

УДК 582.284

Т.А. Круподьорова

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ ІНКУБАЦІЇ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ВЕГЕТАТИВНОГО МІЦЕЛІЮ ШТАМІВ *GANODERMA APPLANATUM* (PERS.) PAT. І *G. LUCIDUM* (CURTIS) P. KARST

The paper studies the influence of temperature incubation on vitality of vegetative mycelia of 40 mushroom stains of the *Ganoderma* genus. We determine that the species under study show strains specificity on vitality of vegetative mycelia at their incubation at 33–45 °C. We also establish the critical growth temperature for vegetative mycelia of *G. applanatum* and *G. lucidum* stains.

Вступ

Унікальність біологічних і біосинтетичних властивостей вищих базидіальних грибів зумовлює їх широке використання в сучасній біотехнології, фармакології, біомедицині. Ксилотрофні гриби роду *Ganoderma* Karst., зокрема *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. і *G. applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat., широко використовуються у східній медицині вже понад 4 тис. років. Сучасні дослідження грибів *G. lucidum* і *G. applanatum* дали змогу виділити з них понад 400 біологічно активних сполук різної хімічної природи й фармакологічних властивостей [1], а використання відповідних тест-систем, результати дослідів на тваринах і клінічні спостереження засвідчили, що препарати, отримані з цих видів грибів, мають онкостатичні, імуномодельовальні, антиоксидантні, антибактеріальні, гепатопротекторні, адаптогенні та інші цінні лікувально-профілактичні властивості [1, 2].

Кожний вид потребує певних температурних параметрів, що є характерними для його природного місцезростання. Температурні межі, максимум і оптимум росту є вагомими фізіологічними характеристиками різних штамів, які мають значення для реалізації процесу культивування. Встановлено, що для більшості видів грибів температури нижче 4 і вище 37 °C є критичними [3–5]. Максимальна температура для росту деяких грибів коливається в межах від 35 до 40 °C [6, 7]. На сьогодні питання життєздатності вегетативного міцелію різних представників роду *Ganoderma* за високих температур інкубації є мало дослідженим. З літератури відомо, що штами *G. tsugae* не ростуть за температури вище 30 °C, штами *G. meredithiae* Adask. & Gilb. – вище 35 °C, а *G. lucidum* – вище 38 °C інкубації [8]. М.Л. Ломберг [9] було з'ясовано, що *G. lucidum* 921, 922 і *G. applanatum* 920 за температури 37 °C втрачали життєздатність на картопляно-глюкозному середови-

щі, на відміну від *G. lucidum* 1607 і 1621, які потім відновлювали ріст при 26 °C. Слід зазначити, що існують лише фрагментарні дані стосовно біологічних властивостей видів *G. applanatum* і *G. lucidum*, що були виділені в культуру з плодівих тіл, зібраних на території України.

Постановка задачі

Метою статті є дослідження життєздатності міцелію штамів лікарських грибів *G. lucidum* і *G. applanatum* різного походження за ознакою наявності чи відсутності росту під час інкубації за високих температур (від 33 до 45 °C з кроком 1 °C).

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були чисті культури *G. applanatum* і *G. lucidum* (40 штамів) роду *Ganoderma* різного географічного походження (табл. 1), що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК) [10].

Таблиця 1. Список досліджених штамів *G. applanatum* і *G. lucidum*

Вид, номер штаму в колекції ІБК	Джерело та рік надходження культури
<i>G. applanatum</i>	
920	InMi NASB, 1989
1701	IFB, 2000
1672	НАІ, 1997
1530	ІБК, 1997
1552	ІБК, 1997
1553	ІБК, 1997
1572	ІБК, 1997
1593	ІБК, 1997
1895	ІБК, 2006*
1896	ІБК, 2006*

Кінець табл. 1.

Вид, номер штаму в колекції ІБК	Джерело та рік надходження культури
1897	ІБК, 2006*
1898	ІБК, 2006*
1899	ІБК, 2006*
<i>G. lucidum</i>	
921	InMi NASB, 1989
1670	NAI, 2000
1887	NAI, 2006
1888	NAI, 2006
1889	NAI, 2006
1607	KPDR, 1998
1608	KPDR, 1998
1787	WCh, 2000
1788	WCh, 2000
1621	IMB, 1998
1900	IMB, 2002
1901	IMB, 2000
1902	IMB, 2001
1903	IMB, 2001
331	ІБК, 1986
1683	ІБК, 2000
1904	ІБК, 2006*
1905	ІБК, 2006*
1906	ІБК, 2006*
1907	ІБК, 2006*
1908	ІБК, 2006*
1909	ІБК, 2006*
1910	ІБК, 2006*
1911	ІБК, 2006*
1912	ІБК, 2006*
1913	ІБК, 2006*
922	ССВАС, 1985

Примітка:

InMi NASB – Інститут мікробіології НАН Білорусі, Мінськ;

IFB – Інститут лісу НАН Білорусі, Гомель;

NAI – Міжнародний центр спорових рослин та грибів Інституту еволюції Університету Хайфи, Ізраїль;

ІБК – Колекція культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ;

KPDR – Інститут рослинництва, Пхеньян, КНДР;

WCh – Компанія “Везер-Шампінйон”, Німеччина;

IMB – International Mucro Biologics, Inc., Техас, США;

ССВАС – Колекція культур базидіоміцетів Інституту мікробіології АН Чехії, Прага;

“*” – культури ізолювано автором із плодкових тіл грибів.

Для перевірки життєздатності культур їх інкубували в пробірках зі скошеним сусло-агаризованим середовищем за температур 35–45 °С з кроком 1 °С. Після третьої доби інкубації враховувалася наявність чи відсутність росту міцелію. Культури, що не росли за досліджуваної температури, надалі інкубувалися за температури 28 °С для перевірки їх життєздатності. Поновлення або відсутність росту міцелію відзначалися після 3 і 5-ої діб їх інкубації за температури 28 °С.

Результати і їх обговорення

Без сумніву, життєздатність видів грибів в умовах високих температур, так само, як і їх реакція на температурні умови, неоднакова. Нами відзначено появу міцелію у всіх досліджених штамів на третю добу культивування за температури 33 °С. З подальшим підвищенням температури інкубації спостерігалася значна штамова варіабельність за вибраною ознакою серед обох досліджуваних видів (табл. 2).

Слід зазначити, що більшість досліджених штамів *G. applanatum* і *G. lucidum* незадовільно переносили підвищення температури. Так, для 30,7 % штамів *G. applanatum* встановлено критичну температуру росту 39 °С, а для 37,1 % штамів *G. lucidum* – 36 °С. Відомо, що загибель клітин міцелію за високих температур є наслідком порушення координації синтетичних процесів клітини, зокрема денатурації білків [11]. На прикладі росту *Coprinus fimetarius* Fr. у культурі з'ясовано [7], що відсутність росту за певної температури зумовлена нездатністю організму синтезувати необхідні амінокислоти чи вітаміни. Поряд з цим, високі температури можуть руйнувати діяльність ферментів, знижувати коефіцієнт дихання, посилювати гідролітичні процеси у клітинах, отруювати протоплазму шкідливими продуктами розпаду, зокрема аміаком [12]. Водночас виявлено штами обох видів, які зберігали життєздатність вегетативного міцелію в діапазоні 34–44 °С. Серед культур *G. lucidum* значну життєздатність міцелію мали штами 1902, 1903, 1889, здатні поновлювати ріст міцелію після тридобової інкубації за температури 44 °С. Унікальним був *G. applanatum* 1899, який відновлював ріст міцелію навіть після температури інкубації 43 °С.

На думку В. Рипачека [13], стійкість грибів до високих температур залежить від величини температурного максимуму та оптимуму

Вид, номер штамму	Температура інкубації, °С																							
	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	28											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1906	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1907	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1909	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1911	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1912	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1913	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>G. arrhenatum</i>																								
1899	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₅	-	-	-
1701	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₅	-	-	-	-	-
1530	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₅	-	-	-	-	-
920	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1553	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1593	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1672	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1895	p		-	+ ₃	-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1572	p		±		-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1898	p		-	+ ₃	-	-	+ ₃	-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1552	p		±		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1896	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1897	±		-	+ ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: p – наявність росту культур при даній температурі інкубації; “±” – опущення інкулому та слабкий ріст; “+₃” – поновлення росту культур на третю добу інкубації; “+₅” – поновлення росту культур на п’яту добу інкубації; “-” – відсутність росту культур.

росту міцелію. Відповідно, види грибів з більш високим температурним оптимумом для росту є стійкішими до позитивних екстремальних температур. Зіставлення раніше виявленого нами температурного оптимуму для росту всіх досліджених культур *G. applanatum* і *G. lucidum* [14] з їх температурним максимумом лише частково узгоджується з цим припущенням.

На нашу думку, принципово важливим для розуміння стійкості грибів до екстремальних температур є аналіз їх географічного походження. Так, штами *G. lucidum*, виділені нами в культуру з плодових тіл, які були зібрані на території Ялтинського лісного господарства, мали майже однакові показники критичних температур: для 8 штамів – 36 °С, для 2 штамів – 37 °С. Поряд з цим, *G. applanatum* 1899 і 1898, що мали таке ж саме походження, на протигагу своїй генетичній подібності (100 % за ампліфікованими фрагментами при вивченні генетичного варіювання за ITS-ділянками ядерної рДНК) дуже відрізнялись за життєздатністю міцелію при високих температурах (табл. 2). Останнє можна пояснити тим, що ці дві культури були виділені з грибів, які росли на деревині на різній висоті над рівнем моря. Відповідно, штам, виділений з карпофору, що ріс вище відносно рівня моря, мав знижені температурні межі для міцеліального росту (табл. 2). Аналогічну закономірність встановлено для *Merulius lacrymans* (Wulf.) Sch. [13]. Тому вважаємо, що визначальними факторами життєздатності культур є мікрокліматичні умови місця зростання плодових тіл, з яких були виділені культури та генетичний апарат.

За життєздатністю міцелію штами *G. applanatum* і *G. lucidum*, виділені з плодових тіл

грибів, зібраних на території України, не відрізнялись від штамів цих видів іншого походження, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів (ІБК).

Висновки

Досліджені нами штами як *G. applanatum*, так і *G. lucidum* відрізняються між собою за життєздатністю вегетативного міцелію під час інкубації культур за високих температур (33–45 °С), що пов'язано з мікрокліматичними умовами, характерними для географічного місцезнаходження плодових тіл, з яких їх ізольовано, та генетичними особливостями штамів.

Більшість досліджених культур обох видів незадовільно переносили вплив підвищення температури. Для 30,7 % штамів *G. applanatum* встановлено критичну температуру росту 39 °С, для 37,1 % штамів *G. lucidum* – 36 °С.

Виявлено штами обох видів, які зберігали життєздатність вегетативного міцелію в діапазоні температур 34–44 °С. Особливу увагу привертають штами *G. lucidum* 1902, 1903, 1889, здатні поновлювати ріст міцелію після тридогової інкубації за температури 44 °С, і штам *G. applanatum* 1899, який відновлював ріст міцелію після температури інкубації 43 °С.

Подальшим етапом досліджень є вивчення життєздатності вегетативного міцелію штамів *Ganoderma applanatum* і *G. lucidum* при низьких температурах.

Автор висловлює щире подяку професору, доктору біологічних наук А.С. Бухало за надані для проведення роботи культури *G. applanatum* і *G. lucidum*.

1. Wasser S.P. Medicinal mushrooms: ancient traditions, contemporary knowledge, and scientific enquiries // Int. Journal of Medicinal Mushrooms. – 2007. – 5, N 3-4. – P. 187–188.
2. Chang S.-T., Miles P.G. Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. – London; New York; Washington: CRC Press, 2004. – 450 p.
3. Беккер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1963. – С. 167–169.
4. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – К.: Наук. думка, 1988. – 144 с.
5. Дзигун Л.П. Культуральні особливості дереворуйнівного гриба *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. (Basidiomycota) // Укр. ботан. журн. – 2005. – 62, № 1. – С. 91–99.
6. Дворнина А.А. Базидиальные съедобные грибы в искусственной культуре. – Кишинев: Штиинца, 1990. – 111 с.
7. Шиврина А.Н., Низовская О.П., Фалина Н.Н. Биосинтетическая деятельность высших грибов. – Л.: Наука, 1969. – 243 с.
8. Adaskaveg J.E. Basidiospores, pilocystidia and other basidiocarp characters in several species of the *Ganoderma lucidum* complex // Mycologia. – 1988. – 80, N 4. – P. 493–507.

9. *Ломберг М.Л.* Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.21. – К.: Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, 2005. – 22 с.
10. *Каталог* колекції культур шапинкових грибів ІБК / А.С. Бухало, Н.Ю. Митропольская, О.Б. Михайлова. – К.: НВК “Славутич-дельфін”, 2006. – 36 с.
11. *Билай В.И.* Основы общей микологии. – К.: Вища шк., 1989. – 392 с.
12. *Краткий справочник по физиологии растений* / А.М. Гродзинский, Д.М. Гродзинский. – К.: Наук. думка, 1973. – 592 с.
13. *Рипачек В.* Биология дереворазрушающих грибов. – М.: Лесная промышленность, 1967. – 275 с.
14. *Круподьорова Т.А.* Вплив температури на швидкість радіального росту та культурально-морфологічні особливості штамів лікарських грибів *Ganoderma applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat та *G. lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. // Укр. ботан. журн. – 2007. – 64, № 6. – С. 875–884.

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції
3 лютого 2011 року