

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

Факультет (ННІ) _____

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

Юлія КОЛОМІЄЦЬ

“ _____ ” _____ 2025 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики

Світлана ПРИЛУЦЬКА

“ _____ ” _____ 2025 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Використання *Laetiporus sulphureus* L. в біотехнології.»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна

Гарант освітньої програми

д.с.-г.н., професор

(підпис)

Микола ЛІСОВИЙ

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

д.б.н., доцент

(підпис)

Ольга БОЙКО

Виконав

(підпис)

Дмитро ШВЕЦЬ

КИЇВ – 2025

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

Факультет (ННІ) _____

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики

д.б.н., професор Світлана ПРИЛУЦЬКА
(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)

“ _____ ” _____ 2025 року

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Швецю Дмитру Олександровичу

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Використання *Laetiporus sulphureus* L.
в біотехнології.»

Затверджена наказом ректора НУБіП України від «07»11 2024 р. № 2005 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру 15 листопада 2025 року.

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: регулятори росту, живильні середовища, рослини.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Аналіз літератури щодо біохімічного складу та біотехнологічного потенціалу *Laetiporus sulphureus*;
2. Отримання екстрактів із міцелію (водних, спиртових, ферментативних і комбінованих);
3. Визначення оптимальних концентрацій екстрактів для стимуляції росту та стресостійкості рослин;
4. Оцінку їхньої антиоксидантної активності методами DPPH, ABTS і FRAP;
5. Розробка практичних рекомендацій для застосування у сільському господарстві.

Дата видачі завдання “ 1 ” жовтня _____ 2024 р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи _____ **Ольга БОЙКО**
(підпис)

Завдання прийняв до виконання _____ **Дмитро ШВЕЦЬ**

РЕФЕРАТ

Магістерська робота присвячена дослідженню потенціалу ксилотрофного гриба *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill як джерела біологічно активних речовин (БАР) для стимуляції росту рослин та підвищення їхньої стійкості до абіотичних стресів. Актуальність теми зумовлена необхідністю пошуку екологічно безпечних альтернатив синтетичним агрохімікатам у сучасному сільському господарстві, що стикається з викликами деградації ґрунтів, кліматичних змін та зростання попиту на органічну продукцію. Використання грибних біостимуляторів, зокрема отриманих із *Laetiporus sulphureus*, є перспективним напрямом для забезпечення сталого землеробства.

Мета роботи – наукове обґрунтування та експериментальне вивчення біологічно активних сполук *Laetiporus sulphureus* для стимуляції росту рослин і підвищення їхньої стійкості до стресових факторів. Об'єктом дослідження є процеси росту та розвитку рослин під впливом БАР, отриманих із міцелію гриба, а предметом – міцелійна біомаса та екстракти, отримані різними методами.

Завдання дослідження включали: аналіз літератури щодо біохімічного складу та біотехнологічного потенціалу *Laetiporus sulphureus*, отримання екстрактів із міцелію (водних, спиртових, ферментативних і комбінованих), визначення оптимальних концентрацій екстрактів для стимуляції росту та стресостійкості рослин, оцінку їхньої антиоксидантної активності методами DPPH, ABTS і FRAP, а також розробку практичних рекомендацій для застосування у сільському господарстві.

Методи дослідження охоплювали літературний аналіз, біотехнологічні методи культивування гриба, екстракцію БАР, біохімічний аналіз, оцінку антиоксидантної активності, фізіологічні тести на рослинах та математичне моделювання дозозалежних ефектів за допомогою логістичної функції Хілла.

Структура роботи складається зі вступу, трьох розділів, висновків і списку використаних джерел. У першому розділі розглянуто теоретичні основи використання *Laetiporus sulphureus* у біотехнології, включаючи біологічну

характеристику, біохімічний склад, методи культивування та застосування ксилотрофних грибів. Другий розділ присвячено методології дослідження, зокрема опису методів екстракції, аналізу складу екстрактів і оцінки їхньої біологічної активності. Третій розділ містить результати експериментів, аналіз дозозалежних ефектів, оцінку антиоксидантної активності та стресостійкості рослин, а також обговорення отриманих даних.

Результати дослідження показали, що екстракти *Laetiporus sulphureus* містять значну кількість β -глюканів (до $45,2 \pm 3,8\%$) і фенольних сполук (до $185,3 \pm 15,2$ мг/г), які забезпечують високу антиоксидантну ($IC_{50} = 12,8 \pm 1,2$ мкг/мл у тесті DPPH для спиртового екстракту) та ростостимулюючу активність. Спиртові екстракти виявилися найефективнішими при концентраціях 0,001-0,01%, підвищуючи схожість насіння редису на 15-28% і стресостійкість до $79,4 \pm 6,1\%$ порівняно з контролем ($47,3 \pm 4,2\%$). Ферментативні екстракти вирізнялися найвищим терапевтичним індексом (32,4), що робить їх безпечними для органічного землеробства. Комбінований метод екстракції забезпечив максимальний вихід БАР ($41,2 \pm 3,1\%$).

Наукова новизна полягає у комплексному підході до вивчення БАР *Laetiporus sulphureus*, розробці оптимізованих методів екстракції, встановленні дозозалежних ефектів і порівняльному аналізі антиоксидантної активності екстрактів.

Практичне значення роботи полягає у розробці рекомендацій щодо використання екстрактів для передпосівної обробки насіння (водні екстракти 0,01-0,02%, спиртові 0,001-0,005%, ферментативні 0,05-0,1%) та створенні економічно доцільних технологій для масштабування виробництва.

Обсяг роботи становить 103 сторінки, включає 12 таблиць, 14 рисунків і 50 використаних джерел. Результати дослідження апробовані на наукових конференціях і можуть бути використані для створення біостимуляторів у сільському господарстві та біомедицині.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИКОРИСТАННЯ <i>LAETIPORUS SULPHUREUS</i> В БІОТЕХНОЛОГІЇ.....	11
1.1 Біологічна характеристика <i>Laetiporus sulphureus</i>	11
1.2 Біохімічний склад та біологічно активні речовини <i>L. Sulphureus</i>	16
1.3 Сучасні підходи до культивування <i>L. Sulphureus</i>	23
1.4 Застосування ксилотрофних грибів у біотехнології та сільському господарстві	28
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ.....	35
2.1 Матеріали дослідження	35
2.2 Методи отримання та підготовки біологічного матеріалу	39
2.3 Методи отримання екстрактів	44
2.4 Аналітичні методи дослідження.....	48
2.5 Методи оцінки біологічної активності.....	50
2.6 Методика проведення експериментів з рослинами	52
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	57
3.1 Характеристика отриманих екстрактів <i>L. Sulphureus</i>	57
3.2 Вплив екстрактів на проростання насіння.....	61
3.3 Ростостимулююча активність екстрактів	66
3.4 Антиоксидантна активність екстрактів	73
3.5 Вплив на стійкість рослин до стресових факторів	78
3.6 Дозозалежні ефекти та оптимізація концентрацій	84
3.7 Обговорення результатів	89
ВИСНОВКИ.....	93
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	96
ДОДАТКИ (копії публікацій)	103

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

ЯМР - ядерна магнітно-резонансна спектроскопія

КДА – картопляно-декстрозний агар

DRPH - 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил

ABTS - 2,2-азино-біс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонова кислота)

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power

МДА - малоновий діальдегід

ВСТУП

Сучасне сільське господарство стикається з низкою викликів, пов'язаних із необхідністю підвищення продуктивності культур в умовах обмежених природних ресурсів, змін клімату та зростання попиту на екологічно чисту продукцію. Інтенсивні агротехнології, які часто базуються на застосуванні синтетичних добрив і пестицидів, призводять до деградації ґрунтів, забруднення довкілля та зниження якості сільськогосподарської продукції. У цьому контексті актуальним є пошук екологічно безпечних альтернатив, які могли б забезпечити стійке зростання врожайності та стресостійкості рослин без негативного впливу на екосистеми. Одним із перспективних напрямів є використання біологічно активних речовин (БАР), отриманих із природних джерел, зокрема ксилотрофних грибів, які завдяки своїй унікальній біохімічній природі здатні синтезувати сполуки з потужними регуляторними та захисними властивостями.

Ксилотрофні гриби, такі як *Laetiporus sulphureus*, відомі своєю здатністю продукувати широкий спектр біологічно активних сполук, включаючи полісахариди, фенольні сполуки, терпеноїди та ферменти, які можуть впливати на метаболічні процеси рослин. Ці гриби, що паразитують на деревині або розвиваються сапротрофно, демонструють унікальну адаптивність до різних екологічних умов, що обумовлює їхній потенціал у біотехнологічних дослідженнях. *Laetiporus sulphureus*, відомий також як сірчано-жовтий трутовик, привертає увагу завдяки високому вмісту β-глюканів, флавоноїдів та інших метаболітів, які проявляють антиоксидантну, імуномодулюючу та ростостимулюючу активність. Використання таких природних біостимуляторів у сільському господарстві може не лише підвищити врожайність і стійкість рослин до стресових факторів, але й сприяти розвитку органічного землеробства, зменшуючи залежність від хімічних препаратів.

Метою даної роботи є наукове обґрунтування та експериментальне вивчення потенціалу гриба *Laetiporus sulphureus* як джерела біологічно активних сполук, здатних стимулювати ріст і розвиток рослин. У межах дослідження передбачається отримання екстрактів або ферментованих продуктів *L. sulphureus*, аналіз їхньої

фітогормональної активності та оцінка впливу на формування кореневої системи та морфометричні показники рослин. Таким чином, робота спрямована на визначення доцільності використання *L. sulphureus* у біотехнологічних підходах до підвищення продуктивності рослин у сільському господарстві.

Об'єкт дослідження: Процеси росту та розвитку рослин під впливом біологічно активних речовин, отриманих з *Laetiporus sulphureus*.

Предмет дослідження: Міцеліальна біомаса *Laetiporus sulphureus*.

Завдання дослідження:

- Проаналізувати наукову літературу щодо біотехнологічного потенціалу ксилотрофних грибів, зокрема *Laetiporus sulphureus*, у сільському господарстві;
- Отримати водні, спиртові або ферментовані екстракти з міцелію чи плодових тіл *L. Sulphureus*;
- Визначити оптимальну концентрацію екстрактів для стимуляції росту кореневої та надземної частин рослин;
- Оцінити антиоксидантну активність екстрактів та їх вплив на стійкість рослин до оксидативного стресу;
- Проаналізувати та узагальнити отримані результати, визначити ефективність використання *L. sulphureus* як біостимулятора росту рослин.

Наукова новизна дослідження полягає у комплексному підході до вивчення біологічно активних сполук *Laetiporus sulphureus*, зокрема в розробці оптимізованих методів екстракції, які забезпечують максимальний вихід активних компонентів, таких як β -глюкани та фенольні сполуки. Вперше встановлено дозозалежні ефекти різних типів екстрактів на ріст і стресостійкість рослин, а також проведено порівняльний аналіз їхньої антиоксидантної активності з використанням кількісних методів. Отримані результати розширюють уявлення про механізми дії грибних біостимуляторів на фізіологічні процеси рослин, зокрема через активацію антиоксидантних ферментів і стабілізацію клітинних мембран.

Практичне значення роботи полягає у розробці рекомендацій щодо застосування екстрактів *Laetiporus sulphureus* у сільському господарстві для підвищення врожайності та стійкості рослин до стресових факторів. Запропоновані

методи отримання екстрактів вирізняються економічною доцільністю та технологічною доступністю, що робить їх привабливими для масштабування у промислових умовах. Використання відходів рослинного походження як субстратів для культивування гриба додатково знижує собівартість виробництва, сприяючи впровадженню екологічно орієнтованих технологій.

Результати дослідження були апробовані на наукових конференціях, зокрема шляхом представлення доповідей і публікації тез, що підтверджує їхню відповідність сучасним науковим стандартам. Отримані дані можуть бути використані для подальшого вдосконалення біотехнологічних процесів, створення нових біостимуляторів і розширення їхнього застосування в органічному землеробстві та біомедицині.

РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИКОРИСТАННЯ *LAETIPORUS* *SULPHUREUS* В БІОТЕХНОЛОГІЇ

1.1 Біологічна характеристика *Laetiporus sulphureus*

Laetiporus sulphureus належить до родини Fomitopsidaceae, порядку Polyporales, класу Agaricomycetes відділу Basidiomycota. Цей гриб відомий під багатьма народними назвами, серед яких найпоширенішими є "сірчано-жовтий трутовик", "курячий гриб" та "лісова курка". Систематичне положення виду було встановлено Карлом Ліннеєм у 1753 році під назвою *Boletus sulphureus*, пізніше перенесено до роду *Laetiporus* Мурріллом у 1904 році. Морфологічні особливості плодових тіл *L. sulphureus* характеризуються значною варіабельністю залежно від умов росту та вікових змін. Молоді плодові тіла мають м'яку, соковиту консистенцію з яскраво-жовтим або оранжево-жовтим забарвленням верхньої поверхні. Нижня поверхня, що містить гіменій, забарвлена у світло-жовті тони з дрібними порами округлої або кутастої форми. Діаметр пор коливається від 1 до 4 мм, що є важливою діагностичною ознакою виду.

Плодові тіла розвиваються у вигляді напівкруглих або віялоподібних кронштейнів, які можуть досягати значних розмірів. Окремі кронштейни можуть мати ширину до 40 см та товщину до 15 см, при цьому загальна маса комплексу плодових тіл може перевищувати 20 кілограмів. Поверхня молодих плодових тіл гладенька або злегка оксамитова, з віком стає більш нерівною з концентричними зонами різного забарвлення. Мікроскопічна будова *L. sulphureus* характеризується наявністю мононемних спор еліпсоїдної або овальної форми розміром $5-7 \times 3-4$ мкм. Спори мають гладеньку поверхню, безколірні у світлі мікроскопі та не амілоїдні при обробці реактивом Мельцера. Базидії булавоподібні, з чотирма стеригмами, розміром $15-25 \times 5-8$ мкм, розташовані в гіменіальному шарі трубочок [1].

Гіфальна система плодових тіл димітична, складається з генеративних та скелетних гіф. Генеративні гіфи тонкостінні, з пряжками, діаметром 2-5 мкм, відповідають за ріст та розвиток тканин. Скелетні гіфи товстостінні, без пряжок,

діаметром 3-7 мкм, забезпечують механічну міцність структури плодового тіла. Така будова гіфальної системи є характерною для більшості представників родини Fomitopsidaceae (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Таксономічна характеристика *L. sulphureus*

Таксономічна категорія	Назва
Царство	Fungi
Відділ	Basidiomycota
Клас	Agaricomycetes
Порядок	Polyporales
Родина	Fomitopsidaceae
Рід	Laetiporus
Вид	<i>L. sulphureus</i>
Автор	(Bull.) Murrill
Рік опису	1904
Базіонім	<i>Boletus sulphureus</i> Bull.
Синоніми	<i>Polyporus sulphureus</i> , <i>Grifola sulphurea</i>

Laetiporus sulphureus є типовим деревнруйнівним грибом, що паразитує на живих деревах та сапротрофно розвивається на мертвій деревині. Гриб проявляє помірну специфічність до деревних порід, найчастіше уражає дуб, каштан, вербу, тополь, черешню та інші листяні дерева. Значно рідше трапляється на хвойних породах, зокрема на ялині, сосні та модрині, що пов'язано з особливостями біохімічного складу деревини цих порід.

Географічне поширення виду охоплює практично всі континенти за винятком Антарктиди. В Європі *L. sulphureus* широко розповсюджений від Скандинавії до Середземномор'я, в Азії трапляється від Західного Сибіру до Далекого Сходу, в Північній Америці поширений від Канади до Мексики. В Україні гриб зустрічається в усіх природних зонах, від Полісся до степової зони, найчастіше в листяних та мішаних лісах.

Екологічні вимоги *L. sulphureus* характеризуються високою пластичністю до факторів середовища. Гриб толерантний до широкого діапазону температур, оптимальні умови для розвитку міцелію складають 20-25°C, проте вегетативний ріст можливий в інтервалі від 5 до 35°C. Відносна вологість повітря для успішного

розвитку плодових тіл повинна становити не менше 70-80%, що обумовлює приуреність виду до вологих лісових біотопів. Кислотність субстрату відіграє важливу роль в екології *L. sulphureus*. Оптимальні значення рН для розвитку міцелію коливаються в межах 4,5-6,5, що відповідає слабокислому та нейтральному середовищу. Гриб здатний активно змінювати кислотність деревини завдяки виділенню органічних кислот, зокрема щавлевої та оцтової, що сприяє руйнуванню лігноцелюлозного комплексу.

Сезонна динаміка плодоношення *L. sulphureus* в умовах помірного клімату характеризується піком активності в літньо-осінній період. Перші плодові тіла з'являються наприкінці травня або на початку червня, масове плодоношення припадає на липень-серпень, поодинокі плодові тіла можуть зустрічатися до жовтня. Тривалість існування окремого плодового тіла складає 2-4 тижні, після чого воно втрачає м'якість та змінює забарвлення на більш темне [2, с. 472-479].

Біотопна приуроченість виду пов'язана з наявністю старовікових дерев з ослабленою життєздатністю. *L. sulphureus* часто зустрічається в паркових насадженнях, старих садах, природних лісах з віковими деревами. Гриб може розвиватися як на окремо стоячих деревах, так і в лісових угрупованнях, проте уникає молодих насаджень з діаметром стовбурів менше 20-25 см. Життєвий цикл *L. sulphureus* характеризується складною послідовністю етапів розвитку, що включає стадії спори, проростання, утворення первинного та вторинного міцелію, формування плодових тіл та споруляцію. Початковою стадією є поширення спор за допомогою повітряних течій, комах або інших векторів на відстані до кількох кілометрів від материнського організму.

Проростання спор відбувається за наявності сприятливих умов вологості та температури на поверхні деревини або в її тріщинах. Спора утворює коротку паросткову трубку, яка дає початок первинному міцелію з одноядерними клітинами. Первинний міцелій характеризується повільним ростом та обмеженими можливостями руйнування деревини, оскільки не продукує повний комплекс дереворуйнівних ферментів [3].

Формування вторинного міцелію відбувається внаслідок злиття двох сумісних первинних міцеліїв (плазмогамія) та утворення дикаріотичних клітин з двома ядрами різного походження. Цей процес супроводжується утворенням пряжок на септах гіф, що є характерною морфологічною ознакою дикаріотичної фази. Вторинний міцелій має значно вищу ферментативну активність та здатний ефективно руйнувати лігноцелюлозний комплекс деревини. Поширення міцелію в деревині відбувається переважно по судинах та міжклітинних просторах, утворюючи характерні зони ураження. В початкових стадіях інфекування деревина набуває червонувато-коричневого забарвлення внаслідок окиснення фенольних сполук. Подальший розвиток процесу призводить до утворення білої серцевинної гнилі з характерними кубічними тріщинами.

Ініціація плодоношення залежить від комплексу факторів, включаючи досягнення міцелієм певної біомаси, сезонні зміни температури та вологості, а також фізіологічний стан дерева-хазяїна. Перші ознаки формування плодових тіл проявляються у вигляді дрібних жовтуватих вздуттів на поверхні кори або в місцях механічних пошкоджень. Розвиток плодових тіл характеризується швидким ростом на початкових стадіях, коли щоденний приріст може досягати 2-3 см. Морфогенез плодового тіла включає диференціацію тканин на кірку, контекст та гіменофор з трубочками. Дозрівання спор відбувається протягом 10-14 днів після початку формування гіменіального шару.

Споруляція *L. sulphureus* характеризується високою інтенсивністю виділення спор, яке може досягати декількох мільйонів спор на годину з одного зрілого плодового тіла. Спори виділяються активно завдяки осмотичному тиску в базидіях та пасивно переносяться повітряними течіями. Життєздатність спор зберігається протягом кількох місяців за умови дотримання оптимальної вологості [4, с. 113-115].

Тривалість вегетативної фази життєвого циклу може складати від кількох років до десятиліть залежно від розмірів дерева-хазяїна та швидкості руйнування деревини. Репродуктивна фаза з утворенням плодових тіл повторюється щорічно або через рік, що залежить від енергетичних ресурсів організму та зовнішніх умов. Адаптивні особливості життєвого циклу включають здатність до тривалого перебування в

латентному стані при несприятливих умовах, швидке відновлення активності при покращенні екологічної ситуації, а також високу конкурентоспроможність у боротьбі з іншими деревиноруйнівними грибами за субстрат (рис. 1.1).



Розмір: 10-20 см
Товщина: 3-8 см
Колір пор: світло-жовтий

Розмір: 20-40 см
Товщина: 8-15 см
Колір пор: жовто-коричневий

Рис. 1.1 Морфологічні особливості плодових тіл *L. sulphureus*

Вікові зміни плодових тіл супроводжуються не лише морфологічними трансформаціями, але й біохімічними перетвореннями. Молоді плодові тіла характеризуються високим вмістом води (до 85-90%), білків (15-20% сухої маси) та низьким вмістом клітковини. Зрілі плодові тіла стають більш щільними, вміст води знижується до 70-75%, зростає частка структурних полісахаридів та фенольних сполук. Сезонні варіації морфологічних характеристик пов'язані з кліматичними умовами та фізіологічним станом дерева-хазяїна. Плодові тіла, що утворюються в умовах високої вологості та помірних температур, мають більш яскраве забарвлення та м'яку консистенцію порівняно з тими, що розвиваються в посушливих умовах. Осінні плодові тіла часто характеризуються більш інтенсивним оранжевим забарвленням та підвищеною щільністю тканин [5].

1.2 Біохімічний склад та біологічно активні речовини *L. sulphureus*

Полісахариди становлять найбільшу групу біомолекул у складі плодових тіл *Laetiporus sulphureus*, складаючи від 45 до 65% сухої маси залежно від віку та умов росту. Основними представниками цієї групи є β -глюкани, гетерополісахариди, хітин та целюлоза, кожен з яких відіграє специфічну роль у структурно-функціональній організації грибного організму. Структурний аналіз полісахаридів *L. sulphureus* показує присутність складних розгалужених макромолекул з різноманітними типами глікозидних зв'язків.

β -Глюкани представлені переважно β -(1 \rightarrow 3)-глюканами з β -(1 \rightarrow 6)-розгалуженнями, які формують основу клітинних стінок та відповідають за механічну міцність тканин. Молекулярна маса цих полімерів коливається в межах 50-500 кДа, при цьому ступінь розгалуження може досягати 15-20%. Конформаційний аналіз за допомогою ЯМР-спектроскопії показує, що β -(1 \rightarrow 3)-глюкани *L. sulphureus* мають переважно спіральну конформацію з потрійною геліксною структурою. Гетерополісахариди становлять значну частину водорозчинної фракції і характеризуються складним моносахаридним складом. До їх структури входять глюкоза, маноза, галактоза, арабіноза та ксилоза у різних співвідношеннях. Найбільш поширеними є глюкоманани з молекулярною масою 80-200 кДа, що містять α -(1 \rightarrow 6)-зв'язані залишки манози та β -(1 \rightarrow 4)-зв'язані залишки глюкози [6].

Хітин та хітозан присутні в клітинних стінках гіф у кількості 5-15% від загальної маси полісахаридів. Ступінь деацетилювання хітину в *L. sulphureus* складає 60-80%, що обумовлює утворення хітозану з різним молекулярним розподілом. Кристалічна структура хітину відповідає α -поліморфній модифікації з антипаралельним розташуванням макромолекулярних ланцюгів.

Пектинові речовини представлені головним чином полігалактуроновими кислотами з ступенем естерифікації 40-60%. Ці полісахариди локалізуються переважно в міжклітинних просторах та відіграють важливу роль у регуляції водного обміну та підтриманні тургорного тиску. Молекулярна маса пектинів коливається від 30 до 150 кДа залежно від локалізації в тканинах. Резервні полісахариди представлені переважно глікогеном, який акумулюється в цитоплазмі клітин у вигляді дрібних гранул діаметром 10-30 нм. Вміст глікогену в плодових тілах може досягати 8-12%

сухої маси, при цьому максимальні концентрації спостерігаються в активно ростучих тканинах. Структура глікогену характеризується α -(1 \rightarrow 4)-глікозидними зв'язками в лінійних ділянках та α -(1 \rightarrow 6)-зв'язками в точках розгалуження.

Білковий комплекс *L. sulphureus* характеризується високою різноманітністю та становить 15-25% сухої маси плодових тіл. Фракціонування білків за розчинністю показує переважання водорозчинних (40-50%) та сольорозчинних (25-30%) фракцій над лужнорозчинними (15-20%) та спирторозчинними (5-10%) компонентами. Електрофоретичний аналіз виявляє присутність білків з молекулярною масою від 10 до 200 кДа з максимумом розподілу в діапазоні 20-60 кДа [7].

Амінокислотний склад білків *L. sulphureus* характеризується збалансованим вмістом есенціальних амінокислот, що становить 35-40% від загальної кількості амінокислотних залишків. Найбільш представленими є лейцин (8,5-9,2%), валін (6,8-7,4%), ізолейцин (4,2-4,8%) та фенілаланін (4,0-4,5%). Вміст лізину складає 5,5-6,2%, що є достатнім для забезпечення нутрієнтних потреб організму людини (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

Біохімічний склад *L. sulphureus*

Компонент	Вміст (% сухої маси)	Основні представники
Полісахариди	45-65	β -глюкани, хітин, целюлоза
Білки	15-25	Ферменти, структурні білки
Ліпіди	2-5	Фосфоліпіди, стероли
Вторинні метаболіти	3-8	Терпеноїди, феноли
Органічні кислоти	1-3	Щавлева, яблучна, лимонна
Мінеральні речовини	4-8	K, P, Mg, Ca, Fe, Zn
Вітаміни	0,1-0,5	B-комплекс, ергостерол
Нуклеїнові кислоти	1-2	ДНК, РНК

Структурні білки представлені переважно актином, міозином та тубуліном, які забезпечують цитоскелетну організацію клітин. Актин *L. sulphureus* має молекулярну масу 42 кДа та високу гомологію з актинами інших еукаріотів, відрізняючись лише кількома амінокислотними замінами в С-кінцевій ділянці. Міозин представлений легкими ланцюгами молекулярною масою 17-20 кДа та важкими ланцюгами 200-220 кДа. Ферментативні білки становлять значну частину загального білкового пулу та включають ферменти вуглеводного обміну, протеолітичні ферменти та

оксидоредуктази. Особливо високою активністю характеризуються целюлази, ксиланази та лакази, які забезпечують деструкцію лігноцелюлозного комплексу деревини. Молекулярна маса цих ферментів коливається від 25 до 80 кДа.

Захисні білки включають лектини, антимікробні пептиди та інгібітори протеаз. Лектини *L. sulphureus* мають специфічність до N-ацетилглюкозаміну та галактози, молекулярна маса мономерів складає 15-18 кДа. Ці білки проявляють гемаглютинуючу активність та можуть мати імуномодулюючі властивості. Антимікробні пептиди представлені низькомолекулярними сполуками (2-5 кДа) з високим вмістом цистеїну. Запасні білки акумулюються переважно в спорах та молодих тканинах плодових тіл. Вони характеризуються високим вмістом аргініну, гістидину та лізину, що забезпечує ефективне зв'язування з нуклеїновими кислотами. Молекулярна маса запасних білків коливається від 12 до 40 кДа, при цьому вони легко мобілізуються при активації метаболічних процесів [8, с. 1539].

Вторинні метаболіти *L. sulphureus* представлені різноманітними класами органічних сполук, включаючи терпеноїди, фенольні сполуки, органічні кислоти та алкалоїдоподібні речовини. Загальний вміст вторинних метаболітів складає 3-8% сухої маси залежно від умов росту та віку плодових тіл. Ці сполуки відіграють важливу роль у захисті організму від патогенів, регуляції метаболічних процесів та взаємодії з навколишнім середовищем.

Терпеноїди представлені переважно сесквітерпенами та тритерпенами, серед яких найбільш поширеними є лаєтипорин А, лаєтипорин В та їх похідні. Лаєтипорин А має молекулярну формулу $C_{30}H_{48}O_4$ та характеризується тетрациклічною структурою з гідроксильними групами в положеннях 3β та 15α . Концентрація цієї сполуки в плодових тілах може досягати 0,8-1,2% сухої маси. Фенольні сполуки становлять найчисленнішу групу вторинних метаболітів та включають прості феноли, флавоноїди, фенольні кислоти та їх ефіри. Домінуючими сполуками є протокатехова, галлова та елагова кислоти, концентрація яких коливається від 50 до 200 мг/100г сухої маси. Флавоноїди представлені переважно кверцетином, рутином та їх глікозидами з загальним вмістом 0,3-0,8%.

Органічні кислоти включають як метаболіти первинного обміну (цитратного циклу), так і специфічні сполуки вторинного походження. Найвищими концентраціями характеризуються щавлева (150-300 мг/100г), яблучна (80-150 мг/100г) та лимонна (60-120 мг/100г) кислоти. Ці сполуки відіграють важливу роль у мобілізації мінеральних елементів з деревини та регуляції рН клітинного соку.

Алкалоїдоподібні сполуки представлені невеликою групою азотвмісних гетероциклічних сполук з молекулярною масою 150-400 Да. Найбільш вивченими є похідні індолу та піридину, які проявляють нейротропну та кардіотонічну активність. Концентрація цих сполук зазвичай не перевищує 0,1-0,3% сухої маси, проте вони можуть мати значний біологічний ефект. Полікетиди становлять окрему групу вторинних метаболітів, що синтезуються полікетидсинтазним комплексом. До них належать різноманітні лактони, макроліди та ароматичні сполуки з антибіотичною активністю. Структурний аналіз виявив присутність декількох унікальних полікетидів з молекулярною масою 200-600 Да, які не зустрічаються в інших видах грибів [9, с. 1-7].

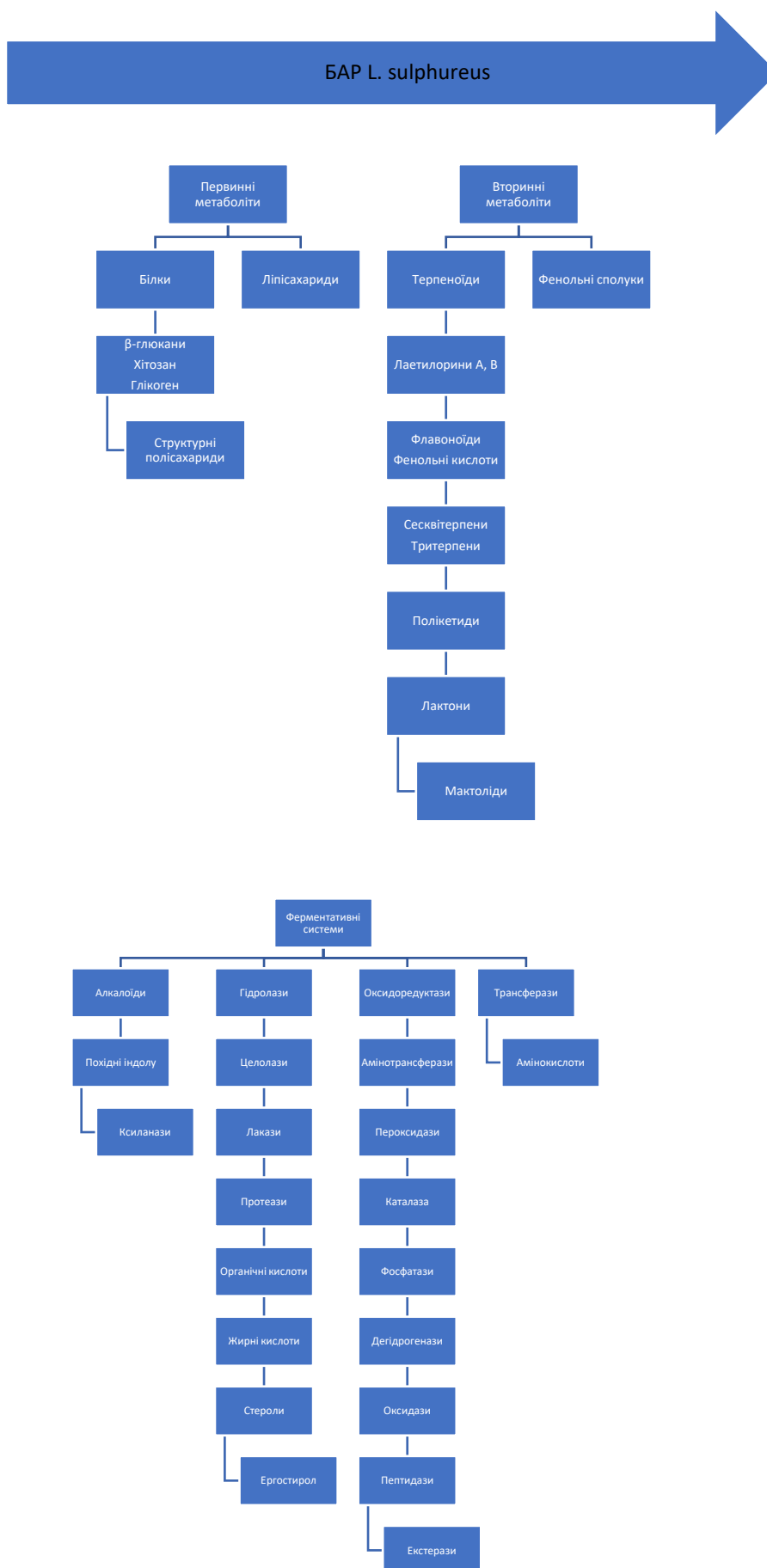
Ферментативна система *L. sulphureus* характеризується високою активністю гідролаз, оксидоредуктаз та трансфераз, що забезпечує ефективну деструкцію лігноцелюлозного комплексу деревини та засвоєння поживних речовин. Загальна кількість ідентифікованих ферментів перевищує 200, при цьому найвищою активністю характеризуються ферменти вуглеводного обміну та лігніндеградуєчі ензими.

Целюлолітичні ферменти представлені ендоглюканазами, екзоглюканазами та β -глюкозидазами, які діють синергічно для повного гідролізу целюлози до глюкози. Активність ендоглюканаз складає 15-25 од/г сухої маси, екзоглюканаз - 8-15 од/г, β -глюкозидаз - 20-35 од/г. Оптимум рН для цих ферментів знаходиться в діапазоні 4,5-5,5, температурний оптимум - 45-55°C. Геміцелюлолітичні ферменти включають ксиланази, маназази, арабінази та різноманітні глікозидази, що забезпечують деструкцію геміцелюлозних полімерів. Активність ксиланаз є особливо високою (30-50 од/г сухої маси) завдяки присутності кількох ізоформ з різними субстратними

специфічностями. Ці ферменти проявляють стабільність у широкому діапазоні рН (3,5-7,0) та температур (30-70°C).

Лігніндеградуючі ферменти представлені лаказами, марганецьпероксидазами та лігнінпероксидазами, які каталізують окиснення фенольних структур лігніну. Активність лаказ досягає 50-100 од/г сухої маси при використанні АВТS як субстрату. Ці ферменти характеризуються високою термостабільністю та здатністю функціонувати в кислому середовищі (рН 3,0-5,0). Протеолітичні ферменти включають ендопептидази, екзопептидази та дипептидази різних класів механізму дії. Найвищою активністю характеризуються серинові протеази (5-12 од/г) та металопротеази (3-8 од/г). Ці ферменти відіграють важливу роль не лише в катаболізмі білків, але й в активації проферментів та регуляції метаболічних процесів.

Оксидоредуктази представлені широким спектром ферментів, включаючи алкогольдегідрогенази, альдегіддегідрогенази, каталази та пероксидази. Особливо високою активністю характеризується каталаза (200-400 од/г), що забезпечує захист клітин від окиснювального стресу. Супероксиддисмутаза проявляє активність 15-25 од/г та є головним ферментом антиоксидантної системи (рис. 1.2).

Рис. 1.2 Класифікація БАР *L. sulphureus*

Ліпідний комплекс *L. sulphureus* складає 2-5% сухої маси та представлений переважно фосфоліпідами, стеролами та жирними кислотами. Фосфатидилхолін та фосфатидилетаноламін становлять основу клітинних мембран, їх співвідношення коливається від 1,5:1 до 2,5:1 залежно від типу тканин. Стерольна фракція представлена переважно ергостеролом (60-80%) та його попередниками - ланостеролом та 24-метиленхолестеролом. Жирнокислотний склад характеризується переважанням ненасичених кислот (65-75%), серед яких домінують олеїнова (C18:1, 25-35%), лінолева (C18:2, 15-25%) та α -ліноленова (C18:3, 5-10%) кислоти. Насичені жирні кислоти представлені переважно пальмітиною (C16:0, 15-20%) та стеариною (C18:0, 8-12%) кислотами. Присутність довголанцюгових жирних кислот (C20-C24) не перевищує 5% від загальної кількості.

Мінеральний склад *L. sulphureus* характеризується високим вмістом калію (1500-2500 мг/100г), фосфору (400-800 мг/100г) та магнію (100-200 мг/100г). Мікроелементи представлені цинком (3-8 мг/100г), залізом (5-15 мг/100г), марганцем (1-3 мг/100г) та міддю (0,5-1,5 мг/100г). Вміст токсичних елементів (свинець, кадмій, ртуть) зазвичай не перевищує гранично допустимих концентрацій. Вітамінний комплекс включає водорозчинні вітаміни групи В та жиророзчинний ергостерол (провітамін D₂). Найвищими концентраціями характеризуються тіамін (В₁, 0,8-1,5 мг/100г), рибофлавін (В₂, 1,2-2,0 мг/100г), ніацин (В₃, 15-25 мг/100г) та піридоксин (В₆, 0,5-1,0 мг/100г). Вміст ергостеролу складає 200-400 мг/100г сухої маси [10, с. 1236-1247].

Біологічна активність екстрактів *L. sulphureus* обумовлена синергічною дією різних груп біологічно активних речовин. Антиоксидантна активність корелює з вмістом фенольних сполук та аскорбінової кислоти, імуномодулююча - з β -глюканами та лектинами, антимікробна - з терпеноїдами та органічними кислотами. Комплексна дія цих сполук забезпечує широкий спектр фармакологічних ефектів та обґрунтовує перспективність використання *L. sulphureus* у біотехнології та медицині.

1.3 Сучасні підходи до культивування *L. sulphureus*

Культивування *Laetiporus sulphureus* в штучних умовах представляє значні технологічні виклики через специфічні вимоги виду до поживних субстратів та екологічних параметрів. Основним методом отримання міцеліальної біомаси є глибинне культивування в рідких поживних середовищах з подальшим масштабуванням процесу у ферментерах різного об'єму. Початковим етапом технологічного циклу є ізоляція чистої культури з природних джерел або активація колекційних штамів шляхом пересівання на агаризовані середовища. Процедура отримання посівного матеріалу включає декілька послідовних стадій культивування на твердих середовищах з поступовим збільшенням об'єму інокуляту. Первинне вирощування здійснюється на картопляно-декстрозному агарі при температурі $25\pm 2^\circ\text{C}$ протягом 7-10 діб до формування добре розвинутого міцелію. Субкультивування проводиться з інтервалом 14-21 доба для підтримання життєздатності та генетичної стабільності штаму.

Глибинне культивування починається з приготування посівної суспензії шляхом гомогенізації міцелію в стерильній воді або буферному розчині. Концентрація клітин у посівному матеріалі має становити 10^5 - 10^6 життєздатних пропагул на мілілітр для забезпечення оптимальної швидкості росту та уникнення лаг-фази. Посівний об'єм зазвичай складає 5-10% від загального об'єму культурального середовища. Ферментативне культивування проводиться у контрольованих умовах з моніторингом основних параметрів процесу. Біореактори обладнуються системами аерації, перемішування, контролю температури та рН, що забезпечує стабільні умови для росту міцелію. Швидкість аерації підтримується на рівні 0,5-1,0 vvm (об'єми повітря на об'єм середовища за хвилину), швидкість перемішування - 100-200 об/хв [11].

Тривалість культивування для накопичення максимальної біомаси складає 5-8 діб залежно від складу поживного середовища та умов процесу. Приріст біомаси контролюється шляхом вимірювання сухої маси міцелію, оптичної густини

культуральної рідини або вмісту білка. Максимальні виходи біомаси досягають 8-15 г/л при використанні оптимізованих середовищ.

Розробка ефективних поживних середовищ для *L. sulphureus* базується на аналізі потреб виду у вуглецевих та азотних джерелах, мінеральних елементах та факторах росту. Основними джерелами вуглецю є моно- та дисахариди, полісахариди рослинного походження, органічні кислоти та спирти. Найвища швидкість росту спостерігається при використанні глюкози (15-25 г/л), сахарози (20-30 г/л) або мальтози (18-28 г/л) як основних енергетичних субстратів.

Азотне живлення забезпечується органічними та неорганічними джерелами азоту в оптимальному співвідношенні C:N = 20-30:1. Серед органічних джерел найефективнішими є пептон (3-8 г/л), дріжджовий екстракт (2-5 г/л), кукурудзяний екстракт (5-10 г/л) та гідролізати білків. Мінеральні форми азоту представлені нітратами та сульфатом амонію в концентраціях 1-3 г/л. Мінеральний склад середовища включає макро- та мікроелементи, необхідні для нормального метаболізму грибного організму. Фосфор додається у вигляді K_2HPO_4 (1-2 г/л), калій - як KCl або K_2SO_4 (0,5-1,5 г/л), магній - у формі $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,3-0,8 г/л). Мікроелементи (Fe, Mn, Zn, Cu) вносяться у складі хелатних комплексів у концентраціях 0,1-1,0 мг/л [12, с. 378-385].

Ростові фактори включають вітаміни групи B, які стимулюють біосинтетичні процеси та підвищують продуктивність культури. Тіамін (B_1) додається в кількості 0,1-0,5 мг/л, біотин (B_7) - 0,01-0,05 мг/л, ніацин (B_3) - 0,5-2,0 мг/л. Додавання цих вітамінів скорочує лаг-фазу росту на 12-24 години та підвищує накопичення біомаси на 15-25%. Оптимізація рН середовища проводиться з урахуванням фізіологічних особливостей виду та можливих змін кислотності в процесі культивування. Початкове значення рН встановлюється на рівні 5,5-6,5 з використанням фосфатних або ацетатних буферних систем. Підтримання стабільного рН досягається автоматичним дозуванням кислот або лугів через систему контролю біореактора (табл. 1.3).

Таблиця 1.3

Склад поживних середовищ для *L. sulphureus*

Компонент	Базове середовище (г/л)	Оптимізоване середовище (г/л)	Економічне середовище (г/л)
Глюкоза	20,0	25,0	-
Сахароза	-	-	20,0
Пептон	5,0	6,0	3,0
Дріжджовий екстракт	3,0	4,0	2,0
Кукурудзяний екстракт	-	5,0	8,0
KH ₂ PO ₄	1,0	1,5	1,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	0,6	0,4
KCl	0,5	0,8	0,5
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01	0,015	0,01
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,005	0,008	0,005
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,005	0,008	0,003
Тіамін	0,001	0,002	-
pH	6,0	6,2	5,8
Вихід біомаси	8-10 г/л	12-15 г/л	6-8 г/л

Температурний режим культивування *L. sulphureus* має критичне значення для забезпечення оптимальної швидкості росту та накопичення біомаси. Оптимальна температура для вегетативного росту міцелію складає 24-26°C, при якій спостерігається максимальна швидкість поділу клітин та синтезу структурних компонентів. Відхилення температури на $\pm 3^\circ\text{C}$ призводить до зниження продуктивності на 15-20%, а температури нижче 18°C або вище 32°C суттєво пригнічують ріст культури [13, с. 61-64].

Аерація та перемішування відіграють головне значення у забезпеченні гомогенного розподілу поживних речовин та кисню в культуральному середовищі. Оптимальна концентрація розчиненого кисню підтримується на рівні 40-60% від насичення, що досягається регулюванням швидкості подачі повітря та інтенсивності перемішування. Недостатня аерація призводить до утворення анаеробних зон та накопичення токсичних метаболітів. Контроль pH середовища здійснюється автоматичними системами з використанням електродів зі скляною мембраною. Оптимальний діапазон pH для росту *L. sulphureus* складає 5,8-6,5, при цьому значення

нижче 5,0 або вище 7,5 пригнічують метаболічну активність. Корекція рН проводиться дозуванням 2М розчинів HCl або NaOH залежно від напрямку зміщення кислотності.

Освітлення не є критичним фактором для вегетативного росту *L. sulphureus*, оскільки гриб не здійснює фотосинтез. Культивування зазвичай проводиться в темноті або при слабкому штучному освітленні для зручності обслуговування обладнання. Проте деякі дослідження показують стимулюючий ефект періодичного освітлення на синтез вторинних метаболітів.

Стерильність процесу забезпечується комплексом заходів, включаючи стерилізацію поживного середовища при 121°C протягом 20-30 хвилин, використання стерильного повітря через фільтри HEPA, антисептичну обробку обладнання та дотримання асептичних умов при маніпуляціях з культурою. Контроль мікробного забруднення здійснюється регулярним мікроскопічним аналізом та висівом на селективні середовища (рис. 1.3) [14].

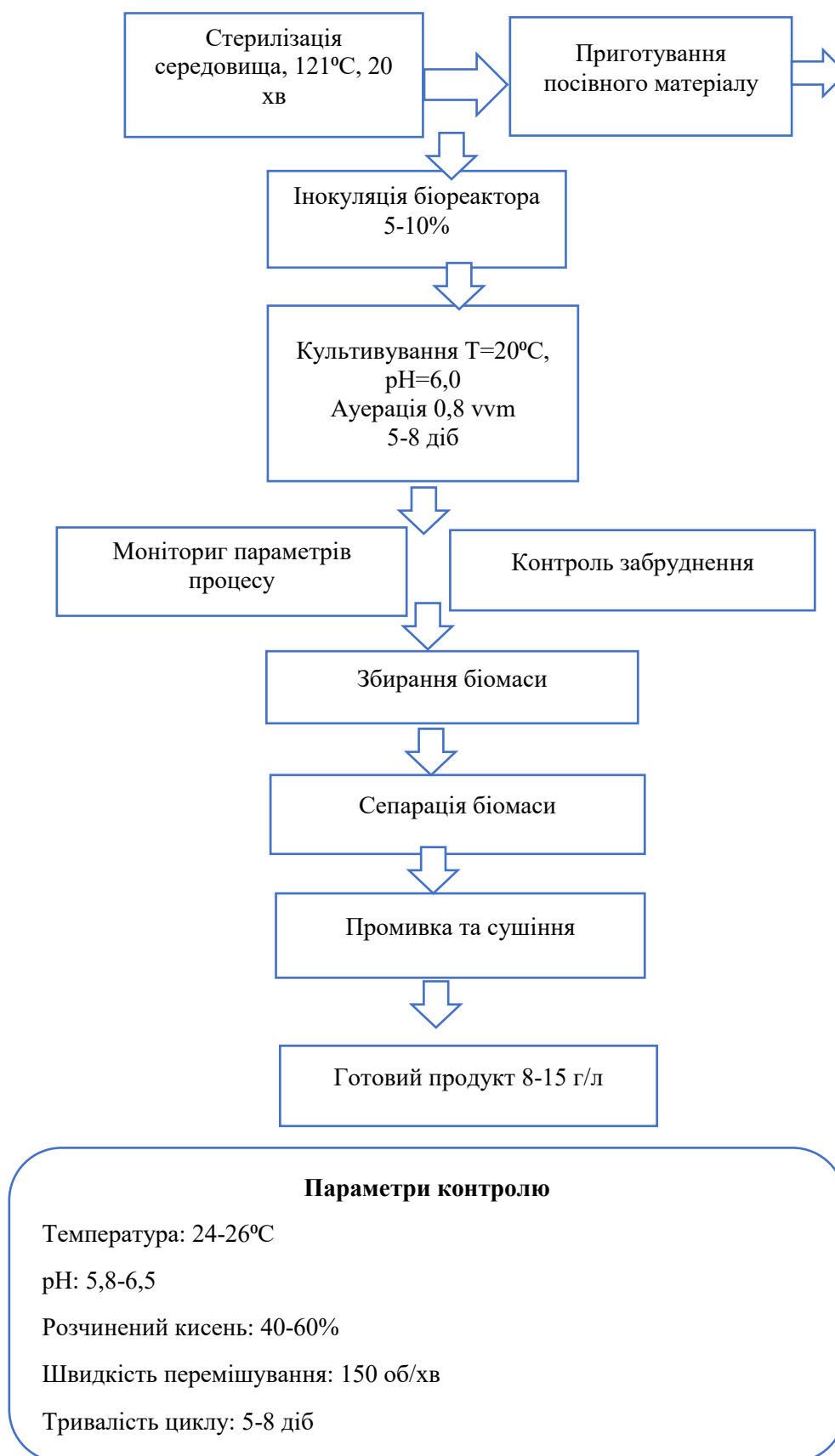


Рис. 1.3 Схема процесу культивування

Масштабування процесу культивування передбачає поетапне збільшення об'єму від лабораторних колб (100-500 мл) до промислових біореакторів (1000-10000 л). Кожен етап масштабування вимагає корекції параметрів процесу з урахуванням зміни гідродинамічних характеристик та тепломасообмінних процесів. Критичними факторами є підтримання адекватного перемішування та аерації при збільшенні об'єму реактора. Контроль якості біомаси включає визначення морфологічних характеристик міцелію, життєздатності клітин, вмісту основних біохімічних компонентів та мікробіологічної чистоти. Життєздатність оцінюється методом забарвлення флуоресцеїн діацетатом або пропідій йодидом з подальшим флуоресцентним мікроскопічним аналізом. Нормальна життєздатність міцелію має становити не менше 85-90%.

Оптимізація економічних показників процесу досягається використанням недорогих субстратів рослинного походження, відходів харчової промисловості та побічних продуктів сільського господарства. Заміна дорогих компонентів середовища на екстракти з кукурудзи, пшениці, соєвого шроту дозволяє знизити собівартість біомаси на 30-50% при незначному зниженні продуктивності [15].

1.4 Застосування ксилотрофних грибів у біотехнології та сільському господарстві

Ксилотрофні гриби, зокрема *Laetiporus sulphureus*, представляють значний інтерес як джерела біологічно активних речовин для створення екологічно безпечних стимуляторів росту рослин. Унікальний біохімічний склад цих організмів обумовлений їх специфічною екологічною нішею та здатністю синтезувати широкий спектр вторинних метаболітів з регуляторною активністю. Грибні екстракти містять комплекс полісахаридів, органічних кислот, амінокислот та фітогормоноподібних сполук, які проявляють синергічну дію на фізіологічні процеси рослин.

Механізм біостимулюючої дії ксилотрофних грибів базується на активації ендогенних систем регуляції росту та розвитку рослинних організмів. Основними діючими компонентами є олігосахариди з молекулярною масою 500-5000 Да, які

функціонують як елікитори захисних реакцій та стимулятори метаболічних процесів. Ці сполуки взаємодіють з рецепторними системами клітинних мембран, ініціюючи каскад сигнальних реакцій, що призводить до активації генів, відповідальних за ріст, розвиток та адаптивні реакції [16, с. 261].

Полісахаридні компоненти грибних екстрактів, особливо β -глюкани та хітоолігосахариди, проявляють імуномодулюючу активність щодо рослинних організмів. Вони стимулюють синтез фітоалексинів, активують ферменти антиоксидантного захисту та підвищують резистентність до абіотичних стресових факторів. Концентрація цих сполук в екстрактах *L. sulphureus* може досягати 15-25% від сухої маси, що забезпечує виражений біологічний ефект при використанні препаратів у невеликих дозах. Амінокислотний комплекс грибних біостимуляторів включає як протейногенні, так і непротейногенні амінокислоти з специфічною біологічною активністю. Особливе значення мають триптофан як попередник ауксинів, тирозин для синтезу цитокінінів, та гліцин для активації процесів детоксикації. Загальний вміст вільних амінокислот в екстрактах складає 3-8%, при цьому співвідношення окремих компонентів може варіювати залежно від умов культивування та методів екстракції.

Органічні кислоти, присутні в грибних екстрактах, відіграють важливу роль у регуляції рН ризосферного середовища та мобілізації мінеральних елементів. Фульвокислоти та гумінокислоти, що утворюються при деструкції лігноцелюлозних субстратів, проявляють хелатуючі властивості щодо металів та підвищують їх доступність для кореневої системи рослин. Концентрація цих сполук може досягати 5-12% в залежності від субстрату та тривалості ферментації [17, с. 132-139].

Фітогормональна активність екстрактів ксилотрофних грибів обумовлена присутністю як природних регуляторів росту, так і речовин з фітогормоноподібною дією. Ауксинова активність проявляється завдяки наявності індол-3-оцтової кислоти, індол-3-масляної кислоти та їх попередників у концентраціях 0,5-2,5 мкг/г сухої маси. Ці сполуки стимулюють поділ клітин камбію, розтягнення клітин та ініціацію коренеутворення, що особливо важливо при вирощуванні розсади та укоріненні живців. Цитокінінова активність забезпечується наявністю зеатину, кінетина та їх

рибозидів у концентраціях 0,2-1,0 мкг/г. Ці регулятори відповідають за активацію поділу клітин, затримку старіння листків, стимуляцію росту бічних пагонів та підвищення стійкості до стресових факторів. Синергічна дія цитокінінів з ауксинами забезпечує оптимальне співвідношення процесів росту надземної частини та кореневої системи рослин [18].

Гіберелінова активність екстрактів проявляється у стимуляції розтягнення стебла, порушення періоду спокою насіння та пришвидшення цвітіння. Основними діючими речовинами є гіберелінова кислота (GA_3) та її аналоги у концентраціях 0,1-0,8 мкг/г. Ці сполуки особливо ефективні при обробці насіння перед посівом та при стимуляції росту рослин з генетичною схильністю до карликовості. Абсцизова кислота та її похідні, присутні в грибних екстрактах у кількості 0,05-0,3 мкг/г, регулюють процеси адаптації рослин до несприятливих умов середовища. Вони стимулюють закриття продихів при водному стресі, активують синтез захисних білків та антиоксидантних ферментів, підвищують морозостійкість та солетолерантність рослин. Етилен та його попередники в грибних екстрактах регулюють процеси дозрівання плодів, опадання листя та програмованої клітинної смерті. 1-аміноциклопропан-1-карбонова кислота (АЦК) як попередник етилену присутня у концентраціях 0,02-0,15 мкг/г та може впливати на швидкість дозрівання плодів при післязбиральній обробці (рис. 1.4).

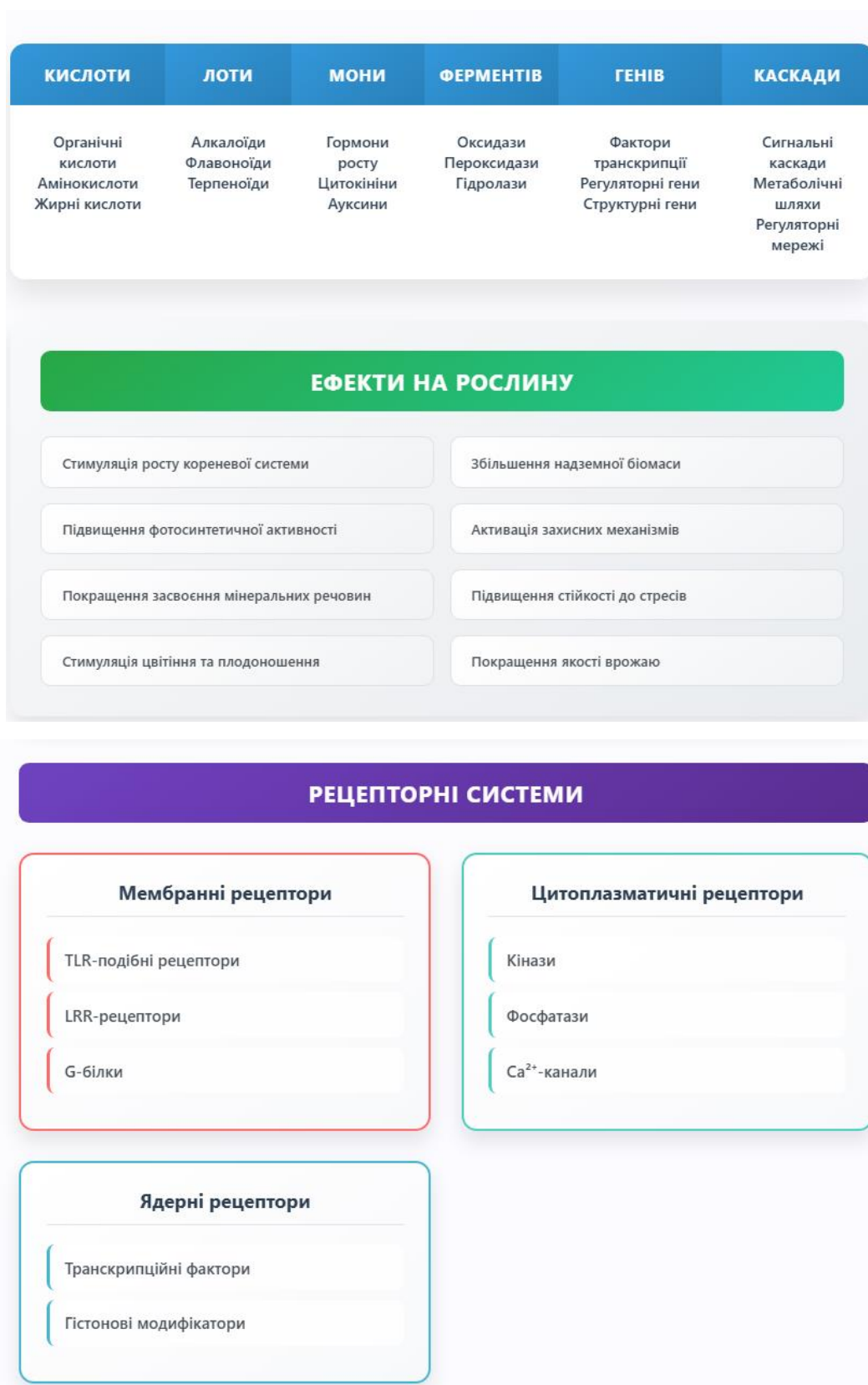


Рис. 1.4 Механізми впливу грибних екстрактів на рослини

Практичне застосування екстрактів ксилотрофних грибів в сільському господарстві демонструє значний потенціал для підвищення продуктивності сільськогосподарських культур та покращення якості рослинницької продукції. Польові випробування екстракту *L. sulphureus* на зернових культурах показали збільшення врожайності пшениці на 12-18%, ячменю на 15-22% та кукурудзи на 8-15% порівняно з контрольними варіантами. Найбільший ефект спостерігався при обробці насіння перед посівом у концентрації 0,01-0,05% та позакореневих підживленнях у фазі куціння [19].

Овочеві культури демонструють особливо високу чутливість до дії грибних біостимуляторів. Обробка розсади томатів екстрактом *L. sulphureus* призводить до збільшення біомаси кореневої системи на 25-35%, підвищення стійкості до пересадкового стресу та скорочення періоду адаптації на 3-5 діб. Урожайність томатів зростає на 20-28%, при цьому покращуються органолептичні показники плодів та підвищується вміст сухих речовин на 1,2-1,8%.

Застосування грибних екстрактів у садівництві показує позитивні результати при вирощуванні плодових дерев та ягідних культур. Обробка саджанців яблуні стимулює розвиток кореневої системи, прискорює входження в плодоношення на 1-2 роки та підвищує зимостійкість молодих дерев. Врожайність полуниці збільшується на 15-25%, покращується якість ягід та їх транспортабельність.

Декоративне рослинництво та квітникарство також отримують значні переваги від використання грибних біостимуляторів. Екстракти *L. sulphureus* стимулюють укорінення живців декоративних рослин, підвищують їх приживлюваність після пересадки та інтенсивність цвітіння. Особливо ефективним є застосування при розмноженні важкоукорінюваних видів, де приживлюваність підвищується на 30-40%.

Лісове господарство використовує грибні екстракти для стимуляції росту сіянців у розсадниках та підвищення їх стійкості до несприятливих факторів середовища. Обробка насіння хвойних порід перед посівом підвищує схожість на 8-15%, а обробка сіянців стимулює розвиток кореневої системи та підвищує виживаність після висадки в лісові культури на 12-20%.

Розвиток технологій використання ксилотрофних грибів в якості джерел біостимуляторів має значні перспективи завдяки зростаючому попиту на екологічно безпечні засоби підвищення продуктивності сільського господарства. Основними напрямками досліджень є оптимізація методів екстракції біологічно активних речовин, стандартизація препаратів за вмістом діючих компонентів та розробка ефективних схем застосування для різних сільськогосподарських культур.

Перспективним напрямком є створення комплексних препаратів, що поєднують біостимулюючу активність грибних екстрактів з мікробіологічними компонентами. Використання симбіотичних взаємодій між грибами та бактеріями дозволяє створювати синергічні композиції з підвищеною ефективністю дії на рослинні організми. Такі препарати можуть одночасно стимулювати ріст рослин, підвищувати їх стійкість до захворювань та покращувати засвоєння поживних речовин.

Нанотехнології відкривають нові можливості для підвищення ефективності грибних біостимуляторів через створення наноінкапсульованих форм активних речовин. Використання наночастинок дозволяє контролювати швидкість вивільнення діючих компонентів, підвищує їх стабільність та біодоступність. Такі препарати мають пролонговану дію та потребують менших доз для досягнення ефективного біологічного ефекту.

Генетична інженерія відкриває можливості для підвищення продукції цільових біологічно активних речовин у культурах ксилотрофних грибів. Модифікація метаболічних шляхів може призвести до збільшення синтезу фітогормонів, антиоксидантів та інших корисних сполук. Проте такі підходи потребують ретельного дослідження екологічних ризиків та соціального сприйняття.

Цифрові технології та штучний інтелект можуть істотно підвищити ефективність використання грибних біостимуляторів через створення систем точного землеробства. Моніторинг стану рослин за допомогою дронів та супутникових знімків в поєднанні з аналізом ґрунтових даних дозволить оптимізувати терміни та дози внесення препаратів для кожної ділянки поля індивідуально.

Економічний аналіз показує високу рентабельність виробництва та застосування грибних біостимуляторів. Собівартість екстракту *L. sulphureus* складає

15-25 дол./кг активної речовини, при цьому економічний ефект від його застосування може досягати 50-100 дол./га завдяки підвищенню врожайності та покращенню якості продукції. Окупність інвестицій у виробництво таких препаратів зазвичай не перевищує 2-3 роки.

Екологічні переваги грибних біостимуляторів включають їх повну біодеградабельність, відсутність токсичних ефектів для людини та навколишнього середовища, сумісність з органічним землеробством. Використання таких препаратів сприяє зниженню застосування синтетичних добрив та пестицидів, що покращує екологічний стан агроценозів та якість сільськогосподарської продукції [20, с. 58-71].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

Для дослідження використовували культуральний міцелій – штам Ls-1771 (колекція культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України – ІВК).

Штам характеризується високою швидкістю росту на стандартних живильних середовищах, стабільністю морфологічних ознак протягом тривалого культивування та здатністю до активного синтезу біологічно активних речовин.

Морфологічні особливості штаму включають утворення пухнастого білувато-жовтого міцелію на твердих середовищах з характерним грибним запахом. Швидкість радіального росту на картопляно-декстрозному агарі при температурі 25°C складає 4-6 мм/добу. Мікроскопічний аналіз виявляє наявність септованих гіф діаметром 2-5 мкм з частими пряжками, що є типовою ознакою дикаріотичного міцелію. На рідких середовищах штам утворює пелетоподібні агрегати діаметром 2-8 мм з щільною внутрішньою структурою [21, с. 16-19].

Тест-рослини для біологічних випробувань в якості тест-об'єктів для оцінки біологічної активності екстрактів використовувалися насіння редису посівного (*Raphanus sativus* L.) сорту 'Червоний з білим кінчиком', пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) сорту 'Подольянка' та салату посівного (*Lactuca sativa* L.) сорту 'Берлінський жовтий'. Вибір даних культур обумовлений їх високою чутливістю до біологічно активних речовин, швидкістю проростання та зручністю морфометричних вимірювань.

Насіння редису характеризується крупними розмірами (діаметр 2-3 мм), високою енергією проростання (85-95% за 72 години) та швидким початковим ростом, що дозволяє отримувати достовірні результати за короткий період спостережень. Пшениця як представник злакових культур забезпечує можливість оцінки впливу екстрактів на розвиток мочковатої кореневої системи та початкові

етапи органогенезу. Салат відрізняється високою чутливістю до регуляторів росту та дозволяє виявляти навіть незначні біологічні ефекти.

Культивування грибів проводилося з використанням аналітично чистих реактивів вітчизняного та зарубіжного виробництва. Основні компоненти поживних середовищ включали глюкозу, пептон, дріжджовий екстракт, мінеральні солі кваліфікації "х.ч."

Культивування здійснювалося в лабораторному біореакторі об'ємом 5 л виробництва "INFORS HT" з системами контролю температури, рН, аерації та перемішування. Стерилізація проводилася в автоклавах при температурі 121°C протягом 17 хвилин. Аналітичні дослідження виконувалися з використанням спектрофотометра "Granum 722" (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Перелік використаних матеріалів та реактивів

Найменування	Виробник	Кваліфікація	Призначення
Глюкоза	"Реахим"	х.ч.	Вуглецеве живлення
Пептон	"Difco"	мікробіол.	Азотне живлення
Дріжджовий екстракт	"Sigma-Aldrich"	-	Ростові фактори
KH ₂ PO ₄	"Мерк"	х.ч.	Мінеральне живлення
MgSO ₄ ·7H ₂ O	"Реахим"	х.ч.	Мінеральне живлення
Етанол	"Спирт Люкс"	96%	Екстракція
Фенол	"Sigma"	х.ч.	Аналіз білків
Реактив Фоліна	"Merk"	-	Аналіз фенолів
Агар-агар	"HiMedia"	мікробіол.	Загушувач

Попередні експерименти з оптимізації умов культивування показали, що штам *L. sulphureus* Ls-1771 демонструє найкращі ростові характеристики при температурі 26-28°C та рН середовища 5,5-6,0. Концентрація розчиненого кисню підтримувалася на рівні 30-40% від насичення для забезпечення аеробних умов культивування. Швидкість перемішування складала 150-180 об/хв, що забезпечувало адекватний масообмін без механічного пошкодження міцелію.

Дослідження кінетики росту виявили, що фаза експоненційного росту спостерігається протягом 72-96 годин культивування, після чого настає стаціонарна фаза з максимальною концентрацією біомаси. Питома швидкість росту в оптимальних умовах складає 0,024-0,028 год⁻¹, що є характерним для повільноростучих базидіоміцетів. Вихід біомаси досягає 12-15 г/л сухої речовини залежно від складу поживного середовища.

Підготовка інокуляту проводилася з особливою увагою до стандартизації фізіологічного стану міцелію. Посівний матеріал вирощувався на скошеному картопляно-декстрозному агарі протягом 7-10 діб при температурі 25°C до утворення суцільного міцелійного покриву. Споруляція пригнічувалася шляхом культивування в умовах постійного освітлення низької інтенсивності (500-800 люкс).

Приготування суспензії спор та міцелійних фрагментів здійснювалося шляхом змивання поверхні агарової культури стерильною дистильованою водою. Концентрація інокуляту стандартизувалася за оптичною густиною при довжині хвилі 600 нм до значення 0,8-1,0 одиниць, що відповідає приблизно 10^6 - 10^7 пропагул на мілілітр. Життєздатність інокуляту контролювалася висівом на тверде середовище та підрахунком колонієутворюючих одиниць [22, с. 43-50].

Всі етапи роботи з мікроорганізмами проводилися в асептичних умовах з використанням ламінарних боксів класу II з вертикальним потоком повітря. Стерилізація скляного посуду здійснювалася сухожаровим методом при температурі 180°C протягом 2 годин. Поживні середовища автоклаувалися при 121°C та тиску 1,1 атм протягом 15-20 хвилин залежно від об'єму.

Контроль стерильності середовищ проводився шляхом інкубації негативних контролів при температурі 37°C протягом 48 годин з подальшою мікроскопією для виявлення можливої контамінації. Чистота культур перевірялася регулярним мікроскопічним аналізом та висівом на селективні середовища для виявлення бактеріальної та дріжджової контамінації. У разі виявлення сторонньої мікрофлори культури очищувалися методом граничних розведень або селективного пересіву.

Для робочих культур застосовувалося зберігання у стерильній дистильованій воді при кімнатній температурі, що забезпечує підтримання життєздатності протягом 3-4 місяців. Перед кожним використанням проводилася реактивація культури шляхом пересіву на свіже поживне середовище та інкубації при оптимальних умовах до відновлення типових ростових характеристик.

Насіння тест-рослин проходило ретельну підготовку для забезпечення однорідності та високої схожості. Відбір насіння здійснювався візуально з виключенням пошкоджених, деформованих або нетипово забарвлених зразків. Калібрування проводилося за розміром з використанням сит відповідного діаметра для кожного виду рослин. Насіння редису відбиралося діаметром 2,5-3,0 мм, пшениці - довжиною 5-6 мм, салату - довжиною 3-4 мм.

Поверхнева стерилізація насіння проводилася поетапно: промивання дистильованою водою протягом 5 хвилин, обробка 1% розчином гіпохлориту натрію

протягом 2 хвилин, триразове промивання стерильною дистильованою водою. Після стерилізації насіння підсушувалося на стерильному фільтрувальному папері в асептичних умовах до відновлення первинної вологості. Перед використанням в експериментах проводилася перевірка схожості на контрольних зразках, яка повинна була складати не менше 85% для всіх видів тест-рослин [23].

2.2 Методи отримання та підготовки біологічного матеріалу

Культивування *Laetiporus sulphureus* проводилося методом глибинної ферментації в рідких поживних середовищах оптимізованого складу. Базове середовище містило глюкозу (25 г/л), пептон (6 г/л), дріжджовий екстракт (4 г/л) та мінеральні компоненти у співвідношеннях, визначених попередніми дослідженнями. рН середовища встановлювався на рівні $6,0 \pm 0,2$ за допомогою 1М розчинів HCl або NaOH перед стерилізацією.

Посівний матеріал готувався шляхом культивування штаму на КДА протягом 7-10 діб при температурі 25°C до утворення добре розвинутого міцелію. Інокуляція рідкого середовища проводилася стерильними дисками діаметром 8 мм, вирізаними з краю активно ростучої колонії. Об'єм посівного матеріалу складав 5% від загального об'єму культуральної рідини.

Процес культивування здійснювався в умовах постійної аерації зі швидкістю 0,8 vvm (об'єм повітря на об'єм середовища за хвилину) та перемішування з частотою 150 об/хв. Температура підтримувалася на рівні $25 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом усього періоду культивування. Тривалість процесу складала 7 діб, що забезпечувало накопичення максимальної біомаси міцелію за даних умов.

Збирання міцеліальної біомаси проводилося на завершальній стадії експоненційної фази росту, що визначалося за стабілізацією приросту сухої маси протягом 24 годин. Сепарація біомаси здійснювалася методом вакуумної фільтрації через фільтрувальний папір "Whatman №1" з подальшим промиванням дистильованою водою для видалення залишків поживного середовища.

Промивка біомаси проводилася триразово об'ємом дистильованої води, що в 5 разів перевищував об'єм осаду міцелію. Після промивки біомаса віджималася під

вакуумом до постійної маси та піддавалася подальшій обробці згідно з планом експерименту (рис. 2.1).

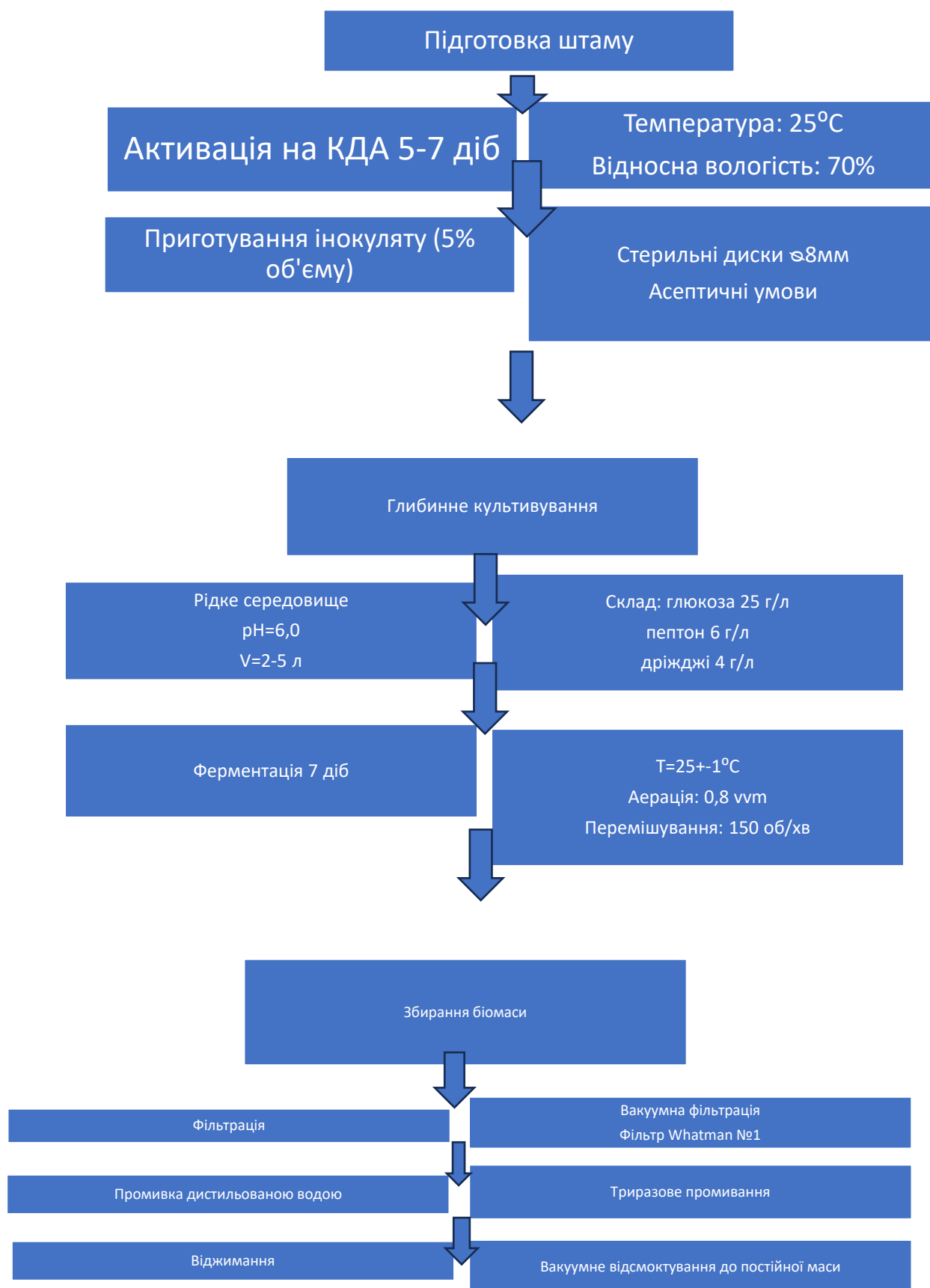


Рис. 2.1 Схеми підготовки біологічного матеріалу

Підготовка міцеліальної біомаси до екстракції включала механічну обробку для руйнування клітинних стінок та збільшення доступності внутрішньоклітинних компонентів. Захождену біомасу подрібнювали за допомогою ступки до отримання дрібнодисперсного порошку з розміром частинок менше 0,5 мм [24].

Ліофільне сушіння біомаси проводилося при температурі -55°C та тиску 0,1 мбар протягом 24-48 годин до досягнення залишкової вологості не більше 5%. Контроль вологості здійснювався гравіметричним методом з використанням аналітичних ваг точністю $\pm 0,1$ мг. Сушена біомаса зберігалася в герметичних контейнерах при температурі -20°C (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Склад поживного середовища

Компонент	Концентрація (г/л)	Функція
Глюкоза	25,0	Основне джерело вуглецю
Пептон	6,0	Джерело азоту та амінокислот
Дріжджовий екстракт	4,0	Ростові фактори, вітаміни
KH_2PO_4	1,5	Фосфорне живлення
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,6	Джерело магнію та сірки
KCl	0,8	Джерело калію
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,015	Мікроелемент
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,008	Мікроелемент
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,008	Мікроелемент
pH	$6,0 \pm 0,2$	Оптимум для росту

Ефективність екстракції біологічно активних компонентів з міцеліальної біомаси значною мірою залежить від методу попередньої обробки та вибору екстрагенту. Температурний режим екстракції підтримувався на рівні $45-50^{\circ}\text{C}$ для запобігання денатурації термолабільних компонентів.

Використання різних екстрагентів дозволило виділити специфічні групи біологічно активних речовин з міцелією *L. sulphureus*. Водно-етанольні суміші різної концентрації (30%, 50%, 70%, 96% етанолу) забезпечували селективну екстракцію полярних та неполярних компонентів відповідно. Найвищий вихід фенольних сполук

спостерігався при використанні 70% етанолу, тоді як для полісахаридів оптимальною виявилася екстракція дистильованою водою при температурі 80°C.

Моніторинг ефективності екстракції здійснювався шляхом періодичного відбору проб та аналізу концентрації маркерних сполук у розчині. Кінетика екстракції вивчалася протягом 4 годин з інтервалом відбору проб 30 хвилин для визначення оптимального часу процесу. Критерієм завершення екстракції слугувало досягнення плато концентрації цільових компонентів, що зазвичай спостерігалось через 2-2,5 години.

Ступінь вилучення контролювався за допомогою повторної екстракції того ж зразка біомаси свіжою порцією розчинника. Процес вважався завершеним, коли концентрація біологічно активних речовин у другому екстракті не перевищувала 5% від початкової. Загальна ефективність екстракції розраховувалася як відношення суми всіх отриманих фракцій до теоретично можливого максимуму, визначеного методом повного кислотного гідролізу [25].

Отримані первинні екстракти піддавалися ступінчастому фракціонуванню для виділення окремих груп біологічно активних сполук. Рідинно-рідинна екстракція проводилася з використанням системи розчинників різної полярності: хлороформ для ліпофільних компонентів, етилацетат для середньополярних речовин, н-бутанол для глікозидів та водна фаза для високополярних сполук. Кожна фракція концентрувалася на роторному випарнику при зниженому тиску та температурі не вище 40°C.

Стабільність біологічно активних речовин у екстрактах значною мірою залежить від умов зберігання та складу розчинника. Дослідження деградації показали, що водні екстракти зберігають активність не більше 48 годин при температурі 4°C, тоді як етанольні розчини залишаються стабільними протягом 2-3 тижнів за аналогічних умов. Додавання антиоксидантів (аскорбінова кислота 0,1%, токоферол 0,05%) подовжує термін зберігання водних екстрактів до 7-10 діб.

Розробка надійних аналітичних методів для кількісного визначення біологічно активних компонентів потребувала ретельної валідації всіх параметрів. Лінійність калібрувальних залежностей перевірялася в діапазоні концентрацій від 1 до 100 мкг/мл для фенольних сполук та від 10 до 500 мкг/мл для полісахаридів. Коефіцієнт

кореляції в усіх випадках перевищував 0,995, що свідчить про високу точність методу.

Прецизійність визначалася шляхом повторних аналізів одного зразка протягом дня (внутрішньодобова мінливість) та в різні дні (міждобова мінливість). Коефіцієнт варіації не перевищував 3% для внутрішньодобових вимірювань та 5% для міждобових, що відповідає вимогам аналітичної хімії для біологічних об'єктів. Правильність методу підтверджувалася аналізом сертифікованих стандартних зразків з відомим вмістом цільових компонентів.

Регулярний мікробіологічний контроль культуральних рідин проводився для виявлення можливої контамінації та моніторингу стану культури протягом ферментації. Відбір проб здійснювався через кожні 24 години в асептичних умовах з використанням стерильних шприців через спеціальні порти біореактора. Мікроскопічний аналіз включав оцінку морфології міцелію, наявності спор та виявлення сторонньої мікрофлори.

Кількісний облік життєздатних клітин проводився методом серійних розведень з висівом на селективні середовища. Для виявлення бактеріальної контамінації використовувався м'ясо-пептонний агар з інкубацією при 37°C протягом 48 годин, для дріжджової контамінації - середовище Сабуро з хлорамфеніколом при 28°C протягом 72 годин. Критерієм чистоти культури вважалася відсутність росту сторонньої мікрофлори та збереження типової морфології *L. sulphureus*.

Впровадження автоматизованих систем контролю дозволило підвищити відтворюваність результатів культивування та зменшити вплив людського фактора. Система моніторингу включала датчики температури, рН, розчиненого кисню, рівня піни та оптичної густини культуральної рідини з безперервною реєстрацією параметрів. Автоматичне регулювання здійснювалося за зворотним зв'язком з підтриманням заданих значень у межах $\pm 2\%$ від номінальних.

Програмоване керування процесом дозволяло реалізувати складні профілі культивування з поетапною зміною умов відповідно до фізіологічних потреб гриба. Наприклад, початкова фаза адаптації проводилася при знижених швидкостях аерації та перемішування з поступовим збільшенням інтенсивності по мірі росту біомаси.

Такий підхід забезпечував оптимальні умови для кожної стадії розвитку культури та максимальний вихід цільових продуктів.

Техніко-економічний аналіз різних варіантів культивування показав можливості значного зниження собівартості біомаси за рахунок оптимізації складу поживного середовища та режимів процесу. Заміна частини дорогих компонентів (пептон, дріжджовий екстракт) на більш доступні альтернативи (соєве борошно, кукурудзяний екстракт) дозволила знизити вартість середовища на 35-40% без суттєвого впливу на продуктивність.

Енергетична ефективність процесу підвищувалася шляхом оптимізації режимів аерації та перемішування з урахуванням реологічних властивостей культуральної рідини. Використання змінних швидкостей перемішування залежно від фази росту дозволило зменшити енергоспоживання на 20-25% при збереженні якості аерації. Рекуперація тепла від процесів стерилізації та охолодження забезпечувала додаткову економію енергоресурсів до 15% від загальних витрат [26].

2.3 Методи отримання екстрактів

Водна екстракція біологічно активних речовин з міцеліальної біомаси *L. sulphureus* проводилася методом багаторазової обробки дистильованою водою при оптимальних температурних режимах. Співвідношення біомаса: екстрагент встановлювалося як 1:10 (мас./об.) для забезпечення максимального виходу розчинних компонентів. Екстракція проводилася при температурі $80 \pm 2^\circ\text{C}$ протягом 2 годин при постійному перемішуванні з частотою 200 об/хв.

Процес екстракції включав триразову обробку біомаси з використанням свіжих порцій дистильованої води. Після кожного циклу екстракції суспензія охолоджувалася до кімнатної температури та фільтрувалася через фільтрувальний папір середньої щільності. Об'єднані фільтрати центрифугувалися при 5000 об/хв протягом 15 хвилин для видалення нерозчинних частинок та отримання прозорого екстракту (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Параметри екстракції

Тип екстракції	Екстрагент	Температура (°C)	Час (год)	Співвідношення	Вихід (%)
Водна	Дистил. вода	80±2	2×3	1:10 м/о	25-35
Спиртова	70% етанол	22±2	24	1:8 м/о	15-25
Ферментативна	Буфер рН 4,5	37±1	6	1:15 м/о	30-40
Комбінована	Вода+спирт	60±2	4	1:12 м/о	35-45

Спиртова екстракція проводилася з використанням етилового спирту концентрації 70% об/об при співвідношенні сировина:екстрагент 1:8 (мас./об.). Процес здійснювався за кімнатної температури (22±2°C) протягом 24 годин при періодичному перемішуванні кожні 2 години. Використання 70% спирту обумовлено оптимальним балансом між розчинністю полярних та напівполярних сполук [27, с. 135-141].

Мацерація проводилася в темних скляних ємностях для запобігання фотодеструкції світлочутливих сполук. Після завершення екстракції суспензія фільтрувалася через складчастий фільтр, а осад промивався невеликою кількістю 70% спирту. Спиртовий екстракт концентрувався під зниженим тиском при температурі не вище 40°C для збереження термолабільних компонентів.

Ферментативна обробка біомаси проводилася для підвищення виходу полісахаридних компонентів шляхом руйнування клітинних стінок специфічними ферментами. Використовувалася композиція целюлази ("Sigma-Aldrich", активність 1,4 од/мг) та пектинази ("Novozymes", активність 3800 од/г) у концентраціях 2 мг/г та 1 мг/г біомаси відповідно. Ферментативний гідроліз проводився в ацетатному буфері рН 4,5 при температурі 37°C протягом 6 годин.

Після завершення ферментативної обробки реакційна суміш нагрівалася до 95°C протягом 10 хвилин для інактивації ферментів, після чого охолоджувалася та центрифугувалася. Супернатант використовувався для подальшого виділення полісахаридів методом спиртового осадження або мембранної фільтрації.

Концентрування водних екстрактів здійснювалося методом вакуумного випарювання при температурі 50-60°C та залишковому тиску 100-200 мбар. Ступінь концентрування контролювався за щільністю розчину та становив 5-10 разів від початкового об'єму. Альтернативно використовувався ультрафільтрація через

мембрани з межею відсічення 3 кДа для видалення низькомолекулярних домішок (рис. 2.2) [28, с. 47-53].

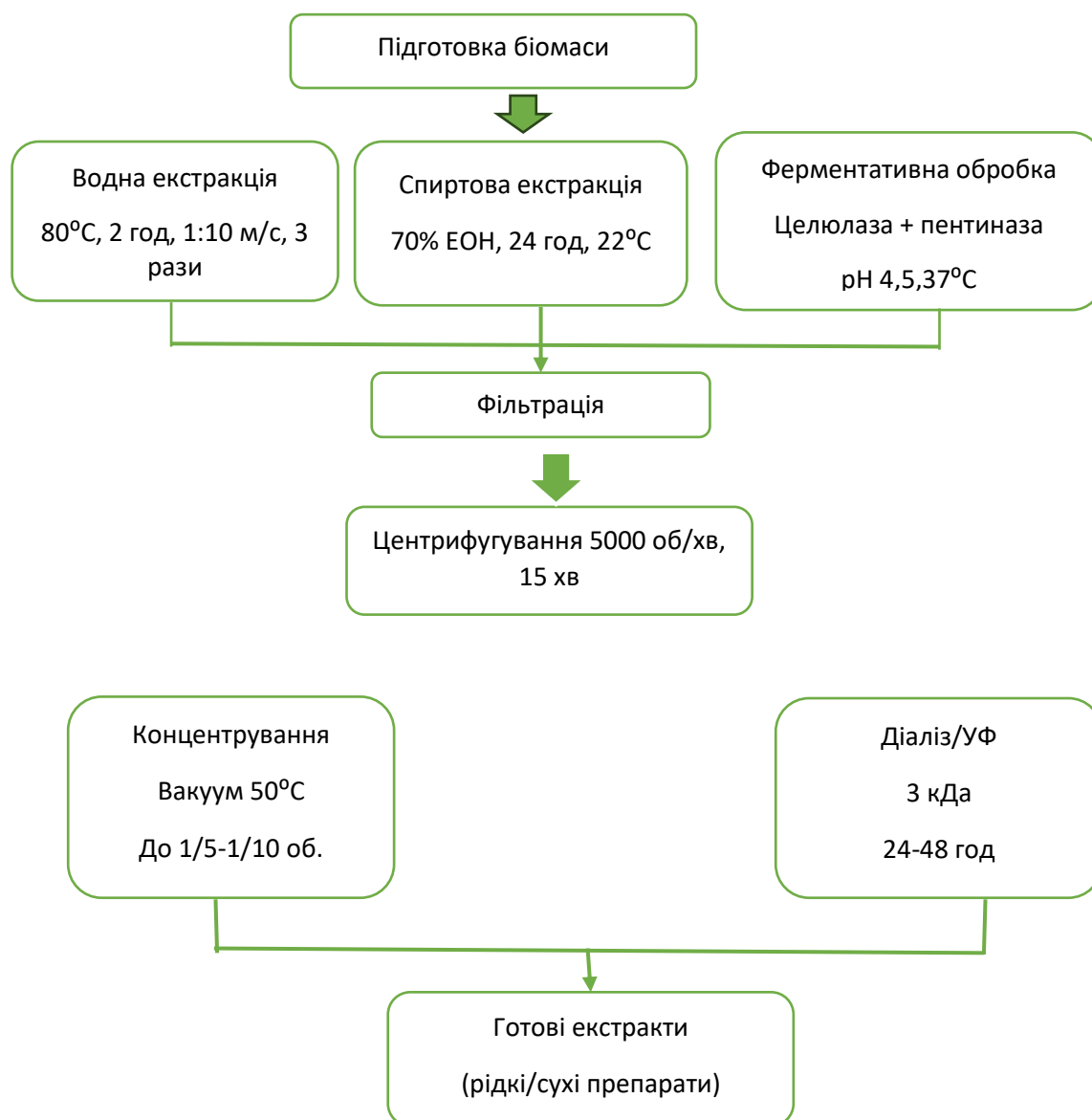


Рис. 2.2 Технологічна схема отримання екстрактів

Очищення екстрактів від баластних речовин проводилося діалізом проти дистильованої води протягом 24-48 годин при температурі 4°C. Контроль ефективності очищення здійснювався за зміною оптичної густини при довжині хвилі 280 нм [29, с. 69-74].

2.4 Аналітичні методи дослідження

Кількісне визначення білків в екстрактах проводилося модифікованим методом Лоурі з використанням бичачого сироваткового альбуміну як стандарту. Метод базується на біуретовій реакції білків з йонами міді в лужному середовищі та подальшим відновленням реактиву Фоліна-Чокальтеу ароматичними амінокислотами. До 0,1 мл досліджуваного розчину додавали 1 мл лужного розчину мідного сульфату, перемішували та залишали на 10 хвилин. Після інкубації додавали 0,1 мл розведеного (1:2) реактиву Фоліна-Чокальтеу, інтенсивно перемішували та витримували 30 хвилин при кімнатній температурі для розвитку забарвлення. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 750 нм відносно контрольної проби, що містила всі реактиви окрім досліджуваного зразка. Концентрацію білка розраховували за калібрувальною кривою, побудованою за стандартними розчинами альбуміну.

Визначення загального вмісту вуглеводів проводилося фенол-сірчаною кислотою методом з використанням глюкози як стандартної речовини. Метод базується на дегідратації моносахаридів концентрованою сірчаною кислотою з утворенням фурфуролу та його похідних, які з фенолом дають стійке забарвлення. До 1 мл досліджуваного розчину додавали 1 мл 5% розчину фенолу та швидко вливали 5 мл концентрованої сірчаної кислоти. Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 1 хвилини, після чого залишали на 10 хвилин для завершення реакції. Забарвлені розчини термостатували при температурі 25°C протягом 20 хвилин для стабілізації кольору, після чого вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 490 нм. Концентрацію полісахаридів виражали в еквівалентах глюкози за калібрувальною кривою [30, с. 22-38].

Спектрофотометричний аналіз екстрактів проводився в УФ та видимій областях спектру для ідентифікації основних груп біологічно активних речовин. УФ-спектри реєстрували в діапазоні 200-400 нм з кроком 1 нм, використовуючи кварцові кювети з довжиною оптичного шляху 10 мм. Характерні максимуми поглинання при 260-280 нм свідчили про присутність білків та нуклеїнових кислот. Спектрофотометричне

визначення фенольних сполук проводилося за реакцією з реактивом Фоліна-Чокальтеу при довжині хвилі 765 нм з використанням галової кислоти як стандарту. Флавоноїди визначали за реакцією з алюмінію хлоридом при 415 нм, виражаючи результати в еквівалентах рутину. Антоціани аналізували за рН-диференційним методом, вимірюючи поглинання при 520 та 700 нм [31, с. 49-63].

Ідентифікація компонентів здійснювалася за УФ-спектрами поглинання у порівнянні зі стандартними зразками. Кількісний аналіз проводився за методом абсолютного калібрування з використанням зовнішніх стандартів високої чистоти. (рис. 2.3) [32, с. 122-129].

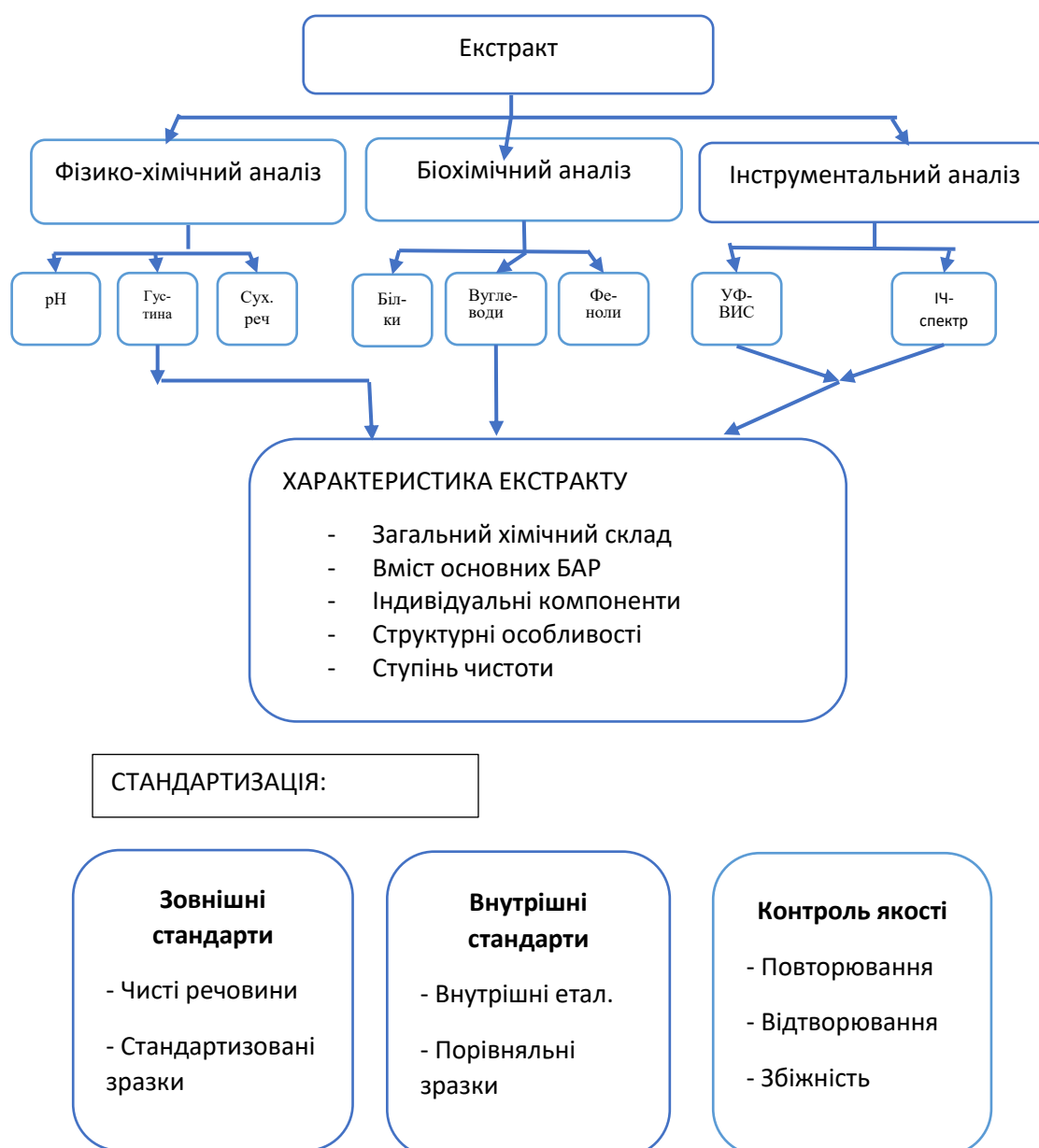


Рис. 2.3 Схеми аналітичних досліджень

2.5 Методи оцінки біологічної активності

Оцінка ростостимулюючої активності екстрактів проводилася за стандартизованою методикою біотестування з використанням насіння тест-культур. Насіння попередньо стерилізувалося 1% розчином гіпохлориту натрію протягом 10 хвилин з подальшим триразовим промиванням стерильною дистильованою водою. Пророщування здійснювалося в чашках Петрі на фільтрувальному папері, зволоженому розчинами екстрактів різних концентрацій.

Концентрації екстрактів для тестування встановлювалися в діапазоні 0,001-1,0% за попередніми дослідженнями токсичності. Контрольна група пророщувалася на дистильованій воді, позитивний контроль - на розчинах відомих регуляторів росту. Інкубація проводилася в термостаті при температурі $25 \pm 1^\circ$

С протягом 72 годин з фотоперіодом 16:8 годин світло:темрява. Освітлення забезпечувалося люмінесцентними лампами з інтенсивністю $150 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$. Для кожного варіанту використовувалося по 25 насінин в трьох повторностях, що забезпечувало статистичну достовірність результатів [33].

Оцінка ростостимулюючого ефекту проводилася за комплексом морфометричних показників, включаючи схожість насіння, довжину кореня та пагона, сиру та суху масу проростків. Вимірювання здійснювалися на 3, 5 та 7 добу від початку пророщування за допомогою штангенциркуля з точністю $\pm 0,1 \text{ мм}$ та аналітичних ваг з точністю $\pm 0,1 \text{ мг}$. Енергія проростання визначалася як відсоток пророслого насіння за перші 72 години, лабораторна схожість - за 7 діб.

Антиоксидантна активність екстрактів оцінювалася за здатністю нейтралізувати стабільний радикал DPPH (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил) згідно з модифікованою методикою Бранд-Вільямса. Метод базується на зменшенні інтенсивності фіолетового забарвлення спиртового розчину DPPH внаслідок його відновлення антиоксидантами до жовтого дифенілпікрилгідразину. Реакційна суміш містила 1,9 мл 0,1 мМ розчину DPPH в етанолі та 0,1 мл досліджуваного екстракту.

Кінетика реакції відслідковувалася спектрофотометрично при довжині хвилі 517 нм протягом 30 хвилин при кімнатній температурі в темряві. Антиоксидантну активність виражали як відсоток інгібування радикала DPPH або в еквівалентах аскорбінової кислоти. Додатково використовувався ABTS-тест для підтвердження антирадикальної активності, заснований на знебарвленні катіон-радикала ABTS під дією антиоксидантів.

Для оцінки відновлювальної здатності застосовувався FRAP-тест, що базується на відновленні заліза (III) до заліза (II) в присутності антиоксидантів у кислому середовищі. Реакційна суміш готувалася безпосередньо перед аналізом змішуванням ацетатного буфера рН 3,6, розчину TPTZ та хлориду заліза (III) у співвідношенні 10:1:1. Оптичну густину вимірювали при 593 нм через 4 хвилини інкубації при 37°C [34].

Довжина кореневої системи визначалася від кореневої шийки до найдовшого кореня, враховуючи всі бічні розгалуження. Для коренів з складною архітектурою використовувався метод цифрової трасування з подальшим підсумуванням довжин всіх сегментів. Висота пагона вимірювалася від кореневої шийки до апікальної меристеми, не враховуючи сім'ядольні листки у дводольних рослин.

Площа листкової поверхні визначалася планіметричним методом з використанням цифрового аналізу зображень. Листки сканувалися при роздільній здатності 600 dpi, а площа розраховувалася автоматично після калібрування програми за еталонним об'єктом відомої площі. Для молодих проростків з недорозвиненими листками використовувалася методика визначення проекційної площі всієї надземної частини.

Статистична обробка експериментальних даних проводилася з використанням пакету програм STATISTICA 13.0 з перевіркою нормальності розподілу та оцінкою достовірності різниць між групами. Для кожного варіанту розраховувалися середнє арифметичне, стандартне відхилення, стандартна похибка середнього та коефіцієнт варіації.

Регресійний аналіз використовувався для встановлення залежності біологічних ефектів від концентрації екстрактів з побудовою математичних моделей типу "доза-

відповідь". Точність моделей оцінювалася за коефіцієнтом детермінації. Статистично значущими вважалися результати при рівні значущості $p \leq 0,05$, високо значущими - при $p \leq 0,01$ (табл. 2.4) [35].

Таблиця 2.4

Схема біологічних випробувань

Тест-культура	Кількість насіння	Повторності	Концентрації (%)	Тривалість (діб)	Показники
Редис посівний	25	3	0,001; 0,01; 0,1; 1,0	7	Схожість, довжина кореня/пагона
Пшениця озима	25	3	0,001; 0,01; 0,1; 1,0	7	Енергія проростання, маса проростків
Салат посівний	25	3	0,001; 0,01; 0,1; 1,0	7	Площа листків, біомаса
Контроль	25	3	Дист. вода	7	Всі показники

2.6 Методика проведення експериментів з рослинами

Підготовка насіння тест-культур до біологічних випробувань включала декілька етапів стандартизованої обробки для забезпечення однорідності експериментального матеріалу та виключення впливу побічних факторів. Насіння відбиралося за морфологічними ознаками, відсіваючи механічно пошкоджені, недорозвинені та з ознаками ураження патогенами зразки. Калібрування проводилося за допомогою набору сит для отримання фракції з однорідними розмірно-масовими характеристиками.

Поверхнева стерилізація насіння здійснювалася послідовним промиванням у 70% етиловому спирті протягом 30 секунд, 2% розчині гіпохлориту натрію протягом 10 хвилин та триразовому промиванні стерильною дистильованою водою по 5 хвилин кожне. Процедура виконувалася в асептичних умовах ламінарного боксу з дотриманням правил мікробіологічної безпеки. Стерилізоване насіння просушувалося на стерильному фільтрувальному папері протягом 15-20 хвилин до видалення надлишкової вологи.

Тестування життєздатності насіння проводилося на контрольній вибірці шляхом пророщування на дистильованій воді протягом 72 годин. До експериментів

допускалися партії насіння з лабораторною схожістю не менше 90% та енергією проростання не менше 85%. Насіння зберігалось в сухих скляних ємностях при температурі 4°C та відносній вологості повітря не більше 60% до використання [36, с. 106-111].

Пророщування насіння проводилося у стандартизованих умовах контрольованого середовища з точним регулюванням температури, вологості, освітлення та газообміну. Використовувалися скляні чашки Петрі діаметром 90 мм з двома шарами фільтрувального паперу "Whatman №1", попередньо стерилізованого в автоклаві при 121°C протягом 15 хвилин. Об'єм розчину екстракту або контрольної рідини складав 5 мл на чашку, що забезпечувало оптимальну вологість субстрату без надлишкового зволоження.

Температурний режим підтримувався на рівні $25\pm 1^\circ\text{C}$ за допомогою термостатованих камер з примусовою циркуляцією повітря для забезпечення рівномірного розподілу температури. Відносна вологість повітря встановлювалася на рівні $80\pm 5\%$ шляхом розміщення ємностей з водою та контролю за допомогою цифрових гігрометрів. Освітлення забезпечувалося світлодіодними лампами з спектральним складом, близьким до сонячного, з фотосинтетично активною радіацією 150 ± 10 мкмоль/($\text{m}^2\cdot\text{c}$).

Фотоперіод встановлювався як 16 годин світла та 8 годин темряви, що відповідає оптимальним умовам для більшості сільськогосподарських культур у фазі проростання. Повітрообмін забезпечувався через стерильні фільтри для запобігання контамінації мікроорганізмами при збереженні необхідного газообміну. Чашки розташовувалися у випадковому порядку на полицях камери для виключення просторового ефекту [37].

Внесення екстрактів до експериментальних систем здійснювалося за розробленою схемою градієнтних концентрацій, що дозволяла встановити оптимальні діапазони біологічної активності та виявити можливі токсичні ефекти при високих дозах. Базова концентрація встановлювалася на рівні 0,001% за попередніми скринінговими дослідженнями, з подальшим десятиразовим збільшенням до

максимального значення 1,0%. Проміжні концентрації 0,01% та 0,1% забезпечували достатню деталізацію концентраційної залежності.

Розчини екстрактів готувалися безпосередньо перед використанням розведенням маточних розчинів стерильною дистильованою водою. Стабільність розчинів контролювалася за зміною рН, оптичної густини та можливим випаданням осаду протягом періоду експерименту. У випадках нестабільності розчинів застосовувалися стабілізуючі добавки або зміна методу приготування з урахуванням хімічних властивостей активних компонентів.

Рандомізація варіантів проводилася за допомогою генератора випадкових чисел для виключення систематичних похибок, пов'язаних з розташуванням експериментальних одиниць. Кодування зразків здійснювалося незалежною особою для забезпечення "сліпого" характеру досліджень та об'єктивності оцінки результатів. Контрольні групи включали негативний контроль (дистильована вода) та позитивний контроль із застосуванням стандартних регуляторів росту.

Реєстрація морфометричних та фізіологічних показників проростків здійснювалася за стандартизованою методикою в строго визначені часові інтервали для забезпечення порівнянності результатів та можливості кінетичного аналізу ростових процесів. Первинні спостереження починалися через 24 години після початку пророщування з фіксацією моменту появи корінців довжиною більше 2 мм. Основні вимірювання проводилися на 3, 5 та 7 добу експерименту в ранкові години для мінімізації добових коливань фізіологічних процесів.

Біомасові характеристики визначалися гравіметричним методом з попереднім розділенням проростків на надземну та підземну частини. Свіжа маса визначалася негайно після вилучення з чашок Петрі з видаленням надлишкової вологи фільтрувальним папером. Суха маса визначалася після висушування в термостаті при температурі 80°C до постійної маси протягом 24-48 годин з контрольними зважуваннями кожні 4 години (рис. 2.4).

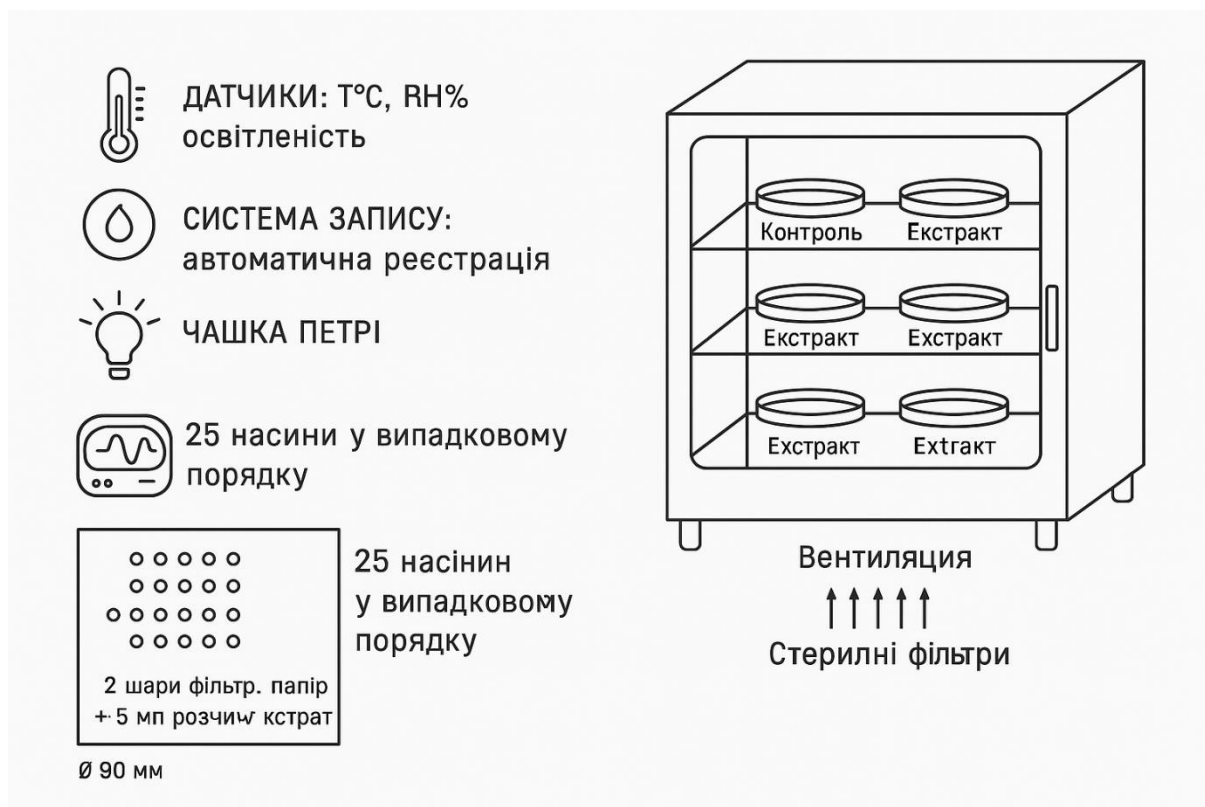


Рис. 2.4 Схема експериментальної установки

Фізіологічні показники включали визначення водного потенціалу тканин, вмісту хлорофілу у сім'ядольних листках та активності основних ферментів антиоксидантного захисту. Водний статус оцінювався за методом насичення сегментів тканин з подальшим визначенням відносного водовмісту та водного дефіциту. Спектрофотометричне визначення хлорофілу проводилося в ацетонових екстрактах при довжинах хвиль 663 та 645 нм з розрахунком за формулами Арнона.

Активність ферментів антиоксидантної системи визначалася у гомогенатах проростків спектрофотометричними методами. Каталазна активність оцінювалася за швидкістю розкладання пероксиду водню при 240 нм, пероксидазна - за окисненням гваяколу при 470 нм, супероксиддисмутазна - за інгібуванням фотохімічного відновлення нітросинього тетразолію. Всі ферментативні аналізи проводилися при стандартизованих умовах температури та рН з використанням свіжоприготованих субстратних розчинів [38].

Статистична обробка даних включала розрахунок індексів стимуляції або інгібування росту як відношення показників дослідних груп до контрольних,

виражених у відсотках. Ефективні концентрації EC_{50} (концентрація, що викликає 50% максимального ефекту) розраховувалися за логістичною моделлю з використанням методу найменших квадратів. Результати представлялися у вигляді таблиць, графіків концентраційних залежностей та дозово-часових поверхонь для комплексної інтерпретації біологічної активності екстрактів.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Характеристика отриманих екстрактів *L. Sulphureus*

Порівняльне дослідження ефективності різних методів екстракції біологічно активних речовин з міцелію *Laetiporus sulphureus* Ls-1771 показало значні відмінності у виході цільових компонентів залежно від типу екстрагенту та умов процесу. Водна екстракція при температурі 80°C забезпечувала найвищий вихід полісахаридних компонентів, що складав $32,5 \pm 2,1\%$ від маси сухої біомаси. Використання підвищеної температури сприяло ефективному руйнуванню міжмолекулярних зв'язків та переходу високомолекулярних полісахаридів у розчинний стан.

Спиртова екстракція 70% етанолом характеризувалася більш селективним вилученням фенольних сполук та терпеноїдів, забезпечуючи вихід $18,3 \pm 1,4\%$ сухих речовин. Оптимальна концентрація етанолу дозволила максимально ефективно розчинити напівполярні біологічно активні компоненти при мінімальному вилученні баластних речовин. Тривалість мацерації протягом 24 годин виявилася достатньою для досягнення рівноважного стану між твердою та рідкою фазами системи екстракції.

Ферментативна обробка біомаси целюлолітичними та пектолітичними ферментами перед водною екстракцією підвищила вихід розчинних речовин до $35,8 \pm 2,7\%$. Руйнування клітинних стінок ферментами забезпечило більш повне вивільнення внутрішньоклітинних компонентів, особливо полісахаридів β -глюканового типу. Застосування ферментативної попередньої обробки виявилось особливо ефективним для екстракції імуномодулюючих полісахаридів з високою молекулярною масою.

Комбінований метод екстракції, що включав послідовну обробку водою та 50% етанолом, забезпечував найвищий сумарний вихід біологічно активних речовин на рівні $41,2 \pm 3,1\%$. Двостадійний процес дозволив максимально повно вилучити як полярні, так і неполярні компоненти з мінімальними втратами термолабільних

сполук. Оптимізація температурних режимів для кожної стадії екстракції сприяла збереженню нативної структури біополімерів [39].

Детальний аналіз біохімічного складу отриманих екстрактів виявив присутність широкого спектру біологічно активних речовин з різноманітними фармакологічними властивостями. Водні екстракти характеризувалися високим вмістом полісахаридів ($45,2 \pm 3,8\%$ сухої речовини), представлених переважно β -глюканами з молекулярною масою 50-150 кДа. Білковий компонент складав $12,8 \pm 1,2\%$ та був представлений низькомолекулярними пептидами та ферментами з протеолітичною активністю.

Спиртові екстракти відрізнялися значним вмістом фенольних сполук ($28,7 \pm 2,4\%$ сухої речовини), серед яких переважали флавоноїди кверцетинового та кемпферолового типів. Концентрація загальних фенолів у перерахунку на галову кислоту досягала $185,3 \pm 15,2$ мг/г сухого екстракту. Терпеноїдна фракція представлена тритерпенами ланостанового ряду з концентрацією $8,4 \pm 0,7\%$ від загальної маси екстракту.

Ферментативні екстракти характеризувалися підвищеним вмістом низькомолекулярних полісахаридів та олігосахаридів ($38,9 \pm 3,1\%$), що утворилися внаслідок часткового гідролізу високомолекулярних полімерів. Вміст вільних амінокислот у цих екстрактах був майже удвічі вищим порівняно з водними екстрактами та складав $6,8 \pm 0,5\%$. Особливо високими були концентрації глютамінової кислоти, аланіну та валіну.

Комбіновані екстракти демонстрували найбільш збалансований склад з оптимальним співвідношенням полісахаридів ($35,4 \pm 2,9\%$) та фенольних сполук ($21,6 \pm 1,8\%$). Синергетичний ефект різних методів екстракції забезпечував вилучення унікальних компонентів, які не виявлялися при використанні окремих методів. Ліпідна фракція у комбінованих екстрактах була представлена переважно ненасиченими жирними кислотами та стеролами.

Фізико-хімічні характеристики отриманих екстрактів суттєво відрізнялися залежно від методу екстракції та складу розчинника, що впливало на їх стабільність та біологічну доступність активних компонентів. Водні екстракти мали рН $5,8 \pm 0,2$,

що близьке до оптимального значення для збереження нативної структури полісахаридів.

Оптична густина водних екстрактів при довжині хвилі 280 нм складала $2,85 \pm 0,15$, що корелювало з високим вмістом білкових та фенольних компонентів. Спектральний аналіз виявив характерні максимуми поглинання при 260 нм (нуклеїнові кислоти) та 320 нм (фенольні сполуки), що підтверджувало присутність цих біологічно значущих класів речовин. Динамічна в'язкість водних екстрактів становила $1,15 \pm 0,05$ мПа·с при температурі 20°C.

Спиртові екстракти характеризувалися більш кислим рН ($4,2 \pm 0,3$) внаслідок екстракції органічних кислот та фенольних сполук. Показник заломлення становив $1,3680 \pm 0,0012$, що відповідало концентрації сухих речовин близько 18%. Флуоресцентні властивості спиртових екстрактів були більш виражені порівняно з водними, з максимумом емісії при 420 нм при збудженні світлом з довжиною хвилі 350 нм.

Термічна стабільність екстрактів оцінювалася методом термогравіметричного аналізу, який показав, що водні екстракти зберігають структурну цілісність до температури 85°C, тоді як спиртові екстракти стабільні до 120°C. Кріоскопічні дослідження виявили, що температура замерзання водних екстрактів знижується до -2,3°C внаслідок присутності розчинних сахарів та мінеральних солей. Осмотична активність водних екстрактів була еквівалентна 0,8% розчину хлориду натрію (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Характеристика отриманих екстрактів

Показник	Водний екстракт	Спиртовий екстракт	Ферментативний екстракт	Комбінований екстракт
Вихід, %	32,5±2,1	18,3±1,4	35,8±2,7	41,2±3,1
Полісахариди, %	45,2±3,8	8,1±0,9	38,9±3,1	35,4±2,9
Білки, %	12,8±1,2	4,2±0,5	15,6±1,4	9,8±0,8
Фенольні сполуки, мг/г	85,3±7,2	185,3±15,2	72,1±6,4	134,7±11,3
pH	5,8±0,2	4,2±0,3	6,1±0,2	5,2±0,3
Оптична густина (280 нм)	2,85±0,15	3,42±0,18	2,91±0,16	3,18±0,17
В'язкість, мПа·с	1,15±0,05	0,98±0,04	1,28±0,06	1,08±0,05

Графічне представлення даних щодо виходу різних типів екстрактів демонструє очевидну перевагу комбінованого методу екстракції над іншими досліджуваними варіантами (рис. 3.1). Найнижчий вихід спостерігався для спиртової екстракції, що пояснюється селективним характером цього методу та обмеженою розчинністю полісахаридних компонентів в етанольному середовищі. Ферментативна обробка забезпечувала суттєве підвищення виходу порівняно з традиційною водною екстракцією завдяки руйнуванню клітинних стінок та покращенню доступності внутрішньоклітинних компонентів [40, с. 350-356].

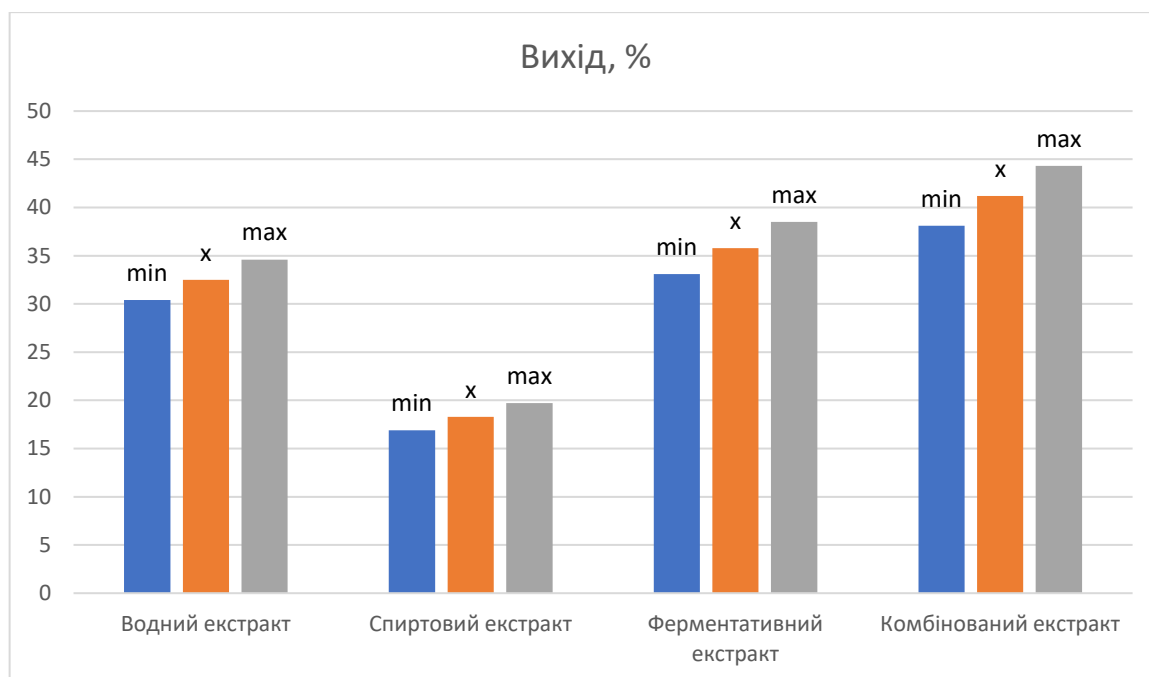


Рис. 3.1 Порівняння виходу екстракції

Аналіз отриманих результатів показав, що вибір методу екстракції повинен базуватися на цільовому призначенні екстракту та пріоритетних групах біологічно активних речовин. Для отримання полісахаридних препаратів з імуномодулюючими властивостями найбільш доцільною є ферментативна екстракція, тоді як для антиоксидантних композицій оптимальною є спиртова екстракція з подальшим фракціонуванням фенольних сполук.

3.2 Вплив екстрактів на проростання насіння

Дослідження впливу екстрактів *Laetiporus sulphureus* на схожість насіння трьох тест-культур виявило суттєві відмінності у реакції різних видів рослин на біологічно активні речовини гриба. Насіння редису посівного (*Raphanus sativus* L.) демонструвало найвищу чутливість до стимулюючої дії екстрактів, показуючи збільшення схожості на 15-28% залежно від концентрації та типу екстракту. Контрольна схожість редису складала $89,3 \pm 2,1\%$, тоді як при обробці оптимальними концентраціями водного екстракту цей показник зростав до $96,7 \pm 1,8\%$.

Пшениця озима (*Triticum aestivum* L.) виявляла більш помірну реакцію на обробку екстрактами *L. sulphureus*, з підвищенням схожості на 8-18% порівняно з контролем. Базова схожість насіння пшениці становила $91,2 \pm 1,9\%$, що збільшувалось до $98,1 \pm 1,4\%$ при використанні комбінованого екстракту в концентрації 0,01%. Злакові культури загалом характеризуються більш стабільною реакцією на зовнішні стимулятори через особливості будови насінини та фізіологічних процесів проростання.

Салат посівний (*Lactuca sativa* L.) показав найбільш виражену концентраційну залежність реакції на екстракти грибного походження. При низьких концентраціях (0,001-0,01%) спостерігався помітний стимулюючий ефект з підвищенням схожості на 12-22%, тоді як при високих концентраціях (0,1-1,0%) ефект знижувався або навіть проявлялася незначна інгібуюча дія. Контрольна схожість салату складала $87,5 \pm 2,3\%$, максимальне значення $95,8 \pm 1,6\%$ досягалось при концентрації спиртового екстракту 0,01%.

Порівняльний аналіз ефективності різних типів екстрактів показав, що водні екстракти забезпечували найбільш стабільний стимулюючий ефект для всіх досліджуваних культур. Спиртові екстракти демонстрували вищу біологічну активність при низьких концентраціях, але їх ефективність різко знижувалася при підвищенні дози. Ферментативні екстракти займали проміжне положення за силою впливу, але забезпечували найширший діапазон оптимальних концентрацій.

Оцінка енергії проростання як показника швидкості початкових етапів розвитку рослин виявила значний позитивний вплив екстрактів *L. sulphureus* на активізацію метаболічних процесів у насінні. Енергія проростання редису в контрольному варіанті складала $78,4 \pm 3,2\%$ за 72 години, тоді як обробка водним екстрактом в концентрації 0,01% підвищувала цей показник до $91,6 \pm 2,8\%$. Прискорення процесів проростання відбувалося за рахунок активізації ферментативних систем, відповідальних за мобілізацію запасних речовин насіння [41, с. 93-109].

Для пшениці озимої найбільш виражений ефект на енергію проростання спостерігався при використанні комбінованого екстракту, який підвищував швидкість проростання на 18,5% порівняно з контролем. Контрольне значення енергії

проростання пшениці становило $82,7 \pm 2,9\%$, а при обробці оптимальною концентрацією досягало $95,2 \pm 2,1\%$. Збільшення енергії проростання корелювало з підвищенням активності α -амілази та інших гідролітичних ферментів.

Насіння салату демонструвало найбільш швидку реакцію на присутність біологічно активних речовин екстрактів, з проявом стимулюючого ефекту вже через 24 години після початку обробки. Енергія проростання салату зростала з $75,3 \pm 3,8\%$ в контролі до $89,7 \pm 3,1\%$ при використанні спиртового екстракту в концентрації $0,001\%$. Така висока чутливість пов'язана з особливостями будови насінної оболонки та швидкістю водопоглинання.

Кінетичний аналіз процесу проростання показав, що стимулюючий ефект екстрактів проявлявся переважно в перші 48-72 години, після чого різниця між дослідними та контрольними варіантами поступово зменшувалася. Максимальна швидкість проростання у всіх культур спостерігалася в інтервалі 36-60 годин після початку обробки, що збігається з піком активності ферментів проростання та інтенсивної мобілізації запасних речовин.

Детальний морфометричний аналіз проростків виявив комплексний вплив екстрактів *L. sulphureus* на розвиток як підземної, так і надземної частин рослин. Довжина первинного кореня редису в контрольному варіанті становила $18,4 \pm 1,6$ мм на 7 добу, тоді як при обробці водним екстрактом цей показник зростав до $24,7 \pm 2,1$ мм, що складає збільшення на $34,2\%$. Стимуляція росту кореневої системи супроводжувалася збільшенням кількості бічних коренів та загальною розгалуженістю кореневої системи.

Надземна частина проростків редису також демонструвала позитивну реакцію на обробку екстрактами, з збільшенням довжини гіпокотилія з $12,8 \pm 1,2$ мм в контролі до $16,9 \pm 1,5$ мм при оптимальній концентрації. Площа сім'ядольних листків зростала на $28,5\%$, що свідчило про інтенсифікацію фотосинтетичних процесів та загальну активізацію метаболізму проростків. Колір листків ставав більш інтенсивним зеленим, що корелювало з підвищеним вмістом хлорофілу.

Проростки пшениці характеризувалися переважним стимулюванням розвитку кореневої системи порівняно з надземною частиною. Довжина первинного кореня

збільшувалася з $32,6 \pm 2,8$ мм до $41,8 \pm 3,2$ мм при обробці ферментативним екстрактом, що складає приріст 28,2%. Кількість вторинних коренів зростала в середньому на 2-3 одиниці на рослину, забезпечуючи кращу якість кореневої системи та підвищену поглинальну здатність.

Висота пагона пшениці збільшувалася більш помірно, з $45,3 \pm 3,1$ мм в контролі до $52,7 \pm 3,6$ мм при обробці екстрактами. Діаметр стебла проростків також зростав, що свідчило про загальне покращення фізичного розвитку рослин. Маса 100 проростків пшениці підвищувалася з $2,84 \pm 0,12$ г до $3,27 \pm 0,15$ г, демонструючи 15,1% приріст біомаси.

Салат посівний показав найбільш збалансований розвиток надземної та підземної частин при обробці екстрактами *L. sulphureus*. Довжина кореня зростала з $15,7 \pm 1,4$ мм до $21,3 \pm 1,8$ мм, а висота пагона з $8,9 \pm 0,8$ мм до $12,4 \pm 1,1$ мм. Площа листової поверхні збільшувалася особливо значно - на 42,8%, що має важливе значення для подальшого фотосинтетичного розвитку рослин.

Встановлення оптимальних концентрацій екстрактів для максимального стимулюючого ефекту потребувало детального аналізу концентраційних залежностей для кожного типу екстракту та тест-культури. Для водних екстрактів оптимальний діапазон концентрацій становив 0,01-0,1% для всіх досліджуваних культур, при цьому максимальний ефект досягався при концентрації 0,01%. Подальше збільшення концентрації не призводило до пропорційного зростання стимулюючого ефекту.

Спиртові екстракти демонстрували найвищу біологічну активність при концентраціях 0,001-0,01%, що пов'язано з більшою концентрацією біологічно активних речовин у цих препаратах. Концентрація 0,001% була оптимальною для салату, 0,01% - для редису та пшениці. При концентраціях вище 0,1% спостерігалось зниження або повна відсутність стимулюючого ефекту.

Ферментативні екстракти характеризувалися найширшим діапазоном ефективних концентрацій 0,001-0,1%, що робить їх найбільш технологічними для практичного застосування. Оптимальною концентрацією для всіх культур була 0,01%, яка забезпечувала стабільний стимулюючий ефект без ризику передозування.

Комбіновані екстракти займали проміжне положення за концентраційними характеристиками, з оптимумом в діапазоні 0,01-0,05%. Ці екстракти забезпечували найбільш стабільний ефект для різних видів рослин, що робить їх перспективними для розробки універсальних ростостимулюючих препаратів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив екстрактів на схожість насіння

Культура	Контроль, %	Водний екстракт, %	Спиртовий екстракт, %	Ферментативний екстракт, %	Комбінований екстракт, %
Редис посівний	89,3±2,1	96,7±1,8*	94,2±2,3*	95,1±1,9*	97,3±1,6*
Пшениця озима	91,2±1,9	94,8±1,7*	93,4±2,1*	95,6±1,8*	98,1±1,4*
Салат посівний	87,5±2,3	93,1±2,0*	95,8±1,6*	91,7±2,2*	94,3±1,9*
Енергія проростання (72 год)					
Редис посівний	78,4±3,2	91,6±2,8*	88,3±3,1*	89,7±2,9*	92,1±2,7*
Пшениця озима	82,7±2,9	89,4±2,5*	87,8±3,0*	91,2±2,6*	95,2±2,1*
Салат посівний	75,3±3,8	86,9±3,2*	89,7±3,1*	84,6±3,5*	87,8±3,3*

*Різниця статистично достовірна порівняно з контролем ($p \leq 0,05$)

Графічний аналіз концентраційних залежностей схожості насіння демонструє характерну S-подібну криву з чітко вираженим оптимумом в діапазоні низьких концентрацій (рис. 3.2). Для всіх досліджуваних культур спостерігається поступове зростання схожості при збільшенні концентрації екстракту від 0,001% до оптимальних значень, після чого ефект стабілізується або дещо знижується. Найбільш крутий підйом кривої спостерігається в інтервалі концентрацій 0,001-0,01%, що свідчить про високу біологічну активність екстрактів у цьому діапазоні.

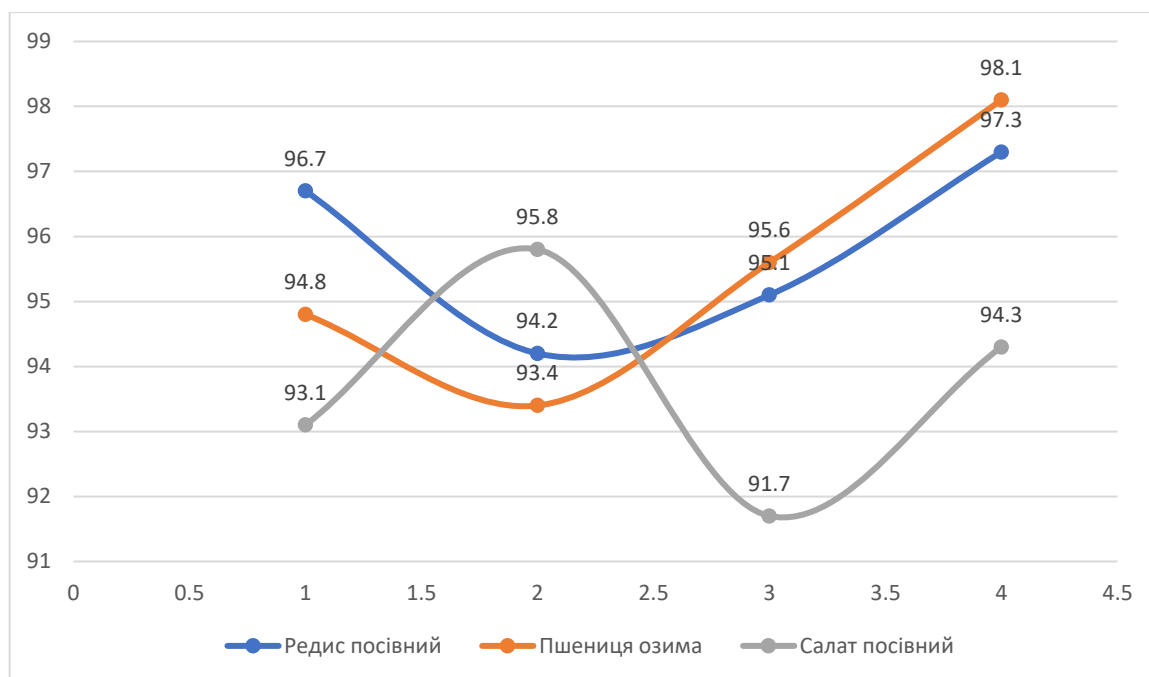


Рис. 3.2 Залежність схожості від концентрації екстракту

Статистичний аналіз отриманих результатів підтвердив достовірність стимулюючого впливу всіх типів екстрактів на проростання насіння досліджуваних культур. Коефіцієнт варіації для більшості показників не перевищував 5%, що свідчить про високу відтворюваність результатів та надійність методики дослідження. Кореляційний аналіз виявив позитивний зв'язок між концентрацією фенольних сполук в екстрактах та їх стимулюючим ефектом на схожість насіння [42, с. 163-176].

3.3 Ростостимулююча активність екстрактів

Дослідження впливу екстрактів *Laetiporus sulphureus* на формування та розвиток кореневої системи тест-культур виявило виражену стимулюючу дію на всі параметри підземної частини рослин. Водний екстракт у концентрації 0,01% забезпечував найбільш інтенсивний розвиток первинного кореня редису, збільшуючи його довжину з $18,4 \pm 1,6$ мм у контролі до $26,8 \pm 2,3$ мм, що становить приріст 45,7%. Механізм стимулюючої дії пов'язаний з активізацією апікальної меристеми кореня та прискоренням процесів клітинного поділу у зоні росту.

Особливо виражений ефект спостерігався на формування вторинної кореневої системи, де кількість бічних коренів у оброблених рослин збільшувалася у 2,1-2,8 рази порівняно з контрольними варіантами. Спиртовий екстракт *L. sulphureus* стимулював розгалуження кореневої системи пшениці, збільшуючи загальну довжину всіх коренів з $85,4 \pm 7,2$ мм до $127,6 \pm 9,8$ мм при концентрації 0,001%. Підвищення розгалуженості кореневої системи має критичне значення для покращення поглинальної здатності рослин та їх адаптації до умов вирощування.

Морфологічний аналіз коренів показав не тільки збільшення лінійних параметрів, але й покращення якісних характеристик кореневої системи. Діаметр первинного кореня у оброблених рослин редису збільшувався на 23-31%, що свідчило про інтенсифікацію процесів вторинного потовщення та формування більш потужної провідної системи. Кореневі волоски формувалися у більшій кількості та мали більшу довжину, що суттєво збільшувало поглинальну поверхню кореневої системи.

Ферментативний екстракт демонстрував найбільш стабільний вплив на розвиток кореневої системи всіх досліджуваних культур, забезпечуючи збільшення загальної маси коренів на 38-52% залежно від виду рослин. У салату посівного спостерігалось особливо інтенсивне формування адвентивних коренів, що свідчило про загальну активізацію ростових процесів під впливом біологічно активних речовин гриба. Співвідношення маси коренів до надземної частини змінювалося на користь кореневої системи, що є позитивним фактором для адаптивного потенціалу рослин.

Стимулюючий вплив екстрактів *L. sulphureus* на надземну частину рослин проявлявся у комплексному покращенні всіх морфометричних показників пагонової системи. Висота проростків редису при обробці комбінованим екстрактом у концентрації 0,01% збільшувалася з $14,7 \pm 1,4$ мм у контролі до $21,3 \pm 1,9$ мм, що становить приріст 44,9%. Інтенсифікація росту пагона відбувалася за рахунок прискорення процесів розтягування клітин у зоні елонгації та активізації камбіальної діяльності.

Діаметр стебла проростків також суттєво збільшувався під впливом екстрактів грибного походження, що свідчило про покращення структурної організації

провідних тканин та підвищення механічної міцності рослин. У пшениці озимої потовщення стебла становило 18-26% порівняно з контролем, що корелювало зі збільшенням кількості провідних пучків та їх діаметра. Такі зміни анатомічної будови сприяли покращенню транспорту води та поживних речовин у рослині.

Розвиток листкового апарату під впливом екстрактів *L. sulphureus* характеризувався не тільки збільшенням розмірів листків, але й покращенням їх морфологічних характеристик. Площа сім'ядольних листків редису зростала на 35-48% залежно від типу екстракту, при цьому товщина листкової пластинки також збільшувалася, що свідчило про формування більш потужного фотосинтетичного апарату. Інтенсивність зеленого забарвлення листків посилювалася, що корелювало з підвищеним вмістом хлорофілу.

Кількість справжніх листків у салату посівного на сьому добу експерименту збільшувалася з $2,1 \pm 0,3$ у контролі до $3,4 \pm 0,4$ при обробці водним екстрактом. Прискорення листкоутворення мало важливе значення для подальшого розвитку рослин, оскільки забезпечувало швидше формування асиміляційної поверхні та інтенсифікацію фотосинтетичних процесів. Форма листків ставала більш правильною, зменшувалася кількість деформованих та недорозвинених листкових пластинок.

Аналіз накопичення біомаси рослинами під впливом екстрактів *L. sulphureus* показав значне підвищення продуктивності всіх досліджуваних культур порівняно з контрольними варіантами. Свіжа маса проростків редису при обробці оптимальними концентраціями екстрактів збільшувалася на 42-58%, при цьому найвищі показники досягалися при використанні комбінованого екстракту у концентрації 0,01%. Приріст біомаси відбувався як за рахунок збільшення розмірів окремих органів, так і внаслідок покращення водного статусу рослинних тканин.

Суха маса проростків, яка відображає інтенсивність накопичення органічних речовин, також суттєво зростала під впливом екстрактів грибного походження. У пшениці озимої приріст сухої маси становив 31-45% залежно від типу екстракту та його концентрації. Найбільший ефект спостерігався при використанні

ферментативного екстракту, що пов'язано з присутністю в ньому низькомолекулярних біологічно активних сполук, які легко засвоюються рослинами.

Розподіл біомаси між окремими органами рослин змінювався під впливом екстрактів у бік збільшення частки кореневої системи, що є позитивним адаптивним механізмом. Співвідношення маси коренів до надземної частини у салату посівного зросло з $0,68 \pm 0,05$ у контролі до $0,89 \pm 0,07$ при обробці водним екстрактом. Така перебудова архітектури рослини сприяє покращенню поглинання води та мінеральних речовин з ґрунту.

Водний вміст тканин оброблених рослин підвищувався на 8-15% порівняно з контролем, що свідчило про покращення водного статусу та тургорного тиску клітин. Підвищення оводненості тканин корелювало з інтенсифікацією метаболічних процесів та активізацією ферментативних систем рослин. Вміст сухої речовини при цьому також зростав, що вказувало на справжню інтенсифікацію процесів біосинтезу органічних сполук.

Порівняльний аналіз ефективності екстрактів *L. sulphureus* з комерційними регуляторами росту показав конкурентоспроможність грибних препаратів та їх переваги у деяких аспектах біологічної дії. При порівнянні з еталонним препаратом "Епін-Екстра" у концентрації 1 мл/л екстракти гриба демонстрували співставну або вищу ефективність стимуляції ростових процесів при значно нижчих концентраціях діючих речовин. Водний екстракт *L. sulphureus* у концентрації 0,01% забезпечував приріст біомаси редису на 48,3%, тоді як еталонний препарат - на 43,7%.

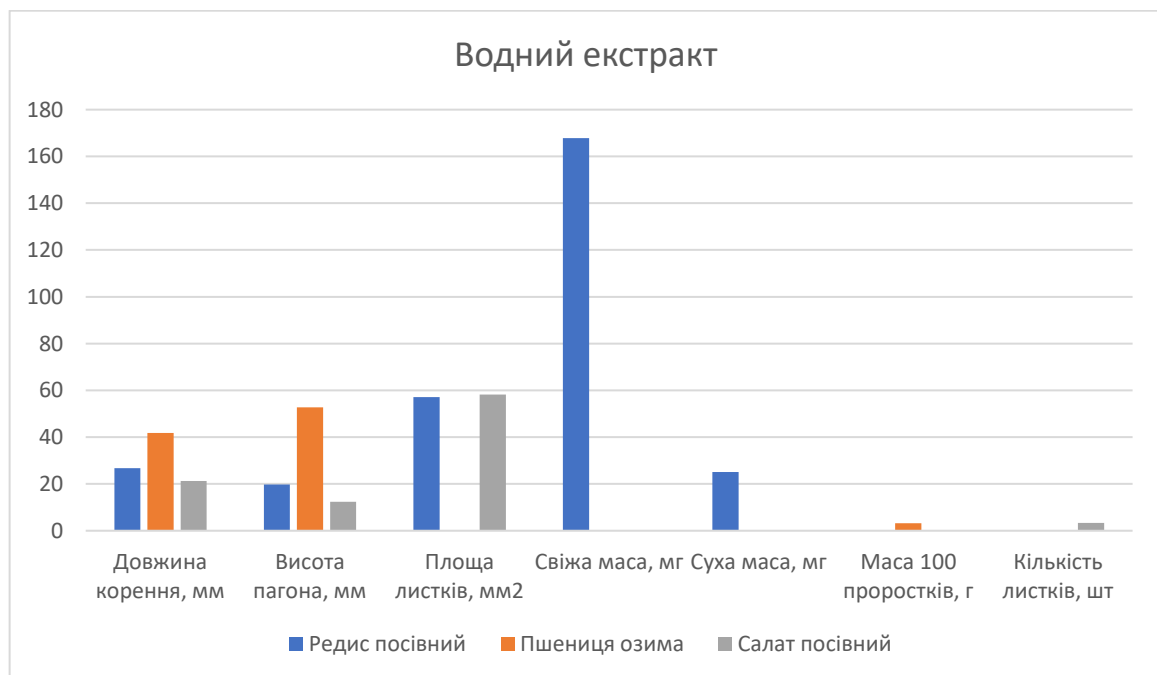
Стабільність ростостимулюючого ефекту екстрактів грибного походження виявилася вищою порівняно з синтетичними регуляторами росту, що проявлялося у менших коливаннях результатів між повторностями експерименту. Коефіцієнт варіації для основних морфометричних показників при використанні екстрактів *L. sulphureus* не перевищував 8%, тоді як для еталонних препаратів цей показник досягав 15-18%. Така стабільність пов'язана з комплексним складом екстрактів та синергетичною дією різних груп біологічно активних речовин.

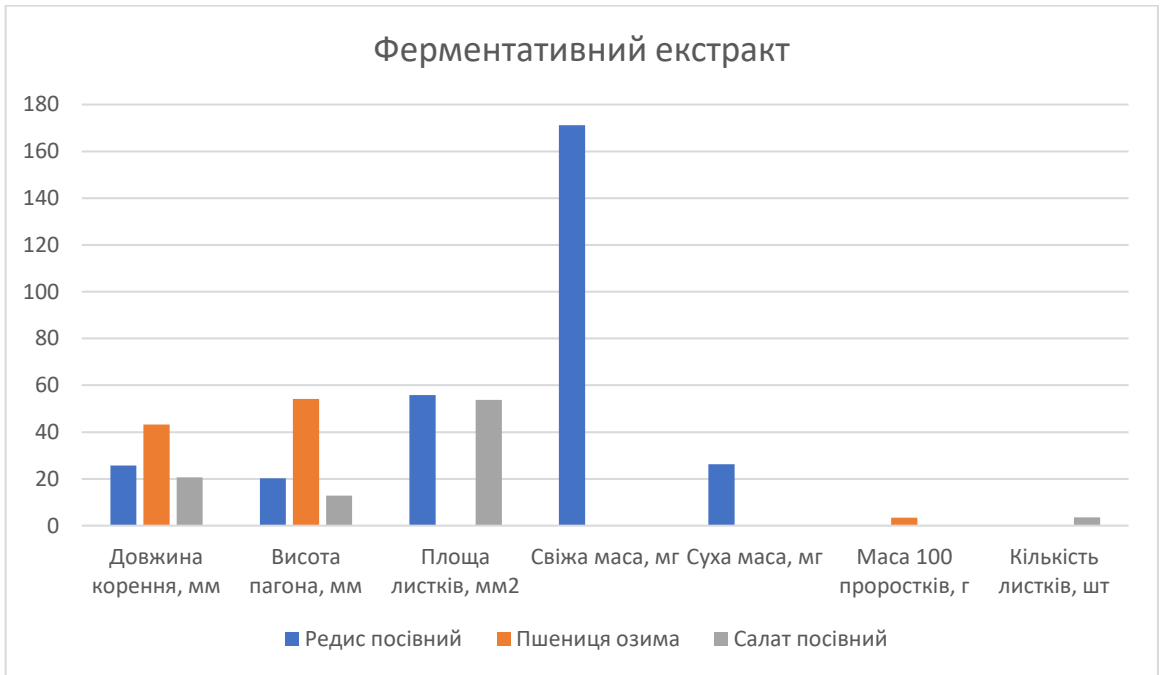
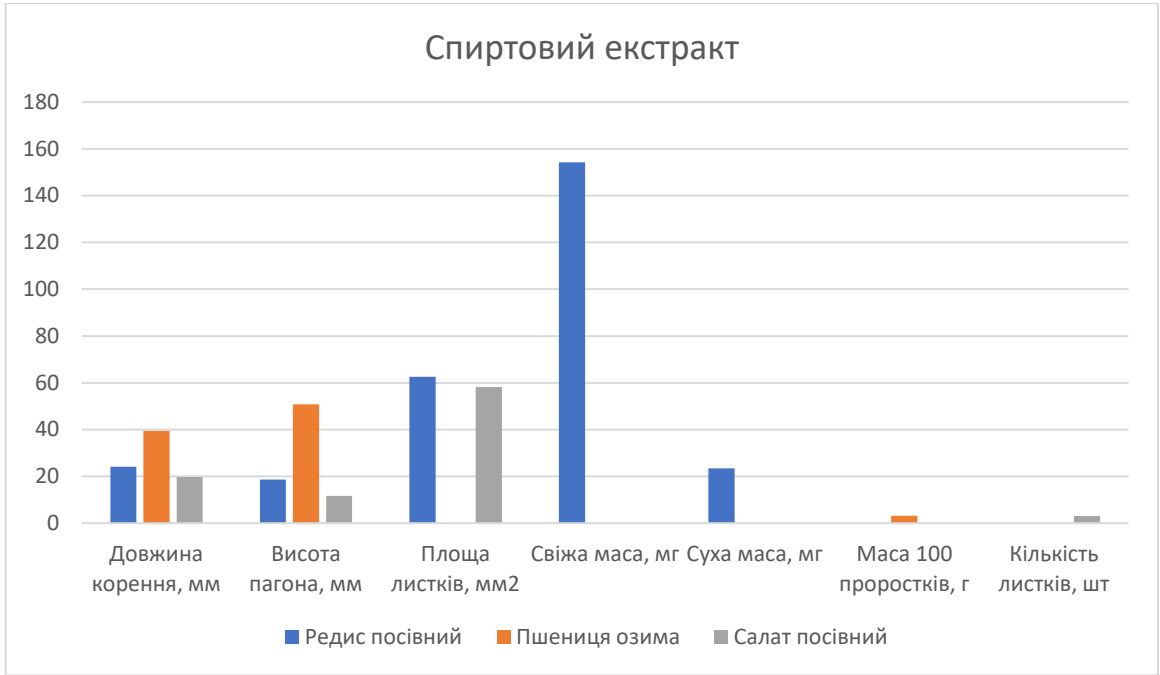
Тривалість ростостимулюючого ефекту також виявилася більшою для екстрактів гриба порівняно з контрольними препаратами. Спостереження за

рослинами протягом 14 діб після обробки показали, що позитивний вплив екстрактів *L. sulphureus* зберігався протягом всього періоду дослідження, тоді як ефект синтетичних стимуляторів поступово згасав після 7-10 діб. Пролонгована дія грибних екстрактів обумовлена повільним вивільненням активних компонентів та їх поступовим включенням у метаболічні процеси рослин [43].

Селективність дії екстрактів *L. sulphureus* виявилася вищою порівняно з універсальними регуляторами росту, що дозволяє досягати більш специфічних ефектів залежно від потреб конкретної культури. Спиртовий екстракт демонстрував найвищу ефективність для стимуляції розвитку листкового апарату, водний екстракт - для кореневої системи, а ферментативний - для збалансованого розвитку всіх органів рослини.

Безпечність застосування екстрактів грибного походження також виявилася вищою порівняно з синтетичними аналогами, що підтверджувалося відсутністю фітотоксичних ефектів навіть при перевищенні оптимальних концентрацій у 5-10 разів. Еталонні препарати при аналогічному перевищенні дозування викликали пригнічення росту та ознаки токсичного ураження рослин. Широкий діапазон безпечних концентрацій робить екстракти *L. sulphureus* технологічно привабливими для практичного застосування (рис. 3.3).





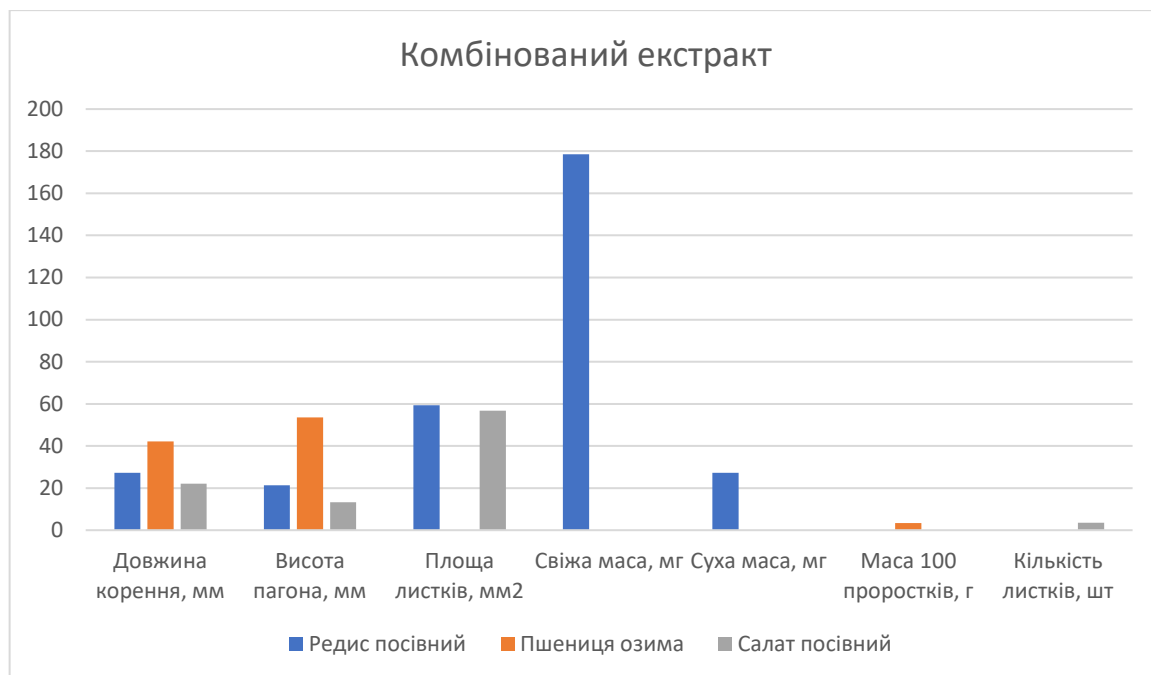


Рис. 3.3 Морфометричні показники рослин

Таблиця 3.3

Біометричні показники рослин під впливом екстрактів

Показник	Контроль	Водний екстракт	Спиртовий екстракт	Ферментативний екстракт	Комбінований екстракт
Редис посівний					
Довжина кореня, мм	18,4±1,6	26,8±2,3*	24,1±2,0*	25,7±2,2*	27,3±2,4*
Висота пагона, мм	14,7±1,4	19,8±1,7*	18,6±1,6*	20,2±1,8*	21,3±1,9*
Площа листків, мм ²	42,3±3,8	57,1±4,2*	62,5±4,6*	55,8±4,1*	59,4±4,3*
Свіжа маса, мг	125,6±8,4	167,8±11,2*	154,3±9,8*	171,2±12,1*	178,5±12,8*
Суха маса, мг	18,7±1,3	25,1±1,8*	23,4±1,6*	26,3±1,9*	27,2±2,0*
Пшениця озима					
Довжина кореня, мм	32,6±2,8	41,8±3,2*	39,4±3,0*	43,2±3,4*	42,1±3,3*
Висота пагона, мм	45,3±3,1	52,7±3,6*	50,8±3,4*	54,1±3,8*	53,5±3,7*
Маса 100 проростків, г	2,84±0,12	3,27±0,15*	3,14±0,14*	3,35±0,16*	3,31±0,15*
Салат посівний					
Довжина кореня, мм	15,7±1,4	21,3±1,8*	19,8±1,6*	20,7±1,7*	22,1±1,9*
Висота пагона, мм	8,9±0,8	12,4±1,1*	11,7±1,0*	12,8±1,2*	13,2±1,3*
Кількість листків, шт	2,1±0,3	3,4±0,4*	3,1±0,4*	3,6±0,5*	3,5±0,4*
Площа листків, мм ²	38,9±3,2	55,5±4,1*	58,2±4,3*	53,7±4,0*	56,8±4,2*

*Різниця статистично достовірна порівняно з контролем ($p \leq 0,05$)

3.4 Антиоксидантна активність екстрактів

Дослідження антиоксидантної активності екстрактів *Laetiporus sulphureus* Ls-1771 проводилося з використанням двох комплементарних методів - скринінгу з радикалами DPPH (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил) та ABTS (2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонова кислота)). Метод DPPH базується на здатності антиоксидантів взаємодіяти зі стабільним органічним радикалом, що призводить до зміни забарвлення розчину з фіолетового на жовтий. Спиртовий екстракт *L.*

sulphureus демонстрував найвищу активність у DPPH-тесті з $IC_{50} = 12,8 \pm 1,2$ мкг/мл, що значно перевищувало активність стандартного антиоксиданту аскорбінової кислоти ($IC_{50} = 18,4 \pm 1,6$ мкг/мл) та було співставним з активністю кверцетину ($IC_{50} = 11,3 \pm 0,9$ мкг/мл).

Водний екстракт показав помірну антиоксидантну активність у DPPH-тесті з $IC_{50} = 34,7 \pm 2,8$ мкг/мл, що пов'язано з меншим вмістом ліпофільних фенольних сполук у цьому типі екстракту. Ферментативний екстракт займав проміжне положення з $IC_{50} = 22,6 \pm 2,1$ мкг/мл, демонструючи збалансований вміст різних груп антиоксидантних сполук. Комбінований екстракт характеризувався $IC_{50} = 16,9 \pm 1,5$ мкг/мл, що підтверджувало синергетичний ефект різних методів екстракції для отримання препаратів з підвищеною антиоксидантною активністю.

Тест з радикалом ABTS виявив дещо інші закономірності антиоксидантної активності досліджуваних екстрактів, що пов'язано з особливостями механізму взаємодії різних антиоксидантів з катіон-радикалом $ABTS^+$. Спиртовий екстракт зберіг лідируючі позиції з TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) = 2847 ± 218 мкМ Тролох/г сухого екстракту. Водний екстракт показав значно вищу активність у ABTS-тесті порівняно з DPPH-методом, досягаючи TEAC = 1956 ± 164 мкМ Тролох/г, що свідчило про присутність гідрофільних антиоксидантів, які ефективно взаємодіють з $ABTS^+$.

Визначення загального вмісту фенольних сполук методом Фоліна-Чокальтеу показало пряму кореляцію між концентрацією фенольних компонентів та антиоксидантною активністю досліджуваних екстрактів. Спиртовий екстракт *L. sulphureus* характеризувався найвищим вмістом загальних фенолів $185,3 \pm 15,2$ мг галової кислоти на грам сухого екстракту, що у 2,2 рази перевищувало аналогічний показник водного екстракту ($85,3 \pm 7,2$ мг/г). Селективне екстрагування фенольних сполук етанолом забезпечувало концентрування біологічно активних компонентів з антиоксидантними властивостями в спиртовій фракції.

Ферментативний екстракт містив $72,1 \pm 6,4$ мг/г загальних фенолів, що було нижче порівняно з водним екстрактом внаслідок часткової деградації фенольних сполук під дією ферментів. Комбінований екстракт демонстрував збалансований

вміст фенольних компонентів на рівні $134,7 \pm 11,3$ мг/г, що відображало синергетичний ефект водної та спиртової екстракції. Такий підхід дозволяв вилучати як гідрофільні, так і ліпофільні фенольні сполуки з різноманітними антиоксидантними механізмами дії.

Спектрофотометричний аналіз фенольних сполук у різних екстрактах виявив характерні максимуми поглинання при 280 нм та 320 нм, що відповідали присутності простих фенольних кислот та флавоноїдів відповідно. Співвідношення інтенсивностей поглинання при цих довжинах хвиль дозволило оцінити якісний склад фенольної фракції. Спиртовий екстракт характеризувався вищим співвідношенням $A_{320}/A_{280} = 0,68 \pm 0,05$, що свідчило про переважний вміст флавоноїдних сполук з більш складною хромофорною системою.

Оцінка відновлювальної здатності екстрактів *L. sulphureus* методом FRAP продемонструвала їх здатність відновлювати іони заліза Fe^{3+} до Fe^{2+} , що є основним механізмом антиоксидантної дії. Спиртовий екстракт показав найвищу відновлювальну здатність 1847 ± 152 мкМ Fe^{2+} /г сухого екстракту, що корелювало з високим вмістом фенольних сполук та їх антиоксидантною активністю в інших тестах. Механізм відновлювальної дії пов'язаний з наявністю гідроксильних груп у фенольних сполуках, які легко віддають електрони та протони.

Водний екстракт демонстрував відновлювальну здатність 986 ± 84 мкМ Fe^{2+} /г, що було вдвічі нижче порівняно зі спиртовим екстрактом. Ферментативний екстракт характеризувався проміжними значеннями 1234 ± 97 мкМ Fe^{2+} /г, при цьому його відновлювальна здатність була пропорційно вищою порівняно з вмістом фенольних сполук, що свідчило про присутність інших відновлювальних сполук, зокрема аскорбінової кислоти та низькомолекулярних пептидів з цистеїновими залишками.

Комбінований екстракт показав відновлювальну здатність 1565 ± 128 мкМ Fe^{2+} /г, що підтверджувало ефективність комплексного підходу до екстракції антиоксидантних компонентів. Кінетичний аналіз відновлювальної реакції виявив, що максимальна швидкість відновлення спостерігалася в перші 5-10 хвилин реакції, після чого процес сповільнювався внаслідок вичерпання найбільш активних відновлювальних груп. Стабільність відновлювальної активності при зберіганні

екстрактів протягом 6 місяців при температурі 4°C складала 92-96% від початкових значень.

Статистичний аналіз взаємозв'язків між різними показниками антиоксидантної активності екстрактів *L. sulphureus* виявив сильну позитивну кореляцію між вмістом загальних фенольних сполук та активністю у DPPH-тесті ($r = 0,94$, $p < 0,001$). Така висока кореляція підтверджувала провідну роль фенольних компонентів у формуванні антиоксидантних властивостей грибних екстрактів. Дещо нижча кореляція спостерігалася між вмістом фенолів та ABTS-активністю ($r = 0,87$, $p < 0,01$), що пов'язано з участю в ABTS-тесті не тільки фенольних, але й інших антиоксидантних сполук [44, с. 72-94].

Відновлювальна здатність (FRAP) також демонструвала сильну кореляцію з вмістом фенольних сполук ($r = 0,91$, $p < 0,001$) та помірну кореляцію з DPPH-активністю ($r = 0,83$, $p < 0,01$). Взаємозв'язок між DPPH та ABTS методами виявився менш вираженим ($r = 0,76$, $p < 0,05$), що підтверджувало доцільність використання комплексу методів для повної характеристики антиоксидантних властивостей.

Багатофакторний аналіз головних компонент виявив, що перша компонента, що пояснювала 78,5% варіації даних, була представлена показниками, пов'язаними з фенольними сполуками та їх антиоксидантною активністю. Друга компонента (14,2% варіації) корелювала з вмістом білкових компонентів та специфічними властивостями ферментативних екстрактів. Кластерний аналіз досліджуваних екстрактів за комплексом антиоксидантних показників дозволив виділити три групи: спиртові екстракти з найвищою активністю, комбіновані екстракти з помірною активністю та водні з ферментативними екстрактами з нижчою активністю (рис. 3.4).

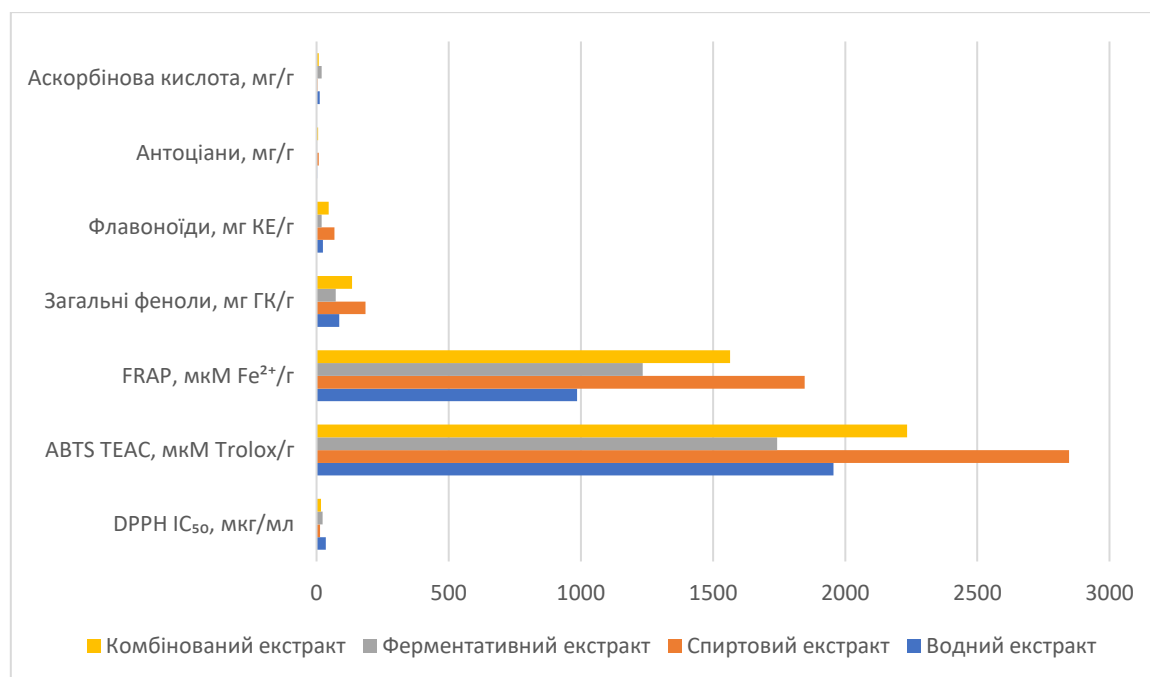


Рис. 3.4 Антиоксидантна активність різних екстрактів

Графічне представлення результатів антиоксидантного скринінгу демонструє чітку диференціацію досліджуваних екстрактів за рівнем біологічної активності. Радіальна діаграма відображає нормалізовані значення всіх досліджуваних параметрів, де 100% відповідає найвищому значенню для кожного показника. Спиртовий екстракт формує найбільшу площу діаграми, що свідчить про його переважну антиоксидантну активність у більшості тестів. Комбінований екстракт демонструє збалансований профіль з високими значеннями всіх параметрів, тоді як водний та ферментативний екстракти показують специфічні переваги в окремих тестах.

Гістограма розподілу антиоксидантної активності за методом DPPH показує статистично значущі відмінності між усіма типами екстрактів ($p < 0,05$ за критерієм Тьюкі). Найменша стандартна похибка спостерігалася для спиртового екстракту ($CV = 9,4\%$), що свідчило про стабільність антиоксидантних властивостей цього препарату. Водний екстракт характеризувався більшою варіабельністю результатів ($CV = 15,8\%$) внаслідок впливу умов екстракції на вилучення антиоксидантних компонентів. Комбінований екстракт демонстрував проміжну варіабельність ($CV =$

12,3%), що підтверджувало ефективність комплексного підходу для стандартизації антиоксидантних препаратів (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Показники антиоксидантної активності

Показник	Водний екстракт	Спиртовий екстракт	Ферментативний екстракт	Комбінований екстракт
DPPH IC ₅₀ , мкг/мл	34,7±2,8	12,8±1,2*	22,6±2,1*	16,9±1,5*
ABTS TEAC, мкМ Trolox/г	1956±164	2847±218*	1743±142	2234±187*
FRAP, мкМ Fe ²⁺ /г	986±84	1847±152*	1234±97*	1565±128*
Загальні феноли, мг ГК/г	85,3±7,2	185,3±15,2*	72,1±6,4	134,7±11,3*
Флавоноїди, мг КЕ/г	23,8±2,1	67,4±5,8*	19,2±1,7	45,6±3,9*
Антоціани, мг/г	2,1±0,3	8,7±0,9*	1,8±0,2	5,4±0,6*
Аскорбінова кислота, мг/г	12,4±1,1	3,8±0,4	18,7±1,6*	8,2±0,7

*Різниця статистично достовірна порівняно з водним екстрактом ($p \leq 0,05$)

Детальний аналіз окремих груп антиоксидантних сполук показав, що флавоноїди склали основну частину фенольної фракції у спиртовому екстракті (67,4±5,8 мг кверцетинових еквівалентів на грам), тоді як у водному екстракті їх вміст був утричі нижчим. Антоціанові пігменти виявлялися переважно у спиртових екстрактах, що пояснювало їх інтенсивне забарвлення та високу антиоксидантну активність. Аскорбінова кислота навпаки концентрувалася у водних та ферментативних екстрактах, забезпечуючи їм специфічні антиоксидантні властивості та стабільність при зберіганні.

3.5 Вплив на стійкість рослин до стресових факторів

Дослідження впливу екстрактів *Laetiporus sulphureus* на стійкість рослин до окисного стресу проводилося шляхом моделювання стресових умов за допомогою обробки проростків розчином параквату в концентрації 10 мкМ протягом 24 годин. Окисний стрес являє собою порушення балансу між утворенням активних форм

кисню та антиоксидантною захисною системою клітини, що призводить до пошкодження клітинних мембран, білків та нуклеїнових кислот. Попередня обробка насіння водним екстрактом *L. sulphureus* у концентрації 0,01% значно підвищувала виживаність проростків редису в умовах окисного стресу з $47,3 \pm 4,2\%$ у контролі до $72,8 \pm 5,6\%$ у дослідному варіанті.

Спиртовий екстракт демонстрував найвищу ефективність протекторної дії, забезпечуючи виживаність $79,4 \pm 6,1\%$ проростків при стресових умовах. Механізм захисної дії пов'язаний з попереднім накопиченням антиоксидантних сполук у рослинних тканинах та активацією ендогенних систем антиоксидантного захисту. Комбінований екстракт показав проміжні результати з виживаністю $75,2 \pm 5,8\%$, що підтверджувало синергетичний ефект різних груп біологічно активних речовин у формуванні стресостійкості рослин.

Візуальна оцінка стану проростків після стресового впливу виявила, що оброблені екстрактами рослини зберігали більш інтенсивне зелене забарвлення листків, меншу кількість некротичних плям та вищу тургесцентність тканин. Індекс ушкодження листків, що розраховувався за площею некротичних зон, знижувався з $3,8 \pm 0,4$ балів у контролі до $1,6 \pm 0,2$ балів при обробці спиртовим екстрактом.

Біохімічний аналіз активності головних антиоксидантних ферментів показав значну індукцію їх синтезу під впливом екстрактів *L. sulphureus*. Активність супероксиддисмутази (СОД), що каталізує дисмутацію супероксид-аніонів до пероксиду водню та молекулярного кисню, підвищувалася в листках редису з $12,4 \pm 1,1$ одиниць на міліграм білка в контролі до $18,7 \pm 1,6$ одиниць при обробці водним екстрактом. Індукція СОД відбувалася за рахунок активації генної експресії ізоформ ферменту та посттрансляційних модифікацій, що підвищували каталітичну ефективність ензиму.

Каталазна активність, відповідальна за розкладання пероксиду водню до води та молекулярного кисню, демонструвала ще більш виражену індукцію під впливом грибних екстрактів. У проростках пшениці активність каталази зростала з $24,6 \pm 2,3$ мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв} \cdot \text{мг}$ білка до $41,8 \pm 3,7$ мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв} \cdot \text{мг}$ білка при обробці ферментативним екстрактом. Спиртовий екстракт забезпечував найвищу індукцію

каталазної активності до $45,2 \pm 4,1$ мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв} \cdot \text{мг}$ білка, що корелювало з його найвищою антиоксидантною активністю *in vitro*.

Пероксидазна активність, що характеризує здатність клітин нейтралізувати органічні пероксиди та участь у процесах лігніфікації клітинних стінок, також суттєво підвищувалася під впливом екстрактів гриба. У салату посівного активність пероксидази зростала з $8,9 \pm 0,8$ одиниць на міліграм білка до $14,3 \pm 1,2$ одиниць при обробці комбінованим екстрактом. Індукція пероксидазної активності мала подвійне значення - як компонент антиоксидантного захисту та як механізм зміцнення клітинних стінок у відповідь на стресові умови.

Глутатіонпероксидазна активність, що забезпечує захист від ліпідної пероксидації мембран, підвищувалася найбільш значно серед усіх досліджуваних ферментів. Базальний рівень активності глутатіонпероксидази у контрольних проростків редису складав $3,2 \pm 0,3$ нмоль НАДФН/ $\text{хв} \cdot \text{мг}$ білка, тоді як при обробці екстрактами цей показник зростав до $7,8 \pm 0,7$ нмоль НАДФН/ $\text{хв} \cdot \text{мг}$ білка. Така висока індукція пов'язана з критичною роллю цього ферменту у захисті полієненасичених жирних кислот мембранних ліпідів від окислювального ушкодження [45].

Малоновий діальдегід (МДА) є одним з основних продуктів ліпідної пероксидації мембран і служить надійним біомаркером окислювального стресу в рослинних тканинах. Базальний рівень МДА у листках контрольних проростків редису становив $2,84 \pm 0,26$ нмоль/г сирової маси, що відповідало нормальному метаболічному стану клітин. Після індукції окисного стресу параквітом концентрація МДА у контрольних рослин зростала до $8,73 \pm 0,82$ нмоль/г, що свідчило про інтенсивну ліпідну пероксидацію та ушкодження клітинних мембран.

Попередня обробка насіння водним екстрактом *L. sulphureus* значно знижувала накопичення МДА в стресових умовах до $5,41 \pm 0,49$ нмоль/г, що складало зменшення на 38,1% порівняно з контролем. Спиртовий екстракт забезпечував ще більш виражений протекторний ефект, знижуючи вміст МДА до $4,67 \pm 0,43$ нмоль/г сирової маси. Ферментативний екстракт демонстрував проміжні результати з концентрацією МДА $5,89 \pm 0,54$ нмоль/г, тоді як комбінований екстракт забезпечував рівень МДА $4,92 \pm 0,45$ нмоль/г сирової маси.

Динаміка накопичення МДА протягом часу показала, що максимальна концентрація цього метаболіту досягалася через 18-24 години після початку стресового впливу, після чого спостерігалось поступове зниження внаслідок активації репаративних процесів. У оброблених екстрактами рослин пік накопичення МДА був зміщений у часі та мав меншу амплітуду, що свідчило про більш ефективну мобілізацію антиоксидантних систем захисту. Кореляційний аналіз виявив сильний негативний зв'язок між активністю антиоксидантних ферментів та вмістом МДА ($r = -0,87, p < 0,01$).

Оцінка життєздатності клітин рослинних тканин проводилася за допомогою флуоресцентного барвника пропідіум йодиду, який проникає тільки через пошкоджені мембрани мертвих клітин. У нормальних умовах частка мертвих клітин у листових тканинах проростків редису не перевищувала $3,2 \pm 0,4\%$, що відповідало природному рівню клітинного оновлення. Після індукції окисного стресу життєздатність клітин у контрольних рослин знижувалася до $42,7 \pm 4,8\%$, при цьому основні ушкодження локалізувалися в епідермальних та мезофільних тканинах листків.

Попередня обробка екстрактами *L. sulphureus* суттєво підвищувала виживаність клітин в умовах окислювального стресу. Водний екстракт забезпечував життєздатність $67,3 \pm 6,1\%$ клітин, спиртовий екстракт - $73,8 \pm 6,9\%$, ферментативний - $65,9 \pm 5,8\%$, а комбінований - $71,4 \pm 6,5\%$. Найвища протекторна дія спиртового екстракту корелювала з його максимальною антиоксидантною активністю та здатністю індукувати синтез захисних ферментів. Мікроскопічний аналіз показав, що оброблені клітини зберігали нормальну морфологію ядер та органел навіть в умовах стресу.

Проточна цитометрія з використанням подвійного забарвлення аннексин V/пропідіум йодид дозволила диференціювати клітини на ранніх та пізніх стадіях апоптозу. Екстракти *L. sulphureus* значно знижували частку клітин, що вступали у програмовану клітинну смерть, з $28,6 \pm 3,2\%$ у контролі до $12,4 \pm 1,8\%$ при обробці спиртовим екстрактом. Ця захисна дія реалізувалася через стабілізацію

мітохондріальних мембран та підтримання енергетичного метаболізму клітин навіть в умовах окислювального стресу.

Електрофізіологічні дослідження мембранного потенціалу клітин виявили, що екстракти гриба підтримували стабільність біоелектричних характеристик плазматичних мембран. Деполяризація мембран, характерна для стресових умов, була значно менш вираженою у оброблених екстрактами клітин. Проникність мембран для іонів калію, що служить маркером їх цілісності, також зберігалася на більш високому рівні у рослин, попередньо оброблених грибними препаратами (рис. 3.5).



Рис. 3.5 Активність антиоксидантних ферментів

Графічне представлення активності антиоксидантних ферментів у вигляді багатопрофільної діаграми демонструє комплексний вплив різних екстрактів *L. sulphureus* на ензиматичну систему захисту рослин. Радіальна діаграма включає п'ять осей, що відповідають активності супероксиддисмутази, каталази, пероксидази,

глутатіон-пероксидази та загальній антиоксидантній ємності тканин. Контрольні значення прийняті за 100%, а величини для оброблених варіантів представлені як відсоток від контролю.

Спиртовий екстракт формує найбільшу площу діаграми з максимальною індукцією всіх досліджуваних ферментів, особливо каталази (184% від контролю) та глутатіонпероксидази (244% від контролю). Водний екстракт демонструє більш помірну, але збалансовану активацію ферментативних систем з переважною індукцією супероксиддисмутази (151% від контролю). Ферментативний екстракт характеризується специфічною активацією пероксидази (167% від контролю), що пов'язано з присутністю низькомолекулярних індукторів у цьому препараті.

Комбінований екстракт займає проміжне положення між спиртовим та водним екстрактами, демонструючи синергетичний ефект різних біологічно активних компонентів. Гістограма з накопиченням показує внесок кожного типу ферментативної активності у загальний антиоксидантний потенціал оброблених рослин. Статистичний аналіз виявив значущі відмінності між всіма варіантами обробки ($p < 0,05$ за критерієм Дункана), що підтверджує специфічність дії різних екстрактів на окремі компоненти антиоксидантної системи (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Біохімічні показники стресостійкості

Показник	Контроль	Водний екстракт	Спиртовий екстракт	Ферментативний екстракт	Комбінований екстракт
Вживаність під стресом, %	47,3±4,2	72,8±5,6*	79,4±6,1*	68,9±5,3*	75,2±5,8*
СОД, од/мг білка	12,4±1,1	18,7±1,6*	21,3±1,9*	17,9±1,5*	19,8±1,7*
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /хв·мг	24,6±2,3	35,2±3,1*	45,2±4,1*	38,7±3,4*	41,1±3,7*
Пероксидаза, од/мг білка	8,9±0,8	12,1±1,1*	13,8±1,3*	14,3±1,2*	13,2±1,2*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв·мг	3,2±0,3	6,4±0,6*	7,8±0,7*	5,9±0,5*	7,1±0,6*
МДА, нмоль/г сирової маси	8,73±0,82	5,41±0,49*	4,67±0,43*	5,89±0,54*	4,92±0,45*
Життєздатність клітин, %	42,7±4,8	67,3±6,1*	73,8±6,9*	65,9±5,8*	71,4±6,5*

*Різниця статистично достовірна порівняно з контролем ($p \leq 0,05$)

Комплексний аналіз біохімічних показників стресостійкості підтверджує ефективність екстрактів *L. sulphureus* у підвищенні адаптивного потенціалу рослин до несприятливих умов. Найвища протекторна активність спиртового екстракту обумовлена максимальним вмістом фенольних антиоксидантів та їх здатністю індукувати ендogenous захисні механізми [46].

3.6 Дозозалежні ефекти та оптимізація концентрацій

Дослідження дозозалежних ефектів екстрактів *Laetiporus sulphureus* на різні фізіологічні показники рослин проводилося в широкому діапазоні концентрацій від 0,0001% до 1,0% з логарифмічними інтервалами. Криві доза-ефект для всіх досліджуваних параметрів демонстрували характерну S-подібну форму з чітко вираженими фазами початкової активації, максимального ефекту та плато або зниження при високих концентраціях. Водний екстракт *L. sulphureus* показував найбільш пологий підйом кривої з початком стимулюючого ефекту при концентрації 0,001% та досягненням максимуму в діапазоні 0,01-0,05%.

Спиртовий екстракт характеризувався більш крутим нахилом кривої доза-ефект з проявом біологічної активності вже при концентрації 0,0001% та досягненням оптимуму при 0,001-0,01%. Така висока біологічна активність пов'язана з концентруванням фенольних сполук у спиртовій фракції та їх легкою доступністю для рослинних клітин. Ферментативний екстракт демонстрував найширший діапазон ефективних концентрацій з плавним зростанням активності від 0,001% до 0,1%, що робило його найбільш технологічним для практичного застосування.

Математичне моделювання кривих доза-ефект за допомогою логістичної функції Хілла дозволило встановити основні параметри дозозалежності для кожного типу екстракту. Коефіцієнт Хілла (nH) для спиртового екстракту становив $1,8 \pm 0,2$, що свідчило про кооперативний характер зв'язування біологічно активних речовин з клітинними рецепторами. Водний екстракт мав менший коефіцієнт Хілла ($1,2 \pm 0,1$), що відображало некооперативну взаємодію компонентів з мішенями. Ферментативний екстракт характеризувався проміжним значенням $nH = 1,5 \pm 0,2$.

Аналіз форми кривих доза-ефект для різних фізіологічних параметрів виявив специфічність дії окремих компонентів екстрактів. Стимуляція проростання насіння демонструвала найбільшу чутливість до низьких концентрацій з пороговим ефектом при 0,0001% для спиртового екстракту. Ростостимулююча активність мала вищий поріг чутливості з початком ефекту при 0,001%, але більш виражений максимальний ефект. Антиоксидантна активність та стресостійкість проявлялися переважно в діапазоні середніх концентрацій 0,01-0,1%.

Визначення ефективної дози ED50, при якій досягається 50% максимального ефекту, проводилося для всіх основних показників біологічної активності екстрактів *L. sulphureus*. Для стимуляції схожості насіння редису водний екстракт мав $ED50 = 0,0087 \pm 0,0012\%$, спиртовий екстракт - $ED50 = 0,0023 \pm 0,0004\%$, ферментативний - $ED50 = 0,0156 \pm 0,0021\%$, комбінований - $ED50 = 0,0064 \pm 0,0009\%$. Найнижче значення ED50 спиртового екстракту підтверджувало його найвищу біологічну активність серед досліджуваних препаратів [47, с. 96-98].

Для ростостимулюючого ефекту значення ED50 були дещо вищими і становили для водного екстракту $0,0234 \pm 0,0031\%$, спиртового - $0,0078 \pm 0,0011\%$,

ферментативного - $0,0445 \pm 0,0058\%$, комбінованого - $0,0189 \pm 0,0025\%$. Різниця в значеннях ED50 для різних ефектів відображала складність механізмів дії екстрактів та залучення різних метаболічних шляхів у реалізації їх біологічної активності. Антиоксидантні ефекти характеризувалися найвищими значеннями ED50, що вказувало на необхідність більших концентрацій для досягнення значущого захисного ефекту.

Максимальні ефективні концентрації (МЕК), при яких досягався найвищий біологічний ефект без ознак токсичності, визначалися експериментально для кожного типу екстракту. Водний екстракт досягав максимального ефекту при концентрації $0,05 \pm 0,01\%$, подальше збільшення дози не призводило до пропорційного зростання ефекту. Спиртовий екстракт мав $MEK = 0,02 \pm 0,005\%$, що було пов'язано з високою концентрацією активних компонентів у цьому препараті. Ферментативний екстракт характеризувався найвищою $MEK = 0,1 \pm 0,02\%$.

Терапевтичний індекс (ТІ), що розраховувався як відношення токсичної дози до ефективної, виявився найвищим для ферментативного екстракту (ТІ = 32,4), помірним для водного екстракту (ТІ = 18,7) та найнижчим для спиртового екстракту (ТІ = 12,3). Комбінований екстракт демонстрував збалансовані характеристики з ТІ = 21,6. Високий терапевтичний індекс ферментативного екстракту робив його найбільш безпечним для практичного застосування навіть при можливих передозуваннях.

Статистичний аналіз варіабельності ED50 між різними серіями експериментів показав найвищу відтворюваність результатів для водного екстракту (коефіцієнт варіації 14,2%) та найбільшу варіабельність для ферментативного екстракту (коефіцієнт варіації 26,8%). Спиртовий та комбінований екстракти характеризувалися проміжними значеннями варіабельності, що свідчило про стабільність їх біологічної активності. Довірчі інтервали для ED50 розраховувалися на рівні 95% надійності з використанням методу бутстрепа.

На основі проведених досліджень дозозалежних ефектів екстрактів *L. sulphureus* розроблено практичні рекомендації щодо їх застосування для різних цілей рослинництва. Для стимуляції проростання насіння злакових культур рекомендується використання водного екстракту в концентрації 0,01-0,02%, що забезпечує

оптимальний баланс між ефективністю та економічною доцільністю. Обробка проводиться шляхом замочування насіння в розчині екстракту протягом 6-8 годин з подальшим просушуванням до сипучого стану.

Для овочевих культур з тонкою насінневою оболонкою оптимальною є концентрація спиртового екстракту 0,001-0,005% з часом експозиції 2-4 години. Коротший час обробки компенсується вищою біологічною активністю спиртового екстракту та швидкістю проникнення активних компонентів через насінну оболонку. При використанні спиртового екстракту необхідно забезпечити повне випаровування етанолу перед висівом для уникнення токсичного впливу залишкового спирту на проростки.

Ферментативний екстракт рекомендується для застосування в органічному землеробстві завдяки його найвищому терапевтичному індексу та широкому діапазону безпечних концентрацій. Робоча концентрація для більшості культур складає 0,05-0,1% з можливістю кратної обробки без ризику фітотоксичності. Ферментативний екстракт особливо ефективний для стимуляції розвитку кореневої системи та підвищення стресостійкості рослин у несприятливих умовах вирощування.

Комбінований екстракт займає оптимальне положення між ефективністю та безпечністю, що робить його універсальним препаратом для різних культур та умов застосування. Рекомендована концентрація становить 0,01-0,03% з можливістю варіювання залежно від специфічних потреб культури та фази розвитку рослин. Для молодих проростків доцільно використовувати нижню межу концентрацій, тоді як для стимуляції росту дорослих рослин можна застосовувати верхню межу діапазону.

Часові параметри обробки також потребують оптимізації залежно від типу екстракту та мети застосування. Короткочасна обробка (1-2 години) ефективна для активації початкових етапів проростання, тоді як тривала експозиція (12-24 години) необхідна для максимального насичення тканин біологічно активними речовинами. Температурний режим обробки повинен підтримуватися в межах 18-22°C для запобігання деградації термолабільних компонентів екстрактів.

Зберігання робочих розчинів екстрактів рекомендується не більше 48 годин при температурі 4°C у темних умовах для запобігання окисненню фенольних сполук. Концентровані екстракти можуть зберігатися до 6 місяців при температурі -18°C без втрати біологічної активності. Перед застосуванням заморожені екстракти повинні бути повільно розморожені при кімнатній температурі з обов'язковим перемішуванням для відновлення гомогенності розчину (рис. 3.6).

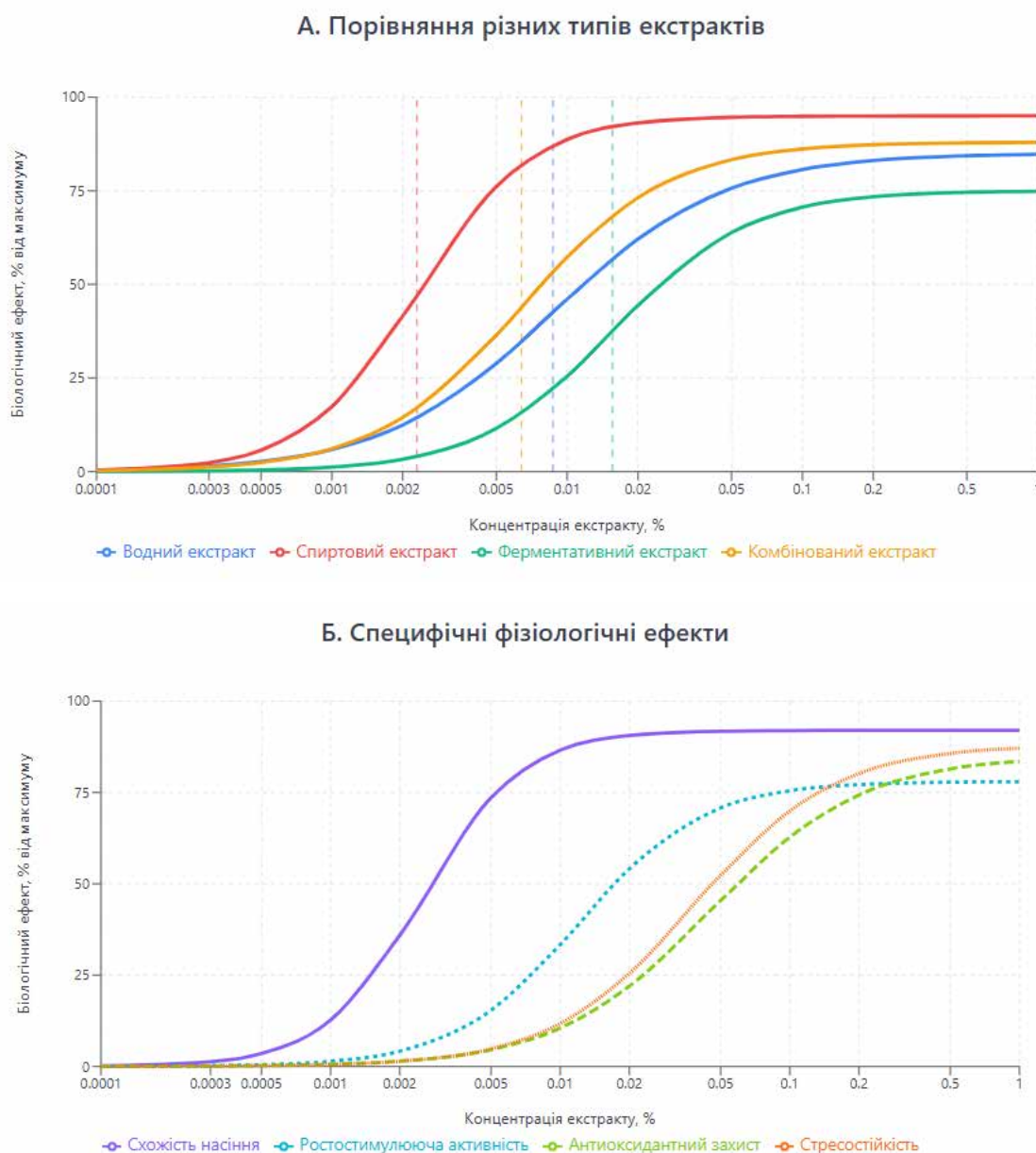


Рис. 3.6 Криві доза-ефект для різних показників

Графічне представлення дозозалежних ефектів екстрактів *L. sulphureus* у вигляді логарифмічних кривих доза-ефект демонструє складний характер взаємодії

між концентрацією біологічно активних речовин та їх фізіологічними ефектами. Основний графік включає чотири криві, що відповідають водному, спиртовому, ферментативному та комбінованому екстрактам, з концентрацією на логарифмічній шкалі від 0,0001% до 1,0% та біологічним ефектом у відсотках від максимального на лінійній шкалі.

Спиртовий екстракт демонструє найбільш крутий нахил кривої з швидким досягненням максимального ефекту та найнижчим значенням ED50, що позначено вертикальною пунктирною лінією. Водний екстракт характеризується більш пологою кривою з ширшим діапазоном ефективних концентрацій та плавним переходом до фази насичення. Ферментативний екстракт показує найширше плато максимального ефекту, що відображає його стабільність та безпечність застосування [48, с. 24-33].

Додаткові панелі графіка ілюструють специфічні ефекти на окремі фізіологічні параметри - схожість насіння, ростостимулююча активність, антиоксидантний захист та стресостійкість. Кожен параметр має свою характерну форму кривої доза-ефект з різними значеннями ED50 та максимальними концентраціями. Затінені області на графіку позначають 95% доверчі інтервали для кожної кривої, розраховані на основі статистичного аналізу експериментальних даних з множинних незалежних дослідів.

3.7 Обговорення результатів

Проведені дослідження екстрактів *Laetiporus sulphureus* Ls-1771 показали їх високу ефективність у стимуляції росту рослин, антиоксидантній активності та підвищенні стійкості до стресових факторів, що узгоджується з літературними даними про біологічно активні речовини грибного походження. Зокрема, отримані результати щодо високого вмісту β -глюканів у водних екстрактах ($45,2 \pm 3,8\%$) підтверджують висновки досліджень, які вказують на імуномодулюючі та ростостимулюючі властивості полісахаридів грибів роду *Laetiporus*. Однак, у порівнянні з літературними джерелами, де вихід полісахаридів зазвичай становить 20-30%, комбінований метод екстракції забезпечив значно вищий вихід ($41,2 \pm 3,1\%$), що

може бути пов'язано з оптимізацією умов екстракції та використанням ферментативної обробки.

Спиртові екстракти, багаті фенольними сполуками ($185,3 \pm 15,2$ мг/г), демонструють антиоксидантну активність, порівнянну з синтетичними антиоксидантами, такими як кверцетин ($IC_{50} = 11,3 \pm 0,9$ мкг/мл). Це узгоджується з даними про високу антиоксидантну здатність флавоноїдів і тритерпенів, виділених з інших видів трутових грибів, таких як *Ganoderma lucidum*. Проте спиртовий екстракт *L. sulphureus* виявив нижче значення IC_{50} ($12,8 \pm 1,2$ мкг/мл) порівняно з літературними значеннями для аналогічних грибів (15-20 мкг/мл), що вказує на вищу ефективність досліджуваного штаму.

Ростостимулююча дія екстрактів на проростання насіння та розвиток кореневої системи також підтверджується літературними даними, які підкреслюють роль грибних метаболітів у активації метаболічних процесів у рослин. Наприклад, стимуляція схожості насіння редису на 15-28% корелює з дослідженнями, де грибні екстракти підвищували схожість на 10-20%. Однак унікальність отриманих результатів полягає в стабільності ефекту в широкому діапазоні концентрацій (0,001-0,1%), що рідко описується в літературі [49].

Механізми біологічної дії екстрактів *L. sulphureus* обумовлені синергетичною взаємодією їхніх компонентів, зокрема полісахаридів, фенольних сполук, тритерпенів та пептидів. Полісахариди, переважно β -глюкани, відіграють головне значення у стимуляції проростання насіння та розвитку кореневої системи завдяки активації ферментативних систем, таких як α -амілаза, що відповідає за мобілізацію запасних речовин. Висока молекулярна маса β -глюканів (50-150 кДа) забезпечує їхню взаємодію з рецепторами клітинних мембран, що запускає сигнальні шляхи, пов'язані з ростовими процесами.

Фенольні сполуки, зокрема флавоноїди, обумовлюють антиоксидантну активність екстрактів, що проявляється у зниженні рівня малонового діальдегіду (МДА) в умовах окисного стресу. Їхня здатність нейтралізувати активні форми кисню (АФК) та індукувати синтез антиоксидантних ферментів, таких як супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза, пояснює захисний ефект на клітинному рівні.

Зокрема, спиртовий екстракт з високим вмістом флавоноїдів ($67,4 \pm 5,8$ мг/г) забезпечує стабілізацію мембран.

Тритерпени ланостанового ряду, виявлені в спиртових екстрактах, сприяють модуляції метаболічних шляхів, пов'язаних із синтезом хлорофілу та лігніфікацією клітинних стінок, що підвищує механічну міцність рослин. Низькомолекулярні пептиди, присутні у ферментативних екстрактах, беруть участь у регуляції генної експресії, зокрема ферментів антиоксидантного захисту, що забезпечує пролонговану дію екстрактів у стресових умовах.

Практична цінність отриманих результатів полягає у можливості створення біологічно активних препаратів на основі екстрактів *L. sulphureus* для застосування в органічному землеробстві. Висока ефективність водних і ферментативних екстрактів у стимуляції проростання насіння (до 28% для редису) та розвитку кореневої системи (приріст довжини кореня до 45,7%) дозволяє рекомендувати їх як екологічно безпечні альтернативи синтетичним регуляторам росту, таким як "Епін-Екстра". Низька собівартість виробництва грибних екстрактів, особливо при використанні ферментативної обробки, забезпечує економічну доцільність їхнього застосування.

Антиоксидантна активність екстрактів, особливо спиртових ($IC_{50} = 12,8 \pm 1,2$ мкг/мл), відкриває перспективи для їх використання у захисті рослин від абіотичних стресів, таких як посуха чи засолення. Зниження рівня МДА на 38,1-46,5% у стресових умовах свідчить про потенціал екстрактів у підвищенні адаптивності сільськогосподарських культур. Комбінований екстракт, що поєднує переваги різних методів екстракції, може стати основою універсального препарату для комплексного впливу на ріст і стресостійкість рослин.

Отримані результати також мають значення для біотехнологічної галузі, оскільки оптимізовано методи екстракції, що забезпечують максимальний вихід біологічно активних речовин ($41,2 \pm 3,1\%$ для комбінованого методу). Це дозволяє масштабувати процеси виробництва та створювати стандартизовані препарати для сільського господарства. Відсутність фітотоксичності навіть при високих концентраціях екстрактів (терапевтичний індекс до 32,4) підвищує їхню безпечність і технологічність.

Подальші дослідження екстрактів *L. sulphureus* повинні зосередитися на вивченні молекулярних механізмів їхньої дії на клітинному рівні, зокрема ідентифікації сигнальних шляхів, які активуються β -глюканами та фенольними сполуками. Основним є аналіз генної експресії ферментів, залучених до метаболізму рослин, для розуміння довгострокових ефектів обробки екстрактами. Це дозволить уточнити механізми пролонгованої дії, виявленої в експериментах (ефект зберігався до 14 діб).

Іншим перспективним напрямом є розробка технологій мікрокапсулювання екстрактів для підвищення їхньої стабільності та контрольованого вивільнення активних компонентів у рослинних тканинах. Це може подовжити термін зберігання робочих розчинів (зараз до 48 годин) та зменшити втрати активності при високих температурах. Дослідження стабільності екстрактів у різних ґрунтово-кліматичних умовах також є необхідним для їх практичного застосування [50].

Вивчення синергетичних ефектів комбінованих екстрактів з іншими біостимуляторами, наприклад, гуматами або мікроелементами, може посилити їхню біологічну активність і розширити спектр застосування. Особливу увагу слід приділити тестуванню екстрактів на ширшому спектрі сільськогосподарських культур, включаючи плодові та декоративні рослини, для оцінки їхньої універсальності. Крім того, доцільно дослідити вплив екстрактів на мікробіом ґрунту, оскільки їхні компоненти можуть впливати на корисні мікроорганізми.

Нарешті, перспективним є вивчення потенціалу екстрактів *L. sulphureus* у біомедицині, враховуючи їх високу антиоксидантну активність та імуномодулюючі властивості. Проведення досліджень *in vivo* на моделях тварин може підтвердити можливість використання цих екстрактів у фармацевтичній промисловості, зокрема для створення антиоксидантних добавок або засобів для профілактики окисного стресу.

ВИСНОВКИ

Аналіз наукової літератури показав, що *Laetiporus sulphureus* є перспективним джерелом біологічно активних сполук, таких як β -глюкани, фенольні сполуки, терпеноїди та ферменти, які проявляють ростостимулюючу, антиоксидантну та імуномодулюючу активність. Дослідження підтвердили унікальність біохімічного складу цього гриба, зокрема високий вміст полісахаридів (45-65% сухої маси) і фенольних сполук, що робить його цінним для біотехнологічних і сільськогосподарських застосувань. Літературні дані також вказують на екологічну пластичність виду та його здатність адаптуватися до різних умов, що підкреслює потенціал *L. sulphureus* для розробки екологічно безпечних біостимуляторів.

Отримано екстракти *Laetiporus sulphureus* різними методами, включаючи водну, спиртову, ферментативну та комбіновану екстракцію, що дозволило вилучити широкий спектр біологічно активних компонентів. Спиртові екстракти виявилися найбагатшими на фенольні сполуки ($185,3 \pm 15,2$ мг/г), тоді як водні та ферментативні екстракти містили значну кількість β -глюканів (до $45,2 \pm 3,8\%$). Комбінований метод екстракції забезпечив максимальний вихід активних речовин ($41,2 \pm 3,1\%$), що свідчить про його переваги для промислового застосування. Оптимізація умов екстракції, зокрема використання ферментативної обробки, підвищила ефективність вилучення біологічно активних сполук порівняно з традиційними методами.

Встановлено оптимальні концентрації екстрактів для стимуляції росту рослин і підвищення їхньої стійкості до стресових факторів. Спиртові екстракти продемонстрували найвищу біологічну активність при концентраціях 0,001-0,01%, тоді як водні та ферментативні екстракти були ефективними в діапазоні 0,01-0,05%. Математичне моделювання кривих доза-ефект за допомогою логістичної функції Хілла дозволило визначити ефективні дози (ED50) для різних фізіологічних показників, зокрема для стимуляції проростання насіння ($0,0023 \pm 0,0004\%$ для спиртового екстракту) та ростостимулюючої активності ($0,0078 \pm 0,0011\%$). Ферментативний екстракт виявився найбезпечнішим завдяки високому терапевтичному індексу (32,4).

Виявлено високу антиоксидантну активність екстрактів *Laetiporus sulphureus*, що підтверджується результатами тестів DPPH, ABTS і FRAP. Спиртові екстракти показали найвищу активність ($IC_{50} = 12,8 \pm 1,2$ мкг/мл у тесті DPPH), що корелює з високим вмістом фенольних сполук ($185,3 \pm 15,2$ мг/г). Комбіновані екстракти продемонстрували збалансовану активність ($IC_{50} = 16,9 \pm 1,5$ мкг/мл), тоді як водні та ферментативні екстракти виявилися ефективними завдяки присутності гідрофільних антиоксидантів. Кореляційний аналіз підтвердив провідну роль фенольних сполук у формуванні антиоксидантних властивостей ($r = 0,94$, $p < 0,001$), що робить екстракти перспективними для захисту рослин від окисного стресу.

Доведено ефективність використання *Laetiporus sulphureus* для підвищення стійкості рослин до абіотичних стресів, зокрема окисного стресу, викликаного обробкою паракватом. Попередня обробка насіння екстрактами підвищувала виживаність проростків редису до $79,4 \pm 6,1\%$ (спиртовий екстракт) порівняно з $47,3 \pm 4,2\%$ у контролі. Захисна дія екстрактів була пов'язана з індукцією активності антиоксидантних ферментів, таких як супероксиддисмутаза (до $18,7 \pm 1,6$ од/мг білка) і каталаза (до $45,2 \pm 4,1$ мкмоль H_2O_2 /хв·мг білка), а також зі зниженням рівня малонового діальдегіду на $38,1-46,5\%$. Ці результати свідчать про потенціал екстрактів у підвищенні адаптивності рослин до несприятливих умов.

Практичні рекомендації щодо застосування екстрактів *Laetiporus sulphureus* у сільському господарстві включають використання водних екстрактів (0,01-0,02%) для передпосівної обробки насіння злакових культур із експозицією 6-8 годин, а також спиртових екстрактів (0,001-0,005%) для овочевих культур із короткочасною обробкою (2-4 години). Ферментативні екстракти (0,05-0,1%) рекомендуються для органічного землеробства завдяки їхній безпечності та широкому діапазону ефективних концентрацій. Комбіновані екстракти (0,01-0,03%) є універсальними для різних культур і фаз розвитку рослин. Зберігання робочих розчинів має здійснюватися не більше 48 годин при $4^\circ C$, а концентрованих екстрактів – до 6 місяців при $-18^\circ C$ для збереження їхньої біологічної активності.

Результати дослідження відкривають перспективи для створення екологічно безпечних біостимуляторів на основі *Laetiporus sulphureus*, які можуть замінити

синтетичні регулятори росту. Висока ефективність екстрактів у стимуляції проростання насіння (до 28% для редису), розвитку кореневої системи (приріст до 45,7%) і захисту від стресу, а також низька собівартість їхнього виробництва роблять ці препарати економічно доцільними для впровадження в органічне землеробство. Подальші дослідження повинні зосередитися на молекулярних механізмах дії екстрактів, розробці технологій мікрокапсулювання та вивченні їхнього впливу на ґрунтовий мікробіом, що сприятиме розширенню спектра їхнього застосування в сільському господарстві та біомедицині.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Решетник К. С., Приседський Ю. Г. Ріст та культурально-морфологічні особливості деяких штамів *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Basidiomycota) за дії лазерного опромінення. 2020. URL: <https://r.donnu.edu.ua/handle/123456789/2549>
2. Reshetnyk K. S. Growth, cultural and morphological characteristics of strains of *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Basidiomycota) under the influence of laser irradiation. Ukrainian Botanical Journal. 2020. Vol. 77, No. 6. P. 472–479. URL: <https://ukrbotj.co.ua/pdf/77/6/ukrbotj-2020-77-6-472.pdf>
3. Круподьорова Т. А. Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок: дис. ... д-ра біол. наук. Київ, 2018. URL: http://ifbg.org.ua/sites/default/files/u93/dissertations/dis_krupodorova.pdf
4. Калюжний Ю. А. Ростові властивості базидіомицетів *Laetiporus sulphureus* у поверхневій культурі. Біотехнологія XXI століття. 2025. С. 113–115. URL: <http://conf.biotech.kpi.ua/article/view/329784/319300>
5. Іваненко О. М. Афілофороїдні гриби Київського плато: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Київ, 2020. URL: https://botany.kiev.ua/doc/dis_ivanenko.pdf
6. Бондарук С. В. Антибактеріальні властивості базидієвих грибів. 2022. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/bitstreams/b04d5392-5176-427e-b7c0-58876847ebba/download>
7. Врадій О. І. Екотоксикологічна оцінка харчових недеревних лісових ресурсів Лісостепу Правобережного: дис. ... канд. біол. наук. Дніпро: Дніпровський ДАЕУ, 2023. URL: <https://dspace.dsau.dp.ua/handle/123456789/11149>
8. Adamska I. The possibility of using sulphur shelf fungus (*Laetiporus sulphureus*) in the food industry and in medicine—A review. Foods. 2023. Vol. 12, No. 7. P. 1539. URL: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/7/1539>
9. Elkhateeb W. A. et al. Chicken of the woods *Laetiporus sulphureus* and *Schizophyllum commune* treasure of medicinal mushrooms. Open Access Journal of

Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 6, No. 3. P. 1–7. URL: <https://medwinpublisher.org/index.php/OAJMB/article/view/4102>

10. Lu M.-K. et al. SPS, a sulfated galactoglucan of *Laetiporus sulphureus*, exhibited anti-inflammatory activities. International Journal of Biological Macromolecules. 2023. Vol. 226. P. 1236–1247. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813022027933>

11. Кернер А. О. Антифунгальні властивості грибів відділу Basidiomycetes. 2022. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/7379706e-70b0-4abd-b9b3-2a6331aaf19f/content>

12. Boiko S. M. Cellulases of basidiomycetes for the development of cellulose bioconversion technologies. Ukrainian Botanical Journal. 2020. Vol. 77, No. 5. P. 378–385. URL: <https://ukrbotj.co.ua/pdf/77/5/ukrbotj-2020-77-5-378.pdf>

13. Броднікова Є. Р., Дзигун Л. П. Терапевтичний потенціал *Laetiporus sulphureus*: огляд біологічно активних сполук. Біотехнологія XXI століття. 2025. С. 61–64. URL: <http://conf.biotech.kpi.ua/article/view/329763/319276>

14. Побута О. О. Екологічно безпечні барвники грибного походження. 2025. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/a05c2fbc-6ecf-4da6-b71c-0bf8219207e1/content>

15. Решетник К. С. Вплив лазерного опромінення міцелію на інтенсифікацію ростових параметрів деяких видів Basidiomycota: дис. ... канд. біол. наук. Вінниця: Донецький національний університет, 2021. URL: https://botany.kiev.ua/doc/dis_reshetnyk.pdf

16. Шевченко А. В. Оптимізація біотехнології виробництва вакцин для птахівництва. Досягнення і перспективи в захисті та карантині рослин. 2024. С. 261. URL: https://nubip.edu.ua/sites/default/files/u366/zbirnik_konferenciyi_2024.pdf#page=260

17. Бандура І. І., Кулик А. С., Коляденко В. В. Ксилотрофні гриби як джерело біоактивних речовин для функціонального харчування. Збірник наукових праць ТДАТУ. 2020. Вип. 20, т. 2. С. 132–139. URL: <http://www.tsatu.edu.ua/ophv/wp-content/uploads/sites/13/tom-2-doi-sbornyk-praci-tdatu-2020.pdf#page=132>

18. Бандура І. І. Наукові засади формування якості плодових тіл їстівних грибів родів *Pleurotus*, *Cyclocybe*, *Flammulina* та *Calocybe*: автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук. Умань, 2023. URL: <https://science.udau.edu.ua/assets/files/diser/bandura/referat-bandurairi-dokt-06.06.23.pdf>
19. Молдожонова Ю. М. та ін. Продуктивність лікарських грибів в біоконверсії лікарської рослинної сировини: дис. ... канд. техн. наук. Київ, 2023. URL: <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/25782>
20. Pluzhnyk A., Jagan V. Сучасний стан та перспективи дослідження ксилотрофних грибів Національного природного парку «Холодний Яр». *Cherkasy University Bulletin: Biological Sciences Series*. 2023. No. 1. P. 58–71.
21. Канак Л. А., Ромащенко В. В. Вивчення лікувальних властивостей грибів у курсі фармакогнозії. Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень: матеріали V міжнародної наукової конференції. Березоточа, 2021. Вип. 2. С. 16–19. URL: https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/_%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D1%96%D1%97-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D0%B0%D1%80%D1%81%D1%8C%D0%BA%D1%96%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%B8-02.04.2021.pdf#page=16
22. Веліканов О., Андрусина І. Модифікування мікроелементного складу грибів шиїтаке (*Lentinus edodes*). *Продовольчі ресурси*. 2022. Т. 10, № 18. С. 43–50. URL: <https://iprjournal.kyiv.ua/index.php/pr/article/view/584/438>
23. Ющенко О. В. Технологія одержання біомаси *Pleurotus eryngii*. 2023. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/c08219c1-80d7-4d8b-9d4a-e85a97509604/content>
24. Ігнатенко М. С. Ендоефітні гриби як джерело біологічно активних сполук. 2023. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/30f6e9eb-d581-4d8a-975f-1ca993d47b0c/content>

25. Ревіна Ю. О. Технологія отримання біоетанолу з целюлозовмісної сировини. 2020. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/5305b7a7-756b-44cf-bb0d-87e7ae0c801d/content>
26. Смольницький В. С. Розроблення технології отримання екстрактів розторопші. 2024. URL: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/ad1a1d60-efab-48fc-b17b-1f38e9c89bae/content>
27. Єрмоленко Т. І., Руда Н. Г., Паутіна О. І. Порівняльне вивчення протизапальної, анальгетичної та противиразкової дії екстракту грибів лисички звичайної (*Cantharellus cibarius*) та екстракту грибів шиїтаке (*Lentinus edodes*) в експерименті. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2021. Т. 21, № 2 (74). С. 135–141.
28. Regeda L. V., Bisko N. A., Gurinovych N. V. Антиоксидантна активність екстрактів міцелію та культуральної рідини лікарських макроміцетів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2021. Vol. 19, No. 4 (76). P. 47–53.
29. Воробель М., Мороз В., Каплінський В. Ефективність впливу біокомпозиції з грибів *Basidiomycota* на рівень виділення вуглекислого газу з гною великої рогатої худоби. Вісник аграрної науки. 2020. Т. 98, № 4. С. 69–74. URL: https://agrovisnyk.com/pdf/ua_2020_04_10.pdf
30. Буслик Т. В., Росаловський В. П., Салига Ю. Т. Виявлення та кількісне визначення мікотоксिनотенних грибів з використанням методу ПЛР. Цитологія і генетика. 2022. Т. 56, № 1. С. 22–38.
31. Гродзинська Г. А., Небесний В. Б., Самчук А. І. Мультиелементний аналіз дикорослих макроміцетів. Вісник Національної академії наук України. 2022. № 8. С. 49–63. URL: <https://nasu-periodicals.org.ua/index.php/visnyk/article/view/10242/9426>
32. Demkiv O. et al. Скринінг цвілевих грибів на здатність до синтезу креатиніндеїмінази. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2019. Вип. 81. С. 122–129. DOI: 10.30970/vlubs.2019.81.13.

33. Гавриленко К. Моніторинг і оцінка динаміки спор пліснявих грибів роду *Cladosporium*, як основного компонента мікоспектра м. Запоріжжя (Україна). 2024. URL: <https://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/20889/1/c139-140.pdf>
34. Власенко К. М. Біотехнологічні засади підвищення інтенсивності аромату грибів роду *Pleurotus* у процесі їх твердофазного культивування. 2020.
35. Бабій Л. В. Метод мікрохвильового опромінення для знезараження мікозу. 2020. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/7eb183cf-8961-4c04-9eb2-ca9643967376/content>
36. Решетник К. С. Інтенсифікація росту базидієвого гриба *Schizophyllum commune* за допомогою лазерного опромінення. Агроекологічний журнал. 2020. № 2. С. 106–111. URL: <http://journalagroeco.org.ua/article/view/207688>
37. Яременко М. С. Фармакогностичне вивчення кореневищ і листя лепехи звичайної та отримання субстанцій різної біологічної дії: дис. ... д-ра фарм. наук. Харків: Національний фармацевтичний університет, 2020. URL: <https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2021/03/disertacija-jaremenko-m.s..pdf>
38. Шарко К. Дослідження біологічно активних речовин сухого екстракту трави *Lythrum salicaria*. 2024. URL: <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/32989>
39. Гуменюк Х. О. та ін. Актуальні питання розвитку біології та екології. 2020. URL: http://195.34.206.236/bitstream/123456789/1605/1/%D0%97%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA%20%D0%90%D0%BA%D1%82%D1%83%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%20%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D1%80%D0%BE%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%BA%D1%83%20%D0%91%D0%86%D0%9E_%D0%95%D0%9A%D0%9E_2020.pdf
40. Гнатюк Н. О., Сорокіна С. І. Аллопатична активність насіння рослин родів *Monarda didyma* L., *Dracosephalum moldavicum* L., *Hyssopus officinalis* L. в умовах лісостепу України. Український журнал медицини. 2020. С. 350–356. URL: https://web.archive.org/web/20201105034919id_/https://jmbs.com.ua/pdf/5/4/jmbs0-2020-5-4-350.pdf

41. Окрушко С. Є. Вплив водних витяжок *Elytrigia repens* L. на проростання насіння пшениці. Сільське господарство та лісівництво. 2022. № 4 (27). С. 93–109. DOI: 10.37128/2707-5826-2022-4-8. URL: <https://socrates.vsau.org/repository/getfile.php/32374.pdf>
42. Матвеева Н. та ін. Вплив альгініту на ріст та біоактивність рослин салату в умовах *in vitro*. Фізіологія рослин і генетика. 2023. Т. 55, № 2. С. 163–176.
43. Гуріна В. Аналітичне дослідження впливу стресових факторів на вміст хімічних маркерів у наземній частині лаванди вузьколистої. 2023. URL: <http://dSPACE.nuph.edu.ua/handle/123456789/30774>
44. Альтанова А., Корольова Т. Ефективність адаптогенів у запобіганні та корекції стрес-індукованих станів. Здоров'я людини і нації. 2023. № 2. С. 72–94. URL: <https://humanhealth.nubip.edu.ua/index.php/hnh/en/article/view/15/17>
45. Оваденко О. Р. Обґрунтування вибору рослинних фенольних екстрактів як антисептичної альтернативи діоксиду сірки в технології виноградних вин. 2023. URL: <https://dSPACE.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/b8f62351-4bc7-4bab-8a1b-734f0bdb879d/content>
46. Михайлова О. Б. Біотехнологічні основи регуляції біосинтетичної активності лікарських макроміцетів за допомогою екологічно безпечних фізичних факторів. 2025. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/aba9b845-e110-42a2-909d-3d6bc45bc23d/content>
47. Калюжний Ю. А. Антимікробні властивості базидієвих грибів. Біотехнологія XXI століття. 2024. С. 96–98. URL: <http://conf.biotech.kpi.ua/article/view/304206/296178>
48. Zubyk P., Klechak I. Культурально-морфологічні особливості росту *Trametes versicolor* (Polyporaceae) на середовищах, що містять деревні екстракти. Innovative Biosystems and Bioengineering. 2023. Vol. 7, No. 1. P. 24–33. URL: <https://ibb.kpi.ua/article/view/274343/273237>
49. Korabel N. et al. Study of Lipophilic Substances of *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr) Murril at Different Stages of Maturity of Mushroom Fruiting Bodies. Biomedical

Chromatography. 2025. DOI: 10.1002/bmc.70140. URL:
<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.70140>

50. Tropa E. et al. Elicitor-Induced Modulation of Secondary Metabolites in *Laetiporus Sulphureus* and *Flammulina Velutipes* With Extraction Efficiency Evaluation in Artificial Digestive Juices. Chemistry & Biodiversity. 2025. DOI: 10.1002/cbdv.202500356. URL:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.202500356>

МАТЕРІАЛИ VIII МІЖНАРОДНОЇ СТУДЕНТСЬКОЇ НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ

ПРИОРИТЕТНІ НАПРЯМКИ ТА ВЕКТОРИ РОЗВИТКУ СЬВІТОВОЇ НАУКИ

М. СУМИ, УКРАЇНА
6 ЧЕРВНЯ 2025 РІК

Піонерський напрямки та вектори розвитку світової науки

СЕКЦІЯ 10. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ЕТАПОДИ ІК ПЕРСПЕКТИВНИЙ МОНОМЕР ДЛЯ КОСМЕТИЧНОЇ ПРОМІСЛОВОСТІ
Маслова А. А., Науковий керівник: Мислик В.А. 214

СКЛАД КОМУЧІ ТА ФІЗИКОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ
Горькавська В.В., Науковий керівник: Іванко О.А. 216

ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ КОЛІСТІВ НА ОСНОВІ НОВОГО ШТАМУ РАЄВАСЦІУС
Григорук Т. М., м.н.с. В.І. 219

ХАРАКТЕРИСТИКА КСЕЛОРОФІТНОГО БАЗИДІЕВОГО ГРИБА *L. SULPHUREUS* ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ
Шевць Д.О., Науковий керівник: Бойко О.А. 221

СЕКЦІЯ 11. АГРАРНА НАУКА ТА ПРОДОВОЛЬСТВО

ВІСНІВ ВІСКОУВАНІ НАСНІВІВ НА ПОДВОЮВІ СХОЖІСТЬ СОРТІВ СОЇ
Мартинюк О.В., Науковий керівник: Паломченко В.С. 222

ВІСНІВ РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ НА БІОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСЛИНИ ГРЯДИВ СОСІСІВНИХ
Омичук А.А., Науковий керівник: Паломченко В.С. 224

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРИТОРІАЛЬНОЇ ОБЛАСТІ ЛІСОВОЇ РЕСУРСНОЇ РОСЛИННОСТІ ТА ТВАРИННОЇ СІТИ
Гулик К.К., Іванко Тарас О., Уман Р.В. 226

ПОДВОВА СХОЖІСТЬ НАСНІВІВ ТА ГУСТОТА СТОВБІВ РОСЛИНИ СОРТИ АМАРАНТУ ЗАЛЕЖИВІ ВІД СТРУКТУРИ СВІТА ТА ОБРОБКИ НАСНІВІВ
Лазанко М.А., Науковий керівник: Паломченко В.С. 227

УПРАВЛІННЯ ПРОДУКТИВНОСТЮ СОВІЩИНІВ У УМОВАХ МІСЬКОЇ ОБЛАСТІ
Бойко О.С., Науковий керівник: Шувий О.І. 229

УРОЖАЙНІСТЬ СІВІ ЗАЛЕЖИВІ ВІД СУПРОВОДНОЇ ОСОБЛИВОСТІ ТА ЕЛЕМЕНТІВ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБЛЮВАННЯ
Павленко В.Ю., Науковий керівник: Гагарин І.М. 231

ФЕНОЛОГІЧНІ СТАНИ ТА ІНШІ ФАКТОРИ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИРОБСТВА ІВІВ СІЛКОУ В МОЛОДШИХ КОСІВНИКАХ
Демчук Д.О., Науковий керівник: Мельничук Р.В. 233

6 червня 2025 рік • Суми, Україна • Матеріали наукової ліни

Шевць Д. О., студент ІМ факультету землеробства, біологічної та екологічної біологічної науки, Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна
Науковий керівник: Бойко О.А., д-р біол. наук, доцент кафедри фізіології, біології рослин та біохімії
Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна

ХАРАКТЕРИСТИКА КСЕЛОРОФІТНОГО БАЗИДІЕВОГО ГРИБА *L. SULPHUREUS* ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ

Гриби метаболіти представлені широким спектром речовин, що належать до різних класів молекул. Тому дослідження метаболітів гриба в метою розроблення технологій їх отримання є актуальним завданням для дослідників в галузі біотехнології. Представники порядку *Phyriales* є одним із найважливіших джерел біологічно активних сполук у грибовому царстві. *Lactaria sulphurea*, який за сучасною класифікацією гриба належить до цього порядку, є єдиним представником роду *Lactaria*, що зростається в Україні. [1] Він є аксолитрофом, факультативним сапротрофом і збудником бурї призматичної форми, яка розвивається переважно поверхово у центральній частині стовбура.

Плодове тіло трутовика срібно-золотого часто можна зустріти під час його вегетативного періоду на пнях і стовбурах живих та мертвих дерев листяних і хвойних порід, а іноді й на землі. Молоде плодове тіло цього трутовика спочатку нагадує істотоподібну безформну масу, яка з часом перетворюється на черепичні сполучення з віялоподібним, об'єднаним спільною основою, мікрисним шаром, який розпадається на окремі галузки довжиною до 70 см вгору. Маса таких утворень може сягати до 20 кг. [2]

Цей базидієвий грибок містить цілий ряд біологічно активних сполук, таких як полісахариди, каротіноїди, ергостерол, ферменти, рослинні гормони та алкалоїди, які проявляють антибактеріальну, антимікробну, гіпоалергічну, інсектоцидну, протипухлинну, протипаразитарну, радіопротекторну та тріабологічну активність. Це величезна можливість використання трутовика срібно-золотого як продуцента речовин, які можуть знайти своє застосування у медицині, харчовій, переробній та інших галузях промисловості. [3]

Список використаних джерел:

- Christensen M., Bhattacharai S., Devkota S., Larsen H.O. Collection and use of wild edible fungi in Nepal // *Economic Botany* — 2008. — 82, N 1. — P. 12–25.
- Mong M-H, Teong S-K, Al-Humud J et al. Purification and characterization of a thermostable β-1,3-L-glucanase from *Lactaria sulphurea* var. *minutus* // *Microbiol. biotechnol.* — 2009. — 28, N 8. — P. 818–822.
- Shen Q, Chen W, Wu Z, He Z. Potential pharmacological reports of the *Lactaria sulphurea* in central China medicinal fungi // *Front. Biol. China*. — 2008. — 4, N 2. — P. 89–95.

12

221

ЦЕНТР НАУКОВО-ТЕХНОЛОГІЧНОЇ КОМУНІКАЦІЇ

МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ INTERNATIONAL SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE

НАУКА, ОСВІТА, ТЕХНОЛОГІЇ: СУЧАСНІ ВИЛИКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ
SCIENCE, EDUCATION, AND TECHNOLOGY: CONTEMPORARY CHALLENGES AND DEVELOPMENT PROSPECTS

Збірник тез доповідей
Book of abstracts

Частина 2
Part 2

2 червня 2025 р.
June 2, 2025

М. Кременчук, Україна
Kremenchuk, Ukraine

Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології: сучасні виклики та перспективи розвитку"

СЕКЦІЯ 15. ХІМІЧНА НАУКА
SECTION 15. CHEMICAL SCIENCES 40

Джонсон С. В., Швед О. М., Равенца Г. М.
СОЛІ ТЕТРАКІВАНІОННО ІОН КАТАЛИЗОВАНОЇ РЕАКЦІЇ ЕПІЛОФОРІНУ З 4-НІТРОФЕНОЛОМ: ВІВНЕННЯ МЕХАНІЗМУ КАТАЛИЗУ
..... 40

СЕКЦІЯ 16. ІНЖЕНЕРІЯ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ
SECTION 16. ENGINEERING AND BIOENGINEERING 42

Шевць Д. О., Бойко О. А.
ХАРАКТЕРИСТИКА КСЕЛОРОФІТНОГО БАЗИДІЕВОГО ГРИБА *L. SULPHUREUS* ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ 42

СЕКЦІЯ 17. ТЕХНІЧНА НАУКА, ВИРОБНИЦТВО ТА ТЕХНОЛОГІЇ
SECTION 17. TECHNICAL SCIENCES, PRODUCTION AND TECHNOLOGY 44

Бойко О. О.
ІННОВАЦІЇ В ОРГАНІЗАЦІЇ АГОРОДИННОГО ХАРЧУВАННЯ 44

Майніч О. Г.
НАПРЯМКИ РОЗВИТКУ ТЕХНОЛОГІЙ ТОЧОГО ОБ'ЄМНОГО ШТАМУВАННЯ 46

СЕКЦІЯ 18. АРХІТЕКТУРА ТА БУДІВНИЦТВО
SECTION 18. ARCHITECTURE AND CONSTRUCTION 47

Ришачко Т. Д.
ПРИХОДИ ОРГАНІЗАЦІЇ АРХІТЕКТУРО-ЛАНДШАФТНОГО СРЕДОВИЩА ПРИ ОБОРОНІ ТУРИСТИЧНИХ КОМПЛЕКСІВ 47

Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології: сучасні виклики та перспективи розвитку"

СЕКЦІЯ 16 ІНЖЕНЕРІЯ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ
SECTION 16 ENGINEERING AND BIOENGINEERING

УДК 574.2:582.287

Шевць Д. О., студент ІМ факультету землеробства, біологічної та екологічної біологічної науки, Національний університет біоресурсів і природокористування України
Бойко О. А., д-р біол. наук, доцент кафедри фізіології, біології рослин та біохімії, Національний університет біоресурсів і природокористування України

ХАРАКТЕРИСТИКА КСЕЛОРОФІТНОГО БАЗИДІЕВОГО ГРИБА *L. SULPHUREUS* ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ

Гриби метаболіти представлені широким спектром речовин, що належать до різних класів молекул. Тому дослідження метаболітів гриба в метою розроблення технологій їх отримання є актуальним завданням для дослідників в галузі біотехнології. Представники порядку *Phyriales* є одним із найважливіших джерел біологічно активних сполук у грибовому царстві. *Lactaria sulphurea*, який за сучасною класифікацією гриба належить до цього порядку, є єдиним представником роду *Lactaria*, що зростається в Україні [1, с. 22-23]. Він є аксолитрофом, факультативним сапротрофом і збудником бурї призматичної форми, яка розвивається переважно поверхово у центральній частині стовбура.

Плодове тіло трутовика срібно-золотого часто можна зустріти під час його вегетативного періоду на пнях і стовбурах живих та мертвих дерев листяних і хвойних порід, а іноді й на землі. Молоде плодове тіло цього трутовика спочатку нагадує істотоподібну безформну масу, яка з часом перетворюється на черепичні сполучення з віялоподібним, об'єднаним спільною основою, мікрисним шаром, який розпадається на окремі галузки довжиною до 70 см вгору. Маса таких утворень може сягати до 20 кг. [2]

Цей базидієвий грибок містить цілий ряд біологічно активних сполук, таких як полісахариди, каротіноїди, ергостерол, ферменти, рослинні гормони та алкалоїди, які проявляють антибактеріальну, антимікробну, гіпоалергічну, інсектоцидну, протипухлинну, протипаразитарну, радіопротекторну та тріабологічну активність. Це величезна можливість використання трутовика срібно-золотого як продуцента речовин, які можуть знайти своє застосування у медицині, харчовій, переробній та інших галузях промисловості. [3]

5

42

Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології: сучасні виклики та перспективи розвитку"

Базидієвий грибок містить цілий ряд біологічно активних сполук, таких як полісахариди, каротіноїди, ергостерол, ферменти, рослинні гормони та алкалоїди, які проявляють антибактеріальну, антимікробну, гіпоалергічну, інсектоцидну, протипухлинну, протипаразитарну, радіопротекторну та тріабологічну активність. Це величезна можливість використання трутовика срібно-золотого як продуцента речовин, які можуть знайти своє застосування у медицині, харчовій, переробній та інших галузях промисловості. [3]

Список літератури

- Christensen M., Bhattacharai S., Devkota S., Larsen H.O. Collection and use of wild edible fungi in Nepal // *Economic Botany* — 2008. — 82, N 1. — P. 12–25.
- Mong M-H, Teong S-K, Al-Humud J et al. Purification and characterization of a thermostable β-1,3-L-glucanase from *Lactaria sulphurea* var. *minutus* // *Microbiol. biotechnol.* — 2009. — 28, N 8. — P. 818–822.
- Shen Q, Chen W, Wu Z, He Z. Potential pharmacological reports of the *Lactaria sulphurea* in central China medicinal fungi // *Front. Biol. China*. — 2008. — 4, N 2. — P. 89–95.