

НАЈВАЖНИЈЕ БИОЕКОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ЛЕКОВИТА СВОЈСТВА *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev.

АЛЕКСАНДАР ВЕМИЋ¹

Извод: У раду су приказани утицај температуре, хранљиве подлоге и светлости на развој изолата *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev., као и могућност коришћења ове врсте за лековите сврхе. Различите температуре и хранљиве подлоге су утицале на статистички значајну разлику у расту култура, док је светлост имала утицај на развој плодноносних тела у култури. Најбржи раст мицелије на 24°C, забележен је на МЕА, спорији на PDA и V8A; и најспорији забележени раст је био на СМА хранљивој подлози. После 3 недеље у фоторежиму светлост-тама 16h-27°C / 8h-17°C, долази до развоја строма у културама. У раду су обрађена најважнија лековита својства *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. и употреба добијених резултата истраживања за шире гајење ове врсте.

Кључне речи: *Xylaria polymorpha*, температура, хранљива подлога, светлосни режим, лековита вредност

THE MOST IMPORTANT BIOECOLOGICAL CHARACTERISTICS AND MEDICINAL PROPERTIES OF *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev.

Abstract: This paper presents the effects of temperature, nutrient media, and light on the growth of *Xylaria polymorpha* isolates as well as its potential usage for medicinal purposes. Different temperatures and nutrient media caused statistically significant differences in the growth of cultures whereby light influenced the development of fruiting bodies in the culture. The fastest mycelium growth at 24°C was recorded on MEA. It was slower on PDA and V8A and the slowest on CMA nutrient media. After three weeks in photoperiodic lighting 16h-27°C / 8h-17°C, stroma started to develop in cultures. The paper deals with the most important medicinal properties and the application of the obtained results for the wider growth of this species.

Keywords: *Xylaria polymorpha*, temperature, nutrient media, light regime, medicinal value

1. УВОД

На овом делу ареала дрвенастих врста постоји велики број лигниколних гљива од којих одређене врсте имају лековита својства (Караџић, Д., 2010; Караџић, Д. *et al.*, 2022). Посебно су значајна лековита својства неких од најчешћих лигниколних гљива, које представљају опасне патогене у домаћим шумама (Караџић, Д. *et al.*, 2022). Ипак, потребно је изучавати лековита својства и неких мање заступљених врсте гљива, које су много слабији паразити или сапрофити.

¹ др Александар Вемич, научни сарадник, Универзитет у Београду Шумарски факултет Београд

Новија истраживања су показала да неке од ових врста, као што су *Auricularia auricula judae* и *Tremella mesenterica*, садрже већи број биоактивних супстанци, које се користе у лечењу тумора, болести нервног система и кардиоваскуларних болести, а такође имају и антимикробно/антиоксидативно дејство (Радуловић, З. *et al.*, 2022a). Такође, осим горе наведених биоактивности, врста *Flammulina velutipes* показује изразито антифунгално дејство и могућност лечења тровања тешким металима (Радуловић, З. *et al.*, 2021). Наведени резултати указују да је истраживања лековитих утицаја различитих врста лигниколних гљива потребно наставити, при чему се осим најважнијих врста потребно фокусирати и на мање штетне гљиве.

Врста која до сада није изучавана у домаћој литератури је *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev., а која је посебно карактеристична због изгледа плодноносних тела и улоге коју има у шумским екосистемима. Врста поседује јединствени гљивични мултифункционални ензим, који може да разграђује органску биомасу (Nghi, D.H. *et al.*, 2012). На тај начин ова гљива може имати широку примену у регулацији отпадних органских материја у животној средини.

Због могућности ширег коришћења лековитих својстава *Xylaria polymorpha*, потребно је испитивање могућности гајења ове гљиве која се због специфичности свога животног циклуса у природи нешто ређе појављује, односно формира плодносна тела. Због тога је циљ рада био да се испита утицај основних еколошких и нутритивних чинилаца на развој мицелије и укаже на њен лековити значај. Добијени резултати ће омогућити боље познавање биокологије *Xylaria polymorpha* на овом делу ареала и дати препоруке за шире гајење и коришћење лековитих својстава ове врсте.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

2.1. Изолација и идентификација гљиве

Плодносна тела гљиве *Xylaria polymorpha* за потребе лабораторијских анализа су сакупљена у Националном парку „Биоградска гора“ (слика 1). Идентификација је извршена на основу морфолошких карактеристика плодноносних тела коришћењем описа Караџић, Д. (2010); Nagara, L. (2014) и Karadžić, D. *et al.* (2016). Изолација гљиве извршена је на основу стандардне процедуре у микологији, приказаној код Muntanola Cvetković, M. 1990..

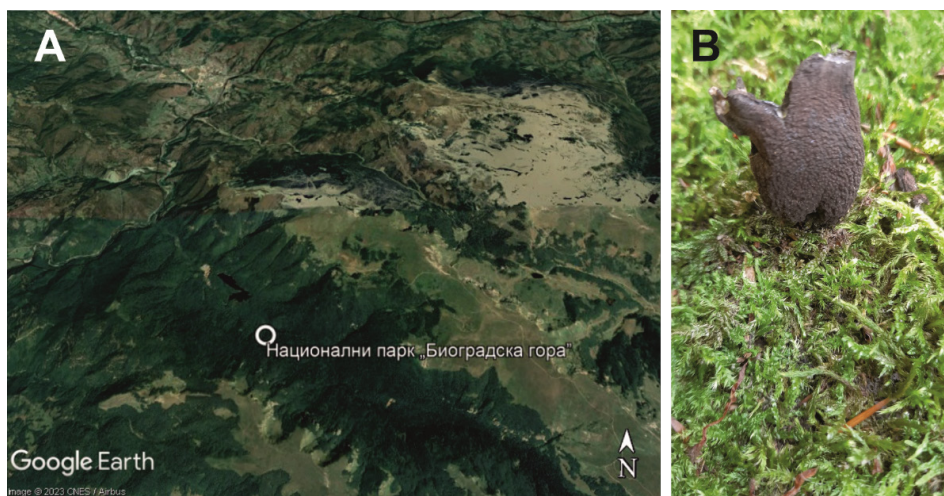
2.2. Испитивање утицаја температуре, хранљиве подлоге и светлости

За испитивање утицаја температуре на раст мицелије, коришћена је 3% МЕА (малц-екстракт, Biolab, Мађарска; агар Торлак, Србија). Испитивање утицаја температуре на раст културе извршено је постављањем изолата на 10°C, 17°C, 24°C и 30°C. Мерење пречника мицелије извршено је после 7 дана, када су неке од култура испуниле петри-шоље. Просечна вредност за сваку температуру израчуната је тако што је свака култура измерена у че-

тири унакрсна правца, при чему су од укупне измерене вредности одузете димензије инокулима.

Испитивање утицаја хранљиве подлоге извршено је коришћењем PDA (Biolab, Мађарска), МЕА (30 g малц-екстракт Biolab, Мађарска; 20g агар Торлак, Србија), V8А (44.3 g/l, Himedia, USA) и СМА (17 g/l, Himedia, USA), припремљених према упутству произвођача. Културе су постављене на 24°C. Оглед је завршен после 12 дана када је примећена видљива разлика у порасту мицелије код појединих култура. Мерење пречника и одређивање просечног раста култура на различитим хранљивим подлогама извршено је на исти начин као приликом испитивања утицаја температуре.

Испитивање стимулесања појаве строма у културама извршено је комбинацијом различитих светлосних и температурних режима у односу 16h-27°C светлост/8h-17°C тама. Контролна група је постављена у стандардном режиму таме на 24°C. Обе групе култура су 3 недеље гајене на МЕА (30 g малц-екстракт Biolab, Мађарска; 20g агар Торлак, Србија) хранљивој подлози.



Слика 1. Локација са које је извршено сакупљање и приказ плодноних тела гљиве: А – Национални парк „Биоградска гора“, В – *Xylaria polymorpha*

Figure 1 Sampling sites and fungal fruiting bodies: А – “Biogradska Gora” National Park, В – *Xylaria polymorpha*

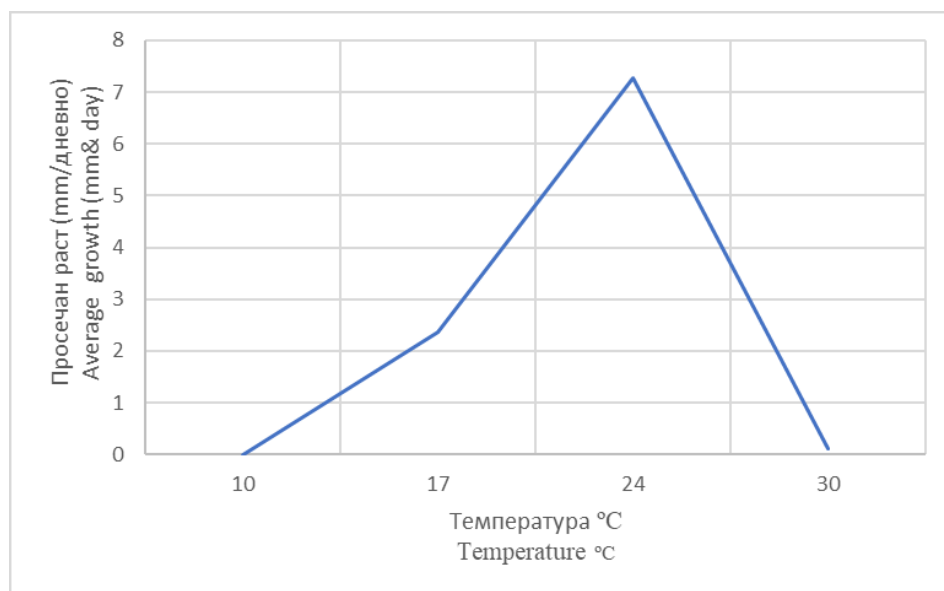
2.3. Статистичке методе

Крускал-Валисов тест коришћен је за тестирање разлике у просечној брзини раста мицелије на различитим температурама и хранљивим подлогама. Ман Витнијев тест коришћен је за тестирање разлика у брзини раста између различитих парова хранљивих подлога. Сви тестови су извршени коришћењем софтверског пакета SPSS 26.

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА И ДИСКУСИЈА

3.1. Утицај температуре и хранљиве подлоге на раст култура *Xylaria polymorpha*

Крускал-Валисов тест показао је статистички значајну разлику у расту мицелије на различитим температурама ($N = 10.683$, $p = 0.14$; графикон 1). Највећи раст забележен је на температури 24°C (графикон 1). На 10°C и 30°C раст значајно је успорен или заустављен (графикон 1).



Графикон 1. Утицај температуре на раст мицелије *Xylaria polymorpha*
Graph 1 Effect of temperature on the growth of *Xylaria polymorpha* mycelium

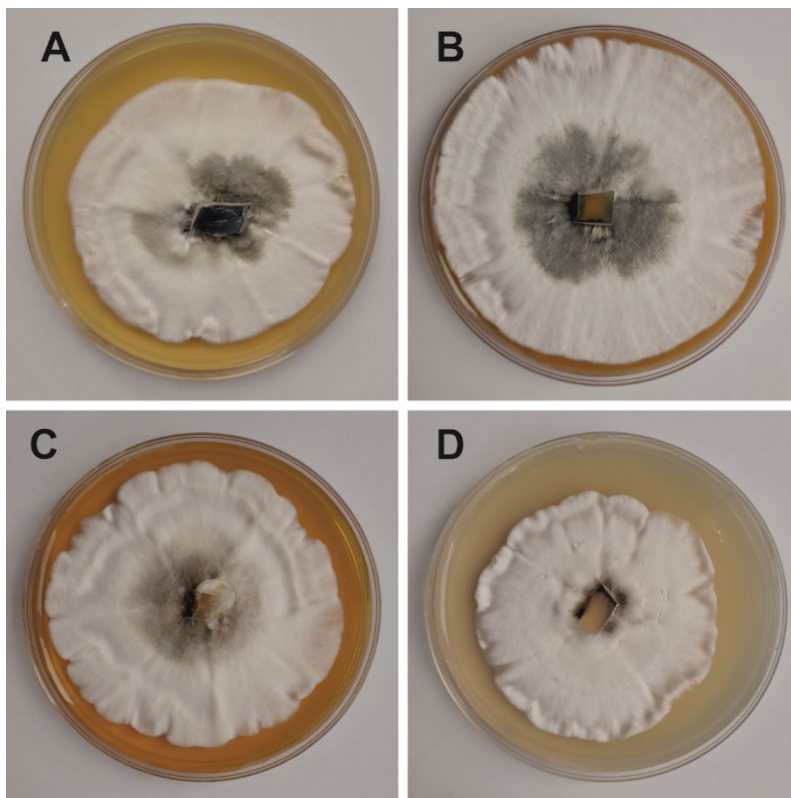
Крускал-Валисов тест показао је статистички значајну разлику у просечној брзини раста мицелије на различитих хранљивим подлогама ($N = 24.176$, $p = 0.000023$; табела 1). Статистички значајне разлике забележене су између различитих парова хранљивих подлога на основу Ман Витнијевог теста (табела 1, слика 2).

Табела 1. Просечан раст мицелије *Xylaria polymorpha* на различитим хранљивим подлогама после 12 дана на 24°C

Table 1 Mean growth of *Xylaria polymorpha* mycelium on different nutrient media after 12 days at 24°C

Храњива подлога / Nutrient media	Број понављања / Repetitions	Аритметичка средина / Arithmetic mean	Стандардна девијација / Standard deviation
PDA	10	5.5250a	1.00245
MEA	8	6.5974b	0.25529
V8A	12	5.3368a	1.27193
CMA	11	4.9053d	0.28768

Статистички значајне разлике у редовима обележене су различитим словима ($p < 0.05$).



Слика 2. Раст *Xylaria polymorpha* на различитим храњивим подлогама:

A – PDA, B – MEA, C – V8A, D – CMA

Figure 2 Growth of *Xylaria polymorpha* on different nutrient media:

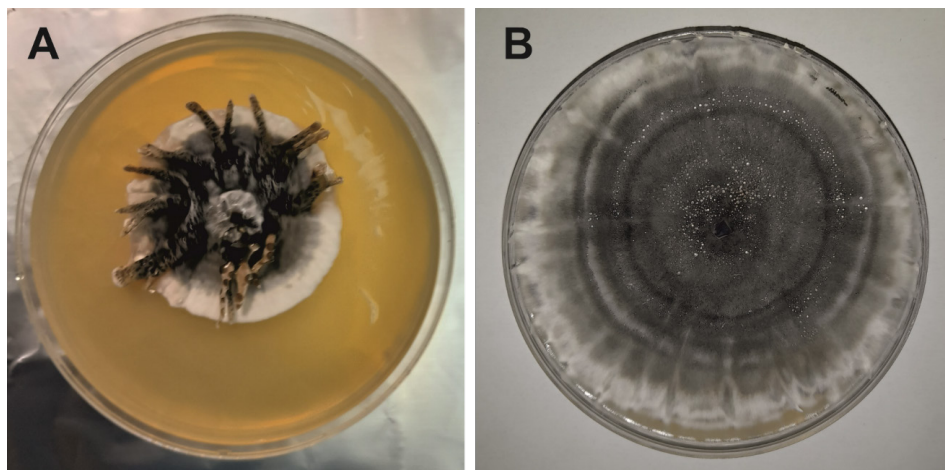
A – PDA, B – MEA, C – V8A, D – CMA

Из наведеног се види да је набржи раст забележен на МЕА хранљивој подлози, нешто спорији на PDA и V8A хранљивој подлози, док је најспорији раст забележен на СМА хранљивој подлози (табела 1, слика 2).

3.2. Утицај температуре и светлости на формирање плодноних тела *Xylaria polymorpha*

Комбинација температуре и светлости у режиму 16h-27°C/8h-17°C довела је до појаве плодноних тела у културама (слика 3). Плодносна тела била су сличног облика и боје као сакупљана на терену, али повремено су на њима присутне и уљане капљице (слика 3).

Културе расле у класичном режиму таме на оптималној температури и хранљивој подлози (24°C, МЕА) биле су сиво-беле, са концентричним зонама и белим ивицама (слика 3). У овим условима није дошло до формирања плодноних тела ни после временског периода када је потрошена нутритивна вредност хранљиве подлоге и долазило до почетка морталитета мицелије.



Слика 3. Културе *Xylaria polymorpha*: А – Стимулисана појава строма *Xylaria polymorpha* у културама; В – изглед чисте, развијене културе

Figure 3 Cultures of *Xylaria polymorpha*: А – Stimulated appearance of *Xylaria polymorpha* stromata in cultures; В – pure, developed culture

3.3. Лековита својства *Xylaria polymorpha*

У табели 2. приказане су главне лековите карактеристике врсте *Xylaria polymorpha*. Из наведеног прегледа примећује се да *Xylaria polymorpha*, осим антимикуробног дејства, поседује и антиоксидативно дејство, што је чини погодном за превенцију широког спектра болести.

Табела 2. Преглед главних лековитих својстава *Xylaria polymorpha*
Table 2 Summary of main medicinal properties of *Xylaria polymorpha*

Лековито својство/начин примене / Medicinal properties/ Application	Биоактивна компонента / Bioactive component	Референца / Reference
Антифунгишно	Ксиралична киселина А и Б	Jang, Y.W. <i>et al.</i> , (2007)
Антибактеријско, антифунгишно	Ксиларинол А и Б,	Lee, I.K. <i>et al.</i> , (2009)
Антибактеријско	Поликетиди	Hu, Z.V. <i>et al.</i> , (2010) Brown, C.E. <i>et al.</i> , (2018)
Антибактеријско	Етанолски екстракти	Hacioglu, N. <i>et al.</i> , (2011)
Антибактеријско, антиоксидативно	Фумарична, ванилична, галска, р – кумарична и друге киселине	Karaman, M. <i>et al.</i> , (2014)
Инхибитор анти-ацетилхолинсеразе	Сесквитерпеноиди	Yang, N.N. <i>et al.</i> , (2017)
Антиоксидативно, антибактеријско, антифунгишно	Етанолски екстракти	Özbey, B.G. <i>et al.</i> , (2021)
Традиционална медицина	6% манитол, Ксилариничне киселине	Deshmukh S.K. <i>et al.</i> , (2021)
Антиоксидативно	Амини, карболичне киселине	Jagadish, B.R. <i>et al.</i> , (2021)

На основу добијених резултата види се да су умерене температуре биле најпогодније за развој ове гљиве, при чему повишене температуре могу имати значај у случају комбинације са појавом светлости и на тај начин стимулисати појаву плодноносних тела. Сви добијени подаци могу се употребити за повећање производног потенцијала ове гљиве. Потребно је изучавати и биоeколошка и лековита својства осталих врста из овога рода, од којих су на овом делу шумског ареала присутне *Xylaria carpophila* (Pers.) Fr., *Xylaria longipes* Nitschke и *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev. (Караџић, Д. 2010; Karaman, M. *et al.*, 2012).

Такође, пошто *Xylaria polymorpha* представља врсту која се појављује у сукцесији после примарних деструктора дрвета, потребна су истраживања интеракције са врстама из рода *Phellinus*, који, осим паразитских својстава на дрвећу, показују и изузетне лековите карактеристике (Караџић, Д. *et al.*, 2022; Радуловић, З. *et al.*, 2022b). На тај начин може се истовремено омогућити боља продукција лековитих врста гљива и смањити интензитет штета које настају на стаблима њиховом појавом.

4. ЗАКЉУЧАК

Спроведеним истраживањем, по први пут у домаћој литератури, у лабораторијским условима испитан је утицај еколошких фактора и могућности интензивније продукције гљиве *Xylaria polymorpha*. Добијени резултати су од великог значаја за разумевање појаве ове врсте у природи и веће могућности коришћења њених лековитих својстава. Наведени закључци могу се приказати на следећи начин:

- раст култура *Xylaria polymorpha*, у распону температура 10°C, 17°C, 24°C и 30°C, показао је најбржи раст на 24°C;
- најбржи забележени раст култура *Xylaria polymorpha* на 24 °C био је на МЕА хранљивој подлози, нешто спорији на PDA и V8A и најспорији на СМА хранљивој подлози;
- комбинација светлости и температуре у режиму светлост-тама 16h-27°C/8h-17°C у трајању од 3 недеље, довела је до формирања строма *Xylaria polymorpha* у културама. Строне су биле сличног облика, као строне формиране на природном супстрату, али у појединим случајевима по површини присутне су уљане капљице;
- стандардне културе *Xylaria polymorpha* расле на МЕА подлози на 24°C су сиво-беле са концентричним зонама и белим ивицама;
- врста *Xylaria polymorpha* има велику примену против гљива и бактерија, али и као антиоксидант, што је чини погодном за спречавање великог броја различитих болести;
- наведени резултати омогућити ће лакшу идентификацију ове врсте базирану на културним карактеристикама.

Напомена: Рај је реализован у оквиру уговора о финансирању научно-истраживачкој рада НИО које финансира Министарства просвете, науке и технолошкој развоја Републике Србије, број 451-03-47/2023-01/200169.

ЛИТЕРАТУРА

- Brown, C.E., Liscombe, D.K., McNulty, J. (2018): Three new polyketides from fruiting bodies of the endophytic ascomycete *Xylaria polymorpha*, Natural Product Research, br. 32(20), str. 2408–2417.
- Deshmukh, S.K., Sridhar, K.R., Gupta, M.K. (2021): Application of Selected Species of the Genus *Xylaria* in Traditional Medicine, In: Sridar, K.R., Deshmukh, S.K. (urednici) Advances in Macrofungi, CRC Press.
- Hacioglu, N., Akata, I., Dulger, B. (2011): Antimicrobial potential of *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev., African Journal of Microbiology Research, br. 5(6), str. 728-730.
- Hu, Z.Y., Li, Y.Y., Lu, C.H., Lin, T., Hu, P. (2010): Seven novel linear polyketides from *Xylaria* sp. NCY2. Helvetica Chimica Acta, br. 93(5), str. 925-933.
- Jagadish, B.R., Sridhar, K.R., Dattaraj, H.R., Chandramohana, N., Mahadevakumar, S. (2021): Bioactive Attributes of *Xylaria* Species from the Scrub Jungles of Southwest India.

- In: Abdel-Azeem, A.M., Yadav, A.N., Yadav, N., Sharma, M. (urednici) Industrially Important Fungi for Sustainable Development. Fungal Biology. Springer, Cham.
- Jang, Y.W., Lee, I.K., Kim, Y.S., Lee, S., Lee, H.J., Yu, S. H., Yun, B.S. (2007): Xylarinic Acids A and B, New Antifungal Polypropionates from the Fruiting Body of *Xylaria polymorpha*, The Journal of Antibiotics, br. 60(11), str. 696–699.
- Hagara, L. (2014): Ottova encyclopedie hub, Ottovo nakledatelstvi, Praha.
- Караџић, Д. (2010): Шумска фитопатологија, Универзитет у Београду, Шумарски факултет.
- Karadžić, D., Keča, N., Milenković, I., Milanović, S., Stanivuković, Z. (2016): Šumska mikologija, Univerzitet u Banjoj Luci, Šumarski fakultet.
- Караџић, Д., Радуловић, З., Миленковић, И. (2022): Честе лигничолне гљиве у шумама Србије и њихова лековита својства, Универзитет у Београду, Шумарски факултет.
- Karaman, M., Novaković, M.S., Savić, D., Matavulj, M.N. (2012): Preliminary checklist of *Mухотуsота* and *Ascomуsота* from Fruška Gora Mountain, Зборник Матице српске за природне науке, бр. 123, стр. 37-49.
- Karaman, M., Stahl, M., Vulić, J., Vesić, M., Čanadanović-Brunet, J. (2014): Wild-growing lignicolous mushroom species as sources of novel agents with antioxidative and antibacterial potentials, International Journal of Food Sciences and Nutrition, br. 65(3), str. 311-319.
- Lee, I.K., Jang, Y.W., Kim, Y.S., Yu, S.H., Lee, K.J., Park, S.M., Oh, B.T., Chae, J.C., Yun, B.S. (2009): Xylarinols A and B, two new 2-benzoxepin derivatives from the fruiting bodies of *Xylaria polymorpha*, The Journal of Antibiotic, br. 62(3), str. 163-165.
- Muntanola Cvetković, M. (1990): Opšta mikologija, Naučna knjiga, Beograd.
- Nghi, D.H., Bittner, B., Kellner, H., Jehmlich, N., Ullrich, R., Pecyna, M.J., Nousiainen, P., Sipilä, J., Huong, L.M., Hofrichter, M., Liers, C. (2012): The wood rot ascomycete *Xylaria polymorpha* produces a novel GH78 glycoside hydrolase that exhibits α -L-rhamnosidase and feruloyl esterase activities and releases hydroxycinnamic acids from lignocelluloses, Applied and Environmental Microbiology, br. 78(14), str. 4893-4901.
- Özbeу, B.G., Islek, C., Baba, H., Akata, I., Sevindik, M. (2021): Antioxidant antimicrobail oxidant and elements contents of *Xylaria polymorpha* and *X.hypoxylon* (*Xylariaceae*), Fresenius Environmental Bulletin, br. 30(5), str. 5400-5404.
- Радуловић, З., Караџић, Д., Јовановић, Д., Миленковић, И. (2022b): *Phellinus pini* (Thore. ex Fr.) Pilát. – Биоeколошке карактеристике, значај и могућност коришћења у медицинске сврхе (лековита својства), Шумарство бр. 3-4, стр. 149-160.
- Радуловић, З., Караџић, Д., Миленковић, И. (2022a): *Auricularia auricula judae* (Bull. ex St-Amans) Wettst. i *Tremella mesenterica* Retz. ex Hook. – opis gljiva i mogućnost korišćenja u medicinske svrhe (lekovita svojstva), Шумарство, бр. 1-2, стр. 35-50.
- Радуловић, З., Караџић, Д., Миленковић, И. (2021): *Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing. – опис гљиве, економски значај и могућност коришћења у медицинске сврхе (лековита својства), Шумарство, бр. 3-4, стр. 21-34.
- Yang, N.N., Kong, F.D., Ma, Q.Y., Huang, S.Z., Luo, D.Q., Zhou, L.M., Dai, H.F., Yu, Z.F., Zhao, Y.X. (2017): Drimane-type sesquiterpenoids from cultures of the fungus *Xylaria polymorpha*, Phytochemistry Letters, br. 20, str. 13-16.

THE MOST IMPORTANT BIOECOLOGICAL CHARACTERISTICS
AND MEDICINAL PROPERTIES OF *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev.

Aleksandar Vemić

Summary

This paper shows the effects of temperature, nutrient media and the combination of temperature and light regime on the growth of *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. cultures, with the aim of facilitating the production of this fungal species to be used for its medicinal properties. The results show that the fungus achieved the fastest mycelium growth at 24°C, in the range of tested temperatures that included 10°C, 17°C, 24°C and 30°C. The tested nutrient media PDA, MEA, V8A and CMA had a significant influence on the growth of cultures. The fastest growth was recorded on MEA, slightly slower on PDA and V8A and the slowest on CMA nutrient media. Stroma developed in the cultures exposed to a dark-light regime of 16h-27°C/8h-17°C for three weeks. *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. has many medicinal properties that can be divided into three groups: antifungal, antibacterial and antioxidant properties. The medicinal properties of *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. are derived from different ethanolic extracts, polyketides, alcohols, and acids contained by this fungus. The investigated bioecological characteristics will contribute to the production of chemical compounds obtained from *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. specimens in this forest region and improve the knowledge about the patterns of *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. distribution in forest ecosystems.