.0	0.97

Abbreviations: «–» not detected; Trace – trace amounts.

There is also a growing interest in investigations of natural chemopreventive agents, which can act as blockers and or suppressors by inhibiting carcinogenesis at the initiation, post-initiation as well as promotion stages. Submerged mycelium extracts has been previously isolated from cultures of *S. hirsutum*, this metabolite was reported for its in vitro antitumour activity [11-17].

Numerous diseases, even those that were once easily healed, are becoming a huge problem. *S. aureus*, *E. coli* or *K. pneumoniae* are among the most resistant strains posing a real risk to the society. Antibacterial activity of submerged mycelium extracts *S. hirsutum* [17-21] against Gram-positive (*B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*) and Gram-

negative (*E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*), microbial strains was analyzed [8] (table 3).

Table 3. Antimicrobial activity of mushroom extracts expressed in mg of dry extract per ml (mean values of three replicate assays)

Species	Reference microbial strains											
	Gram-positive bacteria											
	<i>S. epidermidis</i>			<i>S. aureus</i>			<i>B. subtilis</i>			<i>M. luteus</i>		
	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R
<i>S. hirsutum</i>	2.5	2.5	1	2.5	2.5	1	2.5	5	2	2.5	2.5	1
Species	Gram-negative bacteria											
	<i>E. coli</i>			<i>K. pneumoniae</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>P. mirabilis</i>		
	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R	MIC	MBC	R
<i>S. hirsutum</i>	2.5	2.5	1	2.5	2.5	1	2.5	2.5	1	5	5	1

Abbreviations: R–MBC/MIC ratio; «-» not determined; MICs of gentamicin ranged from 0.03–0.12 × 10⁻³ mg/ml and 0.25–1.0 × 10⁻³ mg/ml for Gram-positive and Gram-negative bacterial strains, respectively.

For every extract examined, determined the MBC – minimal bactericidal concentration, which was subsequently compared with the corresponding MIC value. The MBC to MIC ratio indicates bactericidal properties when it ranges from 1 to 4.

This study indicates that the submerged mycelium of most investigated mushroom species possess high radical scavenging potential and might serve as a good source of safe natural antioxidants. Further studies are needed to determine the morphological mechanisms regulating antioxidant accumulation, to isolate active components, and to establish the pharmacological efficacy of promising mushroom extracts.

Conclusion for the majority of selected species of *S. hirsutum*, *P. ostreatus*, which could be obtained in industrial amounts constituting interesting material for preparation of pharmaceutical and cosmetic products.

References / Список литературы

- Asatiani M.D., Elisashvili V.I., Wasser S.P., Reznick A.Z., Nevo E. Free-radical scavenging activity of submerged mycelium extracts from higher basidiomycetes mushrooms. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007, Vol. 71, No. 12, pp. 3090–3092.
- Lindequist U., Niedermeyer T.H., Jülich W.D. The pharmacological potential of mushrooms. Evid Based Complement Alternat Med, 2005, Vol 2, No 3, pp. 285–299.
- Oyetaya V.O., Ariyo O.O. Antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fries) cultivated on different tropical woody substrates. Journal of Waste Conversion, Bioproducts and Biotechnology, 2013, Vol. 1, No 2, pp. 28–32.
- Palmieri G., Bianco C., Cennamo G., Giardina P., Marino G., Monti M., Sannia G. Purification, characterization and functional role of novel extracellular protease from *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology, 2001, Vol. 67, no. 6, pp. 2754–2759.

5. Gregori A., Svagelj M., Pohleven J. Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. Food Technology Biotechnology, 2007, Vol. 45, No. 3, pp. 238–249.
6. Dohmae N., Hayashi K., Miki K., Tsumuraya Y., Hashimoto Y. Purification and characterization of intracellular proteinases in *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1995, Vol. 59, no. 11, pp. 2074–2080.
7. Deepalakshmi K., Mirunalini S. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. Journal of Biochemical Technology, 2014, Vol. 5, No.2, pp. 718–726.
8. Nowacka N., Nowak R., Drozd M., Olech M., Los R., Malm A. Antibacterial, Antiradical Potential and Phenolic Compounds of Thirty-One Polish Mushrooms. PLoS ONE, 2015, Vol. 10, No. 10, pp. 1–13.
9. Lee J. [et al.] The antioxidant properties of solid-culture extracts of basidiomycetous fungi. J. Gen. Appl. Microbiol, 2013, Vol. 59, No. 4. pp. 279–285.
10. Yun B.S. [et al.], Sterins A and B new antioxidative compounds from *Stereum hirsutum*. J. Antibiot, 2002, Vol. 55. pp. 208–210.
11. Nukamura H., Iitaka, Y., Kurazawa S., Takeuchi T., Umazawa H. The crystal and molecular structure of a dibromo-derivative of MS-3: a glyoxalase I inhibitor produced by a mushroom, *Stereum hirsutum*. Agricultural and Biological Chemistry, 1976, Vol. 40, pp. 1781–1784.
12. Kurazawa S., Naganawa H., Takeuchi T., Umezawa H. The structure of MS-3: a glyoxalase I inhibitor produced by a mushroom. Agricultural and Biological Chemistry, 1975, Vol. 39, No. 10, pp. 2009–2014.
13. Kurazawa S., Takeuchi T., Umezawa H. Studies on glyoxalase inhibitor of a new active agent, MS-3, from a mushroom culture. Agricultural and Biological Chemistry, 1975, Vol. 39, No. 10, pp. 2003–2008.
14. Bu M., Yang B.B., Hu L. Natural bioactive sterol 5a, 8a-endoperoxides as drug lead compounds. Med. Chem., 2014, Vol. 4, pp. 709–716.
15. Poyraz B. [et al.] Antibacterial and antitumor activity of crude methanolic extracts from various macrofungi species. BİBAD, 2015, Vol. 8, No. 1, pp. 5–10.
16. Schwartz B., Hadar Y., Sliva D. The use of edible mushroom water-soluble polysaccharides in the treatment and prevention of chronic diseases: a mechanistic approach. Antitumor potential and other emerging medicinal properties of natural compounds, Dordrecht et al.: Springer, 2013, pp. 263–283.
17. Qin H. [et al.] Cell factories of higher fungi for useful metabolite production Adv. Biochem. Eng. Biotechnol, 2016, Vol. 155, pp. 199–235.
18. Kleinwächter P., Dahse H.M., Luhmann U., Schlegel B., Dornberger K. Epicorazine C, an antimicrobial metabolite from *Stereum hirsutum* HKI 0195. J. Antibiot, Tokyo, 2001, Vol. 54, No. 6, pp. 521–525.
19. Rai M. Mycotechnology : present status and future prospects. New Delhi: I.K. International, 2007, 306 pp.
20. Ma K. L., Bao J., Han T., Jin X., Yang F., Zhao S., Li F., Song M., Liu H. New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum*. Food Chemistry, 2014, Vol. 143, pp. 239–245.
21. Dubin G.-M., Fkyerat A., Tabacchi R. Acetylenic aromatic compounds from *Stereum hirsutum*. Phytochemistry, 2000, Vol. 53, pp. 571–574.

CLINICAL CASE OF ASEPTIC PANCREATIC NECROSIS

Makarova R.V.¹, Safiullina A.I.², Styazhkina S.N.³

(Russian Federation)

Email: Makarova52@scientifictext.ru

¹Makarova Regina Valeryevna – Student;

²Safiullina Aigul Ilgizovna – Student,
FACULTY OF MEDICINE;

³Styazhkina Svetlana Nikolaevna - Doctor of Medical Sciences, Professor,
DEPARTMENT OF FACULTY SURGERY,
IZHEVSK STATE MEDICAL ACADEMY,
IZHEVSK

Abstract: acute pancreatitis is inflammatory-destructive changes in the pancreas caused by intracellular activation of pancreatic enzymes and autolysis of acinar cells. This disease has been one of the most discussed problems in the world medical literature for many decades, one of the most difficult questions in abdominal surgery [1]. In this article, we consider the clinical case of aseptic pancreatic necrosis.

Keywords: acute pancreatitis, etiology, aseptic pancreonecrosis.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ АСЕПТИЧЕСКОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗА

Макарова Р.В.¹, Сафиуллина А.И.², Стяжкина С.Н.³

(Российская Федерация)

¹Макарова Регина Валерьевна – студент;

²Сафиуллина Айгуль Ильгизовна – студент,
лечебный факультет;

³Стяжкина Светлана Николаевна - доктор медицинских наук, профессор,
кафедра факультетской хирургии,
Ижевская государственная медицинская академия,
г. Ижевск

Аннотация: острый панкреатит представляет собой воспалительно-деструктивные изменения поджелудочной железы, обусловленные внутриклеточной активацией панкреатических ферментов и аутолизом ацинарных клеток. Данное заболевание уже многие десятилетия является одной из самых обсуждаемых проблем в мировой медицинской литературе, одним из наиболее сложных вопросов в абдоминальной хирургии [1]. В данной статье мы рассматриваем клинический случай асептического панкреонекроза.

Ключевые слова: острый панкреатит, этиология, асептический панкреонекроз.

Из года в год наблюдается неуклонный рост заболеваемости острым панкреатитом, по мировым статистическим данным, варьирует от 200 до 800 пациентов на 1 млн человек населения в год. Летальность от деструктивных

форм острого панкреатита проявляется в 7-50% случаев (в среднем 20-30%) [2]. Смертность при данной патологии обусловлена в основном развитием тяжелых некротических форм, вызывающих системную воспалительную реакцию организма [3].

В развитии острого панкреатита выделяют три стадии.

1) Стадия гемодинамических нарушений и панкреатогенного шока – продолжается первые 3-5 суток заболевания. В это время превалируют симптомы ферментативной токсемии, чрезмерного образования и накопления в крови, железе и окружающем клетчаточном пространстве биологически активных веществ.

2) Стадия функциональной недостаточности внутренних органов – начинается с третьих суток заболевания. Местные признаки панкреатита выражены наиболее отчетливо, хотя могут преобладать симптомы полиорганной недостаточности.

3) Стадия местных осложнений – парапанкреатический инфильтрат, «незрелая» псевдокиста, абсцесс поджелудочной железы, флегмона забрюшинной клетчатки, поддиафрагмальный абсцесс, распространенный гнойный перитонит [4].

Как правило, перенесенный панкреонекроз приводит к развитию хронического панкреатита вследствие расстройств микроциркуляции, фиброзного замещения очагов некроза. Поэтому после выписки из стационара больные подлежат длительному восстановительному лечению, направленному на нормализацию трофики ткани и функции железы [5].

Клинический случай:

9 февраля 2018 года в РКБ № 1 г. Ижевска поступил больной М. с жалобами на интенсивные боли в верхних отделах живота, вздутие живота. Тошноты, рвоты не было. Стул, диурез в норме. Болеет в течение 1 суток. Боли усилились, и он обратился в дежурную хирургию, был госпитализирован в хирургическое отделение РКБ № 1 в экстренном порядке с диагнозом: Острый панкреатит, асептический панкреонекроз. Объективно при поступлении: общее состояние средней степени тяжести, сознание ясное, положение активное. Кожа, склеры физиологической окраски, Язык влажный. Дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. ЧДД 17 в минуту. Тоны сердца ясные, ритмичные. Пульс 84 уд/мин. АД – 130/90 мм рт. ст. Живот поддут, мягкий, болезненный в эпигастрии, правом и левом подреберье. Симптомы раздражения брюшины отрицательные. Симптом Мейо-Робсона положительный. Инфильтративных образований пальпаторно не определяется. Перистальтика активная. Симптом сотрясения отрицательный с обеих сторон.

Больным считает себя с ноября 2017 года, когда впервые стали беспокоить интенсивные опоясывающие боли в эпигастриальной области. Возникновение болей пациент М. связывает с употреблением большого количества крепких алкогольных напитков. Была проведена диагностическая лапаротомия по поводу панкреонекроза.

По данным УЗИ органов брюшной полости от 12 февраля: имеются признаки легких диффузных изменений печени, умеренных диффузных изменений поджелудочной железы, свободной жидкости в брюшной полости. По передней поверхности поджелудочной железы имеется выпот в виде узкой полоски 2-3 мм толщиной. Помимо этого в малом тазу обнаружена свободная жидкость за мочевым пузырем до 1,5 см. Изменения в анализах крови от 12.02.18: СРБ – 11,95 мг/л, ПТИ 79%, протромбиновое время 17,2 сек, фибриноген 4,5 г/л., СОЭ – 24 мм/ч. Амилаза мочи от 12.02.18: 815,04 ед/л.

Была проведена консервативная терапия, включающая в себя: инфузионную, антисекреторную (квamatел, октреотид), антибактериальную (цефтриаксон, метрогил), спазмолитическая (дротаверин, платифиллин), противорвотная (метоклопрамид). В результате комплексного лечения наступило улучшение. Больной выписан с рекомендациями на амбулаторное наблюдение.

Список литературы / References

1. *Ситников В.А., Варганов М.В., Стяжкина С.Н. и др.* Острый панкреатит: учебное пособие. Ижевск, 2008. 120 с.
2. *Стяжкина С.Н., Протопопов В.А., Даровских А.А., Акимов А.А.* Смертность от острого панкреатита в Удмуртской республике за период 2012-2015 годов // Здоровье и образование в XXI веке, 2017. С. 119-121.
3. *Фирсова В.Г., Паршиков В.В., Градусов В.П.* Острый панкреатит: современные аспекты патогенеза и классификации // Современные технологии в медицине, 2011. № 2. С. 127-134.
4. *Гарбузенко Д.В.* Избранные лекции по неотложной абдоминальной хирургии. Диагностика острого живота. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 273 с.
5. *Кубышкин В.А.* Острый панкреатит // Тихоокеанский медицинский журнал, 2009. № 2. С. 48-52.

**II INTERNATIONAL CORRESPONDENCE SCIENTIFIC SPECIALIZED CONFERENCE
INTERNATIONAL SCIENTIFIC
REVIEW OF THE PROBLEMS
OF NATURAL SCIENCES AND MEDICINE
Boston. USA. April 27-28, 2018
[HTTPS://SCIENTIFIC-CONFERENCE.COM](https://scientific-conference.com)**



**COLLECTION OF SCIENTIFIC ARTICLES
PUBLISHED BY ARRANGEMENT WITH THE AUTHORS**



You are free to:

Share — copy and redistribute the material in any medium or format

Adapt — remix, transform, and build upon the material
for any purpose, even commercially.

Under the following terms:

Attribution — You must give appropriate credit,
provide a link to the license, and indicate if changes were made.

**You may do so in any reasonable manner,
but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use.**
ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must
distribute your contributions under the same license as the original.

**ISBN 978-1-948507-16-5
INTERNATIONAL CONFERENCE**

PRINTED IN THE UNITED STATES OF AMERICA