

**БИОПРОДУКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *GANODERMA* SPP.**

**Коваленко Снежана Александровна, к.с.-х.н., доцент,**

**ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»**

**Дегтярёва Елена Ивановна, к.б.н., доцент<sup>1</sup>,**

**Дегтярёва Анна Васильевна, студентка<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет**

Kovalenko Snezhana, PhD, Associate Professor, Head of Sector,

Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, [snejana.kovalenko@mail.ru](mailto:snejana.kovalenko@mail.ru)

Degtyareva Elena, PhD (Biological sciences), Associate Professor<sup>1</sup>,

[elena.delena.degtyaryova@tut.by](mailto:elena.delena.degtyaryova@tut.by)

Degtyareva Anna, student<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Gomel State Medical University

**Аннотация.** Приведены морфолого-культуральные особенности роста 8 штаммов *Ganoderma lingzhi* и 4 штаммов *G. lucidum* из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» (FIB) в чистой культуре и на растительных субстратах в лабораторных условиях. Отмечены штаммовые различия вегетативного роста, плодоношения *Ganoderma* spp.

**Ключевые слова:** ксилотрофные базидиомицеты, вегетативный рост, плодоношение.

Базидиальные грибы являются перспективными объектами биотехнологии, в частности, они используются для получения биологически активных веществ (БАВ) различного спектра действия. Основным источником полезных веществ являются плодовые тела (70%), мицелий (21%), споры и жидкая питательная среда. Из множества культивируемых грибов наибольшую известность получила ганодерма блестящая *Ganoderma lucidum*, которую в Китае называют «линчжи», в Японии «рейши» [1]. Вид *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. первоначально был описан как *Boletus lucidus* Curtis на основании образцов, найденных в Англии (Curtis, 1781). Позднее название *G. lucidum* было ошибочно применено к морфологически схожим коллекциям *Ganoderma* с лаккатными видами из многих стран мира, включая гриб линчжи *G. lingzhi* в Восточной Азии. Базидиокарпы этого вида имеют лаккатную (блестящую) поверхность, связанную с наличием толстостенных пилостидий, встроенных во внеклеточную матрицу меланина [2]. На протяжении более 100 лет ценный лекарственный гриб, известный в Китае как «линчжи», относили к европейскому виду *Ganoderma lucidum*. Молекулярные исследования, проведенные в последние годы, показали, что выращиваемый в промышленных масштабах вид *G. lingzhi* в Восточной Азии отличается от близкородственного вида *G. lucidum* [3].

**Материалы и методы исследования.**

Объектами лабораторных исследований стали штаммы редких видов ксилотрофных базидиомицетов – перспективных объектов биотехнологии из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»: *G. lingzhi* S.H. Wu, Y. Cao & Y.C. Dai (штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333, 357, 362) и *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. (штаммы 171, 334, 335, 358). До молекулярно-генетической идентификации, проведенной в 2015 году в лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса, считалось, что все штаммы относятся к *G. lucidum*. Основная часть чистых культур *Ganoderma* spp. поступила в ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» в 2004 г. из Коллекции шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (IBK).

**Целью исследований** являлось изучение вегетативного роста и плодоношения штаммов *G. lucidum* и *G. lingzhi* в чистой культуре и на растительных субстратах местного происхождения для отбора перспективных штаммов для культивирования. Исследование роста, морфологии и культуральных признаков проводили по общепринятым методикам [4]. Изучение морфолого-культуральных особенностей роста и развития культур *G. lucidum* и *G. lingzhi* проводили на стандартной сусло-агаровой питательной среде (САС) в чашках Петри диаметром 90 мм в трехкратной повторности (сахаристость 7° по Баллингу, рН 5,6). Инокуляцию чашек Петри осуществляли мицелиальными дисками 6 мм чистой культуры каждого штамма в центр. Культуры в чашках инкубировали при температуре 25°C. Описание макроморфологических показателей, характеризующих рост

каждого штамма, осуществляли по стандартным методикам, разработанным для исследования высших базидиальных грибов [5].

Изучение скорости роста мицелия культур на зерновом (овес) субстрате осуществляли в стеклянных емкостях объемом 0,5 л в трехкратной повторности. В эксперименте использовали два опилочных субстрата: на основе ольховых опилок (степень измельчения 1-3 мм) и дубовой стружки (степень измельчения 5-10 мм), обогащенных ржаными отрубями в весовом соотношении 4:1, с добавлением по 1% мела и гипса, повторность опыта шестикратная. Субстрат стерилизовали при давлении 0,12 МПа (температура 122 °С) в течение двух часов. Блоки массой по 1 кг инокулировали зерновым посевным мицелием в количестве 5% от массы субстрата; рН субстрата из ольховых опилок после автоклавирования составила 5,9, дубовой стружки – 4,7. Влажность ольховых блоков составила 65 %, дубовых – 66 %. Субстратные блоки созревали при температуре 22-24 °С. В период плодоношения в культивационном помещении поддерживали относительную влажность воздуха на уровне 70-80%, температуру 20-22 °С, уровень освещения 200 и более люкс.

Продуктивность (урожайность) грибов рассчитывали, как отношение сырой массы грибов к сырой массе субстрата. Биологическую эффективность определяли, как отношение сырой массы грибов к сухой массе субстрата. Коэффициент конверсии рассчитывали, как отношение сухой массы грибов к сухой массе субстрата. Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016.

**Результаты и их обсуждение.** При изучении морфолого-культуральных особенностей роста грибов рода *Ganoderma* spp. в чистой культуре на 7-е сутки было отмечено, что наиболее быстрый рост мицелия наблюдался у штаммов *G. lingzhi*. Средний диаметр колоний на 7 сутки варьировал от 48,8 мм до 90,0 мм. Скорость линейного роста мицелия колебалась от 3,1 мм/сутки (штамм 335) до 8,4 мм/сутки (штамм 244). Полное обрастание чашек Петри у большей части штаммов наблюдалось на 7-10 сутки. У большинства штаммов отмечен хороший рост на САС (PK > 50). Самый высокий PK (81) определен у штамма 244.

На САС в зависимости от штамма колония зональная, войлочная, более плотная возле инокулюма, белого цвета, с возрастом (на 10-14 сутки) появляются желтые вкрапления, внешняя линия колонии гладкая или бахромчатая, край колонии приподнимающийся. Плотность колоний равна 3 баллам, высота – 1,5-2 мм.

В процессе эксперимента велось наблюдение за освоением субстратов мицелием исследуемых культур. Полное обрастание зернового субстрата исследуемыми штаммами *G. lingzhi* в емкостях по 500 мл отмечалось на 10-12 сутки, *G. lucidum* – на 17-25 сутки.

В процессе эксперимента велось наблюдение за обрастанием опилочных субстратов мицелием исследуемых культур, было установлено, что штаммы *G. lingzhi* 244, 266, 303, 304, 331 колонизировали субстратные блоки массой по 1 кг с ольховыми опилками в среднем на 20-24 сутки, с дубовой стружкой – на 25-27 сутки. Штаммы *G. lucidum* 171, 334, 335 и *G. lingzhi* 357, 362 полностью осваивали килограммовые блоки на основе дубовой стружки в среднем на 24-27 сутки, на основе ольховых опилок – на 31-39 сутки.

Наиболее высокая скорость роста мицелия на растительных субстратах и продуктивность отмечена у штаммов *G. lingzhi* 244, 303, 304, 333 и *G. lucidum* 334, 335. У штаммов *G. lingzhi* 244, 266, 303, 304, 333, 357, 362 примордии образуются через 2 месяца после инокуляции субстрата. У штаммов *G. lingzhi* 331, 357, 362 и *G. lucidum* 334, 335 на блоках с дубовой стружкой примордии появлялись на 10-22 суток быстрее, чем на блоках с ольховыми опилками. Плодовые тела формировались в среднем от 16 суток (штамм 244) до 60 суток (штамм 331) на ольховых опилках. На блоках с дубовой стружкой у штаммов *G. lingzhi* 244, 266, 357 и *G. lucidum* 335 плодовые тела формировались на 10-15 суток дольше, в то же время у штаммов *G. lingzhi* 303 и 331 карпофоры формировались на 23 дня быстрее. Полный цикл плодоношения от инокуляции субстрата мицелием до сбора плодовых тел длился от 80 суток (штамм 244) до 135 суток (штамм 334). У штаммов *G. lingzhi* 357, 362 формировались плодовые тела пальцевидной формы. Остальные штаммы формировали плодовые тела веерообразной формы, за исключением штамма 333. В идентичных условиях у штамма *G. lingzhi* 333 на ольховых опилках плодовые тела формировались в виде разветвленных выростов, напоминающих оленьи рога, в среднем 8-13 мм в диаметре, 75-175 мм длиной; на блоках с дубовой стружкой ножка достигала 120 мм, диаметр шляпки – 30-75 мм. Поверхность шляпки и ножки покрыта коркой, которая, в последствии становится матовой, коричневатой.

рыжего цвета. Есть мнение, что в условиях слабого освещения и высокого уровня CO<sub>2</sub> плодовые тела вырастают в виде разветвленных выростов, однако и состав субстрата также оказывает влияние на форму плодового тела. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. У штамма *G. lucidum* 334 также отмечены крупные плодовые тела с ясной центральной, довольно длинной цилиндрической ножкой 70-100 мм длиной, 10-20 мм в диаметре, темно-пурпурного цвета; веерообразной шляпкой диаметром 40-115 мм. У карпофоров штаммов 171 и 244 ножка отсутствует. У штамма 304 отмечен белый гименофор на внутренней стороне ножки; поверхность шляпки и ножки покрыта сначала рыжеватой, затем каштаново-бурой, с возрастом почти черной, блестящей, лакированной коркой. Наиболее крупные базидиомы получены у штаммов 303, 304, 334, 335. На блоках с дубовой стружкой масса отдельных карпофоров у штаммов 334 и 335 достигала 45-75 г, на блоках с ольховыми опилками – 23-24 г. В то же время у штаммов 303 и 304 максимальная масса базидиом на блоках с ольховыми опилками достигала 49-64 г, на блоках с дубовой стружкой – 31-40 г.

Урожайность в зависимости от штаммовой принадлежности и состава субстрата варьировала от 0,7 (штамм 362) до 8,4% (штамм 244) на блоках массой по 1 кг

Наиболее высокие показатели эффективности биоконверсии питательных компонентов субстрата показали штаммы *G. lingzhi* 244, 303, 304, 333 и *G. lucidum* 334, 335. Биологическая эффективность этих штаммов на блоках с дубовой стружкой варьировала от 9,2 (штамм 333) до 24,6% (штамм 244), на блоках с ольховыми опилками – от 12,6 (штамм 333) до 17,5% (штамм 244). Самый высокий коэффициент конверсии отмечен у штамма *G. lingzhi* 244 на блоках с дубовой стружкой (5,8%).

**Заключение.** Исследования выявили значительный полиморфизм коллекционных штаммов *G. lucidum* и *G. lingzhi* по морфолого-культуральным показателям, а также по особенностям плодообразования. Штаммовые отличия внутри видов *G. lucidum* и *G. lingzhi* больше, чем межвидовые. При выращивании на агаризованной среде наиболее быстрый рост мицелия наблюдался у штаммов *G. lingzhi*. Средний диаметр колоний на 7 сутки варьировал от 48,8 до 90,0 мм. Самой высокой скоростью роста мицелия на агаризованном сусле отличился штамм *G. lingzhi* 244 – 8,4 мм/сутки, ростовой коэффициент – 81. Полное зарастание чашки Петри у большинства штаммов наблюдалось на 7-10 сутки, ростовые коэффициенты выше 50. На сусло-агаровой питательной среде в зависимости от штамма колонии зональные, войлочные или войлочно-шерстистые, более плотные возле инокулюма, белого цвета, с возрастом (на 10-14 сутки) появляются желтые вкрапления; внешняя линия колонии гладкая или бахромчатая; плотность колоний – 3 балла, высота – 1,5-2 мм.

Полное обрастание зернового (овес) субстрата штаммами *G. lingzhi* в емкостях по 500 мл отмечалось на 10-12 сутки, *G. lucidum* – на 17-25 сутки при температуре 25°C. На опилочных субстратах высокую скорость роста показали штаммы *G. lingzhi* 244, 266, 303, 304, 331 (субстратные блоки массой по 1 кг с ольховыми опилками колонизировали на 20-24 сутки, с дубовой стружкой – на 25-27 сутки).

У большинства штаммов примордии образуются через 2 месяца после инокуляции субстрата. Плодоношение штаммов *Ganoderma* spp. наблюдалось при температуре 20-22 °C. Плодовые тела формировались от 16 суток (штамм 244) до 60 суток (штамм 331) на ольховых опилках и от 18 суток (штамм 303) до 62 суток (штамм 334) на блоках с дубовой стружкой. Самый короткий цикл плодоношения от инокуляции субстрата мицелием до сбора плодовых тел отмечен у штамма *G. lingzhi* 244 (80 суток).

Наибольшая продуктивность за первую волну плодоношения выявлена у штаммов *G. lucidum* 334, 335 и *G. lingzhi* 244, 303, 304, 333: на блоках с ольховыми опилками урожайность этих штаммов варьировала от 4,4% (штамм 333) до 6,1 (штамм 244); на блоках с дубовой стружкой – от 3,1% (штамм 333) до 8,4% (штамм 244). Биологическая эффективность выращивания плодовых тел в варианте с ольховыми опилками, обогащенными ржаными отрубями достигала 17,5% (штамм 244), коэффициент конверсии – 4,3% (штамм 333). На субстрате с дубовой стружкой биологическая эффективность достигала 24,6% (штамм 244), коэффициент конверсии – 5,8% (штамм 244).

В результате проведенных экспериментальных работ по изучению культур *G. lingzhi* и *G. lucidum* из коллекции штаммов грибов Института леса НАН Беларуси, были отобраны перспективные для выращивания штаммы. Что позволит выращивать эти ценные лекарственные грибы в условиях регулируемого микроклимата, используя дешевые местные остатки лесохозяйственного производства.

### Список использованных источников

1. Zeng, P. *Ganoderma lucidum* polysaccharide used for treating physical frailty in China / P. Zeng, Y. Chen, L. Zhang, M. Xing // Progress in Molecular Biology and Translational Science. – 2019. – Vol. 163. – P. 179-219.
2. Moncalvo, J.M. Systematics of *Ganoderma*. In Ganoderma diseases of perennial crops / J.M. Moncalvo, J. Flood, P.D. Bridge, M. Holderness // CABI Bioscience; Egham. – 2000. – P. 23-45.
3. Cao, Y. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “*Lingzhi*” / Y. Cao, S.H. Wu, Y.C. Dai // Fungal Diversity. – 2012. – Vol. 56. – P. 49-62.
4. Бухало, А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А.С. Бухало. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.
5. Культивирование съедобных и лекарственных грибов / А.С. Бухало [и др.]; под общ. ред. А.С. Бухало. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 2004. – 128 с.