



<https://doi.org/10.15407/ukrbotj76.01.071>

Вплив мікроелементів на вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі лікарського гриба *Trametes versicolor* (Polyporaceae, Basidiomycota)

Галеб А. АЛЬ-МААЛІ, Ніна П. ВЕДЕНИЧОВА, Ніна А. БІСЬКО, Ірина В. КОСАКІВСЬКА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська 2, Київ 01004, Україна
galeb.almaali@gmail.com

Al-Maali G.A., Vedenicheva N.P., Bisko N.A., Kosakivska I.V. 2019. Effect of microelements on cytokinins content in mycelial biomass of medicinal mushroom *Trametes versicolor* (Polyporaceae, Basidiomycota). *Ukrainian Botanical Journal*, 76(1): 71–78.

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereschenkivska Str., Kyiv 01004, Ukraine

Abstract. The study results of the effects of Zinc, Manganese and Copper sulfates and citrates on cytokinins content in mycelial biomass of the valuable medicinal mushroom *Trametes versicolor*, strain 353 from the IBK Mushroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany, in culture are presented. Cytokinins were measured using high performance liquid chromatography on an Agilent 1200 LC chromatograph with a G 1315 B diode matrix detector. The addition of salts of these metals was shown to accelerate the mycelium growth. The most effective was Copper citrate, its introduction to the nutrient medium caused the biomass growth increase by almost 80%. In general, citrates affected the growth of *T. versicolor* 353 more effectively than sulfates. Metal compounds stimulated formation of active forms of hormones (*trans*-zeatin and zeatin riboside) and reduced the content of inactive forms (*cis*-zeatin and zeatin-*O*-glucoside). The most significant effect on cytokinins metabolism was produced by Zinc salts, under its effect the levels of *trans*-zeatin and zeatin riboside increased eightfold. Sulfates of the metals influenced synthesis of zeatin riboside more effectively than citrates. All studied salts reduced the level of *cis*-zeatin at least twice. Minor quantities of zeatin-*O*-glucoside detected in the control were not discovered in experiments with metals. Although the effect of the studied microelements on acceleration of the growth of mycelial biomass was generally accompanied by an increase in the content of active forms of cytokinins, quantitative dependencies between these two indices were not recorded.

Keywords: Copper, cytokinins, Manganese, microelements, *Trametes versicolor*, Zinc

Аль-Маалі Г.А., Веденичова Н.П., Бісько Н.А., Косаківська І.В. 2019. Вплив мікроелементів на вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі лікарського гриба *Trametes versicolor* (Polyporaceae, Basidiomycota). *Український ботанічний журнал*, 76(1): 71–78.

Реферат. Наведено результати дослідження впливу сульфатів і цитратів Цинку, Мангану й Купруму на вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі цінного лікарського гриба *Trametes versicolor*, штам 353, з Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, що вирощувався в культурі. Цитокініни визначали методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 LC з діодно-матричним детектором G 1315 В. Виявлено, що додавання солей значених металів прискорювало ріст міцелію. Найбільш ефективним був цитрат Купруму, за умов внесення якого у живильне середовище приріст біомаси зростав майже на 80%. Цитрати загалом ефективніше впливали на ріст *T. versicolor* 353, ніж сульфати. Сполуки металів стимулювали утворення активних форм гормонів (*транс*-зеатину й зеатинрибозиду) та зменшували вміст неактивних форм (*цис*-зеатину й зеатин-*O*-глюкозиду). Найбільш вагомо впливали на метаболізм цитокінінів солі Цинку, за дії яких рівні *транс*-зеатину й зеатинрибозиду зростали у 8 разів. Сульфати металів ефективніше діяли на синтез зеатинрибозиду, ніж цитрати. Усі досліджені солі пригнічували рівень *цис*-зеатину щонайменше удвічі. Незначні концентрації зеатин-*O*-глюкозиду, виявлені в контролі, в досліді з металами не були знайдені. Хоча вплив досліджених мікроелементів на прискорення росту міцеліальної біомаси в цілому супроводжувався зростанням вмісту активних форм цитокінінів, кількісних залежностей між цими двома показниками не зафіксовано.

Ключові слова: Купрум, Манган, мікроелементи, Цинк, цитокініни, *Trametes versicolor*

Вступ

Значну роль у фізіології живлення грибів відіграють іони есенціальних мікроелементів. Відомо, що

© Г.А. АЛЬ-МААЛІ, Н.П. ВЕДЕНИЧОВА, Н.А. БІСЬКО, І.В. КОСАКІВСЬКА, 2019

додавання до живильного середовища або субстрату іонів металів за оптимальних концентрацій позитивно впливає на ріст міцелію та плодоношення макроміцетів (Malinowska et al., 2009; Аль-Маалі, 2015; Bidegain et al., 2015; Krakowska et al.,

2016). Найважливішими мікроелементами для повноцінного функціонування еукаріотичної клітини, у т. ч. грибної, є Цинк, Купрум та Манган (Banci, Bertini, 2013). Цинк має фундаментальне значення для процесів життєдіяльності, оскільки входить до складу каталітичних і структурних центрів великого масиву білків та є єдиним елементом, який входить до складу ферментів усіх класів (Broadley et al., 2007). Майже 25% Цинк-зв'язаних білків пов'язано з транскрипційною регуляцією (Staats et al., 2015). Більшість окисно-відновних реакцій у клітині відбувається за участі ферментів, що містять іони Купруму чи Мангану в координаційному центрі (Kaïm et al., 2013). Манган як кофактор входить до складу ферментів, які каталізують гідролітичні й окисно-відновні реакції (Law et al., 1998). Серед цих ферментів основну роль відіграють Манган-залежна супероксиддисмутаза, різні каталази та пероксидази (Kaïm et al., 2013). Купрум є складовою ключових ферментів, необхідних для повноцінного функціонування будь-якої еукаріотичної клітини, насамперед цитохром с-оксидази, супероксиддисмутази й чисельних Купрумвмісних оксидаз (Banci, Bertini, 2013). Незважаючи на безперечну важливість мікроелементів, механізми їхньої регуляції у процесах росту й розвитку грибних організмів залишаються малодослідженими.

Гриби продукують фітогормони, зокрема цитокініни (Chanclud, Morel, 2016), функціональне значення яких остаточно не з'ясовано. Показано, що за допомогою гормонів цитокінінової природи фітопатогенні гриби маніпулюють ростом рослини-хазяїна (Grant, Jones, 2009). Екзогенні цитокініни здатні впливати на розвиток мікро- та макроміцетів. Наприклад, кінетин прискорював ріст міцелію *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl. (Chatterjee et al., 2008) і *Mucor indicus* Lendn. (Safaei et al., 2015), позитивно впливав на розміри шапинки й довжину ніжки *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (Ramachela et al., 2016), збільшував біомасу й вміст білка у *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer (= *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr.) (Mukhopadhyay et al., 2005) і *Agaricus campestris* L. (Guha, Banerjee, 1974). Рівні ендогенних цитокінінів змінювались відповідно до швидкості росту міцелію *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. і *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Kotl. & Pouzar (Vedenicheva et al., 2018a), що свідчить про їхню потенційну регуляторну функцію.

Відомо, що у рослин інформація про доступність поживних елементів, а також контроль за їхнім

засвоюванням відбувається за допомогою цитокінінів (Kieber, Schaller, 2014). Найкраще досліджено роль цитокінінів в асиміляції азоту (Kiba et al., 2011). Встановлено участь цих гормонів у поглинанні сполук Феруму (Séguéla et al., 2008), Натрію (Mason et al., 2010), Калію (Nam et al., 2012). У пагонах цитокінін-дефіцитних рослин ячменю змінювався рівень вмісту Мангану й Цинку (Ramireddy et al., 2018). Відомості щодо зв'язку між засвоюванням іонів металів та цитокінінами у грибів практично відсутні. Для з'ясування цього питання ми досліджували вплив мікроелементів у вигляді органічних та неорганічних солей на синтез цитокінінів у гриба *Trametes versicolor* (L.) Lloyd. Метою даної роботи були оптимізація умов культивування цінного лікарського базидіоміцета та зрозуміння функцій фітогормонів цитокінінової природи у грибів.

Матеріали та методи

У дослідженні використовували *T. versicolor*, штам 353, з Колекції культур шапинкових грибів (IBK) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2016).

В усіх дослідах контролем слугувало живильне середовище (ГПД) такого складу, г/дм³: глюкоза – 25; пептон – 3; дріжджовий екстракт – 3; K₂HPO₄ – 1; KH₂PO₄ – 1; MgSO₄ · 7H₂O – 0,25; дистильована вода – 1 дм³; рН 6,5.

У дослідних варіантах до живильного середовища ГПД додавали попередньо встановлені оптимальні для накопичення біомаси концентрації іонів Цинку (1 мг/дм³), Мангану (1 мг/дм³) та Купруму (4 мг/дм³). Джерелом мікроелементів слугували сульфати та цитрати зазначених металів. Всі цитрати металів були отримані методом аквананотехнології (Kosinov, Kaplunenko, 2009) в Українському державному науково-дослідному Інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження при Державному агентстві резерву України.

Інокуляцію міцелієм проводили поетапно:

1) інокулюм отримували при культивуванні міцелію штаму 353 упродовж 7 діб за температури 26 ± 1 °C на ГПД-середовищі з додаванням 20 г/дм³ агар-агара;

2) інокуляцію рідкого живильного середовища (ГПД) проводили гомогенізованим міцелієм, отриманим на першому етапі з розрахунку 10% об'єму живильного середовища. Культивували на лабораторних качалках упродовж 4 діб (120 об/хв) за

температури 26 ± 1 °C у колбах Ерленмеєра об'ємом 250 см^3 , що містили 50 см^3 живильного середовища;

3) отриману на другому етапі культуру використовували для інокуляції рідкого ГПД-середовища в серії дослідів з вивчення впливу мікроелементів на синтез цитокінінів. Міцелій, отриманий на другому етапі, додавали з розрахунку 10% загального об'єму живильного середовища. Міцелій вирощували 9 діб на лабораторних качалках за тих самих умов.

Для аналізу цитокінінів наважку біомаси 10 г гомогенізували в електричному гомогенізаторі (Mechanika Precyzyjna, Польща), тричі екстрагували 80%-ним розчином етанолу та випарювали до водної фази, яку піддавали проморожуванню при -20 °C з подальшим центрифугуванням на центрифугі К 24 (Janetzky, Німеччина) при 15000 об/хв. Отриманий супернатант фракціонували з водонасиченим *n*-бутанолом (співвідношення 1 : 1, за об'ємом), який потім випарювали. Очищення цитокінінової фракції проводили з використанням іонообмінної хроматографії на колонці 20×2 см Bio-Rad (США) зі смолою Dowex 50Wx8 (Serva, Німеччина) в H^+ -формі (елюція 0,1 М аміаком), а потім – за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинах Silicagel 60 F_{254} (Merk, Німеччина) у суміші розчинників ізопропанол : аміак : вода (10 : 1 : 1, за об'ємом). Більш детально умови виділення та очищення цитокінінів з міцеліальної біомаси грибів описано раніше (Vedenicheva et al., 2016).

Остаточний якісний та кількісний аналіз вмісту цитокінінів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 LC з діодно-матричним детектором G 1315 B (США) з використанням колонки Eclipse XDB-C18 $2,1 \times 150$ мм, розмір часточок становив 5 $\mu\text{м}$. Елюцію виконували в системі розчинників метанол : вода (37 : 63) (за об'ємом). Аналіз і обробку хроматограм проводили з використанням програмного забезпечення Chem Station, версія V.03.01 у режимі *online*. Маркерами в роботі слугували стандартні розчини зеатину *транс*-зеатину, *цис*-зеатину, зеатинрибозиду, ізопентеніладенозину, ізопентеніладеніну та зеатин-*O*-глюкозиду (Sigma, США).

Досліди проводилися в 3-разових біологічних та 5–7-разових аналітичних повторях. Результати статистично оброблені ($P \leq 0.05$) за допомогою програми Microsoft Excel 2003. Риски на діаграмах

Таблиця 1. Вплив солей металів на приріст біомаси *Trametes versicolor* 353

Table 1. The influence of metal salts on the growth of biomass of *Trametes versicolor* 353

| Варіант досліду | Біомаса, г/дм ³ | Приріст біомаси, % |
|-----------------|----------------------------|--------------------|
| контроль | $4,8 \pm 0,2$ | 0 |
| цитрат Цинку | $6,5 \pm 0,1^*$ | 36,7* |
| сульфат Цинку | $5,8 \pm 0,2^*$ | 22,0* |
| цитрат Мангану | $6,2 \pm 0,2^*$ | 28,9* |
| сульфат Мангану | $5,1 \pm 0,3$ | 5,9 |
| цитрат Купруму | $8,9 \pm 0,2^*$ | 79,9* |
| сульфат Купруму | $7,1 \pm 0,1^*$ | 48,9* |

*достовірна різниця з контрольним дослідом $P < 0,05$.

відповідають достовірним інтервалам (рівень вірогідності 0,95).

Результати та обговорення

Виявлено, що додавання сполук Цинку, Мангану та Купруму значною мірою стимулює приріст міцеліальної біомаси *T. versicolor* 353 порівняно із контролем (табл. 1). Ефективнішими були цитрати металів, ніж відповідні за катіоном сульфати. Як органічні, так і неорганічні солі Купруму сприяли максимальному прискоренню росту міцелію, тоді як іони Мангану у складі аналогічних солей мали найменшу дію.

За результатами аналізу цитокінінів міцеліальної біомаси *T. versicolor* 353 у контрольних умовах було визначено наступні гормони: *транс*-зеатин, *цис*-зеатин, зеатинрибозид і зеатин-*O*-глюкозид. Ізопентеніладенозин й ізопентеніладенін не були виявлені (рис. 1–3).

У ході експерименту з культивування міцелію *T. versicolor* 353 на середовищі з цитратами або сульфатами металів встановлено суттєві кількісні та якісні зміни в складі цитокінінів. Так, у міцелію, культивованому на середовищах із додаванням сполук металів, в усіх варіантах не було знайдено зеатин-*O*-глюкозиду на відміну від контрольного досліду (рис. 1–3). На середовищі зі сульфатом Цинку вміст *цис*-зеатину в біомасі *T. versicolor* 353 зменшувався порівняно з контролем майже вдвічі, а на середовищі з цитратом Цинку даного цитокініну взагалі не було виявлено (рис. 1). Водночас, іони Цинку в обох досліджених формах значною мірою стимулювали синтез *транс*-зеатину та зеатинрибозиду. Додавання до живильного середовища сульфату Цинку сприяло зростанню вмісту *транс*-зеатину в міцеліальній біомасі

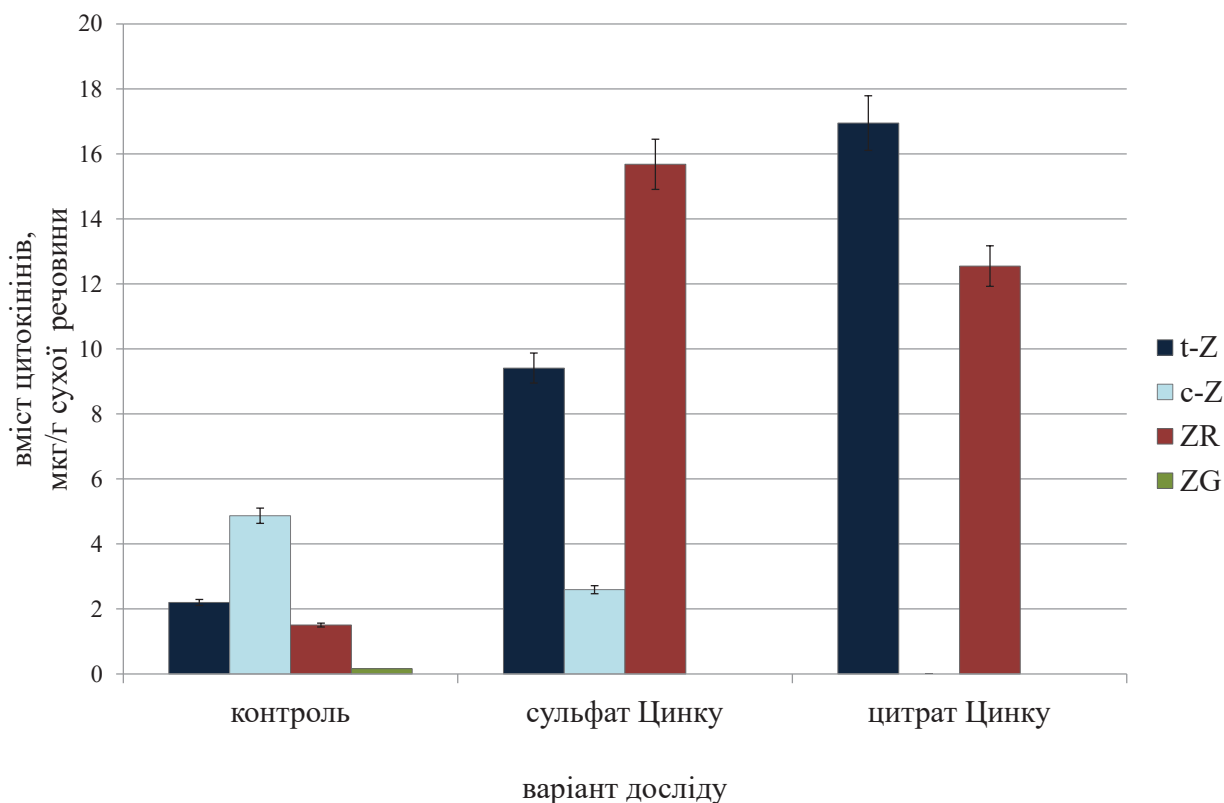


Рис. 1. Вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі штаму *Trametes versicolor* 353 за умов додавання солей Цинку до глюкозо-пептон-дріжджового середовища (ГПД).

Тут і на рис. 2, 3: t-Z – *транс*-зеатин, c-Z – *цис*-зеатин, ZR – зеатинрибозид, ZG – зеатин-*O*-глюкозид

Fig. 1. Cytokinin content in mycelial biomass of *Trametes versicolor* 353 after addition of Zinc salts in GPD-medium. Here and thereafter: t-Z – *trans*-zeatin, c-Z – *cis*-zeatin, ZR – zeatin riboside, ZG – zeatin-*O*-glucoside

T. versicolor 353 у 4,3 раза, а зеатинрибозиду – в 10,4 раза порівняно з контролем. За наявності цитрату Цинку в середовищі було зафіксовано 8-кратне збільшення рівнів *транс*-зеатину й зеатинрибозиду. У цілому, за присутності сульфату або цитрату Цинку загальна концентрація цитокінінів у біомасі *T. versicolor* 353 збільшувалася втричі порівняно з контролем (рис. 1).

Внесення в живильне середовище сульфату або цитрату Мангану стимулювало синтез зеатинрибозиду та пригнічувало утворення *цис*-зеатину в міцеліальній біомасі *T. versicolor* 353 (рис. 1). Так, при додаванні сульфату Мангану вміст *цис*-зеатину в міцелію *T. versicolor* 353 зменшувався в 2,8 раза, а вміст зеатинрибозиду зростав у 8 разів. При заміні в середовищі сульфату Мангану на відповідний цитрат, концентрація *цис*-зеатину в біомасі *T. versicolor* 353 зменшувалася в 2,2 раза, а концентрація зеатинрибозиду зростала в 4,3 раза. При цьому цитрат Мангану повністю пригнічував

утворення *транс*-зеатину, тоді як сульфат Мангану підвищував його вміст у міцелію на 68,64% відносно до контролю (рис. 1). Зазначимо, що у випадку з цитратом Мангану загальний вміст цитокінінів порівняно з контролем не змінювався. За наявності в середовищі іонів Мангану в сульфатній формі загальна концентрація цитокінінів у міцелію *T. versicolor* 353 зростала вдвічі.

Іони Купруму, додані до живильного середовища, стимулювали синтез *транс*-зеатину та зеатин-рибозиду (рис. 3). Вплив сульфату Купруму на ці цитокініни виявився більш виразним, ніж відповідного цитрату. Так, на середовищі з сульфатом Купруму вміст *транс*-зеатину в міцелію *T. versicolor* 353 збільшувався в 2,7 раза, а зеатинрибозиду – в 9 разів відносно до контролю. Додавання цитрату Купруму призводило до зростання рівня зеатинрибозиду лише в 4,7 раза, а *транс*-зеатину – в 1,8 раза. Як цитрат, так і сульфат Купруму пригнічували синтез *цис*-зеатину.

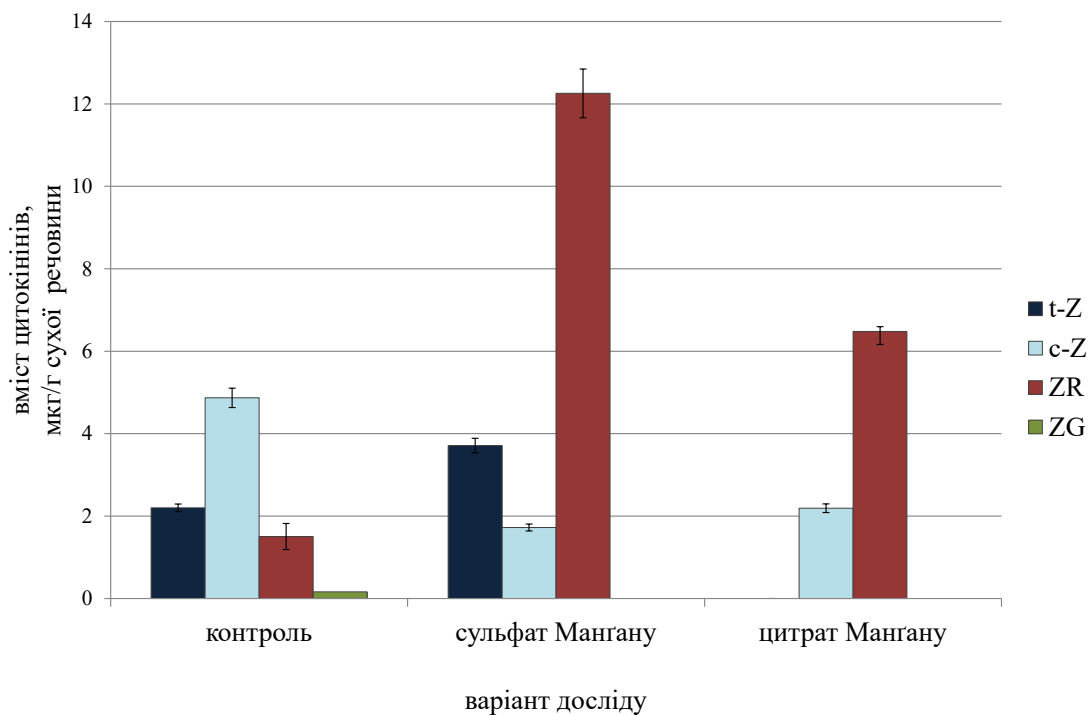


Рис. 2. Вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі штаму *Trametes versicolor* 353 за умов додавання солей Мангану в ГПД-середовище

Fig. 2. Cytokinins content in mycelial biomass of *Trametes versicolor* 353 after addition of Manganese salts in GPD-medium

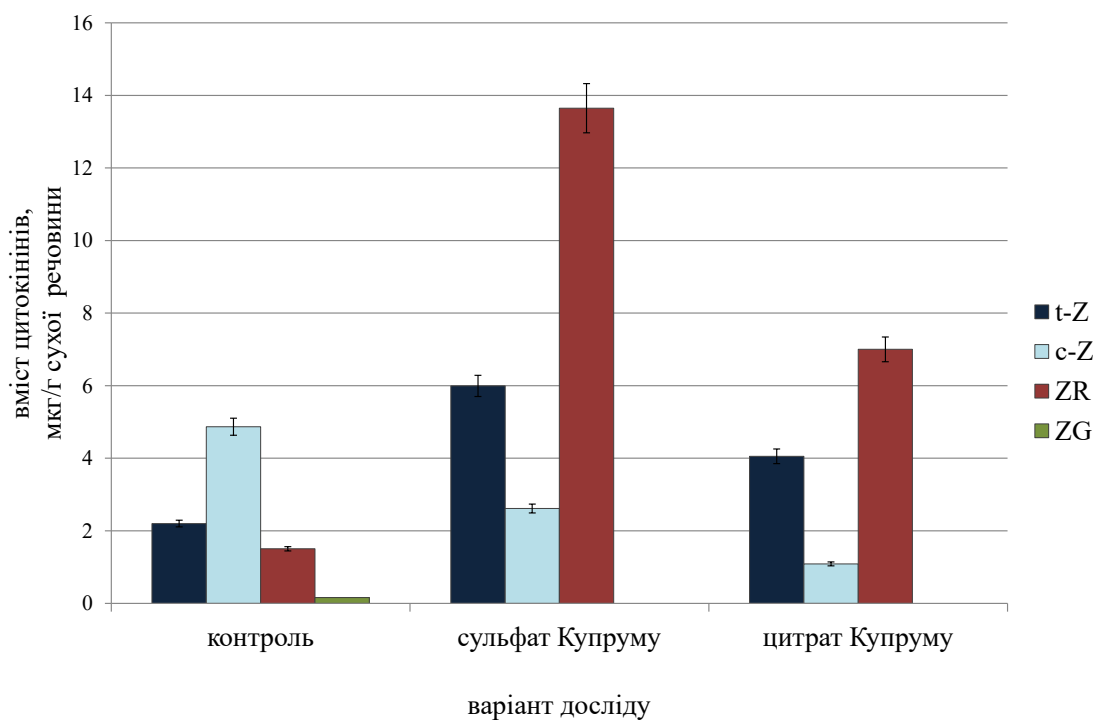


Рис. 3. Вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі *Trametes versicolor* 353 за умов додавання солей Купруму в ГПД-середовище

Fig. 3. Cytokinins content in mycelial biomass of *Trametes versicolor* 353 after addition of Copper salts in GPD-medium

Кількість *цис*-зеатину в міцелію *T. versicolor* 353, культивованому на середовищі зі сульфатом Купруму, зменшувалася в 1,8 раза, а на середовищі з цитратом – у 4,5 раза. Загальний вміст цитокінінів у міцелію *T. versicolor* 353 зростав за дії цитрату Купруму на 41%, а за дії сульфату – на 158% (рис. 3).

Наведені результати свідчать, що наявність іонів Цинку, Мангану й Купруму в живильному середовищі для культивування впливає на швидкість росту міцеліальної біомаси *T. versicolor* 353. Позитивний вплив цих мікроелементів на швидкість росту міцелію та утворення склероціїв спостерігалось також при вирощуванні зморшків (*Morchella* spp.) у культурі (Liu et al., 2017). У наших дослідженнях показано, що ефективність дії іонів металів залежить від того, у якій формі вони вносилися у середовище. Зокрема, цитрати в усіх варіантах дослідів прискорювали ріст міцелію сильніше, ніж сульфати. Раніше було виявлено системний характер змін в жирнокислотному, амінокислотному та моносахаридному складі біомаси *T. versicolor* 353 під впливом цитратів Цинку, Мангану та Купруму порівняно з відповідними сульфатами (Al-Maali, 2016). Ймовірно, органічні сполуки, як більш природні, краще засвоюються грибними клітинами, що необхідно враховувати при оптимізації умов культивування.

У наших експериментах уперше встановлено вплив мікроелементів на баланс ендогенних цитокінінів у міцеліальній біомасі *T. versicolor* 353. Всі досліджені іони металів суттєво пригнічували синтез *цис*-зеатину і стимулювали утворення *транс*-зеатину або зеатинрибозиду. Крім того, у дослідних зразках не було виявлено зеатин-*O*-глюкозиду, який в незначній кількості був присутній у контролі. Як відомо, в біотестах *транс*-зеатин і зеатинрибозид є найбільш активними гормонами цитокінінового ряду, вони зазвичай домінують у рослинних тканинах і превалюють на стадіях активного росту (Vedenicheva, Kosakivska, 2017). *Транс*-зеатин виявляє найбільшу спорідненість до рецепторів цитокінінів (Romanov, 2009). Завдяки цим особливостям зеатинові гормони розглядаються як діючі форми цитокінінів, що безпосередньо беруть участь у регуляції розвитку рослин. У грибів *транс*-зеатин і зеатинрибозид було виявлено як у плодових тілах (Morrison et al., 2015), так і в міцелію макроміцетів (Vedenicheva et al., 2018b). Динаміка цих цитокінінів у міцеліальній біомасі *H. coralloides* і *F. officinalis* опосередковано вказує на вірогідність

їхньої участі в регуляції росту грибів (Vedenicheva et al., 2018a). Таку можливість підтверджують і наші досліди щодо зростання вмісту цих форм цитокінінів, яке відбувалося на фоні стимуляції ростових процесів сполуками Цинку, Мангану та Купруму. Вплив дії металів на ріст гриба *Amanita muscaria* і цитокінінів було показано раніше: гальмування розвитку міцелію після обробки Алюмінієм корелювало зі зниженням загальної кількості цитокінінів (Kovač, Žel, 1995).

Одночасно зі зростанням вмісту активних цитокінінів нами виявлено зменшення рівнів неактивних форм – *цис*-зеатинута зеатин-*O*-глюкозиду. Біологічна активність даних цитокінінів у біотестах значно менша, ніж *транс*-зеатину та зеатинрибозиду, а кількісно вони переважають у тканинах рослин з обмеженим ростом – насінні та старіючих листках (Mok, Mok, 2001; Gajdosová et al., 2011). Разом із цим, вони здатні легко трансформуватися в активні форми цитокінінів за допомогою ферментів *цис/транс*-ізомераза (Yonekura-Sakakibara et al., 2004) та β -глюкозидаза (Mok, Mok, 2001) відповідно. Існує думка, що в мохів і грибів *цис*-форми цитокінінів слугують для підтримки гормонального гомеостазу (Záveská Drábková et al., 2015). Цілком вірогідно, що у дослідженого нами гриба *T. versicolor* 353 зростання вмісту *транс*-зеатину і зеатинрибозиду, яке спостерігається за дії мікроелементів, відбувається не шляхом прямого біосинтезу, а за рахунок перетворень *цис*-зеатину та зеатин-*O*-глюкозиду, а отже метаболізм цитокінінів має певні риси схожості з рослинами. Крім того, *цис*-зеатин може утворюватися в процесі розпаду *m*РНК (Gajdosová et al., 2011), а тому не виключено, що досліджувані метали впливають і на цей процес.

Зазначимо, що хоча за дії досліджених сполук металів прискорення росту міцеліальної біомаси супроводжувалося зростанням вмісту активних форм цитокінінів, кількісних залежностей між цими двома показниками не було виявлено. Так, найбільшу стимуляцію приросту міцелію спричиняв цитрат Купруму, тоді як зростання рівнів *транс*-зеатину й зеатинрибозиду було максимальним за дії цитрату Цинку. Цитрати загалом ефективніше впливали на ріст *T. versicolor* 353, ніж сульфати, проте ми не спостерігали їхнього впливу на концентрацію цитокінінів. Наприклад, сульфат Купруму сильніше активував утворення активних форм цитокінінів, ніж цитрат, хоча його дія на

ріст міцелію була незначною. Це свідчить про опосередкованість дії іонів металів на біосинтез і метаболізм цитокінінів. Слід враховувати також вплив аніонної складової досліджуваних солей. У рослин, зокрема в арабідопсису (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh.), продемонстровано, що цитокініни беруть участь у регуляції асиміляції Сульфуру через активацію ключового ферменту метаболізму сірчаних сполук (Ohkama et al., 2002). Отже, можна припустити, що в грибних тканинах сульфатний залишок може діяти на метаболізм цитокінінів за принципом зворотного зв'язку. Не виключено, що поєднання сульфатного чи цитратного залишку з кожним із іонів металів має свою специфічну дію та регулюється у специфічний спосіб.

Таким чином, отримані нами результати показали, що сполуки есенціальних металів суттєво впливають на метаболізм і синтез цитокінінів у міцеліальній біомасі макроміцета *T. versicolor* 353, проте зробити висновок щодо участі цих гормонів у регуляції засвоєння мікроелементів та ростових процесах гриба поки що неможливо.

Висновки

Нами уперше досліджено вплив іонів Цинку, Мангану та Купруму на вміст ендогенних цитокінінів у міцеліальній біомасі лікарського гриба *T. versicolor* при вирощуванні *in vitro*. Виявлено зростання рівнів активних форм гормонів (транс-зеатину і зеатинрибозиду) та зменшення концентрацій неактивних форм (цис-зеатину і зеатин-*O*-глюкозиду) за дії мікроелементів на фоні прискорення темпів росту міцелію. На кількісний вміст цитокінінів найбільш вагомо впливали солі Цинку. Сульфати металів ефективніше діяли на утворення зеатинрибозиду, ніж цитрати. Кореляцій між впливом мікроелементів на швидкість росту міцеліальної біомаси *T. versicolor* 353 і кількісним вмістом цитокінінів не встановлено.

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Al-Maali G.A. 2015. *Ukrainian Botanical Journal*, 72(4): 393–397. [Аль-Маалі Г.А. 2015. Вплив цитратів металів, отриманих методом аквананотехнології, на ріст штамів лікарських макроміцетів *Ganoderma lucidum* 1900 і *Trametes versicolor* 353. *Український ботанічний журнал*, 72(4): 393–397]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj72.04.393>
- Al-Maali G.A. 2016. The effect of citrate and sulfate of different metals on the biomass composition of medicinal mushroom *Trametes versicolor* (L.) Lloyd. *Chornomorski botanical journal*, 12(1): 64–71.

- Banci L., Bertini I. 2013. Metallomics and the cell. In: *Metal Ions in Life Sciences 12*. Ed. L. Banci. Dordrecht, The Netherlands: Springer, pp. 1–13. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5561-1_1
- Bidegain M.A., Cubitto M.A., Curvetto N.R. 2015. Optimization of the yield of lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes), cultivated on a sunflower seed hull substrate produced in Argentina: effect of olive oil and copper. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(11): 1095–1105. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i11.100>
- Bisko N.A., Lomberg M.L., Mytropol'ska N.Yu., Mykchaylova O.B. 2016. *IBK Mushroom culture collection*. Kyiv: Alterpress, 120 pp.
- Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*, 173(4): 677–702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>
- Chanclud E, Morel J.-B. 2016. Plant hormones: a fungal point of view. *Molecular Plant Pathology*, 17(8): 1289–1297. <https://doi.org/10.1111/mpp.12393>
- Chatterjee S., Chatterjee B.P., Guha A.K. 2008. Enhancement of growth and chitosan production by *Rhizopus oryzae* in whey medium by plant growth hormones. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(2): 120–126. <https://doi.org/10.106/j.ijbiomac.2007.10.006>
- Gajdosová S., Spičhal L., Kamínek M., Hoverová K., Novák O., Dobrev P.I., Galuszka P., Klima P., Gaudinová A., Zizková E., Hanus J., Dancák M., Trávníček B., Pesek B., Krupická M., Vanková R., Strnad M., Motyka V. 2011. Distribution, biological activities, metabolism and the conceivable function of cis-zeatin-type cytokinins in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62: 2827–2840. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq457/>
- Grant M.R., Jones J.D. 2009. Hormone (dis)harmony moulds plant health and disease. *Science*, 324: 750–752. <https://doi.org/10.1126/science.1173771>
- Guha A.K., Banerjee A.B. 1974. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on submerged growth of *Agaricus campestris*. *Acta microbiologica Polonica*, 6(3): 133–134.
- Kaim W., Schwederski B., Klein A. 2013. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. An Introduction and Guide*. John Wiley & Sons, 456 pp.
- Kiba T., Kudo T., Kojima M., Sakakibara H. 2011. Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin. *Journal of Experimental Botany*, 62(4): 1399–1409. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq410>
- Kieber J.J., Schaller G.E. 2014. Cytokinins. *The Arabidopsis Book*, 11: e0168. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>
- Kosinov M.V., Kaplunenko V.G. 2009. *Sposib otryman-nya karboksylativ kharchovykh kyslot z vykorystanniam nanotekhnologij*. Patent UA, no 39392, publ. 25.02.2009, 200 pp. [Спосіб отримання карбоксилатів харчових кислот з використанням нанотехнології: патент України № 39392, МПК: C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, B82B 3/00 / Косінов М.В., Каплуненко В.Г. Опубл. 25.02.2009, Бюл. № 4, 2009, 200 с.]
- Kovač M., Žel J. 1995. The effect of aluminum on cytokinins in the mycelia of *Amanita muscaria*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 14: 117–120.

- Krakowska A., Reczyński W., Muszyńska B. 2016. Optimization of the liquid culture medium composition to obtain the mycelium of *Agaricus bisporus* rich in essential minerals. *Biological Trace Element Research*, 173(1): 231–240. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0638-y>
- Law N., Caudle M., Pecoraro V. 1998. Manganese redox enzymes and model systems: properties, structures and reactivity. *Advances in Inorganic Chemistry*, 46(7): 305–440. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(08\)60152-X](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(08)60152-X)
- Liu Q., Liu H., Chen C., Wang J., Han Y., Long Z. 2017. Effects of element complexes containing Fe, Zn and Mn on artificial morel's biological characteristics and soil bacterial community structures. *PLoS ONE*, 12(3): e0174618. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0174618>
- Malinowska E., Krzyczkowski W., Łapienis G., Herold F. 2009. Improved simultaneous production of mycelial biomass and polysaccharides by submerged culture of *Hericium erinaceum*: optimization using a central composite rotatable design (CCRD). *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(12): 1513–1527. <http://doi.org/10.1007/s10295-009-0640-x>
- Mason M.G., Jha D., Salt D.E., Tester M., Hill K., Kiebes J.J., Schaller G.E. 2010. Type-B response regulators ARR1 and ARR12 regulate expression of AtHKT1;1 and accumulation of sodium in Arabidopsis shoots. *Plant Journal*, 64: 753–763. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04366.x>
- Mok D.W.S., Mok M.C. 2001. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 89–118. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.89>
- Morrison E.N., Knowles S., Hayward A., Thorn R.G., Saville B.J., Emery R.J. 2015. Detection of phytohormones in temperate forest fungi predicts consistent abscisic acid production and a common pathway for cytokinin biosynthesis. *Mycologia*, 107(2): 245–257. <http://doi.org/10.3852/14-157>
- Mukhopadhyay R., Chatterjee S., Chatterjee B.P., Guha A.K. 2005. Enhancement of biomass production of edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* grown in whey by plant growth hormones. *Process Biochemistry*, 40(3–4): 1241–1244. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.05.006>
- Nam Y.J., Tran L.S., Kojima M., Sakakibara H., Nishiyama R. 2012. Regulatory roles of cytokinins and cytokinin signaling in response to potassium deficiency in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 7(10): e47797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047797>
- Ohkama N., Takei K., Sakakibara H., Hayashi H., Yoneyama T., Fujiwara T. 2002. Regulation of sulfur-responsive gene expression by exogenously applied cytokinins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology*, 43: 1493–1501. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcf183>
- Ramachela K., Sihlangu S.M., Moral M.T. 2016. Effect of various hormonal treated plant substrates on development and yield of *Pleurotus ostreatus*. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1): 1276510. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1276510>
- Ramireddy E., Hosseini S.A., Eggert K., Gillandt S., Gnad H., Von Wirén N., Schmulling T. 2018. Root engineering in barley: increasing cytokinin degradation produces a larger root system, mineral enrichment in the shoot and improved drought tolerance. *Plant Physiology*, 177(3): 1078–1095. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00199>
- Romanov G.A. 2009. How do cytokinins affect the cell? *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(2): 268–290. <https://doi.org/10.1134/S1021443709020174>
- Safaei Z., Karimi K., Golkar P., Zamani A. 2015. Effects of plant hormones on *Mucor indicus* growth and chitosan and ethanol production. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7): 16683–16694. <https://doi.org/10.3390/ijms160716683>
- Séguéla M., Briat J.F., Vert G., Curie C. 2008. Cytokinin negatively regulate the root iron uptake machinery in *Arabidopsis* through a growth-dependent pathway. *Plant Journal*, 55: 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03502.x>
- Staats C.C., Kmetzsch L., Schrank A., Vainstein M.H. 2015. Fungal zinc metabolism and its connections to virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3: 65. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00065>
- Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Mytropolska N.Yu., Mykhaylova O.B., Bisko N.A., Kosakivska I.V. 2016. Endogenous cytokinins in medicinal basidiomycetes mycelial biomass. *Biotechnologia Acta*, 9(1): 55–63. <https://doi.org/10.15407/biotech9.01.055>
- Vedenicheva N.P., Kosakivska I.V. 2017. *Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions*. Kyiv: Nash Format, 200 pp. [Веденичова Н.П., Косаківська І.В. *Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання*. Київ: Наш формат, 2017, 200 с.]
- Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Mykchaylova O.B., Lomberg M.M., Bisko N.A., Shcherbatiuk M.M., Kosakivska I.V. 2018a. Endogenous cytokinins dynamics in mycelial biomass basidiomycetes at different stages of cultivation. *International Journal of Biochemistry & Physiology*, 3(2): 000122. <https://medwinpublishers.com/IJBP/IJBP16000122.pdf>
- Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Bisko N.A., Shcherbatiuk M.M., Lomberg M.M., Mytropolska N.Yu., Mykchaylova O.B., Kosakivska I.V. 2018b. Comparative analysis of cytokinins in mycelial biomass of medicinal mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(9): 837–847. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018027797>
- Yonekura-Sakakibara K., Kojima M., Yamaya T., Sakakibara H. 2004. Molecular characterization of cytokinin-responsive histidine kinases in maize. Differential ligand preferences and response to *cis*-zeatin. *Plant Physiology*, 134: 1654–1651. <https://doi.org/10.1104/pp.103.037176>
- Záveská Drábková L., Dobrev P.I., Motyka V. 2015. Phytohormone profiling across the Bryophytes. *PLoS ONE*, 10(5): e0125411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125411>

Рекомендує до друку
М. СУХОМЛИН

Надійшла 23.01.2019