

Національна академія наук України
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного

Національна академія наук України
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного

Кваліфікаційна наукова праця
На правах рукопису

БОРОМЕНСЬКИЙ ДАНИЛО ОЛЕКСАНДРОВИЧ

УДК 582.284.5 : 579.222

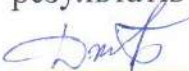
ДИСЕРТАЦІЯ
БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ШТАМІВ ВИДІВ РОДУ *GANODERMA* P.
KARST. З КОЛЕКЦІЇ КУЛЬТУР ШАПИНКОВИХ ГРИБІВ (*ІВК*)

091 Біологія

09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії


Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Бороменський Д.О.

Науковий керівник

Бісько Ніна Анатоліївна, доктор біологічних наук, професор, лауреат
Державної премії України в галузі науки і техніки

Київ-2021

Всі примірники ідентичні 

АНОТАЦІЯ

Бороменський Д.О. Біологічні особливості штамів видів роду *Ganoderma* P. Karst. з Колекції Культур Шапинкових грибів (ІВК) – Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 біологія, спеціалізація – біологія. Національна академія наук України. Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного, Київ, 2021.

Дисертація присвячена дослідженню біологічно активних речовин, культурально-морфологічних та мікроморфологічних особливостей вегетативного міцелію різних штамів видів роду *Ganoderma* P. Karst. Вивченню накопичення біомаси, вмісту і виходу ендополісахаридів, ганодерових кислот та поліфенольних сполук цих штамів за різних умов культивування. Також встановленню впливу біомаси та екстрактів з неї на ріст деяких видів бактерій, мікроміцетів та вищих рослин, визначенню антиоксидантної активності цих екстрактів.

Під час дисертаційного дослідження були отримані нові дані щодо культурально-морфологічних та мікроморфологічних особливостей вегетативного міцелію 10 штамів 7 видів грибів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

За результатами вивчення швидкості радіального росту обраних штамів видів роду *Ganoderma* 4 штами було віднесено до швидкоростучих (>8мм/добу): *G. lucidum* 1904, *G. resinaceum* 2477, *G. resinaceum* 2503, *G. applanatum* 1899; встановлено 2 штами, що проявляли середню швидкість росту (4-8 мм/добу): *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566 та 4 повільноростучі штами (<4 мм/добу): *G. tsugae* 1848, *G. oregonense* 2560, *G. carnosum* 2502, *G. sinense* 2516.

Під час вивчення впливу підвищених температур на життєздатність вегетативного міцелію було встановлено, що найбільшу стійкість до впливу

підвищених температур проявляли штами *G. resinaceum* 2477, 2503 і *G. lucidum* 1904, які зберігали здатність рости навіть після впливу температури $42 \pm 0,1$ °C. На прикладі штамів *G. tsugae* та *G. resinaceum* доведено, що стійкість до критично високих температур може відрізнятися у штамів одного виду: штами *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566 зберігали життєздатність після впливу температури $38 \pm 0,1$ °C, а штам *G. tsugae* 1848 після впливу тієї ж температури припиняв рости. Так само міцелій штаму *G. resinaceum* 2477 піс за температури $40 \pm 0,1$ °C, а міцелій *G. resinaceum* 2503 втрачав життєздатність за тієї ж температури.

Для штамів *G. tsugae* 1848, 2024, 2566, *G. sinense* 2516, *G. resinaceum* 2477, 2503, *G. carnosum* 2502, *G. oregonense* 2560 культурально-морфологічні особливості досліджені вперше. Було виявлено, що 6 з 10 штамів: *G. sinense* 2516, *G. applanatum* 1899, *G. carnosum* 2502, *G. tsugae* 1848, *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566 при довготривалому культивуванні змінювали забарвлення міцелію. Встановлено, що 30-добові міцеліальні колонії штамів *G. resinaceum* 2503, *G. tsugae* 2024, *G. sinense* 2516 та *G. lucidum* 1904 утворювали примордії, що нехарактерно для штамів інших досліджених нами видів.

З використанням методів світлової та сканувальної електронної мікроскопії (SEM) нами були вперше описані такі мікроструктури вегетативного міцелію: подвійні пряжки та пряжки з анастомозами на міцелії *G. carnosum*, а також коралоподібні гіфи на міцелії *G. sinense* та *G. carnosum*.

Проведено порівняння впливу способів культивування на накопичення біомаси, вміст і вихід ендopolісахаридів та ганодерових кислот міцелієм 10 штамів, 7 видів роду *Ganoderma* на рідкому живильному середовищі ГПД (глюкозо-пептон-дріжджове рідке живильне середовище). Найбільшу кількість біомаси накопичував штам *G. tsugae* 2024, що зростав протягом 14 діб у глибинній культурі – $20,3$ г/л $\pm 0,5$ г/л. Доведено, що для накопичення біомаси усіх штамів, крім *G. oregonense* 2560, спосіб глибинного культивування був ефективнішим, ніж спосіб поверхневого культивування.

Вперше наведено дані щодо накопичення біомаси міцелію та ендополісахаридів штамами *G. carnosum* та *G. oregonense* за умов поверхневого та глибинного культивування на рідкому живильному середовищі. Біомаса *G. carnosum* у поверхневій культурі на 14 добу складала $2,7 \pm 0,2$ г/л і у глибинній культурі – $10,5 \pm 0,2$ г/л, вміст ендополісахаридів становив $6,8 \pm 0,2$ % та $6,6 \pm 0,3$ % відповідно. Біомаса *G. oregonense* у поверхневій культурі на 14 добу складала $9,3 \pm 0,3$ г/л і у глибинній культурі – $9,5 \pm 0,5$ г/л, вміст ендополісахаридів був $8,2 \pm 0,4$ % та $7,7 \pm 0,3$ % відповідно.

Доведено, що глибинний спосіб культивування є ефективнішим за спосіб поверхневого культивування для накопичення ендополісахаридів чотирьох з 10 досліджених штамів грибів роду *Ganoderma*: *G. tsugae* 2566, 2024, *G. resinaceum* 2503, 2477. Найвищий вміст ендополісахаридів був накопичений міцелієм *G. oregonense* – $8,2 \pm 0,4$ % від сухої маси міцелію, який зростав в умовах поверхневої культури. Найвища вихід ендополісахаридів була характерна для міцелію *G. tsugae* 2024, вирощеного у глибинній культурі – $1,58 \pm 0,08$ г/л.

Нами вперше розроблений модифікований метод екстракції ганодерових кислот з міцелію видів роду *Ganoderma*. Запропонована зміна умов екстракції дозволяє скоротити термін першого етапу процесу в 7 разів порівняно з класичним методом та отримати аналогічну кількість ганодерових кислот.

Штами *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 накопичували найбільшу кількість ганодерових кислот порівняно з іншими видами та штамми, тому для них була вивчена динаміка синтезу та виходу ганодерових кислот на 6-у, 8-у, 10-у, 12-у, 14-у, 16-у, 18-у та 20-у добу культивування. Водночас найвищий вміст ганодерових кислот був у міцелії штаму *G. sinense* 2516 вирощеного в глибинній культурі на 14-у добу культивування ($25,2 \pm 1,5$ мг/г). Встановлено, що найвища вихід ганодерових кислот була характерна для міцелію *G. sinense* 2516 на 14-у добу культивування та для міцелію *G. tsugae* 2024 на 16-у добу культивування і становила приблизно 0,35 г/л.

Досліджено вміст фенольних сполук та їх вихід міцелієм штамів *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516. Під час експерименту було доведено, що найбільше їх накопичував міцелій *G. sinense* 2516 – $51,2 \pm 0,1$ мг/г. Найвища вихід фенольних сполук обох штамів була статистично рівною і становила $1,2 \pm 0,02$ мг/л.

Досліджена антиоксидантна активність метанольних, етилацетатних та водних екстрактів з біомаси міцелію *G. tsugae* 2024 і *G. sinense* 2516. Було доведено, що використання етилацетату й метанолу для отримання екстрактів, підвищує їх ефективність як антиоксидантів. Інактивація вільних радикаів екстрактами отриманими за допомогою етилацетату та метанолу, відповідно становила 93,1 і 90,6 % для *G. sinense* 2516 та 97,7 і 92,2 % для *G. tsugae* 2024. Водні екстракти *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 проявляли слабшу антиоксидантну активність – 30,3 і 23,9 %.

Вперше отримані дані щодо антибактеріальних та антифунгальних властивостей етилацетатних і метанольних екстрактів біомаси міцелію *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024. Була доведена антибактеріальна дія метанольного екстракту *G. tsugae* 2024 на ріст *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (зона інгібування 15 мм) та етилацетатного екстракту *G. tsugae* 2024 на ріст *Escherichia coli* T. Escherich (зона інгібування 13 мм).

Доведено, що етилацетатні екстракти *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 здатні значною мірою пригнічувати розвиток *Aspergillus niger* Tiegh.– зона інгібування була діаметром 50 мм та 34 мм відповідно. На ріст *Penicillium polonicum* K. Zaleski навпаки сильніше впливали саме метанольні екстракти. При внесенні метанольного екстракту з міцелію *G. sinense* 2516 зона інгібування росту *P. polonicum* складала 45 мм, а метанольного екстракту *G. tsugae* 2024 – 37 мм.

Вперше досліджено вплив біомаси міцелію 9 штамів 6 видів грибів роду *Ganoderma* (в концентрації 0,625 мг/мл голодного агару) на проростання насіння і ріст *Lepidium sativum* L. та *Cucumis sativus* L. Біомаса усіх видів та штамів суттєво пригнічувала ріст як коренів, так і паростків *L. sativum*.

Найсильніший інгібуючий вплив проявляла біомаса міцелію *G. tsugae* 2024 – середня довжина рослини *L. sativum* була на 80,9 % меншою порівняно з контролем. Найслабшу інгібуючу активність проявляла біомаса *G. carnosum* 2502 – середня довжина рослини *L. sativum* була на 30,7 % меншою порівняно з контролем. Визначено, що етилацетатний екстракт з біомаси міцелію *G. tsugae* 2024 суттєво пригнічує ріст *L. sativum*, а додавання 100 мкл вказаного екстракту на 100 % не дає проростати насінинам.

Біомаса міцелію *G. resinaceum* 2477 та *G. lucidum* 1904 проявляє найсильнішу інгібуючу дію на ріст *C. sativus*. Середня довжина рослини при додаванні міцелію вказаних штамів була на 61 % менша за довжину у контрольній групі в обох випадках. Доведено, що біомаса *G. sinense* 2516 може впливати як слабкий стимулятор росту *C. sativus* – середня довжина рослини при додаванні міцелію *G. sinense* 2516 була на 5 % достовірно більшою, ніж у контрольній групі.

В результаті проведених досліджень відібраний штам *G. tsugae* 2024 з Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України як біотехнологічно перспективний продуцент ендополісахаридів ($1,58 \pm 0,08$ г/л), ганодерових кислот ($0,35 \pm 0,02$ г/л), фенольних сполук ($1,2 \pm 0,02$ мг/л) з високою антиоксидантною, антифунгальною та інгібуючою активністю щодо деяких вищих рослин.

Ключові слова: антиоксидантна активність, ганодерові кислоти, глибинне культивування, мікроструктури, поверхнєве культивування, полісахариди, феноли, *Ganoderma*.

SUMMARY

Boromenskyi D.O. Biological features of strains of *Ganoderma* P. Karst. species from the IBK Mushrooms Culture Collection. – Manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy, specialty 091 biology, specialization – mycology

M.G. Kholodny Institute of botany, NAS of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of biologically active substances, cultural-morphological and micromorphological features of vegetative mycelium of genus *Ganoderma* P. Karst. strain diversity; the research of content of biomass, endopolysaccharides, ganoderic acids and polyphenolic compounds of these strains and production of their synthesis under different cultivation conditions; the study of the influence of mycelium biomass and its extracts on the growth of some bacteria, micromycetes and higher plants; the analysis of antioxidant activity of biomass extracts.

During the dissertation research new data were obtained on the cultural-morphological and micromorphological features of the vegetative mycelium of strain diversity (10 strains of 7 species) of *Ganoderma* fungi from the IBK Mushroom Culture Collection of M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine.

While evaluating the rate of radial growth of the genus *Ganoderma* species, 4 strains were classified as fast-growing (>8 mm/day): *G. lucidum* 1904, *G. resinaceum* 2477, *G. resinaceum* 2503, *G. applanatum* 1899; 2 strains that showed the average growth rate (4-8 mm/day): *G. tsugae* 2024 and *G. tsugae* 2566; and 4 slow-growing strains (<4 mm/day): *G. tsugae* 1848, *G. oregonense* 2560, *G. carnosum* 2502, *G. sinense* 2516.

When studying the effect of high temperatures on the viability of vegetative mycelium, it was found that the greatest resistance to high temperatures showed strains of *G. resinaceum* 2477, 2503 and *G. lucidum* 1904, which retained the ability to grow even after the exposure to $42 \pm 0.1^\circ\text{C}$. On the example of *G. tsugae* and *G.*

resinaceum strains, it was proved that critically high temperatures resistance can differ within one species: strains of *G. tsugae* 2024 and *G. tsugae* 2566 remained viable after the exposure to $38 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and *G. tsugae* 1848 strain after exposure to a temperature of $38 \pm 0.1^\circ\text{C}$ stopped growing. Moreover, the mycelium of the strain *G. resinaceum* 2477 continued growing at the temperature of $40 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and the mycelium of *G. resinaceum* 2503 lost its viability at this temperature.

Cultural and morphological features of *G. tsugae* 1848, 2024, 2566, *G. sinense* 2516, *G. resinaceum* 2477, 2503, *G. carnosum* 2502, *G. oregonense* 2560 strains were studied for the first time. It was discovered that 6 out of 10 strains changed the color of the mycelium after long-term cultivation: *G. sinense* 2516, *G. applanatum* 1899, *G. carnosum* 2502, *G. tsugae* 1848, *G. tsugae* 2024, *G. tsugae* 2566. It was found that 30-day-old mycelial colonies of strains of *G. resinaceum* 2503, *G. tsugae* 2024, *G. sinense* 2516 and *G. lucidum* 1904 formed primordia, the uncharacteristic trait for the strains of other species studied by us.

Using light and scanning electron microscopy (SEM) methods we were first to describe the following microstructures of vegetative mycelium: double clamps and clamps with anastomoses on *G. carnosum* mycelium, as well as coral-like hyphae on *G. sinense* and *G. carnosum*.

The largest amount of biomass was accumulated by the strain *G. tsugae* 2024, which was growing for 14 days in submerged culture - $20.3 \pm 0,5 \text{ g / L}$.

It has been proved in the research that the submerged cultivation method was more effective than the method of static liquid cultivation for the accumulation of biomass of all strains except *G. oregonense* 2560.

For the first time, data on the accumulation of mycelium biomass and endopolysaccharides by strains of *G. carnosum* and *G. oregonense* species under submerged and static liquid cultivation conditions on liquid nutrient medium were presented. The biomass of *G. carnosum* in static liquid culture on the 14th day was amounted to $2.7 \pm 0,2 \text{ g/L}$ and in submerged - $10.5 \pm 0,2 \text{ g/L}$, the content of endopolysaccharides was $6.8 \pm 0,2 \%$ and $6.6 \pm 0,3 \%$, respectively. The amount of *G. oregonense* biomass in surface static liquid culture on the 14th day was $9.3 \pm 0,3$

g/L and in submerged culture – $9.5 \pm 0,5$ g/L, the content of endopolysaccharides was $8.2 \pm 0,4$ % and $7.7 \pm 0,3$ %, respectively.

It was discovered that the submerged cultivation method was more effective than the static liquid cultivation method for the accumulation of endopolysaccharides for 4 out of 10 studied strains of fungi of the genus *Ganoderma*: *G. tsugae* 2566, 2024, *G. resinaceum* 2503, 2477. The highest content of endopolysaccharides was shown by *G. oregonense* - $8.2 \pm 0,4$ % of the dry mass of mycelium grown under static liquid culture conditions. The highest production of endopolysaccharide synthesis was characteristic of *G. tsugae* 2024 mycelium grown in submerged culture - $1.58 \pm 0,08$ g / L.

For the first time we have developed a modified method of ganoderic acids extraction from the *Ganoderma* species. This method allowed to reduce the time of the first stage of extraction by 7 times compared to the classical method and to obtain a similar amount of ganoderic acids.

The dynamics of ganoderic acid synthesis and their production by *G. sinense* 2516 and *G. tsugae* 2024 strains on the 6th, 8th, 10th, 12th, 14th, 16th, 18th and 20th day of cultivation was investigated. The highest content of ganoderic acids was detected in the mycelium of the *G. sinense* 2516 strain grown in submerged culture on the 14th day of cultivation (25.2 ± 1.5 mg / g). It was found that the highest production of the ganoderic acids synthesis was featured by the mycelium of *G. sinense* 2516 on the 14th day of cultivation and by the mycelium of *G. tsugae* 2024 on the 16th day of cultivation – 0.35 g / L for both strains.

The content of phenolic compounds and the production of their synthesis by the mycelium of *G. tsugae* 2024 and *G. sinense* 2516 strains were studied. It was demonstrated that the highest content of phenolic compounds was accumulated by mycelium of *G. sinense* 2516 - $51.2 \pm 0,1$ mg / g. The production of synthesis of such compounds of both strains was statistically equal and amounted to $1.2 \pm 0,02$ mg/L.

We were first to determine the antibacterial and antifungal properties of ethyl acetate and methanolic extracts of mycelia biomass of *G. sinense* 2516 and *G. tsugae*

2024. The antibacterial effect of ethyl acetate extract of *G. tsugae* 2024 on the growth of *Escherichia coli* T. Escherich (inhibition zone 13 mm), and methanolic extract of *G. tsugae* 2024 on *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (inhibition zone 15 mm), was observed.

It was proven that ethyl acetate extracts of *G. sinense* 2516 and *G. tsugae* 2024 significantly inhibit the development of *Aspergillus niger* Tiegh.– the inhibition zones were 5 cm and 3.4 cm in diameter, respectively. Conversely, the growth of *Penicillium polonicum* K. Zaleski was strongly influenced by methanol extracts. After the introduction of methanol extract of the mycelium of *G. sinense* 2516, the zone of growth inhibition of *P. polonicum* was 4.5 cm, and methanol extract of *G. tsugae* 2024 - 3.7 cm. The growth of *Mucor globosus* A. Fisch. was not affected by any of the extracts we used.

The effect of mycelium biomass of strain diversity (9 strains of 6 species) of *Ganoderma* fungi on *Lepidium sativum* L. and *Cucumis sativus* L. seed germination and growth was studied for the first time. The growth of *L. sativum* roots and stems was significantly inhibited by the biomass of all *Ganoderma* species and strains. The strongest inhibition effect was demonstrated by the mycelium biomass of *G. tsugae* 2024 – the average length of the *L. sativum* plant was decreased by 80.9 % compared to the control. The weakest inhibitory activity was shown by biomass of *G. carnosum* 2502 – the average length of the plant *L. sativum* was 30.7 % shorter compared to the control. It was determined that ethyl acetate extract from the mycelium biomass of *G. tsugae* 2024 significantly inhibits the growth of *L. sativum*, and the addition of 100 µl of this extract entirely prevents the germination of seeds.

The biomass of *G. resinaceum* 2477 and *G. lucidum* 1904 mycelia demonstrated the strongest inhibition effect on the growth of *C. sativus*. The introduction of the mycelia of these strains reduced the average plant length by 61 % compared to the control group in both cases. It was demonstrated that the biomass of *G. sinense* 2516 was able to act as a weak growth stimulant of *C. sativus* – the average length of the plant after the addition of *G. sinense* 2516 mycelium was 5 % greater than in the control group.

The antioxidant activity of methanol, ethyl acetate and aqueous extracts obtained from mycelium biomass of *G. tsugae* 2024 and *G. sinense* 2516 has been studied. It was established that the use of ethyl acetate and methanol to obtain extracts, increases their effectiveness as antioxidants. Antioxidant activity for ethyl acetate and methanol extracts was found to be 93,1 i 90,6 % for *G. sinense* 2516 and 97,7 i 92,2 % for *G. tsugae* 2024 respectively. Aqueous extracts of *G. sinense* 2516 and *G. tsugae* 2024 showed lower rate of antioxidant activity - 30.3 and 23.9 % respectively.

As a result of the conducted researches it was defined that *G. tsugae* 2024 strain from the IBK Mushroom Culture Collection of M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine is a biotechnologically promising producer of endopolysaccharides (1.58 g/L), ganoderic acids (0.35 g/L), phenolic compounds (1.2 mg/L) and has a high antioxidant, antifungal activity and shows inhibitory effect against higher plants.

Key words: antioxidant activity, ganoderic acids, *Ganoderma*, microstructures, phenols, polysaccharides, static liquid cultivation, submerged cultivation.

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у періодичних наукових виданнях інших держав

1. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021). The influence of biomass and its extracts of *Ganoderma* species on the seeds germination and the growth of *Lepidium sativum* L. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*. 3(1) 1-5. <https://doi.org/10.5505/ijabes.2021.87487>.
2. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021). The influence of biomass of *Ganoderma* species on seed germination and seedlings growth of *Cucumis sativus* L. *Plant & Fungal Research*. 4(1), 25-29.

Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових видань України

1. Бороменський, Д.О., & Бісько, Н.А. (2019). Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma* (Ganodermataceae) в культурі. *Український ботанічний журнал*. 77(2), 117–124.
2. Бороменський, Д.О., & Бісько, Н.А. (2020) Вплив умов культивування на накопичення біомаси та ендополісахаридів грибами роду *Ganoderma* (Ganodermataceae) *Український ботанічний журнал*. 77(2), 117–124. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj77.02.117>
3. Boromenskyi, D.O., Bisko, N.A., Al-Maali, G.A., & Polishchuk O.V. (2021). The contents of ganoderic acids in mycelium of different species and strains of the genus *Ganoderma* (Ganodermataceae) obtained by different methods of cultivation. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 1(84), 14-18. DOI 10.17721/1728_2748.2021.84.14–18

Публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій

1. Бороменський, Д.О., & Аль-Маалі Г.А. (2018). Культуральні та мікроморфологічні особливості міцелію різних штамів грибів роду *Ganoderma*. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*, 12.
2. Бороменський, Д. О. (2019). Вміст ендополісахаридів у міцелії різних штамів грибів роду *Ganoderma* отриманого методом глибинного культивування. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*, 54.
3. Бороменський, Д.О., Герасимнюк, В.О., Кравченко, Є.І., & Мірошниченко, М.С. (2018). Інтродукція в культуру перспективних для біотехнології видів макроміцетів. *II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «біотехнологія: досвід, традиції та інновації»*, 15.
4. Веденичова, Н.П., Аль-Маалі, Г.А., Бороменський, Д.О., Бісько, Н.А., Косаківська, І.В., Гарманчук, Л.В., & Остапченко, Л.І. (2021). Протипухлинна активність цитокінінових екстрактів з міцелію лікарських грибів *Ganoderma lucidum* і *Lentinula edodes* *in vitro*. *Planta+ наука, практика та освіта*, 294-298.
5. Boromenskyi, D.O., & Al-Maali, G.A. (2018). Продуктивність за полісахаридами різних штамів грибів роду *Ganoderma* (P. Karst). *VII Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії»*, 22.

ЗМІСТ	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	23
1.1. Систематика, морфологія, розповсюдження та культивування грибів роду <i>Ganoderma</i>	23
1.1.1. Історія дослідження та систематичні особливості роду <i>Ganoderma</i>	23
1.1.2. Культурально морфологічні особливості видів роду <i>Ganoderma</i>	25
1.1.3. Поширення та практичне значення грибів роду <i>Ganoderma</i>	26
1.1.4. Культивування грибів роду <i>Ganoderma</i>	27
1.2. Основні біологічно активні речовини грибів роду <i>Ganoderma</i>	29
1.2.1. Полісахариди	29
1.2.2. Тритерпеноїди	32
1.2.3. Пептиди	36
1.2.4. Ферменти	36
1.2.5. Фенольні сполуки	37
1.2.6. Інші сполуки	38
1.3 Лікарські властивості видів роду <i>Ganoderma</i>	41
1.3.1. Загальні відомості	41
1.3.2. Антиоксидантна активність	42
1.3.3. Антибактеріальні властивості	42
1.3.4. Антифунгальні властивості	43
1.3.5. Противірусні властивості	44
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	48
2.1. Об'єкти дослідження	48
2.2. Живильні середовища для культивування міцелію	49

2.3. Методи вивчення культурально-морфологічних особливостей міцелію штамів видів роду <i>Ganoderma</i>	49
2.4. Вивчення впливу підвищених температур на ріст міцелію	50
2.5. Умови культивування міцелію досліджених штамів	51
2.6. Визначення вмісту біологічно активних речовин у біомасі міцелію досліджених штамів	52
2.6.1. Визначення вмісту ендopolісахаридів	52
2.6.2. Визначення вмісту ганодерових кислот	52
2.6.3. Визначення вмісту фенольних сполук в екстрактах біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516	53
2.7. Визначення впливу біомаси та різних екстрактів міцелію досліджених штамів на насіння <i>Lepidium sativum</i> та <i>Cucumis sativus</i>	53
2.7.1. Отримання екстрактів	53
2.7.2. Визначення впливу біомаси міцелію на насіння	54
2.7.3. Визначення впливу екстрактів біомаси міцелію на насіння	55
2.8. Визначення антибактеріальної та антифунгальної активності екстрактів біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516	56
2.9. Визначення антиоксидантної активності екстрактів біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516	56
2.10. Статистична обробка результатів	57

РОЗДІЛ 3. КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МІКРОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГРИБІВ РОДУ

GANODERMA	58
3.1. Культурально-морфологічні особливості грибів роду <i>Ganoderma</i>	58
3.2. Мікроморфологічні особливості грибів роду <i>Ganoderma</i>	70
3.3. Вплив підвищених температур на життєздатність міцелію	76

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ СПОСОБІВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ, ВМІСТ ЕНДОПОЛІСАХАРИДІВ,

ГАНОДЕРОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ВИХІД МІЦЕЛІЄМ ГРИБІВ РОДУ <i>GANODERMA</i>	80
4.1. Вплив способів культивування на накопичення біомаси, вміст ендополісахаридів та їх вихід міцелієм грибів роду <i>Ganoderma</i>	80
4.1.1. Порівняння впливу методів культивування на накопичення біомаси міцелію різних видів роду <i>Ganoderma</i>	80
4.1.2. Порівняння впливу методів культивування на накопичення ендополісахаридів міцелієм штамів різних видів роду <i>Ganoderma</i> та аналіз їх виходу за цим показником	83
4.2. Вплив способів культивування на вміст і динаміку ганодерових кислот та їх вихід міцелієм грибів роду <i>Ganoderma</i>	88
4.2.1. Вплив способів культивування на вміст ганодерових кислот та їх вихід міцелієм грибів роду <i>Ganoderma</i>	89
4.2.2. Динаміка синтезу ганодерових кислот міцелієм <i>Ganoderma sinense</i> 2516 та <i>Ganoderma tsugae</i> 2024	91
4.3. Вміст фенольних сполук в екстрактах біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516 та їх вихід	96
4.4. Антиоксидантна активність екстрактів біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516	99
РОЗДІЛ 5. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ БІОМАСИ МІЦЕЛІЮ ГРИБІВ РОДУ <i>GANODERMA</i> ТА ЕКСТРАКТІВ З НЕЇ	102
5.1. Антибактеріальна активність екстрактів біомаси міцелію <i>Ganoderma sinense</i> 2516 та <i>Ganoderma tsugae</i> 2024	102
5.2. Антифунгальна активність екстрактів біомаси міцелію <i>Ganoderma sinense</i> 2516 та <i>Ganoderma tsugae</i> 2024	105
5.3. Вплив біомаси міцелію досліджених штамів видів роду <i>Ganoderma</i> на проростання насіння та ріст <i>Cucumis sativus</i>	107

5.4. Вплив біомаси та екстрактів міцелію досліджених штамів видів роду <i>Ganoderma</i> на проростання насіння та ріст <i>Lepidium sativum</i>	122
5.4.1. Вплив біомаси різних видів роду <i>Ganoderma</i> на проростання насіння та ріст <i>Lepidium sativum</i>	122
5.4.2. Вплив водних екстрактів біомаси міцелію <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 та <i>Ganoderma sinense</i> 2516 на проростання насіння та ріст <i>Lepidium sativum</i>	118
5.4.3. Вплив метанольного та етилацетатного екстрактів біомаси <i>Ganoderma tsugae</i> 2024 на проростання насіння та ріст <i>Lepidium sativum</i>	121
ВИСНОВКИ	128
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	132
ДОДАТОК А. ПАСПОРТИ ШТАМІВ ВИДІВ РОДУ <i>GANODERMA</i>	166
ДОДАТОК Б. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.	181

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ІВК – Колекція культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г.

Холодного НАН України

ГІР – грибний імуномодулюючий пептид

ВТМ – вірус тютюнової мозаїки

ГПДА – глюкозо-пептон-дріжджове агаризоване живильне середовище

ГПД – глюкозо- пептон-дріжджове рідке живильне середовище

СМ – світлова мікроскопія

СЕМ – сканувальна електронна мікроскопія

ГК – ганодерові кислоти

МХ – середовище Мюллера-Хінтона

СА – агаризоване пивне сусло

ГА – голодний агар (середовище без додавання поживних сполук та мікроелементів)

ВСТУП

Актуальність теми

Гриби роду *Ganoderma* P. Karst. відомі своїми лікарськими властивостями понад дві тисячі років (Wasser, 2011). Проте лише з середини ХХ століття почалися детальні дослідження видів цього роду, в результаті чого були виявлені різноманітні біологічно активні речовини, корисні для організму людини. Основними із них є полісахариди та ганодерові кислоти (Бисько и др. 2012; Ma et al., 2018). Вони проявляють протизапальні, протипухлинні, антиоксидантні, імуномодулюючі, протидіабетичні, противірусні, антибактеріальні, протисудомні, протигрибкові, гепатопротекторні, нейропротекторні та інші властивості (Boh et al., 2007; Li-Ying et al., 2014; Wasser, 2014). Було доведено, що не лише плодові тіла, а й міцелій і спори містять біологічно активні речовини (Liu et al., 2012; Hsu & Yen, 2014; Jianhua & Peng 2019). Розробка методів культивування вегетативного міцелію на рідких живильних середовищах дозволяє накопичити значну кількість біомаси за короткий проміжок часу, що має перевагу над культивуванням плодових тіл для отримання біологічно активних речовин (Sanodiya et al., 2009).

На даний час більшість публікацій щодо біологічно активних речовин та методів культивування грибів роду *Ganoderma* присвячені штамам *G. lucidum*, в меншій мірі *G. applanatum*, щодо інших видів цього роду є тільки фрагментарні відомості. Також існують таксономічні проблеми та складнощі в ідентифікації представників роду, враховуючи велику кількість видів, які часом важко відрізнити за морфологічними ознаками плодових тіл (Richter et al., 2014).

Отже, вивчення штамового та видового різноманіття грибів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, дослідження їх культурально-морфологічних особливостей та біотехнологічного потенціалу є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України відповідно до планів НДР за темою № 433 «Біологічні особливості штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ІБК*» (№ державної реєстрації – 011U002001); темою № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ІБК*» і теми «Дослідження протипухлинних властивостей біологічно-активних речовин цитокінінової природи з міцеліальної біомаси лікарських базидієвих грибів» у співпраці з державною організацією «Відділення цільової підготовки Київського національного університету імені Тараса Шевченка при Національній академії наук України».

Мета роботи. Дослідження біологічних особливостей та активності вегетативного міцелію штамів видів роду *Ganoderma* за різних умов культивування.

Для досягнення мети було визначено такі завдання:

1. Вивчити культурально-морфологічні особливості та мікроструктури вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma*.
2. Дослідити вплив способів культивування міцелію грибів роду *Ganoderma* на рідкому живильному середовищі на вміст та динаміку накопичення біомаси, ендополісахаридів та ганодерових кислот.
3. Модифікувати способи екстракції ганодерових кислот з міцелію грибів роду *Ganoderma*.
4. Вивчити антифунгальну та антибактеріальну активність екстрактів з міцелію відібраних штамів.
5. Дослідити вплив біомаси міцелію обраних штамів та екстрактів з них на проростання насіння та ріст вищих рослин *Lepidium sativum*, *Cucumis sativus*.
6. Визначити вміст фенольних сполук та антиоксидантну активність екстрактів міцелію відібраних видів роду *Ganoderma*.

Об'єкт дослідження. 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (IBK) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Предмет дослідження. Морфологічні, біосинтетичні, інгібуючі властивості міцелію штамів видів роду *Ganoderma*.

Методи дослідження. Загальноприйняті та модифіковані мікробіологічні, мікологічні методи роботи з чистими культурами грибів, електронно-мікроскопічні, статистичні та математичні методи обробки результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено комплексне дослідження біологічних властивостей 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (IBK) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Отримані нові дані щодо мікроструктур міцелію: вперше були описані подвійні пряжки та пряжки з анастомозами на міцелії *G. carnosum*, а також коралоподібні гіфи на міцелії *G. sinense* та *G. carnosum*. Підтверджено ефективність застосування глибинного способу культивування для накопичення біомаси, виходу ендополісахаридів та ганодерових кислот міцелієм більшості досліджених штамів. Вперше досліджена інгібуюча активність біомаси міцелію та метанольних, етилацетатних і водних екстрактів з нього на проростання насінин та ріст *L. sativum* і *C. sativus*. Було доведено, що біомаса і її екстракти можуть повністю як пригнічувати розвиток рослин, так і стимулювати його. Вперше досліджена антибактеріальна та антифунгальна активність штамів видів *G. sinense* та *G. tsugae*.

Практичне значення отриманих результатів. В результаті проведеної роботи був відібраний штам *G. tsugae* 2024 з великим біотехнологічним потенціалом, який може бути використаний для отримання цінних біологічно-активних речовин – ендополісахаридів, ганодерових кислот та фенольних сполук. На основі речовин, що містяться в отриманих екстрактах з міцелію *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516, можуть бути розроблені гербіциди природного

походження для боротьби з бур'янами або, навпаки, стимулятори росту для культурних рослин та важливих видів сільськогосподарського призначення.

Розроблено паспорти досліджених штамів видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Особистий внесок. Робота є самостійним дослідженням здобувача, яким проаналізовано наукову літературу, виконано основний обсяг експериментальних досліджень, узагальнено результати, систематизовано і статистично оброблено дані експериментального матеріалу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені та обговорені на засіданнях відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Міжнародній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Кирилівка, 2018, Харків, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 5 статей, з них 3 – у періодичних фахових виданнях, дві – у зарубіжних виданнях, а також 5 тез доповідей у наукових збірниках вищезазначених конференцій.

Обсяг і структура роботи. Дисертація викладена на 183 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел, який містить 281 посилання та двох додатків.

Дисертаційна робота містить 49 рисунків, 5 таблиць.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. СИСТЕМАТИКА, МОРФОЛОГІЯ, РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА КУЛЬТИВУВАННЯ ГРИБІВ РОДУ *GANODERMA*

У всьому світі гриби цінуються за свої харчові якості, смакові властивості і користь для організму. З давніх часів люди використовували гриби для різних цілей – як продукти харчування, джерела отрут, лікарських речовин, або для різноманітних духовних практик (Luna, 1984; Trutmann, 2012; Hobbs, 2002; Misra et al., 2019). В наш час промислове виробництво їстівних та лікарських грибів є важливою частиною галузей харчової та фармацевтичної промисловості (Chang et al., 1989; Bilal et al., 2010; Sharma et al., 2018). Сучасні технології дозволяють детально досліджувати перспективні для використання в галузі охорони здоров'я нові види грибів. Основними об'єктами досліджень стали в першу чергу ті види, що використовували в народній медицині, в тому числі види роду *Ganoderma* (Sullivan et al., 2006; Wasser, 2011).

1.1.1. Історія дослідження та систематичні особливості роду *Ganoderma*

Перші згадки про представників роду *Ganoderma* нараховують понад 2000 років, починаючи з 100 – 200 pp. до н.е. і походять з країн Південно-Східної Азії (Японії та Китаю). Їх збірна назва була «Рейші» у Японії, або «Ліньчжи» у Китаї (Wasser, 2005; Cao et al., 2012).

Рід *Ganoderma* був описаний у 1881 році фінським мікологом П. А. Карстенем, який включав один вид – *Ganoderma lucidum*, попередньо описаний як *Boletus lucidus* Кьортісом (1781 р.) та наведений Фрізом як *Polyporus lucidus* (Curtis) Fr. (1821 р.) (Karsten, 1881). Проте з часом таксономічна картина всередині даного роду змінювалась, він був доповнений великою кількістю видів, які також періодично відділялись від описаних раніше. Наприклад, вид, розповсюджений у Китаї, який довгий час вважався *G. lucidum*, насправді виявився іншим видом, який отримав назву *G. lingzhi* (Cao et al., 2012). Як і для всіх видів грибів, спочатку визначення видів роду *Ganoderma* відбувалось за рахунок аналізу макро- та мікроознак базидіокарпів (Moncalvo and Ryvarden, 1997). Проте використання такого підходу не

гарантувало точного визначення видів, адже морфологічні ознаки плодових тіл досить мінливі і залежать від умов навколишнього середовища, географічного походження зразка та ін. (Torres-Torres & Guzmán-Dávalos, 2012). Використання молекулярних методів у таксономії дозволило нівелювати морфологічні складнощі у визначенні видів та описати велику кількість нових видів роду *Ganoderma* (Cao et al., 2012; Zhou et al., 2015; Tchotet Tchoumi et al., 2018). Незважаючи на прогрес у дослідженнях видового різноманіття даного роду і надалі з'являються описи нових видів, особливо з регіонів Африки (Coetzee et al., 2015; Tchotet Tchoumi et al., 2018).

На даний час рід *Ganoderma* налічує за різними даними від 250 до 400 видів (Lee & Chang, 2016). Навіть враховуючи попередні дані, існує значна кількість таксономічних проблем, оскільки рід *Ganoderma* перебуває у стані "таксономічного хаосу" (Richter et al., 2014).

Для розрізнення видів всередині роду *Ganoderma* найважливішими ознаками вважаються морфологія базидіоспор та структура поверхні шапинки (Steyaert, 1980; Zhao, 1989; Moncalvo & Ryvarden, 1997; Tham, 1998). Інші мікро- та макроморфологічні ознаки варіюють, тому не можуть вважатись надійними для визначення видів цього роду (Hong & Jung 2004; Douanla-Meli and Langer 2009). Важливо відмітити, що у базидіокарпах деяких видів утворюються хламідоспори, це *G. colossum* (Fr.) C.F. Baker, *G. subamboinense* (Henn.) Bazzalo & J.E. Wright та *G. weberianum* (Bres. & Henn. ex Sacc.) Steyaert (Douanla-Meli & Langer 2009; Hong & Jung, 2004).

Проте висока морфологічна мінливість кольору та структури шапинки в різних кліматичних умовах призводять до складності із створенням єдиної таксономічної характеристики для представників роду *Ganoderma*. Наприклад, *G. lucidum*, *G. resinaceum*, *G. tsugae* отримували по кілька назв при визначенні різними дослідниками (Douanla-Meli & Langer, 2009). Тому для точнішого визначення видів всередині роду важливо окрім морфологічних ознак також враховувати ареал розповсюдження та географічний розподіл. Як і у випадку з іншими родами паразитних грибів, приуроченість до рослини-

хазяїна може вважатись важливою таксономічною ознакою, наприклад, вид *G. carnosum* Pat. асоційований тільки з представниками роду *Abies* Mill. (Gottlieb & Wright, 1999b; Hong & Jung, 2004).

Були спроби встановити хемотаксономічні ознаки для розрізнення видів на основі вторинних метаболітів, які входять до складу плодових тіл або міцелію грибів даного роду, проте із збільшенням кількості досліджень було виявлено, що значна кількість речовин характерна для багатьох видів одночасно. Тобто хемотаксономічне визначення видового складу роду *Ganoderma* не є надійним (Richter et al., 2014). Очевидно, що для максимальної точності при ідентифікації видів роду *Ganoderma* у комплексі з морфологічними ознаками слід застосовувати і молекулярно-таксономічні методи досліджень (Hong et al., 2004; Utomo et al., 2005; Saltarelli et al., 2015).

Інтенсивні морфологічні дослідження та використання молекулярних даних у XXI столітті призвели до відкриття 14 нових видів роду *Ganoderma* (Ryvarden, 2000, 2004; Smith & Sivasithamparam, 2003; Ipulet & Ryvarden, 2005; Douanla-Meli and Langer, 2009; Welti & Courtecuisse, 2010; Kinge & Mih, 2011; Cao & Yuan, 2013).

1.1.2. Культурально морфологічні особливості видів роду *Ganoderma*

За даними Всесвітньої федерації колекцій культур (WFCC) (<http://www.wfcc.info>) в офіційних колекціях зберігається велика кількість різних штамів видів роду *Ganoderma*, в тому числі у Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2020). Тому дуже важливим є їх верифікація за культурально-морфологічними, мікоморфологічними та фізіологічними ознаками під час культивування міцелію (Buhalo & Diduch, 2005).

Морфологія міцеліальних колоній грибів роду *Ganoderma* була описана в основному для штамів видів *G. lucidum*, *G. adspersum* Boud. та *G. applanatum* (Nobles, 1953; Stalpers, 1978; Adaskaveg & Gilbertson, 1986; Круподьорова, 2009; Badalyan et al, 2012).

Сучасне систематичне положення роду *Ganoderma*:

Царство Fungi

Відділ Basidimycota

Підвідділ Agaricomycotina

Клас Agaricomycetes

Порядок Polyporales

Родина Ganodermataceae Donk

Рід *Ganoderma* P. Karst.

1.1.3. Поширення та практичне значення грибів роду *Ganoderma*

Гриби роду *Ganoderma* широко розповсюджені у тропічних та помірних регіонах планети. Проте найбільше видове різноманіття спостерігається в тропічних і субтропічних регіонах Африки, Америки, Азії та Океанії, а також в південних регіонах Китаю (Zhou et al., 2015; Zhou et al., 2016; Loyd et al., 2018; Xing et al., 2018; Sun et al., 2020). На підставі аналізу молекулярно-систематичних даних було визначено, що цей рід походить саме з тропічних регіонів і утворився приблизно 30 мільйонів років тому, тобто є відносно молодим (Moncalvo & Buchanan, 2008). Однак, мікобіота тропічних регіонів Африки слабо вивчена (Douanla-Meli, 2007), на відміну від Австралії та Південної Америки (Gottlieb & Wright, 1999 a,b; Smith & Sivasithamparam, 2000 a,b, 2003). В Україні, на даний час виявлено 5 видів грибів роду *Ganoderma*: *G. applanatum*, *G. australe* (Fr.) Pat., *G. lucidum*, *G. resinaceum* Boud, *G. tsugae*. (Akulov et al., 2002; Bisko et al., 2020; Іваненко, 2020)

Представники роду *Ganoderma* – трутові гриби, що викликають білу гниль деревини, як листяних, так і хвойних дерев (Leung, 2002; Revankar et al., 2007; Mendonça, 2008). Види цього роду мають широкий спектр рослин-хазяїв – понад 44 види з 34 родів (Venkatarayan, 1936).

В деяких країнах розповсюдження грибів даного роду може завдавати значні економічні збитки. Наприклад, окремі тропічні види – паразити олійних пальм, які є основою економіки окремих регіонів Африки: *Ganoderma zonatum*

Murrill, *G. miniatocinctum* Steyaert, *G. boninense* Pat. (Pilotti, 2005; Susanto et al., 2005; Coetzee, 2015). Існує велика кількість публікацій щодо розробки способів боротьби з розповсюдженням *G. boninense* для збереження популяцій олійних пальм (Widiantini et al., 2019; Aziz et al., 2019). А такі види, як *G. lucidum*, *G. applanatum*, *G. tsugae*, *G. carnosum* завдають шкоди декоративним та дикоростучим деревам, спричинюючи загнивання коренів та стовбурів (Adaskaveg and Gilbertson 1986). Також види роду *Ganoderma* призводять до загибелі таких цінних порід рослин, як *Areca catechu* L. (бетель) (Singh, 2013), *Camellia sinensis* L. (чай), *Cocos nucifera* L. (кокос) (Kinge et al., 2015), та *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg. (каучук) (Monkai et al., 2016).

1.1.4. Культивування грибів роду *Ganoderma*

Для культивування плодових тіл *G. lucidum* використовують екстенсивний та інтенсивний методи.

При екстенсивному методі вирощування як субстрат використовують колоди листяних порід деревини різного розміру. Метод був розповсюджений у Китаї до кінця 80-х років ХХ ст. і був заснований на використанні колод довжиною 1 м без попередньої стерилізації. Такий метод потребував довготривалого періоду інкубації (2-3 роки) і великих затрат для отримання плодових тіл (Pegler, 2002).

На зміну йому у Японії був введений інший метод вирощування *G. lucidum* із використанням колод твердих порід широколистяних дерев. Колоди складають у поліпропіленові пакети і стерилізують, а далі інкубують за умов відсутності світла та зниженого вмісту кисню. Інокуляція проводиться попередньо підготовленим субстратом, що вже містить посівний міцелій. Збір плодових тіл можливий вже на 25-30-у добу після появи примордіїв. Цей метод дозволяє отримувати базидіокарпи великого розміру, високої якості і тому наразі широко використовується у Китаї, США, Кореї та Японії (Boh et al., 2007).

Інтенсивний метод відрізняється від екстенсивного тим, що *G. lucidum* вирощують у пропіленових пакетах, заповнених тирсою разом з рисовими

висівками (10 %) та карбонатом кальцію (3 %). Субстрат зволожують до 60 % та формують у блоки по 700 – 1000 г. Далі блоки покривають бавовною і обробляють паром протягом 5 год. за температури 95 – 100 °С. Потім блоки охолоджують до кімнатної температури протягом 12 год. та інокулюють. Приблизно через 2-3 місяці після появи примордіїв утворюються зрілі плоді тіла (Royle, 1996).

В залежності від регіону пропонують різноманітні варіанти складових субстрату для культивування *G. lucidum* цим методом. Chen (2003) рекомендує використовувати суміш, що містить тирсу дуба (80 %), необроблені висівки пшениці (18 %), сахарозу (1 %), карбонат кальцію (1 %). Також для формування живильних субстратів використовують залишки від соняшникового насіння (Gonzalez-Matute et al., 2002), зерен злакових культур (Yang et al., 2003), сої (Hsieh et al., 2004) тощо. Тирса дерев широколистяних порід, лущиння насіння бавовника, кукурудзяні качани, неочищена солома, пшеничні та рисові висівки, кукурудзяний порошок, сульфат амонію та сечовина також використовуються у субстратах для культивування *G. lucidum*. (Maldonado et al., 1998; Xia et al., 2003; Mahapatra et al., 2009).

З часом попит на біологічно активні речовини, що містяться у грибах роду *Ganoderma*, тільки зростає, тому і постала необхідність у розробці швидшого та дешевшого способу культивування для подальшого отримання цільових продуктів.

З 90-х років ХХ ст у Китаї був розроблений метод подвійного спрямування твердофазної ферментації. Особливість цієї технології полягає в тому, що штами лікарських грибів, у тому числі видів роду *Ganoderma*, культивують на спеціальному субстраті, який складається з китайських лікарських трав замість традиційного живильного середовища. Під час ферментації лікарські сполуки в субстраті забезпечують гриби поживними речовинами для росту. У той же час, гриби синтезують ферменти, які змінюють складові компоненти субстрату, що призводить до появи нових функціональних речовин. Таким чином, за допомогою двонаправленої

ферментації виробляють біологічно активні сполуки (Zhuang et al., 2007). Визначено, що при культивуванні *G. lucidum* таким методом оптимальний час для утворення вторинних метаболітів – полісахаридів, білків та сапонінів у субстраті – 28-а доба (Chen & Chen, 2004).

Вирощування міцелію грибів роду *Ganoderma* на рідких живильних середовищах дозволяє спростити і значно прискорити процеси отримання біоактивних сполук, що накопичуються у міцелії та виділяються в культуральну рідину (Бисько и др., 2012).

Використання різних умов культивування та складу живильного середовища значною мірою впливають на ріст міцелію та продукування біоактивних сполук *G. lucidum* (Yang et al., 1998, Nabijanac et al., 2000, Boh et al., 2007, Sanodiya et al., 2009). Різні автори наводять різноманітні варіації складу живильних середовищ для культивування міцелію в умовах глибинного культивування. За даними Chen (2002) оптимальним є середовище з таким складом, г/л: сахароза – 50,0, дріжджовий екстракт – 10,0, сукцинат амонію – 3,2, K_2HPO_4 – 1,0, MgSO_4 – 0,3, FeSO_4 – 13,0 мг, ZnSO_4 – 4,0 мг, pH – 5,2 (Chen, 2002). Chang та Houng наводять такий склад живильного середовища, г/л: коричневий цукор – 71,4, знежирене молоко – 18,4, солодовий екстракт – 12,1, оливкова олія – 3,96, сафлорова олія – 3,44, дріжджовий екстракт – 2,28, CaCO_3 – 1,88, pH 6,5 (Chang & Houng, 2006). Yang та Liao приводять такий склад, г/л: глюкоза – 50,0, хлорид амонію 4,0, дріжджовий екстракт – 1,0; K_2HPO_4 – 0,5; KH_2PO_4 – 0,5; MgSO_4 – 0,5; pH 4–4,5 на 1 л дистильованої води (Yang & Liao, 1998).

Проте окрім складу живильного середовища та початкового рівня pH важливими для синтезу біологічно активних сполук є також інші фактори – температура, швидкість перемішування, аерація та ін. (Zhang et al., 2008).

1.2. ОСНОВНІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ГРИБІВ РОДУ GANODERMA

1.2.1. Полісахариди

З плодових тіл та міцелію представників роду *Ganoderma* було виділено велику кількість різноманітних за структурою полісахаридів (Bao et al., 2002, Бісько та ін., 2012, Ma et al., 2018). β -глюкани можуть також існувати в поєднанні з гетерополісахаридними послідовностями ксилози, манози, галактози та у вигляді β , D – глюкан-білкового комплексу (Sudheer et al., 2019). Дослідження показали, що найбільший імуномодельючий ефект проявляють водорозчинні β -1-3 та β -1-6 D-глюкани. Також існують відомості про інші імуномодулюючі полісахариди, такі як глікопептиди та протеоглікани (Fang et al., 2002). Відомо, що вони містяться у плодових тілах, а також у міцелії багатьох видів грибів роду *Ganoderma* (Xu et al., 2011b; Zhou et al., 2012; Nie et al., 2013). Окрім того, різноманітні дослідження показали, що більше 600 видів грибів з інших таксономічних груп також містять протипухлинні та імуномодельючі полісахариди. Полісахариди в сукупності з білками можуть розглядатись як новий тип протипухлинних сполук (Теплякова и др., 2011).

Основним способом добування полісахаридів є екстракція гарячою водою. Традиційно процедура екстрагування починаються із знеліпіднення зразків органічними розчинниками або з 80 % етанолом для усунення низькомолекулярних сполук. Після цього зразок послідовно екстрагують водою (100° С протягом 3 год) розчинами лугів за різних температур (наприклад, 2 % оксалату амонію при 100 ° С протягом 6 год та 5 % гідроксиду натрію при 80° С протягом 6 год). Також, як допоміжні фактори можуть використовуватись мікрохвильові, ультразвукові опромінювачі, які сприяють руйнуванню клітинної стінки та збільшують вихід екстрагованих полісахаридів (Ferreira et al., 2015).

Механізм дії β -1,3/1,6-глюкану (рис. 1.2.1.1) пояснюється високою селективністю по відношенню до специфічних рецепторів на поверхні макрофагів, які зв'язуються з нерозгалуженою частиною молекули, що призводить до активації макрофагів та, в свою чергу, викликає серію процесів імунної відповіді організму людини (Chen & Seviour 2007). В першу чергу активується фагоцитарна функція макрофагів, а також починається посилений

синтез інтерлейкінів та інтерферонів, що, в свою чергу, є сигналом для активації Т-лімфоцитів (Williams, 1997).

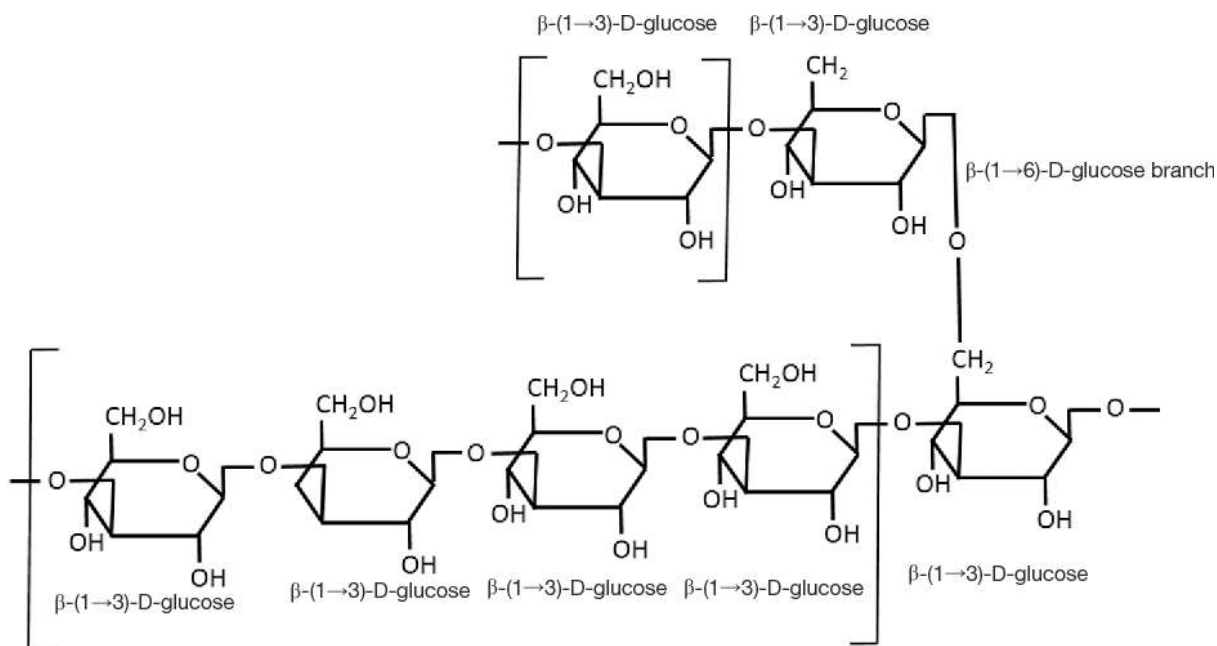


Рис. 1.2.1.1 Структурна формула β -1,3/1,6-глюкану (<https://www.semanticscholar.org>)

Тобто полісахариди грибів впливають на ракові клітини не безпосередньо, а стимулюючи імунну відповідь організму людини. Новий клас препаратів з лікарських шапинкових грибів був названий модифікаторами біологічної відповіді. Ці препарати використовуються у якості супроводжуючої терапії при лікуванні ракових захворювань паралельно з хірургією, хімотерапією та радіотерапією.

Головною проблемою хімотерапії та радіотерапії при лікуванні онкозахворювань є послаблення природних імунних функцій організму. Використання грибних модифікаторів біологічної відповіді під час лікування онкологічних захворювань дозволяє зменшити вплив шкідливих побічних ефектів на пацієнтів та допомагають пригнічувати ріст пухлин. Більшість з цих препаратів активують природні імунні функції організму і можуть використовуватись як підтримуюча терапія, а також для профілактики ракових захворювань (Вассер, 2015).

Відомо, що деякі отримані полісахариди з видів роду *Ganoderma* виявляють антибактеріальну дію активність, пригнічуючи ріст бактерій в деяких випадках шляхом їх знищення. Окрім того полісахариди здатні проявляти антиоксидантну дію, деактивуючи вільні радикали, а також зменшувати хелатуючий вплив іонів заліза.

1.2.2. Тритерпеноїди

На даний час існують дані щодо 140 різноманітних за структурою тритерпенів (Kim et al., 1999; Sudheer et al., 2019). Загальна формула тритерпенів - $C_{30}H_{48}$, $(C_{10}H_{16})_3$. До тритерпеноїдів, ідентифікованих в плодових тілах, спорах та міцелії грибів роду *Ganoderma* відносяться також ганодерові кислоти – ланостанові тритерпеноїди, люциденові, ганодермові, ганодерікові, ганолуцидові кислоти, люцидони, ганодеріоли, ганодермадіоли, ганодерманонтріол, ганодерманондіол, люцидадіол та ін. (Hsu et al., 2014). Згідно із базою даних PubChem на даний час існує понад 60 видів ганодерових кислот (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Проте сполуки даного ряду були виявлені не лише в грибах роду *Ganoderma*. Ланостанові сполуки також були виявлені у грибах: *Albatrellopsis flettii* (Morse ex Pouzar) Audet, *Antrodia cinnamomea* T.T. Chang & W.N. Chou, *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan, *Astraeus odoratus* Phosri, Watling, M.P. Martín & Whalley, *A. pteridis* (Shear) Zeller, *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvardeen, (= *Tyromyces fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) Donk, *Datroniella scutellata* (Schwein.) B.K. Cui, Hai J. Li & Y.C. Dai, (= *Fomitopsis nigrescens* (Bres.) Bondartsev & Singer.), *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Ganoderma hainanense* J.D. Zhao, L.W. Hsu & X.Q. Zhang, *Hebeloma versipelle* (Fr.) Gillet, *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm. (= *Naematoloma fasciculare* (Huds.) P. Karst.), *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát., *Jahnoporus hirtus* (Cooke) Nuss, *Laetiporus miniatus* (Jungh.) Overeem, (= *L. sulphureus* var. *miniatus* (Jungh.) Imazeki), *Lenzites betulina* (L.) Fr., *Microporus affinis* (Blume & T. Nees) Kuntze, *Niveoporofomes spraguei* (Berk. & M.A. Curtis) B.K. Cui, M.L.

Han & Y.C. Dai (= *Fomitopsis spraguei* (Berk. & M.A. Curtis) Gilb. & Ryvarden), *Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat., *Pisolithus arhizus* (Scop.) Rauschert, *Rhodofomes roseus* (Alb. & Schwein.) Vlasák, (= *Fomitopsis rosea* (Alb. & Schwein.) P. Karst.), *Taiwanofungus camphoratus* (M. Zang & C.H. Su) Sheng H. Wu, Z.H. Yu, Y.C. Dai & C.H. Su (= *Antrodia camphorata* (M. Zang & C.H. Su) Sheng H. Wu, Ryvarden & T.T. Chang), *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. (= *Poria cocos* F.A. Wolf) (Белова, 2016).

Ганодерові кислоти проявляють різноманітну дію на організм людини. Ганодерова кислота А (рис. 1.2.2.1) може інгібувати вивільнення гістаміну та покращувати функціонування органів травлення у людини (Sanodiya et al., 2009). Фармакологічні дослідження показали, що ганодерова кислота А сприяє зниженню артеріального тиску і може регулювати функціонування печінки (Koyama et al., 1997; Chen et al., 2017). Проведені дослідження також довели, що ганодерова кислота А може виступати ефективним індуктором апоптозу (Wang, 2017), інгібувати фосфорилування STAT-3. Білки STAT – це сімейство еукаріотичних факторів транскрипції, які опосередковано впливають на активність цитокінів та факторів росту клітини (Ren et al., 2008).

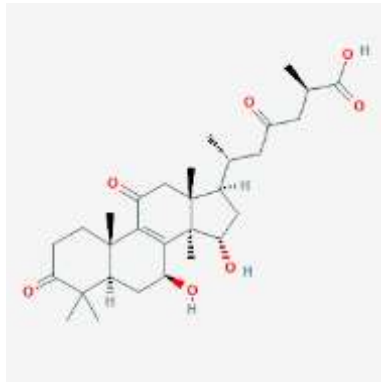
Ганодерова кислота С2 (рис. 1.2.2.1) є основним тритерпеноїдом у спорах *G. lucidum*, а також зазвичай присутня у спорах інших видів роду *Ganoderma* (Keuroou et al., 2010). Доведено, що вона проявляє антигістамінні, протипухлинні та цитотоксичні властивості (Guo et al., 2013).

Ганодерова кислота D (рис. 1.2.2.1) є одним з основних активних компонентів міцелію, спор та плодових тіл *G. lucidum*. Була вивчена її цитотоксична дія на лінії клітин раку товстої кишки. Доведено, що ганодерова кислота D інгібує ріст клітин HT29 і SW62 та індукує метаболічне перепрограмування клітин раку товстого кишечника (200 ммоль / л протягом 24 год), що проявляється у зниженні засвоєння глюкози, зменшенні синтезу лактату, пірувату та ацетил-КоА. Тобто, ганодерова кислота D може регулювати метаболізм клітин різних ліній раку товстого кишечника і застосовуватись як допоміжний засіб при його лікуванні (Liu et al., 2018a).

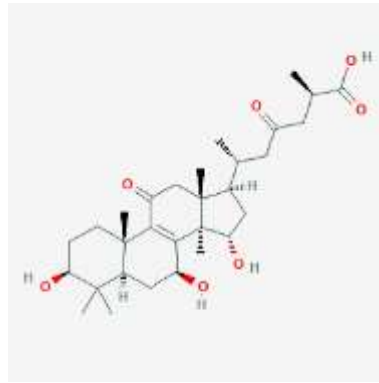
Ганодерова кислота F (рис. 1.2.2.1) активно інгібує ангиогенез, спричинений матригелем (екстракт позаклітинного матриксу) *in vivo*. Існують фармацевтичні препарати, що містять ланостанові терпеноїди, отримані з *G. lucidum*. Серед них і ганодерова кислота F, яка була вказана, як речовина, що інгібує канцерогенез та пригнічує активацію вірусу Епштейна-Барра, а також є інгібітором ангиотензин-І перетворюючого ферменту (АПФ) (Daskayadikmen et al., 2017).

Ганодерова кислота DM (рис. 1.2.2.1) проявляє потужну антипроліферативну та антиметастатичну дію на клітини різних ліній раку людини (Wu et al., 2012, Miyamoto et al., 2009). Більша частина досліджень зосереджена на використанні цієї сполуки як альтернативного або додаткового терапевтичного засобу при лікуванні раку. Доведена ефективність ганодерової кислоти DM у лікуванні раку передміхурової залози, меланоми, раку молочної залози, менингіоми (Bryant et al., 2017). Вона проявляє також інгібуючу дію на поділ остеокластів (Liu et al., 2010). Показано вплив ганодерової кислоти DM як на андрогензалежні, так і на андрогеннезалежні клітини раку простати, зменшуючи при цьому остеокластогенез на пізній стадії метастатичного захворювання (Johnson et al., 2010).

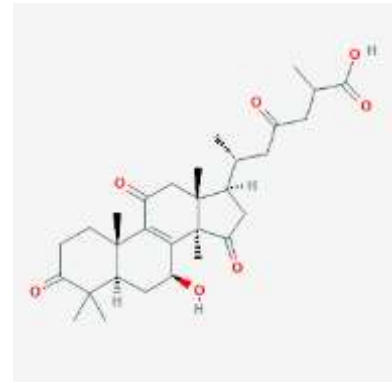
Ганодерові кислоти X та Y (рис. 1.2.2.1) проявляють цитотоксичну дію *in vitro* на клітини гепатоми (Li et al., 2012). Було виявлено, що ганодерова кислота Y впливає на активність HMG-CoA-редуктази, а ганодерова кислота X інгібує топоізомеразу I та топоізомеразу IIa – ферменти, що безпосередньо впливають на структуру та функції ДНК (Наїдж, 2005). Ганодерова кислота X також здатна інгібувати топоізомеразу та стимулювати апоптоз ракових клітин. (Li et al., 2005, Wang et al., 2015).



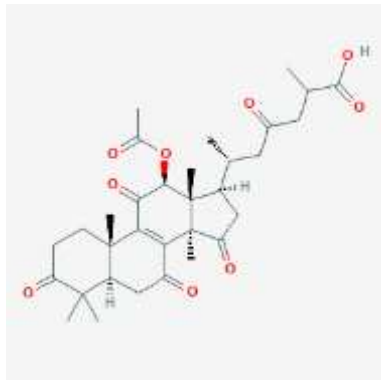
Ганодерова кислота А



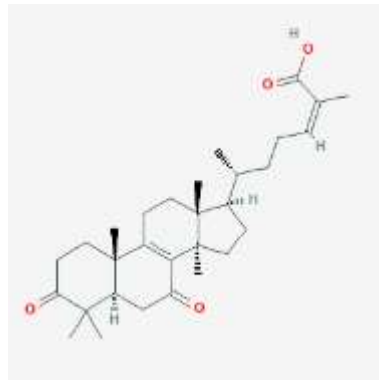
Ганодерова кислота С2



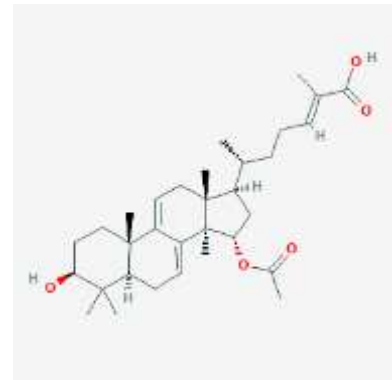
Ганодерова кислота D



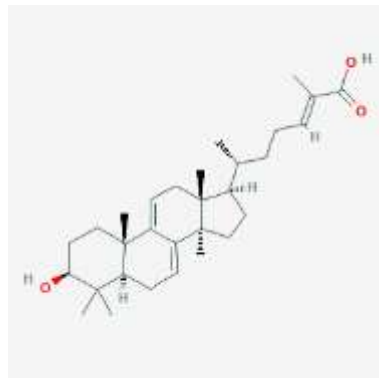
Ганодерова кислота F



Ганодерова кислота DM



Ганодерова кислота X



Ганодерова кислота Y

Рис. 1.2.2.1 Структура ганодерових кислот А, С2, D, F, DM, X та Y (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Аналіз літературних джерел вказує на те, що більшість описаних ГК були виділені з плодових тіл *G. lucidum*. Проте усі інші досліджені види роду *Ganoderma* на предмет наявності ГК обов'язково їх містили. Види та штами

різного географічного походження відрізняються між собою за вмістом, складом та співвідношенням різних ГК (Su et al., 2001, Xia et al., 2014).

1.2.3. Пептиди

До складу плодових тіл, міцелію та спор *G. lucidum* входять пептиди різного складу, які проявляють різноманітну біологічну активність (Xu et al., 2011).

Встановлено, що серед них є білки – деактиватори рибосом, антибактеріальні протеїни, білки, що входять до складу рибонуклеази та лакази (Королева, 2006, Teerapatsakul et al., 2007). Усі ці сполуки прямо чи опосередковано впливають на регулювання імунної відповіді. Серед інших білків ізольовано грибний імуномодельючий білок (FIP), який відіграє суттєву роль в протипухлинних та протиалергічних реакціях, а також проліферації лімфоцитів (Kino et al., 1989, Li et al., 2011). На даний час відомо 7 видів білків FIP, які виділені з плодових тіл різних видів роду *Ganoderma* та інших видів макроміцетів. Це LZ-8 (*G. lucidum*), FIP-gts (*G. tsugae*), FIP-fve (*Flammulina velutipes* (Curtis) Singer), FIP-vvo (*Volvariella volvacea* (Bull.) Singer), FIP-gmi (*G. japonicum* (Fr.) Sawada) та FIP-gsi (*G. sinense*) (Kino et al., 1989, Li et al., 2011). Одна молекула FIP містить від 110 до 114 амінокислот. FIP LZ-8 містить невелику кількість вуглеводів, в той час як інші FIP - це чисті білки без включень вуглеводів. Так як вміст білку FIP у *G. lucidum* невисокий, існує можливість збільшити його синтез методом генної інженерії через клонування генів FIP в прокаріотичних та еукаріотичних організмах (Tsai et al., 2007; Huang et al., 2008).

1.2.4. Ферменти

Плодові тіла та міцелій грибів роду *Ganoderma* утворюють мультиферментний комплекс, який може бути застосований, наприклад, в деревообробній та паперовій промисловості (Sudheer et al., 2019).

Існують основні групи ензимів лігнолітичної дії *G. lucidum*: лігнінпероксидази, манганзалежні пероксидази, лакази (Murugesan et al., 2009).

Вони здатні утворювати фенокси-радикали шляхом окиснення фенольних сполук. Катіонні радикали формуються шляхом окиснення нефенольних сполук. Більшість компонентів лігніну є нефенольними ароматичними сполуками з високим окисно-відновним потенціалом, які окиснюються за рахунок манганзалежних пероксидаз та лігнінпероксидаз. В свою чергу, нефенольні ароматичні сполуки з відносно низьким окисно-відновним потенціалом окиснюються лакказами (Trevor, 1999). Саме вони є найважливішими у процесі розпаду лігніну завдяки властивості каталізувати реакцію електровідновлення кисню по безмедіаторному механізму. Цей феномен привертає увагу до подальших досліджень кінетичних та електрокаталітичних властивостей ферменту, як каталізатора електродних процесів (Шлеев, 2003).

Особливості лаказ можуть бути використані під час розробки катодів біопаливних елементів, для створення антимікробних композицій у харчовій та косметичній промисловості, в целюлозно-паперовій промисловості для делігніфікації паперової пульпи, при виробництві миючих засобів, у текстильній промисловості для відбілювання тканин, для знебарвлення і детоксикації стічних вод, для отримання деревоволокнистих плит без застосування токсичних сполук та в інших галузях (Дуденко, 2012).

1.2.5 Фенольні сполуки

Фенольні сполуки – важливі компоненти, що містяться в міцелії та плодових тілах *G. lucidum*. Їх можна поділити на прості феноли та фенольні кислоти, такі як галова, бензойна, бузкова, хлорогенова кислоти та поліфеноли. Поліфеноли в свою чергу поділяються на флавоноїди, таніни/таніди (Hayere et al., 2010). Флавоноїди – група сполук, які чинять позитивний терапевтичний ефект на організм людини. Він полягає в очищенні від вільних радикалів, пригніченні гідролітичних та окисних ферментів. Флавоноїди також проявляють протизапальну дію (Frankel, 1997). Біологічна активність цих сполук проявляється саме в антиоксидантній активності, деякі фенольні сполуки мають здатність впливати на сульфатну коньюгацію.

Активність фенолів може бути пов'язана з їх здатністю хелатувати метали, інгібувати ліпоксигенази та позбавлятися вільних радикалів (Decker, 1997). Heleno зі співавторами (Heleno et al., 2012) дослідили, що фенольні сполуки з плодових тіл та міцелію *G. lucidum* мають значно вищий антиоксидантний потенціал, ніж відповідні полісахариди.

Вони були виявлені в плодових тілах різних видів їстівних та неїстівних грибів: *Amanita rubescens* Pers., *Boletus edulis* Bull., *Cantharellus cibarius* Fr., *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Hydnum repandum* L., *Hygrophoropsis aurantiaca* (Wulfen) Maire, *Hygrophorus agathosmus* (Fr.) Fr., *H. olivaceo-albus* (Fr.) Fr., *Laccaria amethystine* Cooke, *Lactarius aurantiacus* (Pers.) Gray, *L. salmonicolor* R. Heim & Leclair, *Lepista inversa* (Scop.) Pat., *Mycena haematopus* (Pers.) P. Kumm., *Russula caerulea* Fr., *R. cyanoxantha* (Schaeff.) Fr., *R. delica* Fr., *R. sardoniana* Fr., *Suillus bellini* (Inzenga) Kuntze, *S. collinitus* (Fr.) Kuntze, *S. granulatus* (L.) Roussel, *S. luteus* (L.) Roussel, *S. mediterraneensis* (Jacquet. & J. Blum) Redeuilh, *Tricholoma atrosquamosum* Sacc., *T. equestre* (L.) P. Kumm., *T. sulphureum* (Bull.) P. Kumm. та *Tricholomopsis rutilans* (Schaeff.) Singer (Zárate-Chaves et al., 2013). Феноли були знайдені також в плодових тілах роду *Ganoderma*: *G. lucidum*, *G. sinense*, *G. cochlear* (Blume & T. Nees) Merr., *G. applanatum*, *G. pfeifferi* Bres., *G. boninense*, *G. tsugae* та *G. carnosum*, (Mau et al., 2005, Gao et al., 2017, Liu et al., 2018b, Surendran et al 2018, Costa et al., 2019b, Abdul-Hadi et al, 2020, Yalcin et al., 2020).

1.2.6. Інші сполуки

Вміст алкалоїдів в плодових тілах та міцелії *G. lucidum* зовсім незначний. Алкалоїди холін і бетаїн були виділені зі спор *G. lucidum* (Xu, Li, 2019). Було виявлено, що у трутовику лакованому наявні алкалоїди та інші похідні за хімічною будовою речовини: сапоніни, флавоноїди, таніни (Sanodiya et al., 2009; Pietta, 2000).

Нуклеозиди

До нуклеозидів відносять аденозин та 5-диокси-5'-метилсульфанілат-аденозин. Аденозин, виділений з плодових тіл *G. lucidum*, пригнічує агрегацію тромбоцитів, зменшуючи ризик інфаркту і тромбозів людини (Mizuno, 1995).

Амінокислоти

Аналіз плодових тіл *G. lucidum* показав наявність 16-ти амінокислот: глютамінова кислота, аспарагінова кислота, гліцин, аланін, треонін, валін, пролін, лейцин, серин, ізолейцин, фенілаланін, аргінін, лізин, тирозин, гістидин, метіонін, серед яких 8 – незамінні (Sanodiya, et al., 2009).

Ліпіди та жирні кислоти

Основними жирними кислотами міцелію *G. lucidum* є пальмітинова, лінолева, олеїнова та стеаринова (Yang et al., 2000). Встановлено, що жирні кислоти, які містяться в спорах *G. lucidum*, можуть пригнічувати проліферацію пухлинних клітин (Lv et al., 2012). Ненадецилова кислота, яка також накопичується в міцелії грибів даного виду, має високу інгібуючу активність, не поступаючись гептадекановій, стеариновій та пальмітиновій кислотам (Fukuzawa et al., 2008). Доведено, що фосфатидні кислоти відіграють важливу роль при передачі мембранних сигналів та у механізмах захисту від інфекцій і пошкодження тканин, спричинених запаленням (Gao et al., 2003).

Стероли та ергостерол

Стероли – це похідні тритерпенів. У своїх публікаціях Наїїаї зі співавторами виділили та ідентифікували 26 видів оксистеролів, в тому числі ганодерол А та ганодерол В. Автори зазначають, що оксистероли можуть стати основою для створення нових засобів, які стимулюватимуть зниження рівня холестерину в крові (Наїїаї et al., 2005).

Ергостерол – надзвичайно важлива біологічно активна сполука, яка є попередником вітаміну D та підтримує цілісність мембрани клітин грибів. При порівнянні вмісту ергостеролу у двох видах грибів роду *Ganoderma* встановлено, що вміст ергостеролу у плодових тілах *G. lucidum* більший (середній вміст – 705,0 мкг/г), ніж у плодових тілах *G. sinense* (середній вміст, 80,1 мкг/г) (Lv et al., 2012).

Мікроелементи

Mizuno (1995) дослідив, що водні екстракти з плодових тіл трутовика лакованого у своєму складі містять також мікроелементи: калій, кальцій, магній. Проте варто відмітити, що можлива різниця у якісному та кількісному хімічному складі цих екстрактів. Такі відмінності пояснюються різними чинниками: походженням штаму, умовами вирощування, стадією росту, на якій відбирається зразок, а також способом екстракції. В результаті аналізу плодових тіл *G. lucidum*, вирощених на деревині, були виявлені такі хімічні елементи: фосфор, кремній, сірка, калій, кальцій і магній. Також були присутні залізо, натрій, цинк, мідь, марганець і стронцій, але у меншій кількості. В окремих випадках плодове тіла *G. lucidum* можуть містити важкі метали – свинець, кадмій і ртуть (Chen et al., 1999).

Слід зауважити, що види роду *Ganoderma* накопичують германій. Германій – п'ятий за концентрацією у клітинах (489 мг/г) серед мінеральних сполук, що були виявлені в плодових тілах *G. lucidum*, зібраного в природних умовах (Chiu et al., 2000). Германій проявляє протипухлинні, антиоксидантні та антимуутагенні властивості (Kolesnikova et al., 1997).

1.3. ЛІКАРСЬКІ ВЛАСТИВОСТІ ВИДІВ РОДУ *GANODERMA*

1.3.1. Загальні відомості

Дослідженню лікарських властивостей видів роду *Ganoderma* присвячено велику кількість публікацій (Mizuno, 1995; Wang & Ng, 2006; Wasser, 2013; Peng et al., 2018; Si et al. 2018). Було вивчено не лише окремі речовини, що містять гриби, але й їх суміші, отримані за допомогою різних розчинників. Було встановлено, що екстракти з *G. lucidum* (наприклад, полісахаридна фракція, метанольний екстракт тощо) проявляють мітогенну активність щодо спленоцитів мишей та моноцитів периферійної крові людини в присутності різноманітних імуностимулюючих або імунопрігнічуючих речовин (Мао, 1999). Також відомо, що метанольні екстракти *G. lucidum* мають високу антиоксидантну активність (Mau et al., 2002 a,b, Kumari et al., 2016).

Залежно від концентрації очищена фракція протеогліканів з плодових тіл *G. lucidum* стимулює активацію спленоцитів мишей, активує макрофаги, сприяє зростанню рівня ІЛ-1 β , та експресії генів ІЛ-12p35 та ІЛ-12p40, а також зростанню синтезу NO (оксид нітрогену), що є важливим хімічним посередником у низці біологічних процесів (Zhe, 2007). Подібний ефект спостерігався при вивченні цитотоксичності щодо клітин мишачої лейкемії L 1210. β -D-глюкан – ганодеран, що був виділений із *G. lucidum*, активував синтез NO макрофагами. В залежності від збільшення кількості NO спостерігався прямо пропорційний ріст рівня цитотоксичності (Han, 1998)

Продемонстровано, що водний та етанольний екстракти з плодових тіл *G. lucidum* мають здатність до збільшення числа натуральних кілерів (На, 2003). Ряд біологічно активних сполук, що містить *G. lucidum*, здатні зменшувати проявлення алергічних реакцій за рахунок блокади вивільнення гістаміну. Як відомо із деяких робіт (Russel et al., 2006; Gao, 2007), водний екстракт плодового тіла *G. lucidum* може інгібувати вивільнення гістаміну з тучних клітин у щурів. Аналогічну дію проявляє циклооктосірка (Russel et al., 2006). Окрім цього, відомо, що вивільнення гістаміну у щурів, індуковане

сполукою 48/80 та конканаваліном А, може бути пригнічене ганодеровими кислотами С і D (Wasser, 2005).

1.3.2. Антиоксидантна активність

Відомо, що вільні радикали та активні форми кисню, які є побічними продуктами процесів метаболізму людини здатні руйнувати клітини шляхом їх окиснення. Тривала дія вільних радикалів та активних форм кисню призводить до численних захворювань. Дослідження доводять, що екстракти *G. lucidum* здатні підвищувати активність ферментів, які беруть участь в деактивації вільних радикалів та активних форм кисню. Були проведені експерименти щодо антиоксидантних властивостей різних фракцій водних екстрактів *G. lucidum*, в результаті яких продемонстровано, що фракції з великим вмістом терепенів проявляли сильнішу антиоксидантну активність у порівнянні із фракціями з високим вмістом полісахаридів (Cör et al., 2018).

1.3.3. Антибактеріальні властивості

Нещодавні дослідження показали, що плодове тіла та міцелій *G. lucidum* містить антибактеріальні компоненти, здатні інгібувати ріст грам-позитивних та грам-негативних бактерій (Wasser, 2013). Водні екстракти, а також екстракти, отримані за допомогою розчинників з плодових тіл та міцелію штамів видів роду *Ganoderma*, можуть пригнічувати різні види грам-позитивних та грам-негативних бактерій (Kamble et al., 2011; Khatijah et al., 2014). Був проведений експеримент з паперовими дисками, які просочувалися водними екстрактами міцелію *G. lucidum*, вирощеного у глибинній культурі. При цьому спостерігали затримку росту грам-позитивних бактерій *Bacillus cereus* Frankland et Frankland, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, *Streptococcus pyogenes* Rolly (Lyndal, 2004). Гексановий екстракт із міцелію *G. lucidum* може повністю пригнічувати ріст *B. cereus*, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Listeria monocytogenes* Pirie, в той час як дихлорметановий екстракт — ріст *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *Streptococcus epidermidis* Winslow & Winslow, а етилацетатний екстракт абсолютно пригнічує ріст *S. aureus*, *L. monocytogenes* (Lyndal, 2004). Метанольний екстракт, в свою чергу, здатен

інгібувати ріст *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis* Schleifer and Kilpper-Bälz, *L. monocytogenes*, *Streptococcus mutans* Clarke, *Pseudomonas aeruginosa* Migula (Kamra, 2012).

Метанольний та петролейний екстракти плодових тіл *G. lucidum* показали інгібуючу активність по відношенню до антибіотикорезистентного штаму *Staphylococcus aureus* (Prasad, 2008). Подальші дослідження показали, що антимікробні комбінації екстракту *G. lucidum* з чотирма антибіотиками (ампіциліном, цефазоліном, окситетрацикліном та хлорамфеніколом) в більшості випадків призводили до адитивних ефектів: синергізм у двох випадках у поєднанні з цефазоліном проти *Bacillus subtilis* та *Klebsiella oxytoca* Flügge (Yoon et al., 1994).

У своїй роботі Автономова (2006) вивчала дію екстрактів з міцелію різних штамів *G. lucidum* по відношенню до 10 тест об'єктів, серед яких 5 видів бактерій, 1 вид дріжджів і 2 види мікроміцетів. При цьому було продемонстровано, що штами одного й того самого виду можуть проявляти інгібуючу дію різної інтенсивності. Що доводить необхідність проведення не тільки видового але і штамового скринінгу для відбору перспективних продуцентів антибіотиків та фунгіцидів.

1.3.4. Антифунгальні властивості

Було проведено ряд експериментів, які довели, що різні екстракти з грибів роду *Ganoderma* проявляють антифунгальні властивості по відношенню до грибів-мікроміцетів. Так, у своїх роботах С. М. Бадалян із співавторами наводять результати щодо пригнічення 20-ма штамами 4-х видів грибів роду *Ganoderma* різного географічного походження: *Ganoderma adspersum*, *G. lucidum*, *G. resinaceum*, *Ganoderma* sp. 3-х видів патогенних для людини мікроміцетів: *Chrysosporium keratinophilum* D. Frey ex J.W. Carmich., *Trichophyton terrestre* Durie & D. Frey та *Microsporium gypseum* Guiart & Grigoraki. Найвища активність була відмічена для *G. adspersum* та *G. resinaceum* (Бадалян та ін., 2012). Багато праць були присвячені

антифунгальній активності саме *G. lucidum* (Wang et al., 2006, Heleno et al., 2013, Stojković et al., 2013 Naveenkumar et al., 2018 a,b).

Проте дані щодо антифунгальної активності інших видів практично відсутні, тому важливо продовжувати дослідження видів роду *Ganoderma* в даному напрямі.

1.3.5. Противірусні властивості

Метаболіти, що продукуються грибами роду *Ganoderma*, мають здатність пригнічувати розвиток вірусних інфекцій. Механізм такого впливу може полягати в запобіганні адсорбції вірусної частки на клітині, блокуванні ферментів вірусів і синтезу нуклеїнових кислот вірусів, а також у активації імунної системи організму (Gao 2003). Такі компоненти, як полісахариди та тритерпеноїди, що були виділені із *G. lucidum*, можуть пригнічувати реплікацію вірусів герпесу, гепатиту В, вірусу імунодефіциту людини та інших вірусів (Gao, 2003).

Наразі відомо, що вірус Епштейна-Барра може сприяти формуванню ракових клітин в організмі людини. Даних, що свідчать про активність грибних екстрактів проти цього вірусу небагато, але, відомо, що деякі ланостанові тритерпеноїди, виділені з *G. sinense*, *G. applanatum*, а також *Hebeloma versipelle* (Fr.) Gillet можуть пригнічувати його реплікацію (Gao et al., 2003, Hong et al., 2005, Qiao et al., 2007).

Було доведено, що речовини, які виділяються базидієвими грибами, здатні інгібувати віруси рослин (Hui, 2003). Механізми впливу полісахаридних екстрактів на вірусні інфекції рослин залежать від їх походження та структурних особливостей, а саме, ступеню полімеризації, заряду молекули, розгалуженості ланцюга, типу глікозидних зв'язків, молекулярної маси тощо (Hui, 2003). Також у своєму дисертаційному дослідженні Т. Круподьорова дослідила вплив на ВТМ водних розчинів культуральної рідини 7 штамів *G. applanatum* та 7 штамів *G. lucidum*. В результаті цього експерименту був доведений негативний вплив вищевказаних розчинів на розвиток ВТМ (Круподьорова, 2009).

Окрему увагу слід приділити впливу метаболітів грибів роду *Ganoderma* на ВІЛ. Синдром набутого імунодефіциту, спричинений ВІЛ-інфекцією, останнім часом став важливою соціальною та медичною проблемою. Анти-ВІЛ-терапія нуклеозидними аналогами, такими як 30-азидо-тимідин, є основним ефективним підходом до лікування синдрому набутого імунодефіциту (Matsushita, 2002). Ці засоби є потужними інгібіторами ВІЛ-зворотної транскриптази та протеази (Menendez-Arias, 2002). Однак, поява лікарсько-стійких варіантів ВІЛ та токсичність цих препаратів суттєво обмежує їх довгострокову ефективність. Останні дослідження показали, що багато біологічно активних речовин з грибів та рослин є активними засобами проти ВІЛ. Ці сполуки належать до різних структурних класів, наприклад, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини, алкалоїди, лігнани, терпени та полісахариди (Vermani et al., 2002). Дослідження *in vitro* показують, що різні тритерпеноїди, отримані з *G. lucidum*, мали потужну інгібіторну активність проти ВІЛ. Люциденова кислота О та люциденовий лактон, виділені з плодового тіла *G. lucidum*, не тільки пригнічували діяльність телячої ДНК-полімерази та ДНК-полімерази щурів-*b*, але й ВІЛ-1 зворотною транскриптазу. Ганодеріол F та ганодерманонтріол, виділені з плодових тіл *G. lucidum*, протидіють активності ВІЛ-1 ЗТ (Wasser, 2013). Ганодерова кислота В та ганодеріол В виявляли потужну інгібуючу дію на ВІЛ-протеазу. Інші тритерпеноїди, включаючи ганодерову кислоту С1, ганодерову кислоту А, ганодерову кислоту Н та ганодеріол А мали помірну активність щодо протеази ВІЛ-1. Крім того, ганодерова кислота В, люцидумол В, ганодерманонтріол, ганодерманондіол і ганодерова кислота А показали значну активність проти протеази ВІЛ-1 (Min et al., 1999).

Завдяки дослідженням та розповсюдженню інформації щодо корисних властивостей грибів роду *Ganoderma* на світовому ринку представлено велике різноманіття біологічно-активних добавок, створених з використанням переважно плодових тіл *G. lucidum* у різних формах випуску: чаї, порошки, мазі, напої, креми і т.п.

Аналіз літературних даних показав, що переважна більшість досліджень науковців з усього світу були сконцентровані на двох видах роду *Ganoderma*: *G. lucidum* та *G. applanatum*. Інші види досліджені недостатньо як в таксономічному, так і в біотехнологічному аспектах.

Для отримання чіткої таксономічної картини роду *Ganoderma* необхідно зібрати якомога більше даних щодо будь яких критеріїв, які можуть бути важливими та значущими у визначенні внутрішньородових відмінностей. В тому числі і мікроморфологічних ознак, вивчення яких із розповсюдженням та доступністю молекулярно-генетичних методів у систематиці відійшло на другий план. При цьому велика кількість ознак для визначення криється в різноманітних структурах саме міцелію, який можна виростити у чистій культурі, завдяки чому можуть відпасти багато проблем пов'язаних із візуальною схожістю плодових тіл різних видів роду *Ganoderma*. Тому одним з ключів для вирішення багатьох таксономічних проблем, які на даний час існують для цього роду, може бути ретельне та досконале вивчення мікроморфологічних ознак міцелію різних видів *Ganoderma* у чистій культурі.

В світі існує гостра необхідність у багатьох біологічно активних речовинах природного походження, що містяться у грибах та рослинах. Тому актуальним залишається пошук нових, перспективних штамів лікарських грибів для отримання промислових об'ємів цінних біологічно активних речовин – полісахаридів та ганодерових кислот, поліфенолів. Ці сполуки можуть бути використані у медицині та фармакології для лікування або профілактики великої кількості хвороб людини. Через те, що *G. lucidum* використовувався у традиційній медицині дуже тривалий час, увага вчених була сконцентрована на дослідженні саме цього виду. Проте значно менший масив даних, щодо вивчення інших видів, роду *Ganoderma*, існує величезний потенціал для досліджень видового та штамового різноманіття з метою отримання відомих, або відкриття нових біологічно активних речовин та біологічної активності грибів роду *Ganoderma*.

Окрім уже відомих застосувань грибів роду *Ganoderma* існують також інші перспективні напрями використання, які практично не досліджені, наприклад, активність по відношенню до вищих рослин. Це також відкриває нові можливості для розуміння взаємодії між організмами різних царств у природі, а також перспективи практичного використання отриманих результатів для боротьби з інвазивними видами, видами-шкідниками і т. п.

З огляду на наявні вище відомості можемо зазначити, що детальне дослідження біологічних властивостей штамів видів грибів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України є актуальним та перспективним.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2020) (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Список досліджених штамів і видів роду *Ganoderma*

Вид	Штам	Походження штаму
<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	1899	Виділено з плодового тіла, Крим, Україна, 2006 р.
<i>Ganoderma carnosum</i> Pat.	2502	Отримано з колекції "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.
<i>Ganoderma lucidum</i> P. Karst.	1904	Виділено з плодового тіла, Крим, Україна, 2006 р.
<i>Ganoderma resinaceum</i> Boud.	2477	Виділено з плодового тіла, Вилкове, Одеська область, Україна, 2016 р.
	2503	Отримано з колекції "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.
<i>Ganoderma sinense</i> J.D. Zhao, L.W. Hsu & X.Q. Zhang	2516	Отримано з колекції "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.
<i>Ganoderma tsugae</i> Murrill	2024	Отримано з колекції Таврійського державного агротехнологічного університету, Мелітополь, Україна, 2010 р.
	2566	Отримано з колекції "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

	1848	Отримано з колекції HAI (International Centre for Cryptogamic Plants and Fungi, Institute of Evolution, University of Haifa), Хайфа, Ізраїль, 2005р.
<i>Ganoderma oregonense</i> Murrill	2560	Отримано з колекції "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

2.2. Живильні середовища для культивування міцелію

Для проведення експериментів були використані такі живильні середовища:

ГПДА – глюкозо-пептон-дріжджовий агар, г/л: глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 3,0; MgSO₄ – 0,25; КН₂ РО₄ – 1,0; К₂НРО₄ – 1,0; агар-агар – 22,0.

СА – агаризоване пивне сусло

ГА – голодний агар, г/л: агар-агар – 22,0.

ГПД – глюкозо-пептон-дріжджове рідке живильне середовище, г/л: глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 3,0; MgSO₄ – 0,25; КН₂ РО₄ – 1,0; К₂НРО₄ – 1,0.

Агаризовані живильні середовища автоклаували при 1 атм, 1 год, двічі з періодичністю в 1 добу.

Рідке живильне середовище автоклаували при 1 атм, 1 год.

2.3. Методи вивчення культурально-морфологічних особливостей міцелію штамів видів роду *Ganoderma*

Морфологія колоній та мікроструктури міцелію описані за класифікацією Сталперса (Stalpers, 1978).

Для опису морфології колоній досліджених штамів міцелій вирощували на ГПДА середовищі у чашках Петрі діаметром 85 мм протягом 7 діб та 30 діб за температури 26,0 ± 0,1 °С. При описі колоній проводилось порівняння молоді (термін культивуванні 7 діб) та старої колонії (термін культивування 30 діб).

Для визначення швидкості росту культур радіуси колоній вимірювали в чотирьох перпендикулярних напрямках на 2-у, 4-у, 6-у, 8-у, 10-у, 12-у та 14-у доби культивування. Розрахунок середньої швидкості радіального росту (V_R , мм/доба) обчислювали за допомогою побудови кривої залежності радіуса міцеліальної колонії від часу культивування. У фазі лінійної залежності приросту радіуса від часу визначали середню швидкість росту (V_R , мм/доба) за формулою (2.2.1):

$$V_R = \frac{R_1 - R_0}{t_1 - t_0} \quad (2.2.1)$$

де R_1 – радіус колонії в кінці фази лінійного росту, R_0 – радіус колонії на початок фази лінійного росту, $t_1 - t_0$ – тривалість лінійної фази росту (доба) (Бисько и др, 2012).

Мікроструктури міцелію досліджували за допомогою методів світлової та сканувальної електронної мікроскопії. Зразки вегетативного міцелію для СМ підготовлювали за допомогою 3 % розчину NaOH та досліджували за допомогою мікроскопа ІБМ 68. Зразки вегетативного міцелію для СЕМ були підготовлені за модифікованою А. С. Бухало методикою Квательбаума та Карнера (Quattelbaum, Carner, 1980, Бухало, 1988). Під час інокуляції міцелію на чашки Петрі з середовищем ГПДА на різній відстані від інокулюму викладались декілька стерильних покривних скельць розміром 4×4 мм. Міцелій інкубували за температури $26,0 \pm 0,1$ °С. Після того, як покривні скельця повністю заросли міцелієм, їх вирізали з поверхні живильного агаризованого середовища та перенесені на предметне скло. Далі скельце поміщали у закриту скляну чашку Петрі з парами тетраоксиду осмію на 6 год. Після закінчення терміну фіксації препарати висушували протягом 72 год у відкритій посудині. Зразки міцелію напиляли золотом та досліджували за допомогою СЕМ JSM-35C та Jeol JSM-6060 LA (Японія) за описаною методикою (Buchalo, Didukh, 2005).

2.4. Вивчення впливу підвищених температур на ріст міцелію

Вплив підвищених температур на ріст міцелію досліджених штамів визначали таким чином: міцелій, що зростав тиждень на чашках Петрі з СА, пересівали на пробірки з таким же живильним середовищем та подальшим розміщенням у термостаті. Початкова температура складала $36,0 \pm 0,1$ °С. При цьому фіксували ріст міцелію за даної температури протягом 3 діб, по завершенню вказаного терміну при відсутності росту, життєздатність міцелію перевіряли, розміщуючи його в умовах оптимальної температури – $26,0 \pm 0,1$ °С протягом 3 діб. Експеримент повторювали із збільшенням температури на 1 °С до фіксації відсутності росту міцелію штаму після переносу його в умови оптимальної температури $26 \pm 0,1$ °С.

2.5. Умови культивування міцелію досліджених штамів

Для отримання інокулюму міцелій обраних штамів культивували на ГПДА у чашках Петрі за температури $26,0 \pm 0,1$ °С.

Умови поверхневого культивування. Міцелій культивували впродовж 14 діб за температури $26,0 \pm 0,1$ °С у термостаті в колбах Ерленмеєра об'ємом 250 мл, що містили 50 мл живильного середовища ГПД. Інокуляцію проводили дисками міцелію культур, що були вирощені на ГПДА. Кожну колбу інокулювали п'ятьма дисками діаметром 5 мм, які вирізали стерильною сталевую трубкою на відстані 8–10 мм від краю активного росту колонії у чашці Петрі.

Умови глибинного культивування. Міцелій вирощували впродовж 14 діб на лабораторних качалках (120 об/хв) за температури $26 \pm 0,1$ °С у колбах Ерленмеєра об'ємом 500 мл, що містили 100 мл живильного середовища ГПД. Інокуляцію середовища проводили гомогенізованим інокулюмом, вирощеним у чашках Петрі на ГПДА. Інокулюм вносили в колби у кількості 10 % від об'єму живильного середовища.

Біомасу міцелію, що отримували в умовах поверхневого та глибинного культивування, відділяли від живильного середовища шляхом фільтрації через нейлоновий фільтр. Міцелій висушували до постійної ваги за температури $60,0$

$\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Кількість сухої біомаси розраховували в г/л з урахуванням маси інокулюму.

Для дослідження динаміки біомаси та накопичення ГК міцелій обраних штамів вирощували за умов глибинного культивування. Біомасу знімали на 6-у, 8-у, 10-у, 12-у, 14-у, 16-у, 18-у та 20-у добу культивування з подальшим визначенням вмісту ГК.

2.6. Визначення вмісту біологічно активних речовин у біомасі міцелію досліджених штамів

2.6.1. Визначення вмісту ендopolісахаридів

Екстракцію ендopolісахаридів з біомаси проводили дистильованою водою у співвідношенні 1 : 5 упродовж 16 год у сушильній шафі за температури $98,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Отриманий екстракт осаджували 96 %-м етиловим спиртом у співвідношенні 1 : 2 до об'єму впродовж 24 год за температури $4,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Осад центрифугували при 5000 об/ хв упродовж 25 хв та ресуспензували в гарячій дистильованій воді ($90,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$). Отриману фракцію ендopolісахаридів висушували до постійної маси за температури $60,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Кількість ендopolісахаридів визначали гравіметрично та розраховували у відсотках від сухої маси (Бисько и др., 2012). Вихід ендopolісахаридів визначали як кількість ендopolісахаридів, синтезовану міцелієм, на одиницю об'єму живильного середовища впродовж певного часу культивування (Аль-Маалі, 2016). Кількість повторностей – 4.

2.6.2. Визначення вмісту ганодерових кислот

Ганодерові кислоти (ГК) були виділені з біомаси двома способами. Перший спосіб – згідно з класичною методикою (Tsujikura et al., 1992). На початковій стадії наважку біомаси міцелію (0,1 г) екстрагували у 3 мл 70 % метанола за температури $4,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ протягом 7 діб. Ця операція повторювалась двічі. Після видалення міцелію екстракт випарювали насухо при $50 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ під вакуумом. Залишок розчиняли у дистильованій воді, після чого проводили екстракцію хлороформом. ГК з хлороформного екстракту у подальшому екстрагували 5 мл водного розчину 5 % NaHCO_3 . На наступному

етапі доводили рН водної фази до 2,5 за допомогою 2N HCl, потім екстрагували ганодерові кислоти з водної фази хлороформом. Після видалення хлороформу на вакуумному випарювачі залишок, що містить ГК, розчиняли в абсолютному метанолі. Концентрацію ГК вимірювали при 245 нм на спектрофотометрі СФ 46 ЛОМО (СССР).

Другий спосіб – модифікований нами варіант класичного способу екстракції. На початковій стадії наважку біомаси міцелію (0,1 г) екстрагували у 3 мл 70 % метанола за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ на лабораторній качалці при 120 об/хв протягом доби. Операцію повторювали двічі. Подальші етапи екстракції співпадали з класичною методикою.

Вихід ГК визначали, як кількість ганодерових кислот у біомасі (г) на одиницю живильного середовища (л) протягом часу культивування.

Кількість повторностей – 4.

У відібраних за ознаками високого накопичення біомаси та максимальної виходу ганодерових кислот штамів *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 визначали вміст фенольних сполук, а також їх антибактеріальну, антифунгальну дію та антиоксидантну активність.

2.6.3. Визначення вмісту фенольних сполук в екстрактах біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516

Вміст фенольних сполук визначали таким чином. 0,5 мл метанольного або етилацетатного екстракту біомаси змішували з 0,5 мл реагенту Фолліна-Чокальтеу та витримували 3 хв. за кімнатної температури, після чого додавали 10 мл розчину карбонату натрію (75 г/л) і 5 мл дистильованої води, перемішували та витримували 1 год. в темряві за кімнатної температури. Поглинання зразків вимірювали на спектрофотометрі СФ 46 ЛОМО (СССР) при 750 нм. Вміст фенольних сполук виражали в еквіваленті до тимолу (мг/г) (Donkor et al., 2012). Кількість повторностей – 3.

2.7. Визначення впливу біомаси та різних екстрактів міцелію досліджених штамів на насіння *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*

Біомаса була отримана за допомогою глибинного способу культивування протягом 14 діб, як вказано у п. 2.4.

2.7.1. Отримання екстрактів

Метанольний екстракт отримували шляхом екстракції 2 г біомаси в 6 мл абсолютного метанолу (HANEYWELL, CHROMASOLV™ Gradient for HPLC, gradient grade, ≤ 99.9 %) протягом 7 діб за температури $4,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, операція проводилась двічі.

Етилацетатний екстракт отримували шляхом екстракції 2 г біомаси в 6 мл етилацетату (HANEYWELL, CHROMASOLV™ Gradient for GS, gradient grade, ≤ 99.92 %) протягом 7 діб при температурі $4,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, операція проводилась двічі.

Водний екстракт був отриманий як фракція під час процесу виділення ганодерових кислот за класичною методикою (Tsuji-kura et al., 1992): наважку міцелію 0,1 г екстрагували за допомогою 70 % метанолу протягом тижня двічі при температурі $4,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Після цього отриманий розчин випарювали на роторному випарювачі, а отриману суху речовину змивали 5 мл гарячої води. Надалі отриману суміш змішували з 5 мл хлороформу для подальшої екстракції ганодерових кислот, а водна фракція була використана в даному експерименті.

2.7.2. Визначення впливу біомаси міцелію на насіння

Для визначення впливу біомаси міцелію використовували модифіковану методику, описану Osivand зі співавторами (Osivand et al., 2018). Наважку сухої біомаси (0,1 г) подрібнювали до порошкоподібного стану. Для стерилізації біомаси її поміщали під УФ лампи на 2 год. Як субстрат використовували агаризоване середовище без поживних речовин та мікроелементів (голодний агар). У чашку Петрі діаметром 85 мм рівномірним шаром вносили біомасу міцелію, яку покривали 8 мл голодного агару та залишали до повного застигання, після того поверх вносили ще 8 мл середовища такого ж складу і знову залишали до застигання (концентрація біомаси складає 6,25 мг/мл). На наступному етапі на поверхню голодного

агару на рівній відстані розкладали 10 насінин *Lepidium sativum* L., або 5 насінин *Cucumis sativus* L.

Як контроль використовували чашки Петрі з голодним агаром та насінням аналогічної кількості без додавання біомаси.

На 3-у добу фіксували кількість пророслих насінин та проводили заміри довжини паростку, довжини кореня та загальну довжину рослини. Кількість повторностей – 3.

2.7.3. Визначення впливу екстрактів біомаси міцелію на насіння:

Водну фракцію, що була відібрана в процесі виділення ганодерових кислот з біомаси *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 у кількості 20, 50, 100 та 500 мкл, доводили дистильованою стерильною водою до об'єму 2 мл та рівномірно розподіляли по фільтрувальному паперу, який вкривав чашку Петрі. Надалі на фільтрувальний папір вносили по 10 насінин *L. sativum* або 5 насінин *C. sativus*. Як контроль використовували стерильні чашки Петрі з фільтрувальним папером із додаванням дистильованої стерильної води аналогічного об'єму (без екстрактів) та відповідної кількості насінин *L. sativum* або *C. sativus*. Проростання відбувалось за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ без освітлення. На 3-у добу фіксували кількість пророслих насінин та проводили заміри довжини паростку, довжини кореня та загальну довжину рослини. Кожен експеримент проводили у трьох повторностях.

Метанольний або етилацетатний екстракти біомаси штаму *G. tsugae* 2024 у кількості 20, 50 та 100 мкл доводили абсолютним метанолом чи етилацетатом відповідно до 1 мл об'єму і рівномірно наносили на диск з фільтрувального паперу (попередньо стерилізований з обох сторін за допомогою УФ випромінювання), що повністю покривав стерильну чашку Петрі. Через 24 год. після того як розчинник повністю випаровувався, папір змочували 2 мл стерильної дистильованої води та наносили на папір 10 насінин *L. sativum*. Як контроль використовували стерильні чашки Петрі з фільтрувальним папером із додаванням дистильованої стерильної води аналогічного об'єму (із попереднім змочуванням розчинником аналогічного

об'єму, його висихання протягом 24 год.) та відповідної кількості насінин *L. sativum*. На 3-ю добу фіксували кількість пророслих насінин та проводили заміри довжини паростку, довжини кореня та загальну довжину рослини. Кожен експеримент проводили у двох повторностях.

2.8. Визначення антибактеріальної та антифунгальної активності екстрактів біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516

Антибактеріальну та антифунгальну активність метанольних та етилацетатних екстрактів біомаси досліджених штамів визначали методом лунок (Билай, 1982). Досліджували активність проти 2 видів грам-позитивних бактерій – *B. subtilis*, *S. aureus* та 2 видів грам-негативних – *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* T. Escherich, а також проти 3 видів мікроміцетів: *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium polonicum* K. Zaleski та *Mucor globosus* A. Fisch.

Для росту бактерій використовували живильне середовище Мюллера-Хінтона (МХ), г/л: пептон – 17,0; крохмаль – 1,5; дріжджовий екстракт – 0,5; агар-агар – 17,0, рН – 7. Бактерії росли 1 добу при $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Для росту мікроміцетів використовували ГПДА. Мікроміцети росли 5 діб за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

У чашках Петрі з живильним середовищем МХ або ГПДА діаметром 50 мм в центрі вирізали отвір діаметром 5 мм, у нього вносили 100 мкл етилацетатного або метанольного екстракту біомаси *G. tsugae* 2024 або *G. sinense* 2516, після чого за допомогою мікробіологічного шпателью наносили бактеріальну суспензію, або спорову суспензію мікроміцетів досліджуваних видів. Суспензії готували шляхом внесення бактеріальних колоній або спор мікроміцетів до пробірок зі стерильною дистильованою водою. Як контроль використовували чашки Петрі з додаванням в лунки чистого метанолу або етилацетату. Вплив екстрактів біомаси на ріст культур бактерій та мікроміцетів визначали вимірюванням діаметру зони інгібування. Експеримент проводили у 3 повторностях.

2.9. Визначення антиоксидантної активності екстрактів біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516

Приготування екстрактів було описане у попередньому розділі. Етилацетатні екстракти були переведені в аналогічний до об'єму метанольних за допомогою роторного випарювача. Антиоксидантну активність етилацетатних та метанольних екстрактів біомаси визначали таким чином.

Змішували 800 мкл 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) (0,1 мМ DPPH, розчинений у 95 % метанолі) з 200 мкл екстракту міцелію у скляних віалах. Після змішування зразки витримували в темряві протягом 30 хв. за кімнатної температури. Поглинання зразків вимірювали на спектрофотометрі СФ 46 ЛОМО (СРСР) при 517 нм. Абсолютний метанол використовували як контроль. Розрахунки проводили за формулою (2.8.1) (Elfahri et al., 2016):

$$S (\%) = \frac{P_c - P_s}{P_c} \times 100 \quad (2.8.1)$$

S – показник активності деактивації вільних радикалів, P_c – показник поглинання контрольного зразка, P_s – показник поглинання досліджуваного зразка.

2.10. Статистична обробка результатів

Одержані кількісні результати при порівняльному вивченні штамів на агаризованому середовищі, такі, як радіус колоній, лінійна швидкість міцеліального росту, маса глибинно чи поверхнево вирощеного міцелію при дослідженні росту на рідких поживних середовищах статистично аналізували за допомогою комп'ютерних програм Origin і MS Excel. Розраховували значення середніх квадратичних відхилень, коефіцієнтів варіації, довірчих інтервалів, у межах яких варіювали швидкості лінійного росту та значення отриманої біомаси грибів. Перевірка достовірності відмінностей в значеннях швидкості лінійного росту проведена через обрахування різниці граничних значень за допомогою двохвибікового t-тесту. У таблицях та рисунках наведені середні статистично достовірні дані при 95 % ймовірності.

РОЗДІЛ 3. КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МІКРОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГРИБІВ РОДУ *GANODERMA*

Завдяки співпраці з колегами із School of Life Science, Huaiyin Normal University (Китай) нами були отримані ДНК послідовності гену малої рибосомальної субодиниці (5,8 S) чотирьох штамів видів, що були використані в ході дослідження. Підтверджена видова приналежність цих штамів, а послідовності були внесені в базу даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI) із присвоєнням номерів: MW748294 – *G. carnosum* 2502; MW748295 – *G. lucidum* 1904; MW748296 – *G. oregonense* 2560; MW748297 – *G. resinaceum* 2477.

3.1. Культурально-морфологічні особливості грибів роду *Ganoderma*

Дослідження, спрямовані на вивчення культурально-морфологічних та мікроморфологічних особливостей грибів роду *Ganoderma*, проводяться у різних країнах вже протягом десятків років (Highley et al., 1987), проте лише незначна кількість публікацій містила результати, отримані за допомогою СЕМ. В Україні культурально-морфологічні та мікроморфологічні особливості грибів даного роду досліджували А.С. Бухало із співавторами та Т.А. Круподьорова (Buchalo et al., 2009, Круподьорова 2009). В результаті аналізу літературних джерел було виявлено, що більшість дослідників вивчали культурально-морфологічні особливості в основному штамів *G. lucidum* та *G. applanatum*. Інші види досліджені фрагментарно. Так, група авторів описали морфологію колоній різних штамів грибів роду *Ganoderma*, патогенних для олійних пальм, а саме: *G. boninense*; *G. miniatocinctum* та *G. zonatum* (Rakib et al 2014). Підсумовуючи отримані дані, очевидно, що відомості щодо культурально-морфологічних особливостей колоній грибів роду *Ganoderma* у чистій культурі фрагментарні та неповні, але при цьому вони є важливими для розуміння цілісної картини значущих таксономічних ознак. Отже подальші

дослідження з вивчення культурально-морфологічних та мікроморфологічних особливостей грибів роду *Ganoderma* є актуальними.

Загалом досліджені штами за радіальною швидкістю росту можна поділити на швидкоростучі (>8мм/добу), ті, що мали середню швидкість росту (4-8мм/добу) та повільноростучі (<4 мм/добу) (Бисько и др., 2012). Найшвидше росли 4 штами: *G. lucidum* 1904, *G. resinaceum* 2477, *G. resinaceum* 2503, *G. applanatum* 1899. Середню швидкість росту демонстрували штами *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566. Повільний ріст був характерний для *G. tsugae* 1848, *G. oregonense* 2560, *G. carnosum* 2502 та *G. sinense* 2516 (табл. 3.1.1).

Таблиця 3.1.1

Швидкість росту міцелію штамів видів роду *Ganoderma* за температури $26,0 \pm 0,1$ °C на ГПДА.

Вид	Штам	Швидкість росту, мм/доба
<i>Ganoderma applanatum</i>	1899	$10,5 \pm 0,2$
<i>Ganoderma carnosum</i>	2502	$3,3 \pm 0,3$
<i>Ganoderma lucidum</i>	1904	$9,7 \pm 0,4$
<i>Ganoderma resinaceum</i>	2477	$11,3 \pm 0,1$
	2503	$11 \pm 0,2$
<i>Ganoderma sinense</i>	2516	$3,5 \pm 0,2$
<i>Ganoderma tsugae</i>	2024	$5,1 \pm 0,1$
	2566	$5,5 \pm 0,3$
	1848	$2,9 \pm 0,3$
<i>Ganoderma oregonense</i>	2560	$3,4 \pm 0,2$

У своїй роботі Круподьорова (2009) також перевіряла швидкість росту культур, в тому числі штамів, які ми використовували у своєму дослідженні: *G. lucidum* 1904 та *G. applanatum* 1899. Проте слід зазначити, що вона використовувала в експериментах агаризоване пивне сушло та інші

температурні умови культивування. А саме: для *G. lucidum* 1904 була зазначена температура 32 °С та для *G. applanatum* 1899 – 28°С. Таким чином, враховуючи дані фактори, можна стверджувати, що в умовах нашого експерименту швидкість росту міцелію *G. lucidum* 1904 на 24,7 % вища ніж у дослідженні Т. А. Круподьорової, а швидкість росту міцелію *G. applanatum* 1899 дещо нижча – на 12,4 %. У своїх працях Бадалян зі співавторами надає відомості щодо морфології колоній та швидкості росту деяких видів роду *Ganoderma*. Для *G. adspersum* швидкість росту колонії складала 4,9 – 6,0 мм/добу, для *G. applanatum* – 3,5-6,0 мм/добу і для *G. lucidum* – 4,8 – 6,1 мм/добу (Badalyan & Gharibyan 2017; Badalyan et al., 2019). Цівільова надавала такі дані щодо швидкості росту на агаризованому пивному суслі: для *G. lucidum* та *G. tsugae* – 7,8 мм/добу, для *G. colossus* – 15,0 мм/добу (Tsvileva et al., 2016).

За результатами наших досліджень колонія *G. tsugae* 2024 (термін культивування 7 діб) шовковиста, у вигляді плівки з ущільненням по центру колонії, з вираженою зональністю, краї не притиснуті, міцелій білого кольору, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.1a). 30-добова колонія штаму *G. tsugae* 2024 з віком набула темно-вохряного та кремового кольорів. Гіфи ущільнились до стану, в якому неможливо розрізнити окремих тяжів – з'єднались між собою у єдину плівку, по верху якої можна спостерігати залишки повітряних відростків міцелію білого кольору. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. Також слід відмітити утворення примордіїв (рис. 3.1.1b).



Рис. 3.1.1a Колонія *Ganoderma tsugae* 2024 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C



Рис. 3.1.1b Колонія *Ganoderma tsugae* 2024 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

Колонія *G. tsugae* 2566 (термін культивування 7 діб) шовковиста, була характерна виражена зональність з ущільненням по центру колонії. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.2a). 30-добова колонія штаму *G. tsugae* 2566 стала щільнішою, зональність відсутня. Колір міцелію залишився переважно білим, проте з'явилась зональна пігментація вохряного кольору. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення, спостерігається утворення примордіїв (рис. 3.1.2b).



Рис. 3.1.2a Колонія *Ganoderma tsugae* 2566 термін культивування 7 діб, ГПДА, при $26,0 \pm 0,1$ °C



Рис. 3.1.2b Колонія *Ganoderma tsugae* 2566 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

Колонія *G. tsugae* 1848 (термін культивування 7 діб) шовковиста, пухка, характерна яскраво виражена зональність. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. Добре помітний поділ гіф на основні – товсті, які ростуть від центру колонії прямими тяжами, та тонші, які від них галузяться у різні сторони (рис. 3.1.3а). 30-добова колонія штаму *G. tsugae* 1848 суттєво ущільнилась, зональність відсутня. Колір залишився переважно білим, але з'явилась зональна пігментація вохряного кольору. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення, утворення примордіїв не спостерігалось. (рис. 3.1.3b).



Рис. 3.1.3а Колонія *Ganoderma tsugae* 1848 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С

Рис. 3.1.3б Колонія *Ganoderma tsugae* 1848 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С

Колонія *G. resinaceum* 2503 (термін культивування 7 діб) була порошиста, мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня. Міцелій білого кольору утворював багаточисленні тяжі, Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. (рис. 3.1.4а). 30-добова колонія штаму *G. resinaceum* 2503 суттєво ущільнилась, структура залишилась порошистою. Колір міцелію білий, без утворення пігментації. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. Спостерігається утворення примордій, які, в свою чергу мали частково темно-кремовий окрас (рис. 3.1.4б). У своїй праці Badalyan та Gharibyan (2017) також описують колонію *G. resinaceum* проте в описі авторів колір колонії з часом змінювався на кремово-жовтий, на відміну від нашого дослідження, в якому такі зміни не спостерігались. Також слід зазначити і те, що автори не відмічали утворення примордій.



Рис. 3.1.4a Колонія *Ganoderma resinaceum* 2503 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C



Рис. 3.1.4b Колонія *Ganoderma resinaceum* 2503 термін культивування 30 діб, на ГПДА, при $26,0 \pm 0,1$ °C

Колонія *G. resinaceum* 2477 (термін культивування 7 діб) була порошиста, мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня. Міцелій білого кольору утворював багаточисельні тяжі. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.5a). 30-добова колонія штаму *G. resinaceum* 2477 суттєво ущільнилась, структура залишилась порошистою. Колір міцелію білий, без утворення пігментації, Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. Утворення примордіїв не відбувалось (рис. 3.1.5b). Семидобова і 30-добова колонії даного штаму морфологічно практично не відрізнялись одна від одної.



Рис. 3.1.5а Колонія *Ganoderma resinaceum* 2477 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С



Рис. 3.1.5b Колонія *Ganoderma resinaceum* 2477 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С

Колонія *G. lucidum* 1904 (термін культивування 7 діб) була порошиста, а ближче до країв – шовковиста, мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня. Міцелій білого кольору, утворював багаточисленні тяжі. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.6а). 30-добова колонія штаму *G. lucidum* 1904 суттєво ущільнилась, структура змінилась на шкірясту. Колір міцелію білий, без утворення пігментації. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення. Відбулось утворення примордія від центру до краю колонії, обмеженою у розмірах чашкою Петрі. (рис. 3.1.6b). Отримані у нашому дослідженні результати схожі із такими ж, що описували Vadalyan та Gharibyan (2017). Ці автори також вказували, що колонія має вищу щільність ближче до центру та утворення примордій, проте зазначали, що край колонії може бути не притиснутий.



Рис. 3.1.6a Колонія *Ganoderma*

Рис. 3.1.6b Колонія *Ganoderma*

lucidum 1904 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

lucidum 1904 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

Колонія *G. oregonense* 2560 (термін культивування 7 діб) шовковиста, зональність відсутня. Поверхня міцелію білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.7a). 30-добова колонія штаму *G. oregonense* 2560 змінила свою структуру, міцелій ущільнився, поверхня стала порошистою. Колір білий, без утворення пігментації. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.7b).

Колонія *G. carnosum* 2502 (термін культивування 7 діб) ватоподібна, міцелій нещільний, пухкий, повітряний, зональність відсутня. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.8a). 30-добова колонія штаму *G. carnosum* 2502 суттєво відрізняється від молоді – міцелій ущільнився, поверхня по краю колонії стала шовковистою, всередині ущільнилась і стала порошистою. З'явилась вохряна пігментація світло-вохряного кольору біля центру колонії з утворенням кільця насиченого вохряного кольору між центром та краєм колонії. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (рис. 3.1.8b).



Рис. 3.1.7а Колонія *Ganoderma oregonense* 2560 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С



Рис. 3.1.7б Колонія *Ganoderma oregonense* 2560 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С



Рис. 3.1.8а Колонія *Ganoderma carnosum* 2502 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С



Рис. 3.1.8б Колонія *Ganoderma carnosum* 2502 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °С

Колонія *G. applanatum* 1899 (термін культивування 7 діб) біля центру порошиста, але шовковиста по краям, зональність відсутня. Міцелій білого кольору, пігментація відсутня, край колонії не притиснутий, реверзум не

змінював забарвлення (рис. 3.1.9а). 30-добова колонія штаму *G. applanatum* 1899 морфологічно суттєво відрізняється від молоді: міцелій став значно щільнішим, поверхня перетворилась на шкірясту. З'явилась вохряна пігментація різної інтенсивності по всій поверхні колонії з незначними залишками міцелію білого кольору. Найінтенсивніша пігментація проявилась у вигляді кільця біля краю колонії темнішого вохряного відтінку. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення (Рис.3.1.9б). Badalyan та Gharibyan (2017) також описували колонії *G. applanatum*. Автори, як і у нашому дослідженні, спостерігали зміну кольору міцелію, але вказували, що край колонії може бути не притиснутий.



Рис. 3.1.9а Колонія *Ganoderma applanatum* 1899 термін культивування, 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

Рис. 3.1.9б Колонія *Ganoderma applanatum* 1899 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

Т. А. Круподьорова (2009) у своїй дисертаційній роботі також досліджувала морфологію колоній *G. applanatum* 1899 та *G. lucidum* 1904, але її описи відрізняються від того, що зафіксували ми. Це скоріше за все пов'язано із тим, що вона вирощувала культури на агаризованому пивному суслі та за температури 28°C, а склад середовища впливає на морфологію колоній.

Семидобова колонія *G. sinense* 2516 шовковиста, з вираженою зональністю, міцелій білого кольору. Реверзум не змінював забарвлення, Край колонії притиснутий (Рис.3.1.10а). 30-добова колонія штаму *G. sinense* 2516 зазнала суттєвих морфологічних змін – міцелій значно ущільнився, поверхня стала порошистою, краї притиснуті. На поверхні міцелію відбулось утворення нерівномірно розподіленої вохряної пігментації. Також утворились примордії вохряного забарвлення з вкрапленнями ексудату червоного кольору. Реверзум залишився безбарвним. Край колонії притиснутий (Рис.3.1.10б).

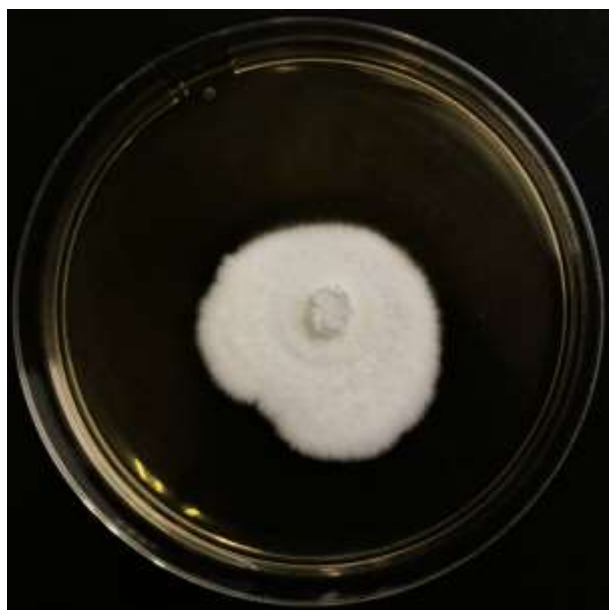


Рис. 3.1.10а Колонія *Ganoderma sinense* 2516 термін культивування 7 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C



Рис. 3.1.10б Колонія *Ganoderma sinense* 2516 термін культивування 30 діб, ГПДА, $26,0 \pm 0,1$ °C

В ході проведеного дослідження було вивчено 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma*. Культурально-морфологічні особливості штамів *G. tsugae*, *G. sinense*, *G. resinaceum*, *G. carnosum*, *G. oregonense* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України досліджені вперше. За нашими результатами можна зробити деякі висновки. На 7-у добу культивування міцелій всіх досліджених штамів був білого кольору. Для більшості штамів та видів: *G. tsugae* 2024, *G. tsugae* 2566, *G. tsugae* 1848, *G. oregonense* 2560, *G. applanatum* 1899 та *G. sinense* 2516 була характерна шовковиста структура колонії. Для *G. lucidum* 1904 і обох штамів

G. resinaceum спостерігали порошистий тип, для *G. carnosum* – ватоподібий. Шість з 10 досліджених штамів (*G. sinense* 2516, *G. applanatum* 1899, *G. carnosum* 2502, *G. tsugae* 1848, 2024, 2566) змінювали забарвлення міцелію при довготривалому культивуванні (30 діб). На поверхні тридцятидобових колоній *G. resinaceum* 2503, *G. tsugae* 2024, *G. sinense* 2516 та *G. lucidum* 1904 утворювались примордії. Реверзум незалежно від штаму та тривалості культивування не змінював забарвлення.

3.2. Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma*

В результаті вивчення вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma* у чистій культурі за допомогою світлової мікроскопії та СЕМ нами були виявлені такі мікроморфологічні особливості.

Міцелій штаму *G. carnosum* 2502 складався з септованих, тонкостінних, розгалужених гіф діаметром 1 – 5 мкм (Рис.3.2.1). Зрідка траплялися потовщення гіфи. Варто відмітити, що при довготривалому культивуванні (60 діб) міцелій утворював коралоподібні гіфи (Рис.3.2.2), які були помічені та зафіксовані за допомогою світлового мікроскопа.

Для міцелію штаму *G. carnosum* 2502 характерні пряжки трьох типів:

- 1) поодинокі пряжки медальйонного типу;
- 2) поодинокі з анастомозом між пряжкою та гіфою;
- 3) подвійні з анастомозами між пряжками та гіфами і між собою (Рис.3.2.3).

Поодинокі пряжки з анастомозом між пряжкою та гіфою були описані раніше для *G. tsugae* А. С. Бухало (Buchalo et al., 2009). Наявність коралоподібних гіф та подвійні пряжки з анастомозами для *G. carnosum* описані нами вперше.

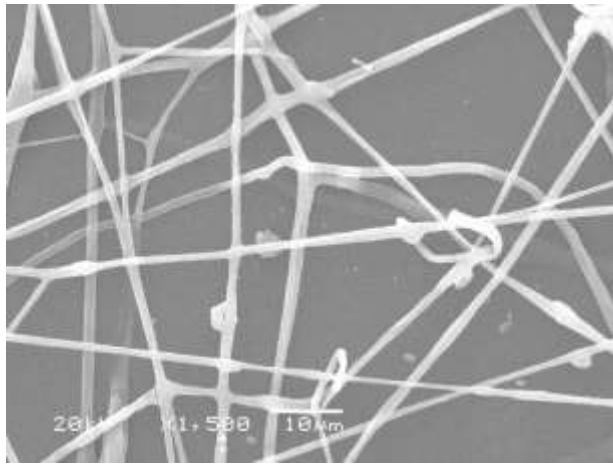


Рис.3.2.1 *Ganoderma carnosum* 2502: вегетативні гіфи з пряжками, СЕМ (x1500)



Рис.3.2.2 *Ganoderma carnosum* 2502: коралоподібні гіфи, світлова мікроскопія (x40)

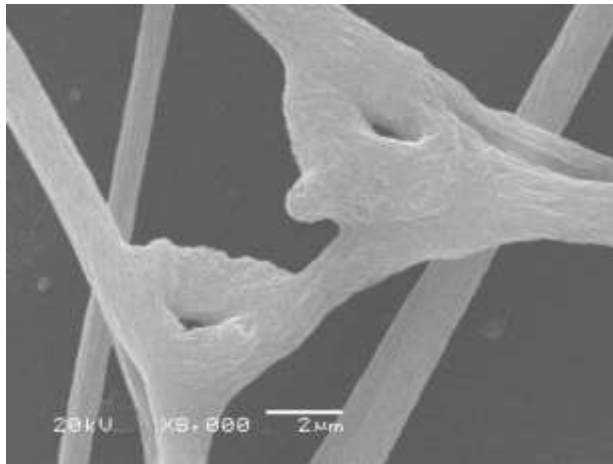


Рис.3.2.3 *Ganoderma carnosum* 2502: подвійні пряжки, СЕМ (x8000)

У виду *G. resinaceum* міцелій складався з септованих, тонкостінних гіф, діаметром 1-3 мкм, у великій кількості на ньому утворювались коралоподібні гіфи (Рис.3.2.4). При детальнішому розгляді було виявлено, що деякі з них містили перфорації. Для цього виду характерні поодинокі пряжки медальйонного типу. Badalyan та Gharibyan (2017) також досліджували мікроструктури даного виду. Автори не наводили наявність кораловидних гіф, але спостерігали утворення кристалів.

Окрім того, міцелій *G. resinaceum* утворював еліпсоїдні хламідоспори (органи нестатевого розмноження) з гладенькою поверхнею розмірами 8 – 11x10 – 18 мкм (Рис.3.2.5). З літературних джерел відомо, що окрім *G. resinaceum*, утворення хламідоспор характерне також для інших видів з

роду *Ganoderma*. А саме: *G. adpersum* (Balaes, Tanase, 2012), *G. applanatum*. (Balaes, Tanase 2012; Tsivileva et al., 2016), *Ganoderma carocalcareus* Douanla-Meli (Douanla-Meli, Langer, 2009), *G. colossum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1986), *G. lucidum*, (Adaskaveg, Gilbertson 1986; Buchalo et al., 2009) та *Ganoderma cattienensis* (Tsivileva et al., 2016), який в даний час за базами даних Mycobank та Indexfungorum вказується як *Tomophagus cattienensis* X.T. Le & Moncalvo, та відноситься до родини *Ganodermataceae*.

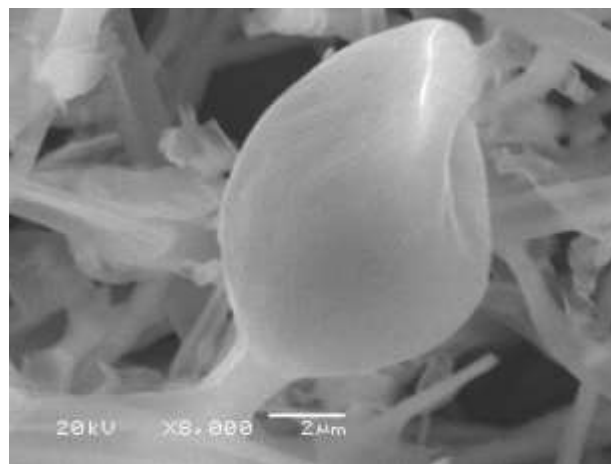
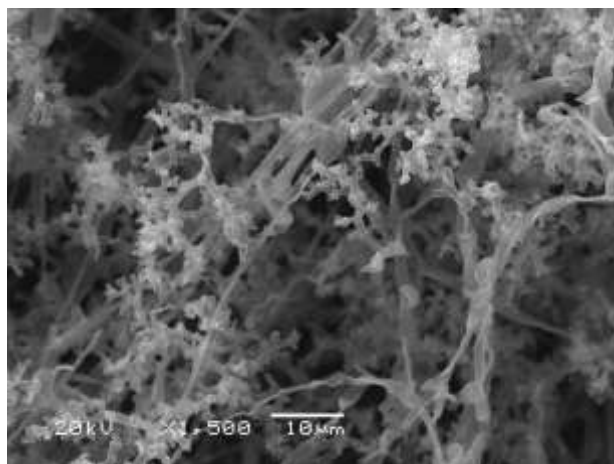


Рис.3.2.4 *Ganoderma resinaceum* 2477: коралоподібні гіфи, СЕМ (x1500)

Рис.3.2.5 *Ganoderma resinaceum* 2477: хламідоспора, СЕМ (x8000)

Міцелій штаму *G. sinense* 2516 складався з тонкостінних септованих гіф діаметром 1–5 мкм, на яких у великій кількості утворювались коралоподібні гіфи (Рис.3.2.6), деякі з них, як і у *G. resinaceum*, також містили перфорації (Рис.3.2.7). З літературних джерел відомо, що аналогічні структури утворює міцелій таких видів роду *Ganoderma*: *G. lucidum*, (Adaskaveg, Gilbertson 1986; Buchalo et al., 2009) *G. resinaceum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1986), *G. meredithiae* Adask. & Gilb., *G. oregonense*, *G. neojaponicum* Imazeki, Bull. (Tsivileva et al., 2016) та *G. zonatum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1989). Для міцелію *G. sinense* характерні поодинокі пряжки медальйонного типу. Наявність коралоподібних гіф для вегетативного міцелію *G. sinense* описана нами вперше.

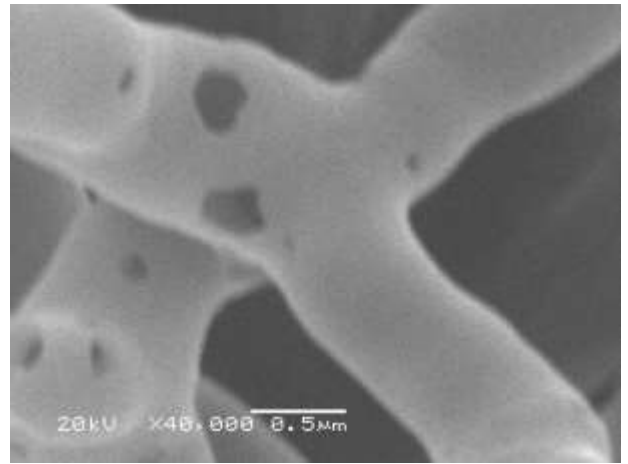
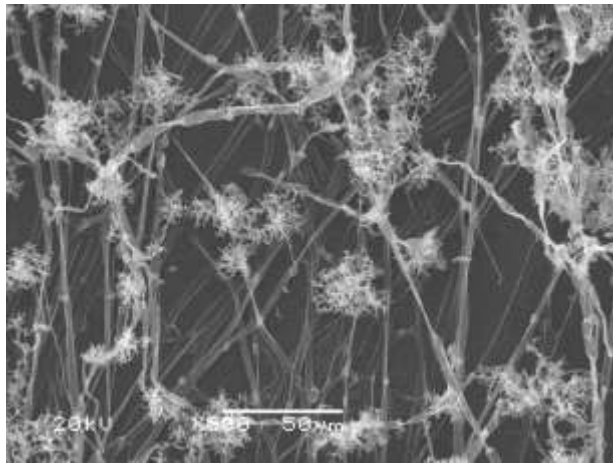


Рис.3.2.6 *Ganoderma sinense* 2516: коралоподібні гіфи, СЕМ (x500) Рис.3.2.7 *Ganoderma sinense* 2516: перфорації в коралоподібних гіфах, СЕМ (x40000)

У штамів *G. tsugae* міцелій складався з тонкостінних септованих гіф діаметром 1–5 мкм. У цього виду ми спостерігали пряжки двох типів: поодинокі пряжки медальйонного типу (Рис.3.2.8); поодинокі з анастомозом між пряжкою та гіфою (Рис.3.2.9).

У штаму *G. oregonense* 2560 міцелій складався з септованих, тонкостінних септованих гіф діаметром 1–3 мкм. Для даного виду характерні поодинокі пряжки медальйонного типу та коралоподібні структури, які нагадують коралоподібні гіфи, описані для інших видів, проте менші за розміром та спостерігались у меншій кількості. На міцелії *G. oregonense* були виявлені потовщення деяких ділянок гіф (пухирці на гіфах) (рис.3.2.11). Ці структури раніше вже були описані для різних видів роду *Ganoderma*: *G. zonatum*, *G. meredithiae*, *G. oregonense*, *G. lucidum*, *G. tsugae* (Adaskaveg, Gilbertson, 1989) та *G. valesiacum* sensu Pegler (Tsivileva et al., 2016), який є синонімом *G. carnosum*.

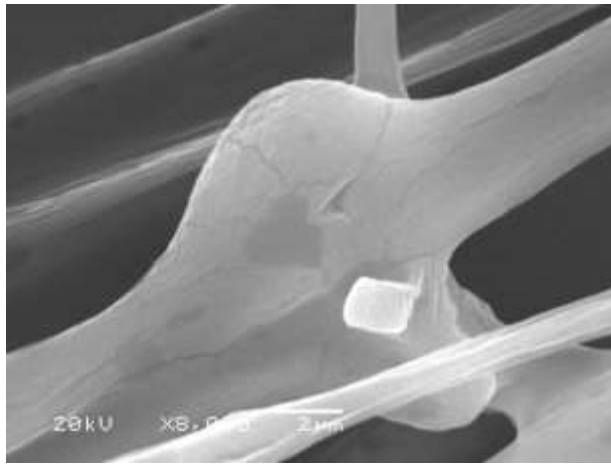


Рис.3.2.8 *Ganoderma tsugae* 2566: ряжка, СЕМ (x8000)

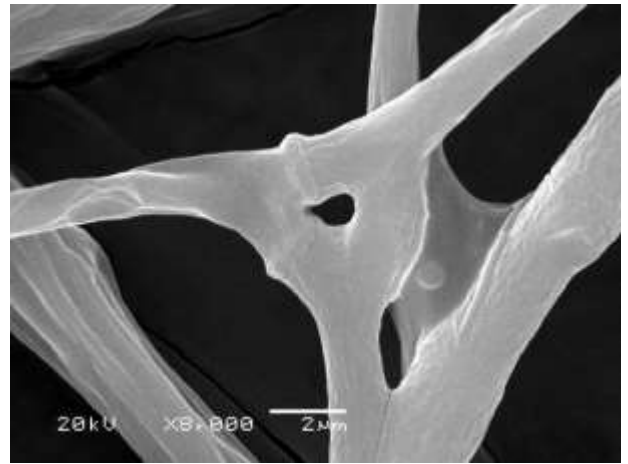


Рис.3.2.9 *Ganoderma tsugae* 2024: ряжка з анастомозами, СЕМ (x8000)

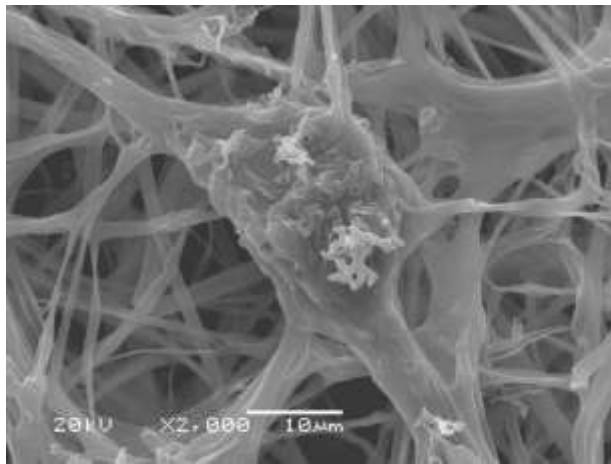


Рис.3.2.10 *Ganoderma oregonense* 2560: коралоподібні структури, СЕМ (x2000)

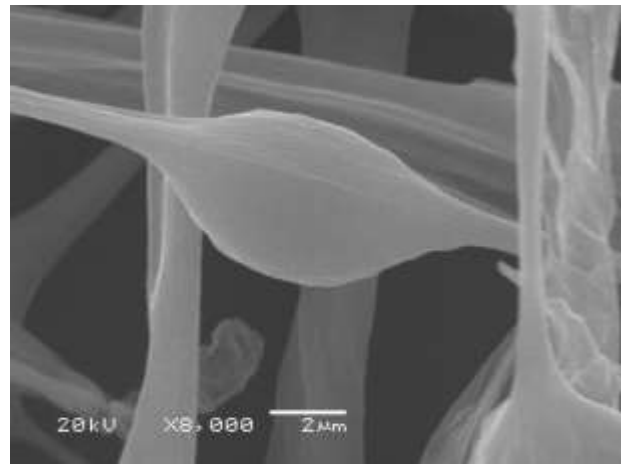


Рис.3.2.11 *Ganoderma oregonense* 2560: потовщення гіфи, СЕМ (x8000)

Міцелій усіх досліджених видів роду *Ganoderma* також утворював структури, які характерні для різних видів макроміцетів – міцеліальну плівку (рис.3.2.12) та міцеліальні тяжі (група максимально зближених між собою гіф) (рис.3.2.13), що утворюються при високій концентрації поживних речовин у живильному середовищі, на якому зростає колонія (Змитрович, 2012).

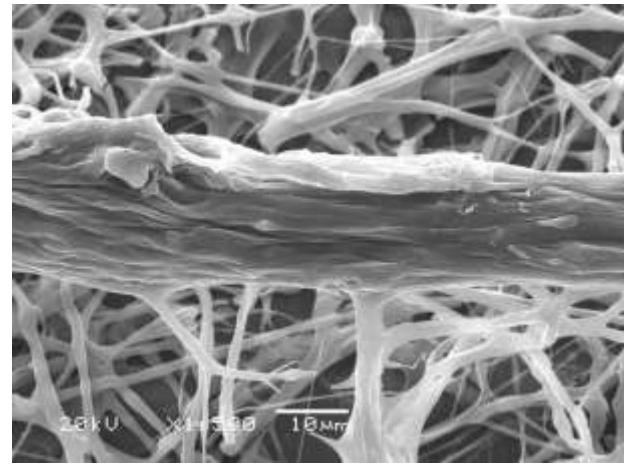
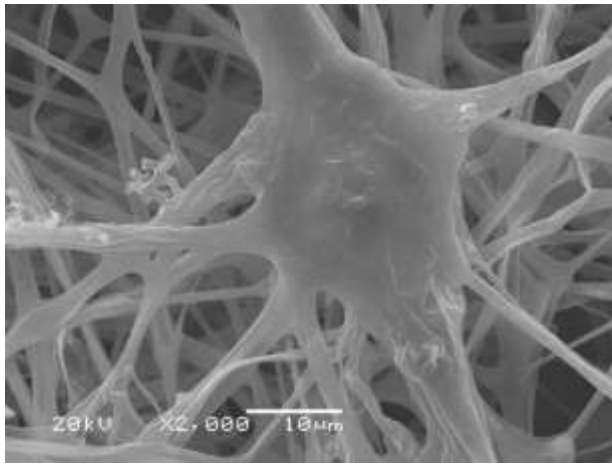


Рис.3.2.12 *Ganoderma oregonense* 2560: міцеліальна плівка, SEM (x2000) Рис.3.2.13 *Ganoderma tsugae* 2566: міцеліальні тяжі, SEM (x1500)

Результати, отримані за допомогою SEM, яскраво демонструють, що наявність чи відсутність мікроструктур, які утворюються на міцелії штамів видів роду *Ganoderma*, можуть бути використані як додаткові таксономічні ознаки у визначенні представників даного роду.

Таким чином, нами були описані нові для видів роду *Ganoderma* мікроструктури, наведені в табл. 3.2.1 (Бороменський, Бісько, 2019).

Таблиця 3.2.1

Виявлені мікроструктури вегетативного міцелію різних штамів видів роду *Ganoderma*

Вид, штам	Поодинокі пряжки	Пряжки з анастомозами	Подвійні пряжки з анастомозами	Коралоподібні гіфи	Хламідоспори	Поговщення на гіфах	Міцеліальна плівка та міцеліальні тяжі
<i>G. carnosum</i> 2502	+	+	+*	+*	-	+	+
<i>G. resinaceum</i> 2477	+	-	-	+	+	-	+
<i>G. resinaceum</i> 2503	+	-	-	+	+	-	+
<i>G. sinense</i> 2516	+	-	-	+*	-	-	+
<i>G. tsugae</i> 2024	+	+	-	-	-	-	+
<i>G. tsugae</i> 2566	+	+	-	-	-	-	+
<i>G. oregonense</i> 2560	+	-	-	-	-	+	+

* Структури, виявлені вперше; + - структури наявні; - - структури відсутні.

3.3. Вплив підвищених температур на життєздатність міцелію

При вивченні впливу підвищених температур на ріст міцелію було визначено, що міцелій штамів різних видів по-різному реагує на даний стресовий чинник. Міцелій штаму *G. oregonense* 2560 втрачає здатність розвиватись вже за температури $36 \pm 0,1^\circ\text{C}$. (табл. 3.3.1). Міцелій штамів *G. sinense* 2516 та *G. carnosum* 2502 не ріс за температури $39 \pm 0,1^\circ\text{C}$, проте зберігав життєздатність при поверненні в умови оптимальної для росту температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$. При зберіганні культур зазначених штамів за температури $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$ впродовж 3 діб ріст зупинявся і не відновлювався навіть при перенесенні їх до умов з оптимальною температурою, що свідчить про загибель культур. Максимальна температура, за якої росли штами *G. applanatum* 1899, *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566, становила $38 \pm 0,1^\circ\text{C}$. За температури $39 \pm 0,1^\circ\text{C}$ вони не росли, проте зберігали свою життєздатність, що проявлялося у поновленні росту за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Для зазначених штамів критичною температурою, була $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Штам *G. tsugae* 1848 відрізнявся від інших тим, що втрачав здатність до росту за $38 \pm 0,1^\circ\text{C}$, а критична температура також становила $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Стійкішими до впливу високих температур виявились *G. lucidum* 1904 та *G. resinaceum* 2477, 2503. *G. lucidum* 1904 та *G. resinaceum* 2503 зберігали життєздатність за температури $42 \pm 0,1^\circ\text{C}$ з подальшим відновленням росту за $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, а критичною температурою для цих штамів виявилась $43 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Штам *G. resinaceum* 2477 виявився ще стійкішим і міг зростати навіть за $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$, хоча критичною температурою для нього була також $43 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (табл. 3.3.1). Штами видів *G. tsugae* та *G. resinaceum* демонструють, що стійкість до підвищених температур може відрізнятись всередині одного виду: штами *G. tsugae* 2024 та 2566 не втрачали життєздатності після впливу температури $38 \pm 0,1^\circ\text{C}$, а *G. tsugae* 1848 її втрачав. Так само міцелій штаму *G. resinaceum* 2477 при $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ріс, а *G. resinaceum* 2503 – припиняв ріст. Найстійкішими до впливу підвищених температур виявились обидва штами *G. resinaceum* та *G. lucidum* 1904.

Вплив підвищених температур на життєздатність різних штамів видів роду *Ganoderma*.

Штам	Температура																			
	Експ.		К.		Експ.		К.		Експ.		К.		Експ.		К.		Експ.		К.	
	36± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	37± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	38± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	39± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	40± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	41± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	42± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.	43± 0,1 °C.	26± 0,1 °C.				
<i>G. lucidum</i> 1904	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-					
<i>G. applanatum</i> 1899	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-					
<i>G. carnosum</i> 2502	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-					
<i>G. sinense</i> 2516	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-					
<i>G. oregonense</i> 2560	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
<i>G. resinaceum</i> 2477	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-					
<i>G. resinaceum</i> 2503	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-					
<i>G. tsugae</i> 1848	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-					
<i>G. tsugae</i> 2024	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-					
<i>G. tsugae</i> 2566	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-					

Експ. – температура проведення експерименту

К. – температура в контрольному досліді для перевірки життєздатності міцелію після впливу підвищеної температури

+ – ріст міцелію відбувається

- – ріст міцелію не відбувається

Результати проведеного експерименту вказують на те, що деякі досліджені види роду *Ganoderma* зберігають свою здатність рости навіть при таких температурах, за яких не можуть розвиватись інші. З літературних даних відомо, що в деяких експериментах види *G. applanatum* та *G. lucidum* вже за температури 35°C втрачали здатність рости, а міцелій *G. resinaceum*, як і в нашому досліді, переставав рости за температури понад 38°C. Але найвищу стійкість до критичних температур проявляв міцелій виду *G. colossus* – він міг рости за 45°C та виживав навіть після впливу температури 50 °C (Badalyan et al., 2019).

У своєму дисертаційному дослідженні Т. А. Круподьорова (2009) також вивчала вплив підвищених температур на життєздатність видів роду *Ganoderma*. При цьому, для штаму *G. lucidum* 1904 у її експерименті критичною стала вже температура $35 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (у нашому досліді – $42 \pm 0,1^\circ\text{C}$), а для *G. applanatum* 1899 – критичною була $43 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (у нас – $39 \pm 0,1^\circ\text{C}$). Необхідно зазначити, що досліді Т. А. Круподьорової проводились у період 2000–2009, тобто понад 10 років тому. Впродовж цього часу культури зберігалися в умовах відмінних від природніх. В роботах Clark & Anderson (2004) і Bezmenova et al. (2017) на прикладі *S. commune* показано, що базидієві гриби в умовах штучної культури продовжують еволюціонувати та накопичувати мутації з відносно високою швидкістю. Отже, подальші дослідження цих штамів з великими проміжками часу зможе показати еволюційні зміни вегетативного міцелію, який зберігається у вигляді чистої культури.

Отримані результати свідчать про перспективу використання штамів *G. resinaceum* 2477, 2503 та *G. lucidum* 1904 для отримання стійких до підвищених температур ферментів чи інших біологічно активних сполук, які в подальшому можна буде застосовувати у промисловості або медицині. Дослідження культурально-морфологічних особливостей міцелію 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* дозволило встановити специфіку росту колоній та мікроструктури міцелію. Вперше показано, що 30-добові колонії штамів *G.*

resinaceum 2503, *G. tsugae* 2024, *G. sinense* 2516 та *G. lucidum* 1904 утворювали примордії. За допомогою світлової та електронної сканувальної мікроскопії вперше описані такі мікроструктури вегетативного міцелію: подвійні пряжки, пряжки з анастомозами на міцелії *G. carnosum*, а також коралоподібні гіфи на міцелії *G. sinense* та *G. carnosum*.

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ СПОСОБІВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ, ВМІСТ ЕНДОПОЛІСАХАРИДІВ, ГАНОДЕРОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ВИХІД МІЦЕЛІЄМ ГРИБІВ РОДУ *GANODERMA*

4.1. Вплив способів культивування на накопичення біомаси, вміст ендополісахаридів та їх вихід міцелієм грибів роду *Ganoderma*

Полісахариди є одними з найцінніших метаболітів грибів роду *Ganoderma* (Zeng et al., 2019). Вони мають третинну структуру (потрійну спіраль), яка формується між водневими зв'язками у другому положенні вуглецю та стабілізується бічними ланцюгами (Synytsya et al., 2013).

Як відомо, не тільки плодові тіла, а й міцелій грибів роду *Ganoderma*, містить біологічно активні речовини з лікарськими властивостями, в тому числі ендополісахариди (Wasser, 2010). Аналіз літературних джерел вказує на те, що штамми *G. lucidum* та *G. applanatum* є основними об'єктами дослідження процесів накопичення біомаси та внутрішньоклітинних полісахаридів (Wagner et al., 2003, Babitskaya et al., 2007; Boh et al., 2007, Lee et al., 2007, Бисько и др., 2012). Перспективність використання інших видів роду *Ganoderma*, як джерела зазначених речовин, вивчена недостатньо (Wei et al., 2014). На даний час немає даних щодо вмісту ендополісахаридів у міцелії *G. oregonense*, накопичення біомаси і вмісту ендополісахаридів у міцелії штамів *G. carnosum*. Відсутні дані про вплив поверхневого та глибинного способів культивування міцелію на кількість накопичення біомаси, вміст та вихід ендополісахаридів штаммами більшості видів роду *Ganoderma*.

Отже, дослідження накопичення ендополісахаридів у біомасі різних штамів видів роду *Ganoderma*, що зберігаються в Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, є актуальним.

4.1.1. Порівняння впливу методів культивування на накопичення біомаси міцелію різних видів роду *Ganoderma*

Під час аналізу одержаних результатів ми проводили порівняння даних, отриманих для різних штамів, з результатами для *G. lucidum* 1904 – видом, який можна вважати еталонним за кількістю досліджень синтезу біологічно активних речовин серед видів роду *Ganoderma* у світі (Boh et al., 2007).

Нами встановлено, що найбільшу кількість біомаси міцелію при використанні способу поверхневого культивування накопичували штами *G. resinaceum* 2477, 2503, *G. oregonense* 2560 та *G. applanatum* 1899 – вона була на 30 % вище, ніж у *G. lucidum* 1904 (6,3 г/л). Значення показника біомаси, синтезованою штамами *G. sinense* 2516 та *G. lucidum* 1904, були максимально близькі а різниця між ними знаходилась у межах статистичної похибки. В порівнянні з *G. lucidum* 1904 кількість біомаси міцелію, накопичена *G. tsugae* 2024, була нижчою на 20 %, а штамами *G. carnosum* 2502 та *G. tsugae* 1848 – на 50 % (рис. 4.1.1.1).

Також слід зауважити штамову відмінність у процесі накопичення біомаси міцелію штамів *G. tsugae*. Так, штам *G. tsugae* 2566 накопичував на 37,5 % вищу кількість біомаси, ніж *G. tsugae* 2024, та на 62,5 % вищу, ніж *G. tsugae* 1848. Проте така особливість була відсутня у штамів *G. resinaceum*, для них різниця в показниках біомаси знаходилась в межах статистичної похибки (рис. 4.1.1.1).

При використанні методу глибинного культивування більше половини досліджених штамів також накопичували біомасу ефективніше, ніж *G. lucidum* 1904 ($12,1 \pm 0,4$ г/л). Проте штами *G. carnosum* 2502 та *G. sinense* 2516 накопичували на 14 %, а *G. oregonense* 2560 – на 30 % меншу за *G. lucidum* 1904 кількість біомаси (рис. 4.1.1.1).

Найбільшу кількість біомаси накопичував штам *G. tsugae* 2024 – $20,3 \pm 0,5$ г/л. Високі показники також показали штами *G. tsugae* 2566 ($17,8 \pm 0,3$ г/л) та *G. applanatum* 1899 ($18,9 \pm 0,4$ г/л). Їхні показники за цим параметром демонстрували відповідно на 40, 30 та 35 % вищі значення, ніж у *G. lucidum* 1904. Різниця між значеннями накопиченої біомаси штамами *G. tsugae* 1848,

G. resinaceum 2477, 2503 та *G. lucidum* 1904 коливалась у межах 10 % (рис. 4.1.1.1).

Відмінності у накопиченні біомаси різними штамами *G. tsugae* збереглася і при використанні методу глибинного культивування. Так, біомаса міцелію *G. tsugae* 2024 була майже вдвічі більшою, ніж у *G. tsugae* 1848, проте лише на 12 % вищою, ніж у *G. tsugae* 2566. Між штамами *G. resinaceum* не було достовірної різниці за показником накопичення біомаси, вирощеної обома методами культивування (рис. 4.1.1.1).

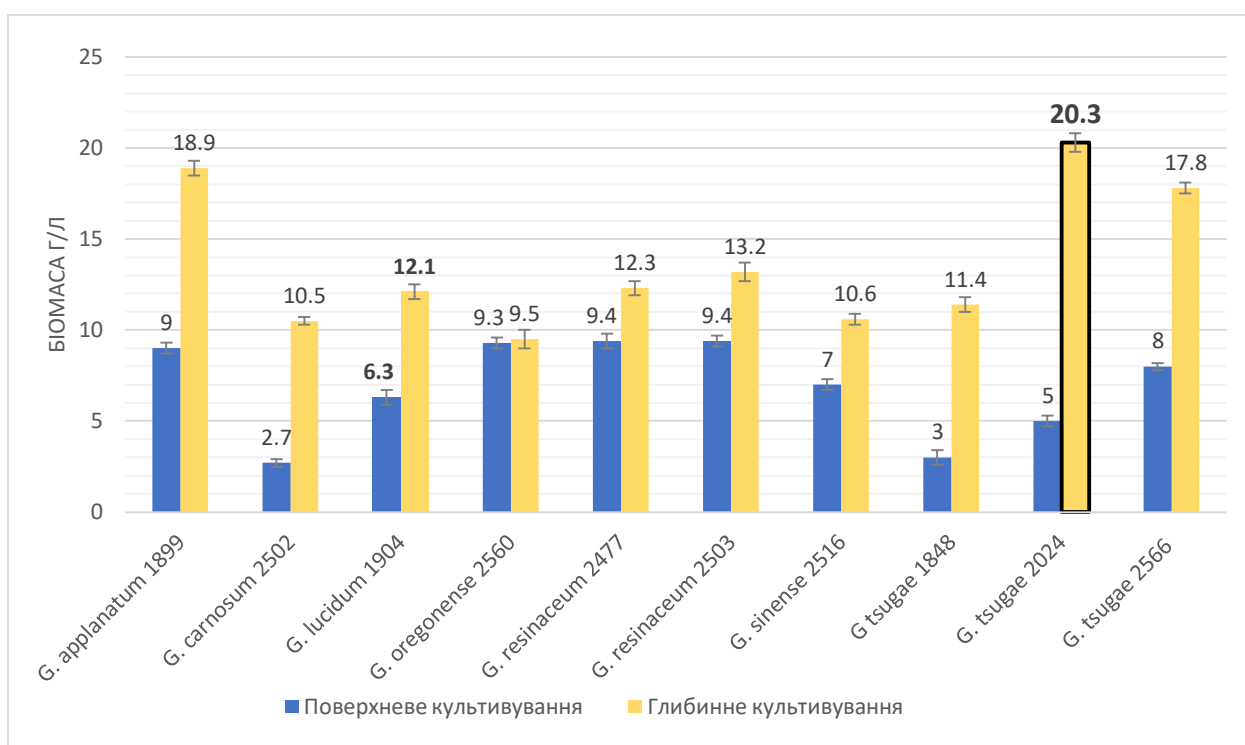


Рис. 4.1.1.1 Накопичення біомаси міцелію різними штамами видів роду *Ganoderma* в умовах поверхневого та глибинного культивування на ГПД середовищі за $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, термін культивування 14 діб

Отримані в ході експерименту результати доводять, що для більшості досліджених штамів та видів роду *Ganoderma* використання глибинного способу культивування є значно ефективнішим для накопичення біомаси міцелію, ніж використання методу поверхневої культури. Виключенням є тільки штам *G. oregonense* 2560, на синтез біомаси якого зміна методу культивування практично не вплинула. Ху зі співавторами (2008) у проведеному експерименті оптимізували середовище для вирощування

міцелію *G. lucidum* у глибинній культурі та отримали 21,53 г/л біомаси міцелію, що несуттєво вище за найбільший за цим параметром результат, отриманий в нашому дослідженні ($20,3 \pm 0,5$ г/л для *G. tsugae* 2024), але на 44,2 % вище за досліджений нами штам цього ж виду – *G. lucidum* 1904. Варто відмітити, що автори використовували біореактор та багате на джерело азоту середовище з високим вмістом пептону – 20,93 г/л. Ці фактори надавали перевагу в накопиченні біомаси. Іншими авторами була отримана набагато менша кількість біомаси *G. lucidum* за умов глибинного культивування, навіть при використанні середовищ різного складу – 5,12 г/л (Supramani et al., 2019) та 3,68 г/л (Shah & Modi, 2018), що нижче за значення, отримані нами для *G. lucidum* 1904 не тільки в умовах глибинного, а й поверхневого культивування. Аналіз отриманих та літературних даних демонструє, що між різними штамми одного виду може бути велика різниця у накопиченні біомаси міцелію, що доводить актуальність пошуку нових високопродуктивних штамів не тільки виду *G. lucidum*, а й інших видів роду *Ganoderma*.

4.1.2. Порівняння впливу методів культивування на накопичення ендополісахаридів міцелієм штамів різних видів роду *Ganoderma* та аналіз їх виходу за цим показником

Було встановлено, що при поверхневому культивуванні показники вмісту ендополісахаридів у біомасі міцелію штамів *G. carnosum* 2502 та *G. sinense* 2516 були майже ідентичні вмісту цих сполук у біомасі *G. lucidum* 1904 ($6,9 \pm 0,3$ %). Лише штам *G. oregonense* 2560 ($8,2 \pm 0,4$ %) накопичував на 16 % вищу кількість ендополісахаридів, ніж *G. lucidum* 1904, цей показник був найвищим у проведеному експерименті. Міцелій штамів *G. applanatum* 1899, *G. tsugae* 1848 та 2024 при поверхневому культивуванні накопичував майже однакову кількість ендополісахаридів, яка була на 13 % нижча, ніж у *G. lucidum* 1904. В той же час, ще нижчі показники демонстрували штами *G. resinaceum* 2503 – вміст ендополісахаридів був на 33 % нижче, *G. resinaceum* 2477 та *G. tsugae* 2566 – на 50 % менше, аніж у *G. lucidum* 1904 (рис. 4.1.2.1).

Відмінність у вмісті ендополісахаридів спостерігалась для різних штамів *G. tsugae*. Так, міцелій *G. tsugae* 2024 та 1848 ($6,3 \pm 0,25$ % та $5,9 \pm 0,4$ % відповідно) синтезував їх майже вдвічі більше, ніж міцелій *G. tsugae* 2566 ($3,2 \pm 0,4$ %). Штами *G. resinaceum* суттєво відрізнялися за кількістю накопичених внутрішньоклітинних полісахаридів на відміну від накопичення біомаси (рис. 4.1.2.1).

Під час використання методу глибинної культури було встановлено, що *G. tsugae* 2024 ($7,8$ % $\pm 0,2$ %) та *G. oregonense* 2560 ($7,7$ % $\pm 0,3$) накопичують найбільшу кількість ендополісахаридів порівняно з *G. lucidum* 1904. Інші ж штами демонстрували нижчі показники за цим параметром: міцелій *Ganoderma sinense* 2516 накопичував на 10 %, а *G. applanatum* 1899, *G. carnosum* 2502 та *G. tsugae* 1848 – на 20 % менше внутрішньоклітинних полісахаридів, ніж *G. lucidum* 1904. Найнижчий вміст ендополісахаридів при глибинному культивуванні був синтезований штамами *G. tsugae* 2566 та *G. resinaceum* 2503, 2477. Вони були на 30–44 % нижчими, ніж у *G. lucidum* 1904 (рис. 4.1.2.1).

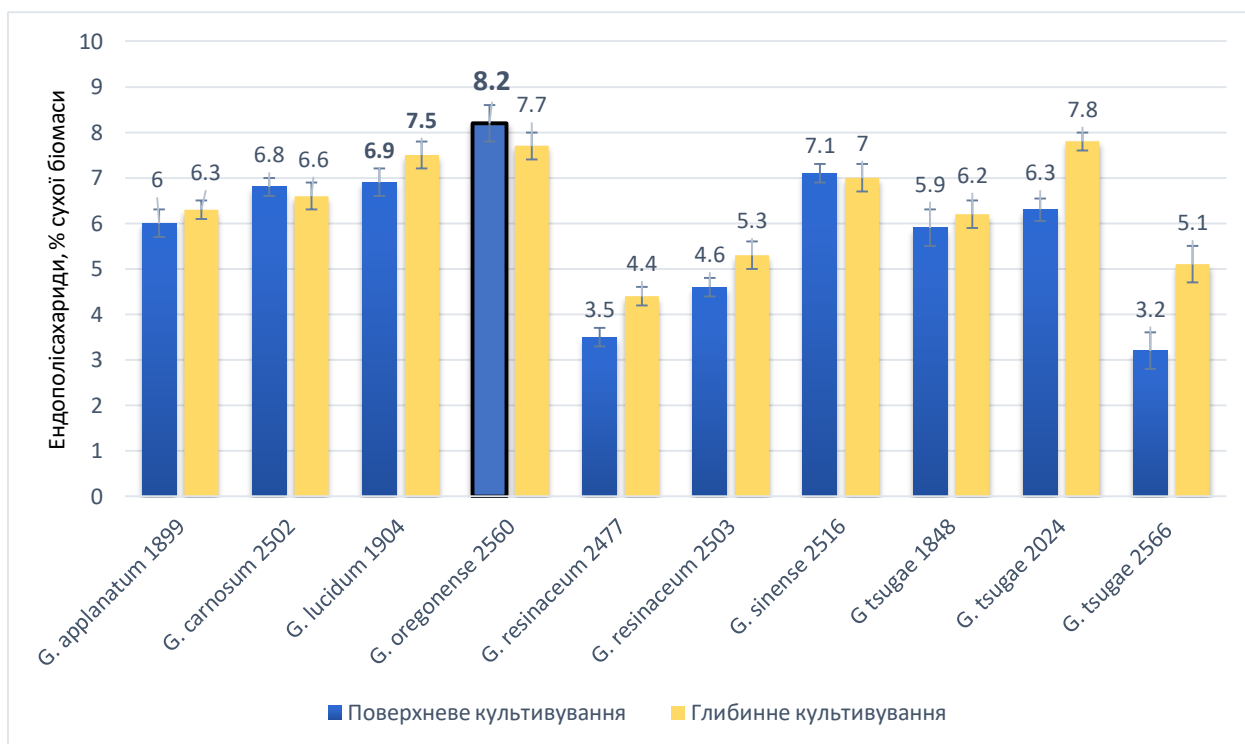


Рис. 4.1.2.1. Накопичення ендopolісахаридів дослідженими штамми видів роду *Ganoderma* в умовах поверхневого та глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, термін культивування 14 діб

Порівняння результатів впливу поверхневого та глибинного культивування на синтез ендopolісахаридів у біомасі 10 досліджених штамів демонструє, що лише для 4 із них (*G. tsugae* 2566, 2024, *G. resinaceum* 2503, 2477) їх вміст є достовірно вищим за умов глибинного культивування. Міцелій *G. oregonense* 2560, навпаки, інтенсивніше накопичує ендopolісахариди за умов поверхневої культури. Встановлено, що між показниками вмісту ендopolісахаридів у біомасі інших 5 штамів 4 досліджених видів роду *Ganoderma* в умовах різних методів культивування достовірної різниці немає.

Варто зазначити, що дані про накопичення біомаси міцелію та ендopolісахаридів штамми *G. carnosum* та *G. oregonense* при поверхневому та глибинному культивуванні на рідкому живильному середовищі наводяться нами вперше.

Було проведено багато експериментів по впливу складу живильного середовища на накопичення різних біологічно активних речовин міцелієм грибів роду *Ganoderma*, в тому числі – ендopolісахаридів. Особлива увага приділялась саме *G. lucidum*. Wei зі співавторами (2015) в подібному дослідженні отримали дуже високий вміст ендopolісахаридів – 21,6 % , що на 62 % більше, ніж у *G. oregonense* 2560, міцелій якого накопичив найвищу кількість серед досліджених нами штамів, та на 65 % більше, ніж *G. lucidum* 1904, що був використаний в наших експериментах. Проте такі результати були отримані при високому вмісті сахарози у живильному середовищі (45г/л), а при використанні такої ж кількості глюкози вміст ендopolісахаридів сягав лише 7,7 % , що співпадає з нашими результатами – $7,5 \pm 0,3$ % для *G. lucidum* 1904. Це доводить, що зміна джерела вуглецю та його кількість може суттєво вплинути на утворення внутрішньоклітинних полісахаридів міцелієм одного й того ж штаму.

За результатами експерименту було отримано розрахунки щодо виходу ендополісахаридів. Найвищий вихід демонстрував міцелій штаму *G. tsugae* 2024 при глибинному культивуванні на ГПД середовищі. Він склав $1,58 \pm 0,08$ г/л, що на 40 % вище за показник виходу *G. lucidum* 1904. Також високе значення за цим параметром було встановлено для міцелію *G. applanatum* 1899 – на 25 % вище, ніж аналогічне у *G. lucidum* 1904 (рис. 4.1.2.2). Цікаво відмітити, що Wei зі співавторами (Wei et al., 2015) отримавши великий вміст ендополісахаридів на середовищі з сахарозою, як джерелом вуглецю для *G. lucidum*, отримали такий же вихід, як і при використанні глюкози. При цьому в обох випадках показники виходу ендополісахаридів несуттєво відрізнялись від отриманих у нашому експерименті для *G. tsugae* 2024. Практично ідентичні показники виходу отримали також Supramani зі співавторами – 1,52 г/л для *G. lucidum* (Supramani et al., 2019).

Позитивний вплив перемішування рідкого живильного середовища на вихід ендополісахаридів штамами *G. lucidum* раніше наводила Бабицька зі співавторами (Бабицкая и др., 2007). Результати цих авторів доводять, що перемішування живильного середовища під час росту міцелію може збільшити вміст ендополісахаридів на 15 – 20 %. Це може бути пов'язано із кращим засвоєнням поживних речовин з живильного середовища міцелієм культивованих штамів. Таким чином, можна стверджувати, що сукупність фізичних та хімічних факторів суттєво впливає на накопичення біомаси та біологічно активних речовин міцелієм грибів роду *Ganoderma*.

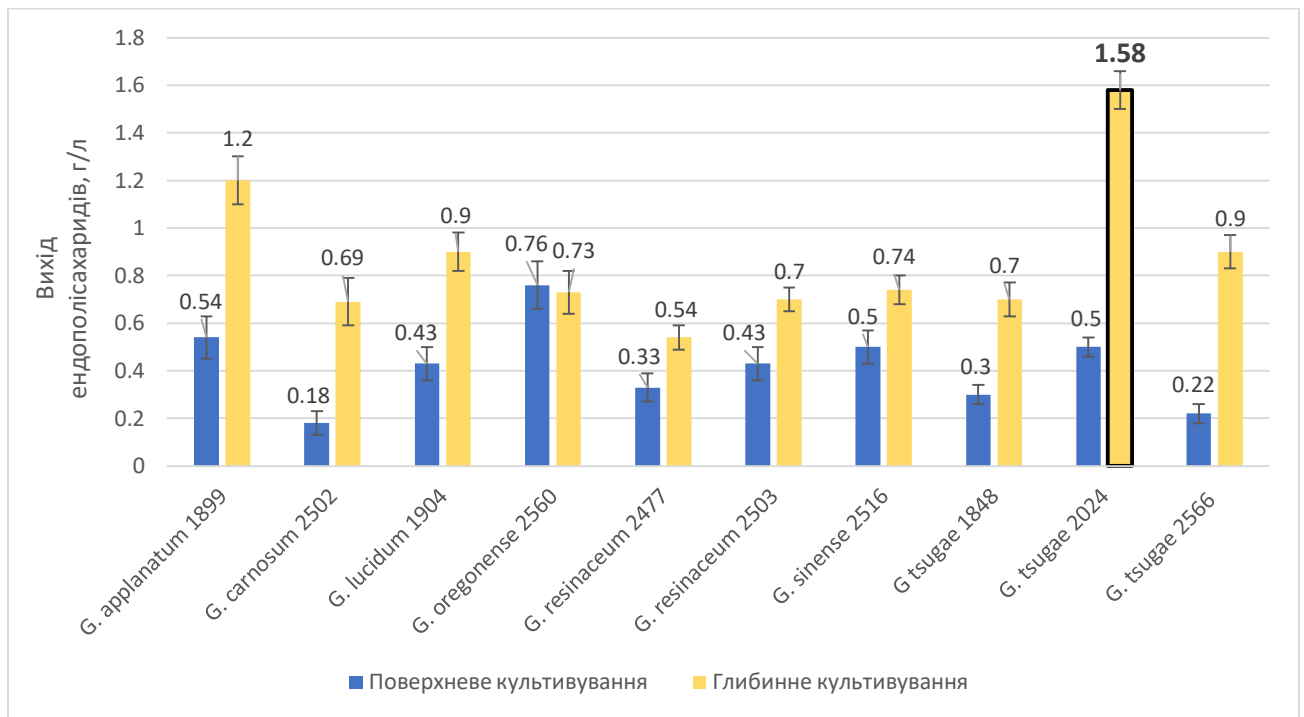


Рис. 4.1.2.2. Вихід ендополісахаридів дослідженими штамами видів роду *Ganoderma* в умовах поверхневого та глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$, термін культивування 14 діб

Аналіз даних, отриманих в нашому дослідженні, дає можливість стверджувати, що метод глибинного культивування міцелію для підвищення виходу ендополісахаридів для усіх досліджених штамів видів роду *Ganoderma* (окрім *G. oregonense* 2560) є значно ефективнішим за метод поверхневого культивування.

За результатами наших досліджень встановлено, що не лише штами *G. lucidum* варто розглядати і досліджувати як джерело біологічно активних речовин, наприклад, ендополісахаридів.

Вперше наводяться дані щодо накопичення біомаси міцелію та ендополісахаридів штамами *G. carnosum* та *G. oregonense* при поверхневому та глибинному культивуванні на рідкому живильному середовищі ГПД.

Найефективнішим за накопиченням біомаси та виходом ендополісахаридів виявився штам *G. tsugae* 2024 за умов методу глибинного культивування.

На прикладі штамів видів *G. tsugae* та *G. resinaceum* було показано, що різні штами одного виду можуть суттєво відрізнятися за вмістом ендополісахаридів при використанні як поверхневого, так і глибинного методів культивування.

4.2 Вплив способів культивування на вміст і динаміку ганодерових кислот та їх вихід міцелієм грибів роду *Ganoderma*

На сьогодні відомо понад 20000 видів тритерпеноїдів, які були отримані з природних джерел, в основному рослин, зокрема, в їх числі і ганодерові кислоти (ГК), які є одними з найважливіших біологічно активних речовин, що накопичуються в грибах роду *Ganoderma* (Shi et al., 2010., Xu et al., 2010 Wu et al., 2013). Вперше ганодерова кислота А та ганодерова кислота В були виділені з плодового тіла *G. lucidum* у 1982 році науковцями з Японії (Kubota et al., 1982).

Доведено, що ГК містяться у міцелії, плодових тілах та спорах багатьох видів роду *Ganoderma*, в тому числі у видах, які ми використовували в своєму дослідженні: *G. applanatum*, *G. lucidum*, *G. sinense*, *G. tsugae*, *G. resinaceum* (Nishitoba et al., 1989, Chao et al., 1994, Liu et al., 2011, Chengyuan et al., 2019, Shi et al., 2020). Проте, основний масив даних щодо біотехнологічних аспектів накопичення та оптимізації умов для синтезу ГК присвячений штамам *G. lucidum*. Інші ж види роду *Ganoderma* досліджені набагато менше, хоча також можуть бути перспективними продуцентами біологічно активних речовин, в тому числі ганодерових кислот. Тому постає необхідність у пошуку високопродуктивних за синтезом ГК штамів видів цього роду та вивчення умов для збільшення їх вмісту. Актуальною є також розробка ефективних методів екстракції для подальшого використання цих біологічно активних речовин у медицині та фармакології. Встановлена нами та іншими дослідниками штамова відмінність до синтезу біологічно активних сполук (Бороменський та ін., 2020) доводить доцільність подальшого пошуку та відбору перспективних продуцентів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

4.2.1 Вплив способів культивування на вміст ганодерових кислот та їх вихід міцелієм грибів роду *Ganoderma*

Нами було модифіковано класичну методику екстракції ГК. Модифікація полягає у тому, що подрібнену до порошкоподібного стану біомасу міцелію замість 2 тижнів екстракції у 70 % метанолі за температури $4 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ми екстрагували лише 2 доби в тому ж розчиннику, але за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ на лабораторній качалці при 120 об/хв. При цьому різниця у вмісті ГК в обох випадках знаходилась в межах статистичної похибки, але ця модифікація дозволила скоротити загальний час екстракції у 7 разів. Подальші етапи екстракції співпадали з класичною методикою. Тому у своєму дослідженні по визначенню вмісту та продуктивності ГК у міцелії цих штамів використовували саме модифіковану методику.

Було проведено дослідження вмісту і виходу ГК при поверхневому та глибинному культивуванні 10 штамів 7 видів грибів роду *Ganoderma*. Для двох найпродуктивніших за цими показниками штамів було вивчено динаміку вмісту ГК.

При порівнянні вмісту ГК у міцелії різних штамів видів роду *Ganoderma* за різних умов культивування встановлено, що найвищий вміст цих сполук у міцелії 5 штамів спостерігається при використанні глибинного способу культивування (рис. 4.2.1.1). У штамів *G. tsugae* 1848 ($18,6 \pm 1,2$ мг/г) та *G. sinense* 2516 ($25,2 \pm 1,2$ мг/г), вирощених в умовах глибинного культивування, він був більший відповідно на 58 % та 42,9 %, ніж в умовах поверхневого культивування. У той же час, штами *G. resinaceum* 2477, 2503, *G. oregonense* 22560 та *G. carnosum* 2502 синтезували приблизно однакову кількість ГК, як при глибинному, так і при поверхневому культивуванні (значення знаходяться у межах статистичної похибки). У штамів *G. tsugae* 2024, *G. applanatum* 1899 та *G. lucidum* 1904 міцелій, вирощений способом глибинного культивування, мав статистично достовірно вищий вміст ГК порівняно з міцелієм, вирощеним у поверхневій культурі (рис. 4.2.1.1). Найвищий вміст ГК ($25,2 \pm 1,5$ мг/г) встановлено в міцелії *G. sinense* 2516, який ріс в глибинній культурі.

Окремо слід відмітити штамові відмінності досліджених видів за ознакою вмісту ГК. Так, вміст ГК в обох штамів *G. resinaceum* практично не відрізняється між собою в залежності від способу культивування. А у штамів *G. tsugae* вміст ГК у міцелії, вирощеному в поверхневій культурі, різниться досить сильно. Міцелій штаму *G. tsugae* 2566 ($18 \pm 0,9$ мг/г) накопичує на 23,3 % більше ГК за *G. tsugae* 2024 та на 56,7 % – за міцелій *G. tsugae* 1848 (рис. 4.2.1.1).

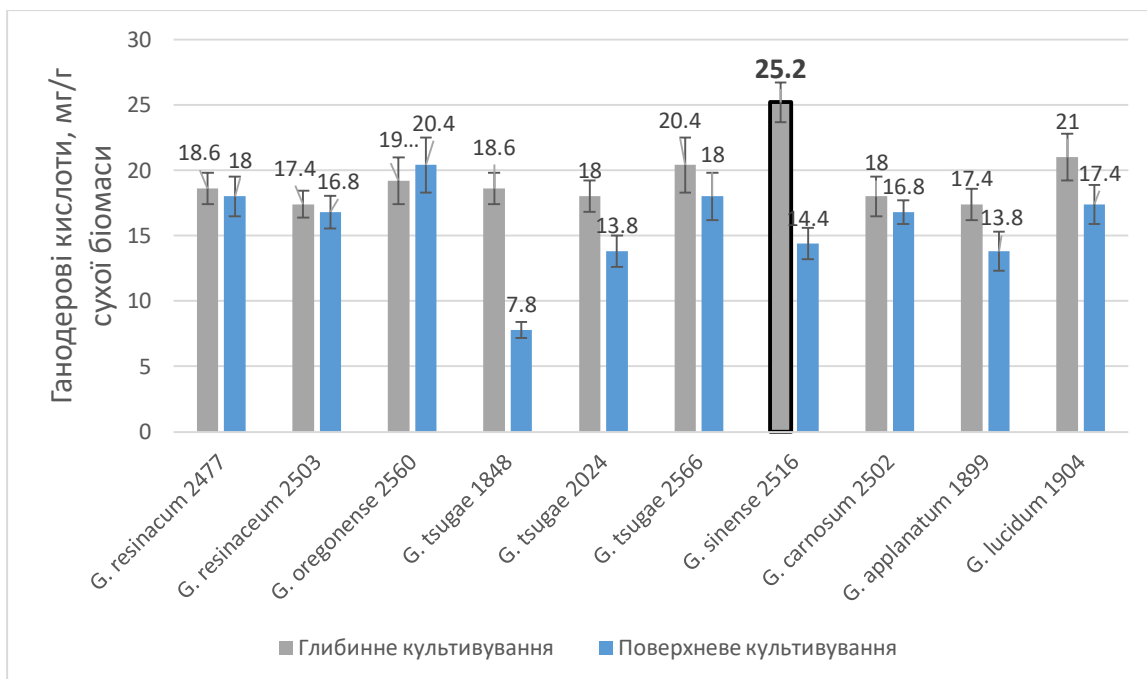


Рис. 4.2.1.1 Вміст ганодерових кислот в міцелії різних штамів видів роду *Ganoderma* в умовах поверхневого та глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Термін культивування 14 діб

З іншого боку, найбільший вихід ГК спостерігали у штамів *G. tsugae* 2024 та 2566, вирощених у глибинній культурі. Він становив близько 0,35 г/л та статистично не відрізнявся у цих штамів (рис. 4.2.1.2).

Розрахунки виходу ГК міцелієм обраних штамів видів роду *Ganoderma* показали, що всі штами, окрім *G. oregonense* 2560, мали значну перевагу за цим показником при вирощуванні у глибинній культурі (рис. 4.2.1.2).

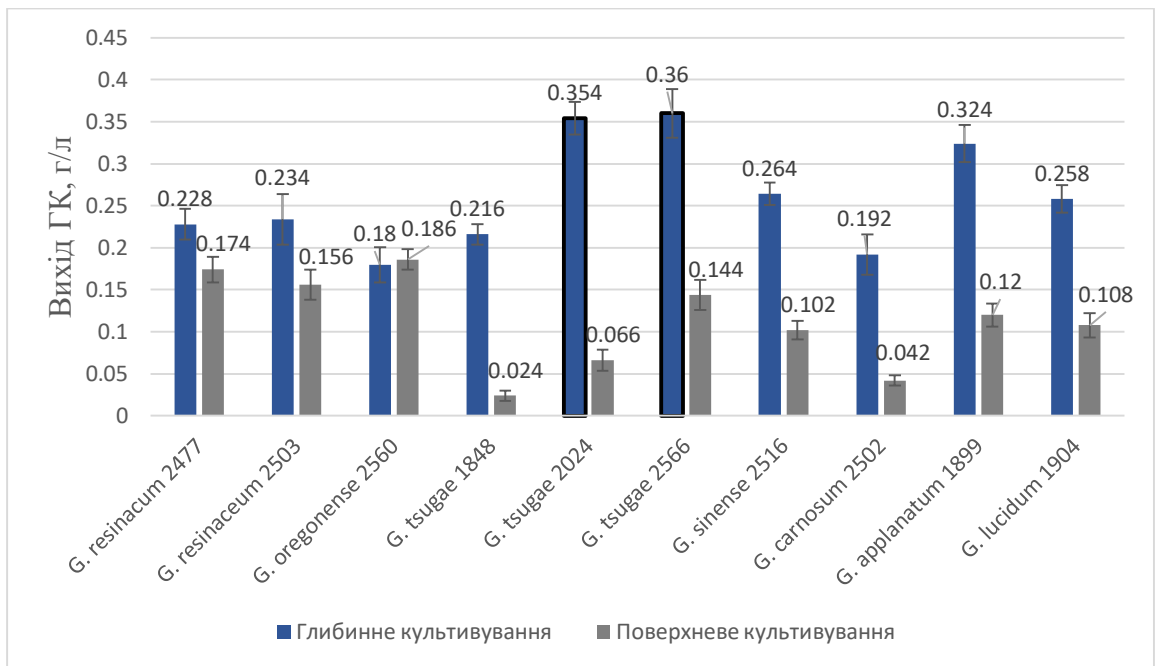


Рис. 4.2.1.2 Вихід ганодерових кислот міцелієм різних штамів видів роду *Ganoderma* за умов поверхневого та глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Термін культивування 14 діб

Встановлений факт пов'язаний із тим, що більшість штамів досліджених видів накопичують суттєво вищу кількість біомаси в умовах глибинного культивування (Бороменський та ін., 2020).

4.2.2. Динаміка синтезу ганодерових кислот міцелієм *Ganoderma sinense* 2516 та *Ganoderma tsugae* 2024

Враховуючи вищезазначені результати експерименту, для подальшого дослідження були обрані штами *G. sinense* 2516 (із найбільшим вмістом ГК) та *G. tsugae* 2024 (з найбільшими показниками накопичення біомаси та виходу ГК) в умовах глибинної культури.

Встановлено, що вміст ГК в біомасі міцелію штамів *G. tsugae* 2024 ($24 \pm 1,26$ мг/г) та *G. sinense* 2516 ($26,4 \pm 1,2$ мг/г) зростає поступово від 6-ї доби і досягає піку на 14-у добу культивування, після чого починає спадати (рис. 4.2.2.1). На 6-у добу культивування значення вмісту ГК у міцелії обох штамів практично рівні (рис. 4.2.2.1). Починаючи з 8-ї доби культивування вміст ГК в

міцелії *G. sinense* 2516 був статистично вищим, ніж у міцелії *G. tsugae* 2024: на 8-у добу – на 23,3; на 10-у добу – на 21,9 % (рис. 4.2.2.1).

Слід зазначити, що на 16-у, 18-у та 20-у добу культивування значення вмісту ГК в міцелії *G. sinense* 2516 статистично не відрізняються та нижчі за показники, отримані на 14-у добу. В той же час, в міцелії *G. tsugae* 2024 на 16-у добу культивування зберігається такий же високий вміст ГК, як і на 14-у, а на 18-у та 20-у добу культивування він зменшується і залишається практично незмінним (рис. 4.2.2.1).

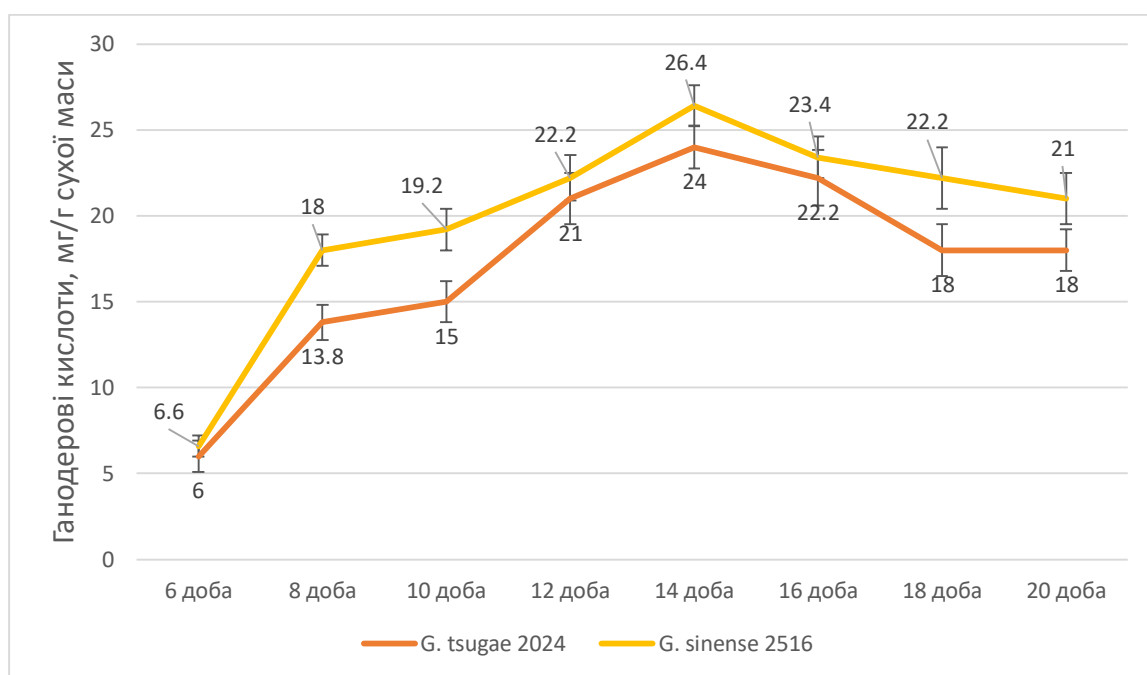


Рис. 4.2.2.1 Динаміка вмісту ганодерових кислот в міцелії *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 в умовах глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

На рис. 4.2.2.2 представлені дані накопичення біомаси міцелію штамів *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516, що використовували в подальших розрахунках виходу ганодерових кислот. Накопичення біомаси *G. sinense* 2516 стрімко зростає з 8-ї по 10-у добу культивування, і потім поступово виходить на плато на 18-у-20-у добу. В той же час, для міцелію *G. tsugae* 2024 характерний поступовий ріст накопичення біомаси, а плато настає вже на 14-у-16-у добу культивування, після чого значення йде на спад (Рис. 4.2.2.2).

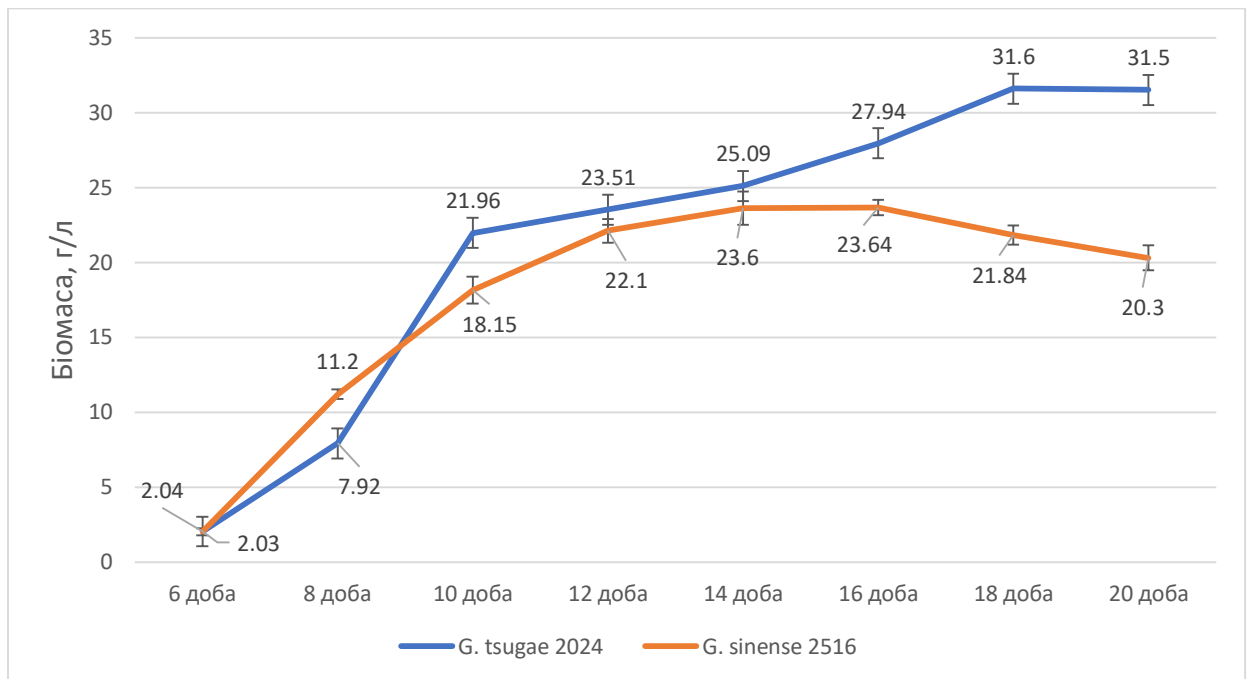


Рис. 4.2.2.2 Динаміка накопичення біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 в умовах глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Аналіз даних, зображених на рис. 4.2.2.3, свідчить про те, що для обох досліджуваних штамів – *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 на 6-у добу культивування характерні найнижчі показники виходу ГК. Це пов'язано з невеликою кількістю біомаси і мінімальним рівнем вмісту ГК у біомасі.

На 8-у добу культивування вихід ГК обох штамів суттєво зростає, хоча для *G. sinense* 2516 ($0,2 \pm 0,007$ г/л) цей показник майже вдвічі більший за аналогічний для *G. tsugae* 2024. Проте на 10-у, 12-у та 14-у добу цей параметр є практично однаковим для кожного із штамів (значення у межах статистичної похибки) (рис. 4.2.2.3).

Пік виходу ГК у *G. sinense* 2516 настає на 14-у добу ($0,62 \pm 0,03$ г/л) і поступово зменшується до 20-ї доби культивування, що пов'язано із зменшенням рівня накопичення біомаси та вмісту ГК у міцелії. Різниця між виходом ГК міцелієм штаму *G. sinense* 2516 на 14-у та 6-у добу культивування (набільше та найменше значення) становить 98 % (рис. 4.2.2.3). Для міцелію *G. tsugae* 2024 пік виходу також настає на 14-у добу ($0,6 \pm 0,03$ г/л), проте, на 16-у, 18-у та 20-у добу культивування значення даного параметру лежать в

межах статистичної похибки, що пов'язано із збільшенням накопичення біомаси міцелію вказаного штаму (табл. 4.2.2.1). Різниця між виходом ГК міцелієм штамів *G. tsugae* 2024 на 14-у та 6-у добу культивування (набільше та найменше значення) становить також 98 % (рис. 4.2.2.3).

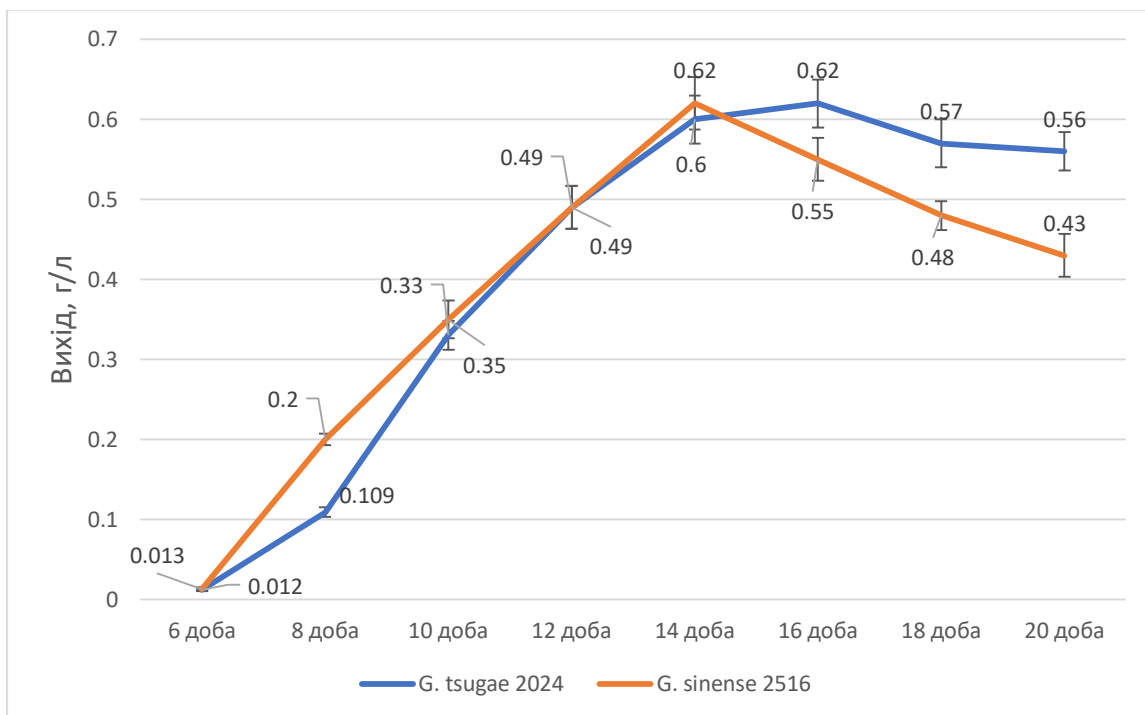


Рис. 4.2.2.3 Динаміка виходу ганодерових кислот міцелієм *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 в умовах глибинного культивування на ГПД середовищі за температури $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Аналіз літературних даних щодо впливу різних умов культивування на вміст та вихід ГК у міцелії різних штамів видів роду *Ganoderma* свідчить про те, що у більшості досліджень використовували лише штами *G. lucidum*.

Так, Fang та Zhong (2002) повідомляють про вміст ГК (18,6 мг/г) та вихід ГК (0,267 г/л) в умовах глибинного культивування для штаму *G. lucidum*, що є нижчими на 29,5 % та 51,7 % відповідно, ніж аналогічні показники у нашому дослідженні. В іншій роботі Zhang та Tang (2008) опублікували результати щодо позитивного впливу світлового опромінення міцелію *G. lucidum* при глибинному культивуванні на вміст ГК (31 мг/г), що на 14,8 % більше ніж

аналогічний показник у нашому експерименті, проте, вихід складав 0,466 г/л, що на 25 % нижче, ніж максимальне значення у нашому дослідженні. Tang із співавторами (2009) приводить вищі значення вмісту ГК та їх виходу, проте вони використовували для культивування міцелію *G. lucidum* біореактор. Використання методу двостадійного культивування (Zhang and Zhong, 2009), що поєднує методи поверхневого та глибинного культивування в колбах, дозволило отримати дуже високі значення за вказаними параметрами – вміст ГК складав 44,7 мг/г, а вихід ГК – 1,427 г/л у міцелії *G. lucidum*, що на 50 % та 56,3 % вище, ніж максимальні значення, отримані в ході проведених нами експериментів.

Wei із співавторами (2014) у своєму дослідженні провели скринінг різних видів роду *Ganoderma* за вмістом ГК, а також оптимізацію умов культивування для обраного ними штаму *G. lucidum*. В результаті цього після підбору оптимального складу живильного середовища та використання 300 літрового біореактору були отримані значення – вміст ГК 20 мг/г та вихід ГК 0,677 г/л. Таким чином, найвищий вміст ГК у штаму *G. sinense* 2516, який ми використовували у дослідженні, був на 24,2 % вищий, ніж аналогічний у зазначених вище дослідників, але вихід ГК на 7 % менший. Слід зазначити, що при цьому час культивування у нашому дослідженні був на 5 діб довшим (Boromenskyi et al., 2021a).

Таким чином, нами модифікована методика екстракції ГК з вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma*, вирощеного на рідкому живильному середовищі, що дозволило скоротити час екстракції на першому етапі з 14 до 2 діб.

Нами вперше було описано наявність та вміст ГК в міцелії видів *G. carnosum* та *G. oregonense* і проведене порівняння впливу глибинного та поверхневого методів культивування на накопичення та вихід ГК міцелієм 10 штамів 7 видів грибів роду *Ganoderma*.

Доведено, що різні штами одного виду можуть суттєво відрізнятись за накопиченням ГК та їх виходом в однакових умовах.

За результатами комплексного дослідження нами відібрано штами *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 з Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України як перспективні продуценти цінних біологічно активних речовин – ганодерових кислот.

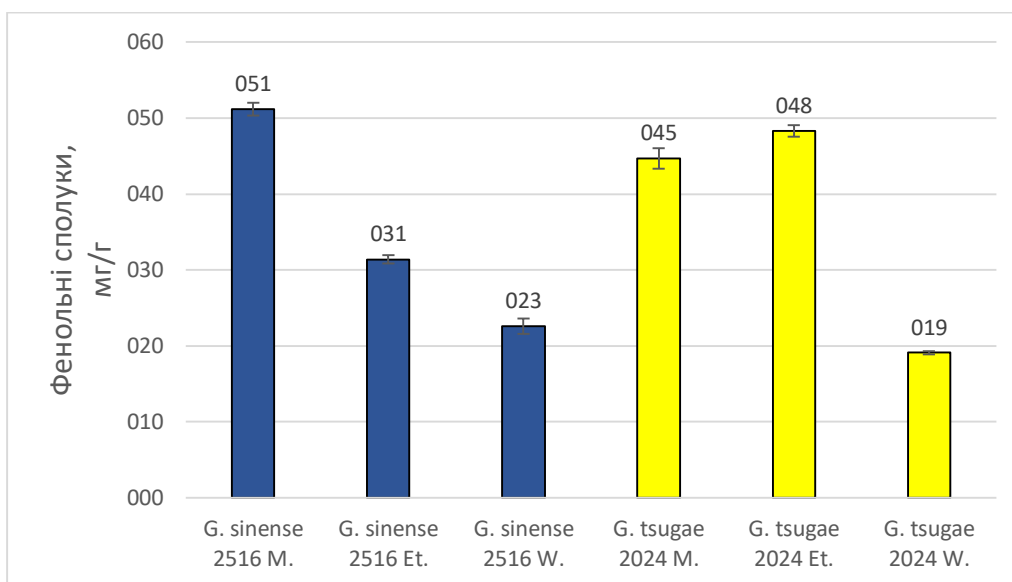
4.3. Вміст фенольних сполук в екстрактах біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 та їх вихід

Для підтримки життєдіяльності організму людини у нормі утворюються активні форми кисню та азоту, вони виконують різноманітні функції, в тому числі: детоксикації, передачі сигналів, беруть участь в імунній відповіді. Їх контроль здійснюється за допомогою ендогенних ферментів (Dimitrios, 2006). Проте за певних умов відбувається гіперсинтез цих сполук, і вони можуть принести шкоду організму, збільшуючи ризик серцево-судинних, ракових та інших хронічних захворювань (Aruoma, 1998). Частково запобігти цим процесам можуть антиоксиданти, зокрема феноли та їх похідні (Martinez-Gomez et al., 2020). Феноли – клас органічних сполук, які в природі містяться у рослинах та грибах (Hollman, 2001; Heleno et al., 2010).

Проведені дослідження доводять, що різні екстракти з плодових тіл грибів можуть проявляти антиоксидантну активність (Cheung et al., 2003; Alvarez-Parrilla et al., 2007). Це робить актуальним дослідження щодо вмісту різноманітних сполук та їх активності у вегетативному міцелії різних видів грибів, в тому числі, роду *Ganoderma*.

Нами було досліджено вміст фенольних сполук у 3 видах екстрактів з біомаси міцелію *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516: метанольному, етилацетатному та водному (рис. 4.3.1). Аналіз отриманих даних дозволив встановити, що зміна екстрагенту впливає на кількість екстрагованих фенольних речовин. Використання метанолу дозволило отримати з міцелію *G. sinense* 2516 найбільшу кількість фенольних сполук ($51,2 \pm 1$ мг/г), в той же час для штаму *G. tsugae* 2024 найкращим розчинником для екстракції виявився етилацетат ($48,3 \pm 1,1$ мг/г). В обох випадках фенольні сполуки найслабше

екстрагувались за допомогою води. Їх вміст у водних екстрактах міцелію *G. sinense* 2516 був на 55,9 % нижчим, ніж в метанольному екстракті. Відповідно для міцелію *G. tsugae* 2024 ця різниця складала 39,5 %. Різниця між найвищими значеннями вмісту фенольних сполук для міцелію обох досліджених штамів з використанням оптимального для кожного штаму екстрагенту складала лише 5,6 % (рис. 4.3.1).



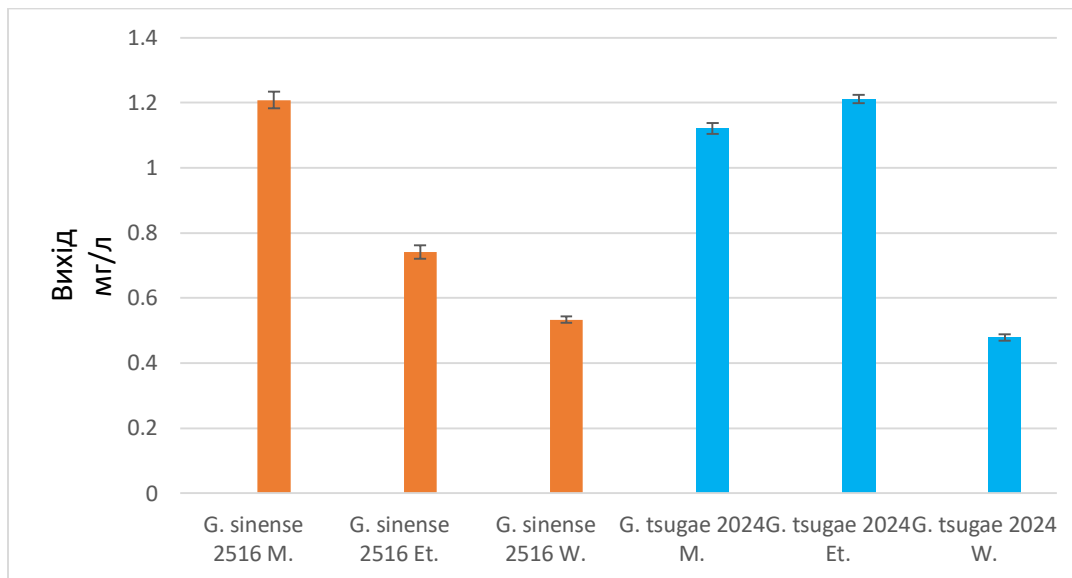
М. – метанольний екстракт

Et. – етилацетатний екстракт

W. – водний екстракт

Рис. 4.3.1 Вміст фенольних сполук в різних екстрактах міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 на 14-у добу глибинного культивування за температури $26,0 \pm 0,1$ °C на ГПД середовищі.

Нами було обчислено вихід фенольних сполук обома дослідженими штамми (рис. 4.3.2). При цьому, різниця між найвищими показниками виходу фенольних сполук для обох штамів в умовах оптимального для кожного штаму екстрагенту лежить у межах статистичної похибки (рис. 4.3.2).



М. – метанольний екстракт

Et. – етилацетатний екстракт

W. – водний екстракт

Рис. 4.3.2 Вихід фенольних сполук міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516, екстрагованих різними розчинниками, на 14-у добу глибинного культивування за температури $26,0 \pm 0,1$ °C на ГПД середовищі.

Zeng зі співавторами (2009) наводить відомості щодо вмісту фенолів у плодових тілах та міцелії *G. sinense*, культивованого на рідкому живильному середовищі. У їхньому експерименті найвищий вміст фенольних сполук наводиться саме для міцелію *G. sinense* – 60,36 мг/г. Це на 15 % вище, ніж ми отримали в ході свого дослідження, проте варто враховувати і вихід фенольних сполук на одиницю об'єму живильного середовища. Нажаль, автори не вказують таких даних. Мау зі співавторами (2005) наводять дані щодо вмісту фенольних сполук у плодових тілах та міцелії *G. tsugae*: ці значення варіювали у межах 24,0–35,6 мг/г, що значно менше за отримані нами показники. Отже, можна стверджувати, що відібрані нами штами *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 є перспективними продуцентами фенольних сполук.

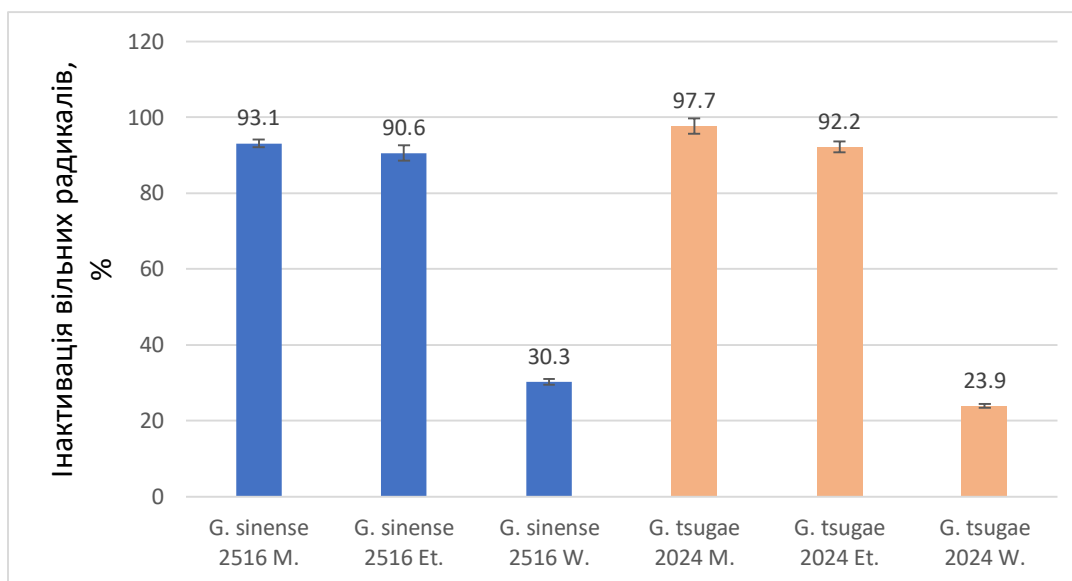
4.4. Антиоксидантна активність екстрактів біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516

Антиоксиданти – це речовини, які можуть відноситись до різноманітних класів сполук. У ролі відновника вони здатні інгібувати активність вільних радикалів в, таким чином запобігаючи окисним процесам в організмі людини, упереджуючи розвиток різноманітних хвороб та патологій – ракових, аутоімунних захворювань, процесів старіння і т.д. (Halliwell et al., 1995, Nat 2000, Young, 2001, Koynar et al., 2008, Sah et al., 2014). Було виявлено, що екстракти з різних видів грибів також проявляють антиоксидантні властивості (Cheung et al., 2003 Veljović et al., 2017). Варто зазначити, що в якості антиоксидантів можуть виступати і полісахариди, в тому числі ті, що містяться в грибах роду *Ganoderma* (Zeng et al., 2018). В літературі наводяться дані щодо антиоксидантної активності деяких видів цього роду: *G. adspersum*, *G. lingzhi*, *G. atrum*, *G. tsugae*, *G. capense*, *G. applanatum*, *G. lucidum* (Yen et al, 1999, Chen et al., 2008, Saltarelli et al., 2009, Li et al, 2015, Tel-Çayan et al., 2015, Si et al., 2019). Слід відмітити, що більшість досліджень проводили із використанням екстрактів з плодових тіл. Таким чином, актуальним є вивчення антиоксидантної активності екстрактів міцелію.

Нами була досліджена антиоксидантна активність 3 видів екстрактів міцелію *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516: метанольного, етилацетатного та водного.

Як вказують дані, відображені на рис. 5.5.1, антиоксидантна активність метанольних та етилацетатних екстрактів обох видів надзвичайно висока, а водних екстрактів набагато слабша. В даному експерименті для міцелію *G. tsugae* 2024 найкращим екстрагентом виявився метанол. Проте різниця між активністю метанольного та етилацетатного екстрактів для вказаного виду склала лише 5,5 % (рис. 5.5.1). В той же час, активність етилацетатних та метанольних екстрактів *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 перевищила антиоксидантну активність водного екстракту на 81 і 75,5 % відповідно (рис. 5.5.1). Рівень антиоксидантної активності метанольного та етилацетатного

екстрактів міцелію *G. sinense* 2516 лежить у межах статистичної похибки, у той же час активність водного екстракту на 67.4 % менша (рис. 5.5.1).



М. – метанольний екстракт

Et. – етилацетатний екстракт

W. – водний екстракт

Рис. 5.5.1 Антиоксидантна активність різних екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 на 14-у добу культивування за температури $26,0 \pm 0,1$ °C на ГПД середовищі.

У своєму дослідженні Huang (2000) наводить дані, які вказують на те, що екстракти різних частин грибів проявляють антиоксидантну активність різного рівня. Так, метанольні екстракти з плодових тіл *Antrodia camphorata* (M. Zang & C.H. Su) Sheng H. Wu, Ryvardeen & T.T. Chang, демонстрували на 3,5 – 5,3 % вищу антиоксидантну активність, ніж міцелій цього ж виду. А метанольний екстракт міцелію *Agaricus blazei* Murrill був активнішим на 1,6 % за такий же з плодових тіл. Тобто різниця в показниках є невисокою, що вказує на можливість використання саме міцелію, культивованого на рідких живильних середовищах для отримання екстрактів з антиоксидантними властивостями та подальшим використанням їх у лікувально-профілактичних та лікарських засобах.

Zeng зі співавторами (2009) наводили дані щодо антиоксидантної активності метанольних та водних екстрактів плодових тіл *Ganoderma sinense* та міцелію, вирощеного на рідкому живильному середовищі. Найвища активність при цьому була характерна для водного екстракту саме з міцелію – 97.94 %. Мау зі співавторами (Мау 2002 а, b) повідомляли про антиоксидантну активність метанольних екстрактів плодових тіл *G. lucidum* та *G. tsugae* (55,5 % та 44,8 % відповідно). Як бачимо активність екстрактів, отриманих вищевказаними авторами, суттєво нижча, ніж та, яка була виявлена в ході нашого експерименту.

Аналіз даних, отриманих в ході експерименту, свідчить про те, що для отримання найвищого рівня антиоксидантної активності екстракту міцелію *G. tsugae* 2024, як екстрагент, слід застосовувати метанол.

Однаково високий рівень антиоксидантної активності проявляють як метанольний, так і етилацетатний екстракт міцелію *Ganoderma sinense* 2515.

При використанні етилацетату та метанолу як екстрагентів, антиоксидантна активність складає 93,1 і 90,6 % відповідно для *Ganoderma sinense* 2516 та 97,7 і 92,2 % відповідно для *G. tsugae* 2024. Водні екстракти *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 мали антиоксидантну активність у 30,3 і 23,9 % відповідно.

Наведені результати доводять актуальність та зручність використання саме вегетативного міцелію грибів для отримання екстрактів з високим рівнем антиоксидантної активності.

В ході проведених досліджень по вивченню біосинтетичних властивостей штамів різних видів роду *Ganoderma* було виявлено, що штам *G. tsugae* 2024 має найбільший біотехнологічний потенціал за показниками накопичення біомаси ($20,3 \pm 0,5$ г/л), виходу ендополісахаридів ($1,58 \pm 0,08$ г/л), ганодерових кислот ($0,35 \pm 0,02$ г/л), фенольних сполук ($1,2$ мг/л $\pm 0,02$).

РОЗДІЛ 5. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ БІОМАСИ МІЦЕЛІЮ ГРИБІВ РОДУ *GANODERMA* ТА ЕКСТРАКТІВ З НЕЇ

5.1. Антибактеріальна активність екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma sinense* 2516 та *Ganoderma tsugae* 2024

Лікарські властивості грибів обумовлюються не тільки біологічно активними речовинами, які здатні впливати на організм людини безпосередньо, а й тими сполуками, що можуть пригнічувати розвиток патогенних для людини мікроорганізмів (Janeš et al., 2007, Imtiaj et al., 2007). Варто зазначити і те, що історія використання антибіотиків розпочалась саме з відкриття у 1928 році Александром Флемінгом антимікробних властивостей *Penicillium notatum* Westling та отримання за допомогою нього першого антибіотику – пеніциліну (Hare, 1982, Clarke, 2015). Завдяки цьому відкриттю було врятовано мільйони життів і розпочалась нова ера в медицині (Swann, 1983).

Враховуючи той факт, що бактерії здатні набувати резистентності до антибіотиків, які проти них використовуються, пошук нових речовин з антимікробними властивостями, в тому числі природного походження, є актуальним (Alanis, 2005, Dantas et al., 2008). В ході численних досліджень було доведено, що різні екстракти з багатьох видів грибів можуть проявляти активність проти грам-негативних та грам-позитивних бактерій (Ren et al., 2014, Faizule et al., 2019). На даний час доведено антибактеріальну активність для кількох видів роду *Ganoderma*: *G. boninense*, *G. australe*, *G. applanatum*, *G. colossum*, *G. parvulum* Murrill, *G. resinaceum*, *G. praelongum* Murrill, *G. carnosum*, *G. pfeifferi* та *G. lucidum*, якому присвячено переважну більшість публікацій (Mothana et al., 2003, Ofodile et al., 2005., Moradali et al., 2006, Abdulghani et al., 2011, Ofodile et al., 2011, Pereira-Jr et al., 2013, Cilerdzic et al., 2016, Luangharn et al., 2017, Costa et al., 2019a, Abdullah et al., 2020, Abdullah et al., 2021). У більшості випадків для подібних експериментів використовували екстракти плодових тіл. Але варто зазначити, що біомасу міцелію можна отримати набагато швидше, ніж плодові тіла, за допомогою сучасних методів

культивування, що є важливим фактором для подальшого використання у виробництві антимікробних препаратів.

У своєму дослідженні ми вивчали вплив етилацетатних та метанольних екстрактів різних концентрацій з міцелію *Ganoderma sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 на 4 види бактерій – 2 види грам-позитивних: *Bacillus subtilis* – ґрунтова паличкоподібна бактерія, яка здатна утворювати термостійкі ендоспори, непатогенна для людини (Elsevier Ltd., 2009); *Staphylococcus aureus* – куляста бактерія, патогенна для людини, здатна викликати різноманітні захворювання (Elsevier Ltd., 2009);

та 2 види грам-негативних: *Pseudomonas aeruginosa* – анаеробна паличководна бактерія, зазвичай трапляється у ґрунті та воді, і є опортуністичним патогеном людини, тобто зазвичай непатогенна для здорових людей, проте здатна викликати інфекційні захворювання у людей з ослабленим імунітетом (Elsevier Ltd., 2009); *Escherichia coli* – паличкоподібна бактерія, що асоційована з організмом ссавців, в тому числі людини та присутня в організмі як частина нормальної мікрофлори кишечника. Дякі штами цієї бактерії можуть бути патогенні для людини, викликаючи ешерихіоз (Elsevier Ltd., 2009). Було визначено, що 25 та 50 мкл будь якого екстракту міцелію обох штамів, внесених в чашку Петрі не впливають на ріст цих бактерій.

Встановлено, що додавання 100 мкл метанольного або етилацетатного екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 здатні пригнічувати ріст *B. subtilis* утворюючи зону інгібування 11 – 15 мм. Ці ж екстракти також здатні пригнічувати ріст колоній *E. coli*, при цьому діаметр зони інгібування для метанольного екстракту складає $7 \pm 0,8$ мм, для етилацетатного – $13 \pm 1,2$ мм.

Згідно зі класифікацією EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ефективним антибіотиком можна вважати той у якого зона інгібування ≥ 13 мм (<https://www.eucast.org>). Тобто ефективним є метанольний екстракт міцелію *G. tsugae* 2024 проти *B. subtilis* та етилацетатний того ж виду проти *E. coli*.

Антибактеріальна активність різних екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516

Вид/ штам	Зона інгібування, мм, екстракти міцелію			
	<i>G. tsugae</i> 2024 метанольний екстракт 100 мкл (1,48 мкг фенольних сполук)	<i>G. tsugae</i> 2024 етилацетатний екстракт 100 мкл (1,6 мкг фенольних сполук)	<i>G. sinense</i> 2516 метанольний екстракт 100 мкл (1,7 мкг фенольних сполук)	<i>G. sinense</i> 2516 етилацетатний екстракт 100 мкл (1 мкг фенольних сполук)
<i>Bacillus subtilis</i>	15 ± 1,3	11 ± 1,1	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	7 ± 0,8	13 ± 1,2	0	0

Доведено, що на ріст колоній *B. subtilis* та *E. coli* екстракти міцелію *G. sinense* 2516 не впливають. Досліджені екстракти міцелію обох видів не впливали також на ріст колоній *S. aureus* та *P. aeruginosa*.

Sridhar зі співавторами (2011) дослідили вплив метанольного та водного екстрактів плодових тіл *G. lucidum* на 5 видів бактерій, серед яких були *E. coli*, *P. aeruginosa* та *S. aureus*. При цьому 100 мкл метанольного екстракту пригнічували усі види бактерій. Діаметри інгібування склали: 19 ± 1,4 мм для *E. coli*, 20 ± 3,7 мм для *P. aeruginosa* та 14 ± 5,1 мм для *S. aureus*. Kamble зі співавторами (2011) наводили дані про вплив метанольного екстракту з міцелію *G. lucidum* на *B. subtilis* (діаметр зони інгібування 10,5 мм), *S. aureus* (діаметр зони інгібування 11,5 мм) та *E. coli* (діаметр зони інгібування 10 мм). Тобто екстракт, який використовували автори, пригнічував ріст *S. aureus*, на відміну від отриманих нами метанольних екстрактів, та був на 30 % сильніший по відношенню до *E. coli*, аніж метанольний екстракт міцелію *G. tsugae* 2024,

що використовували ми. Проте, отриманий нами метанольний екстракт міцелію *G. tsugae* 2024 чинив на 30 % сильніший пригнічуючий вплив на *B. subtilis*, ніж екстракт міцелію *G. lucidum* в дослідях вищезазначених авторів. Круподьорова зі співавторами (2016) також досліджували антибактеріальні властивості гомогенізованого міцелію та культуральної рідини видів *G. lucidum* і *G. applanatum*, що були вирощені у глибинній культурі на ГПД середовищі на ті самі види мікроорганізмів, що і ми у своєму досліді. Авторами було виявлено, що міцелій *G. applanatum* не впливає на ріст жодної з культур мікроорганізмів. А міцелій *G. lucidum* на 21,5 % сильніше інгібував ріст *B. subtilis* та мав аналогічний вплив на *E. coli* порівняно з отриманими нами результатами щодо цих мікроорганізмів. На *S. aureus*, як і в нашому дослідженні, впливу не спостерігалось.

Отримані результати свідчать про те, що згідно з класифікацією EUCAST міцелій штаму *G. tsugae* 2024 може бути потенційним джерелом антимікробних сполук по відношенню як мінімум до 2 видів мікроорганізмів: *B. subtilis* та *E. coli*.

5.2. Антифунгальна активність екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma sinense* 2516 та *Ganoderma tsugae* 2024

Окрім бактерій, патогенними для людини можуть бути і гриби з анаморфних родів *Penicillium* Link, *Aspergillus* Haller, *Candida* Berkh., *Mucor* Fresen. (Teakaia et al., 2005, Maiya et al., 2007, Chang et al., 2019). Окрім того, багато видів мікроміцетів можуть приносити шкоду іншим сферам діяльності людини, наприклад, викликати цвіль у будівлях, пошкоджуючи їх та спричиняючи дискомфорт у вигляді неприємного запаху і т. п. (Lugauskas et al., 2007, Yakovleva et al., 2012). Для боротьби з цвілевими грибами зазвичай використовують фунгіциди, які можуть бути шкідливі для людини (Gupta, 2018, Van Der Ven et al., 2020). Тому розробка і використання нешкідливих антифунгальних препаратів природного походження є важливою і актуальною проблемою. Антифунгальна активність грибів роду *Ganoderma* вивчена

недостатньо. Достеменно відомі протигрибкові властивості окремих речовин з *G. lucidum*, *Ganoderma annulare* (Lloyd) Boedijn, *G. applanatum*, *G. australe*, при цьому в дослідженнях використовувались лише деякі речовини, екстраговані з грибів роду *Ganoderma*. Була вивчена активність проти розповсюджених грибків-патогенів культурних рослин: *Physalospora piricola* Nose, *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium oxysporum* Schltdl., патогенів людини та домашніх тварин: *Microsporum canis* Bodin, *Trichophyton mentagrophytes* (C.P. Robin) Sabour., *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill. (Smania et al, 2003, Smania et al., 2006, Wang et al., 2006, Klaus et al., 2016).

В ході експерименту нами було перевірено вплив етилацетатних та метанольних екстрактів з міцелію *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 на ріст колоній трьох видів грибів-мікроміцетів, які є модельними об'єктами.

Aspergillus niger – вид цвілевих грибів, який у наш час відомий в першу чергу як важливий біотехнологічний об'єкт, продуцент лимонної кислоти. В деяких випадках здатен викликати захворювання людини – аспергільози, але зазвичай вони можуть проявлятися тільки у людей з імунодефіцитом (Upton et al, 2017).

Penicillium polonicum – вид цвілевих грибів, який зростає на різноманітних продуктах харчування та здатний утворювати небезпечний для людини потужний нейротоксин – веррукозидин (Nunez et al., 2000).

Mucor globosus – широко розповсюджений вид цвілевих грибів, який може зростати на різноманітних субстратах, в тому числі ґрунтах, рослинних залишках та будинках, в рідкісних випадках може бути патогенний для людей, з імунодефіцитом (Méndez-Vilas, 2010).

Було встановлено, що додавання 25 та 50 мкл екстрактів чинили слабкий інгібуючий вплив на вказані мікроміцети. А внесення 100 мкл етилацетатних екстрактів міцелію *Ganoderma sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 значною мірою пригнічували розвиток *A. niger* – зона інгібування була діаметром 50 ± 3 та 34 ± 2 мм відповідно, що свідчить про високу антифунгальну дію цього

екстракту. В той же час, внесення метанольних екстрактів біомаси міцелію обох видів чинили слабший вплив на ріст *Aspergillus niger* – діаметри зони інгібування були лише $15 \pm 1,3$ мм для *G. sinense* 2516 та $12 \pm 1,1$ мм для *G. tsugae* 2024.

На ріст *Penicillium polonicum*, навпаки, сильніше впливали саме метанольні екстракти. Так, при внесенні 100 мкл метанольного екстракту міцелію *G. sinense* 2516 зона інгібування складала $45 \pm 2,4$ мм, а екстракту *G. tsugae* 2024 – $37 \pm 2,1$ мм.

На ріст *Mucor globosus* жоден з використаних нами екстрактів не впливав.

Sridhar (2011) із співавторами дослідили вплив метанольного та водного екстрактів плодових тіл *G. lucidum* на 5 видів патогенних мікроміцетів: *Penicillium sp.*, *Aspergillus fumigatus* Fresen., *A. niger*, *A. flavus* Link та *Mucor indicus* Lendn. В їх експерименті 100 мг метанольного екстракту проти *A. niger* утворювали зону інгібування 11 мм, що на 26,6 % менше ніж аналогічна зона інгібування для метанольного екстракту міцелію *G. sinense* 2516 у наших дослідках. Проте, порівняно з найкращим результатом проведеного нами експерименту (100 мкл етиалцетатного екстракту міцелію *G. sinense* 2516), зона інгібування для *A. niger*, отримана вищевказаними авторами, на 78 % менша.

Результати впливу екстрактів міцелію досліджених видів на різні мікроорганізми демонструють можливість розробки антифунгальних препаратів на основі екстрактів з біомаси міцелію грибів роду *Ganoderma*, які зможуть прийти на заміну фунгіцидам, отриманим шляхом хімічного синтезу.

5.3 Вплив біомаси міцелію досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на проростання насіння та ріст *Cucumis sativus*

Для цього дослідження було використано міцелій 9 штамів 6 видів грибів роду *Ganoderma* (100мг висушеного міцелію у порошкоподібному стані з концентрацією 6,25 мг/мл голодного агару): *G. sinense* 2516; *G. resinaceum*

2503, 2477; *G. tsugae* 2566, 2024, 1848; *G. applanatum* 1899; *G. lucidum* 1904; *G. carnosum* 2502.

Встановлено, що при додаванні біомаси міцелію штамів *Ganoderma resinaceum* 2477, 2502 та *G. applanatum* 1899 було зафіксовано 1, 2 та 3 непророслих насінини з 15 (6,6 %, 13,3 % та 20 %) відповідно (рис. 5.3.1).

Отримані нами експериментальні дані, відображені на рис. 5.3.1, свідчать, що біомаса міцелію різних штамів видів роду *Ganoderma* проявляє інгібуючий вплив на корені *Cucumis sativus*.

Порівняно з контрольною групою, лише додавання міцелію *Ganoderma sinense* 2516 несуттєво впливає на розвиток кореня *Cucumis sativus*, середні значення його довжини в обох групах даних лежать у межах статистичної похибки. Найсильнішу інгібуючу дію по відношенню до кореня *C. sativus* проявляє біомаса міцелію *G. resinaceum* 2477, при цьому середнє значення довжини кореня є найменшим з усіх вибірок й нижче за середнє значення у контрольної групи на 55,8 % (рис. 5.3.1). Додавання біомаси міцелію інших штамів, використаних у даному дослідженні (*G. sinense* 2516; *G. resinaceum* 2503; *G. tsugae* 2566, 2024, 1848; *G. applanatum* 1899; *G. carnosum* 2502) також пригнічували ріст коренів *C. sativus*, при цьому інгібуюча дія проявлялась в зменшенні довжини пагонів в межах 52,3 %-20 % що виражають діаграми, зображені на рис. 5.3.1.

Дані, зображені на рис. 5.3.2, вказують на те, що на відміну від інгібуючого впливу на корінь *Cucumis sativus*, біомаса міцелію деяких штамів здатна позитивно впливати на ріст його пагонів.

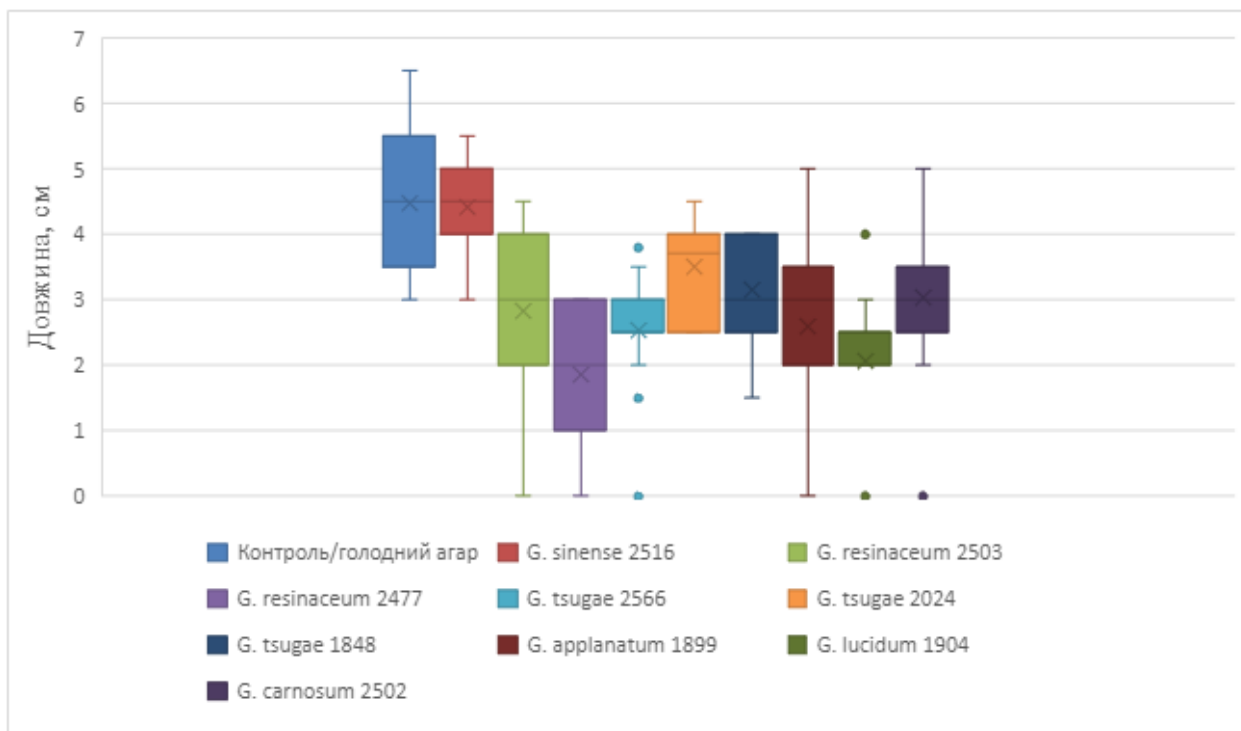


Рис. 5.3.1 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на довжину коренів *Cucumis sativus* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Біомаса принаймні 3 видів, а саме *Ganoderma sinense* 2516, *G. tsugae* 2024 та *G. carnosum* 2502, достовірно позитивно впливає на ріст пагонів *Cucumis sativus*. Додавання міцелію вищевказаних штамів збільшувало середню довжину пагону на 35,7 %, 42,9 % та 42,9 % відповідно, в порівнянні з середньою довжиною у контрольній вибірці (рис. 5.3.2). У групах із додаванням міцелію штамів *G. resinaceum* 2503, *G. tsugae* 2566 та *G. tsugae* 1848 середнє значення довжини пагону лежить в межах статистичної похибки порівняно з контролем, тобто було приблизно однаковим. Це вказує на те, що біомаса 3 вищезгаданих штамів не впливає на розвиток пагону *C. sativus*. Біомаса 4 інших штамів достовірно негативно впливає на ріст пагона, найсильніший інгібуючий вплив при цьому проявляє міцелій штаму *G. applanatum* 1899 – середня довжина пагону *C. sativus* при його додаванні була на 39,3 % меншою, ніж у контрольній (рис. 5.3.2).

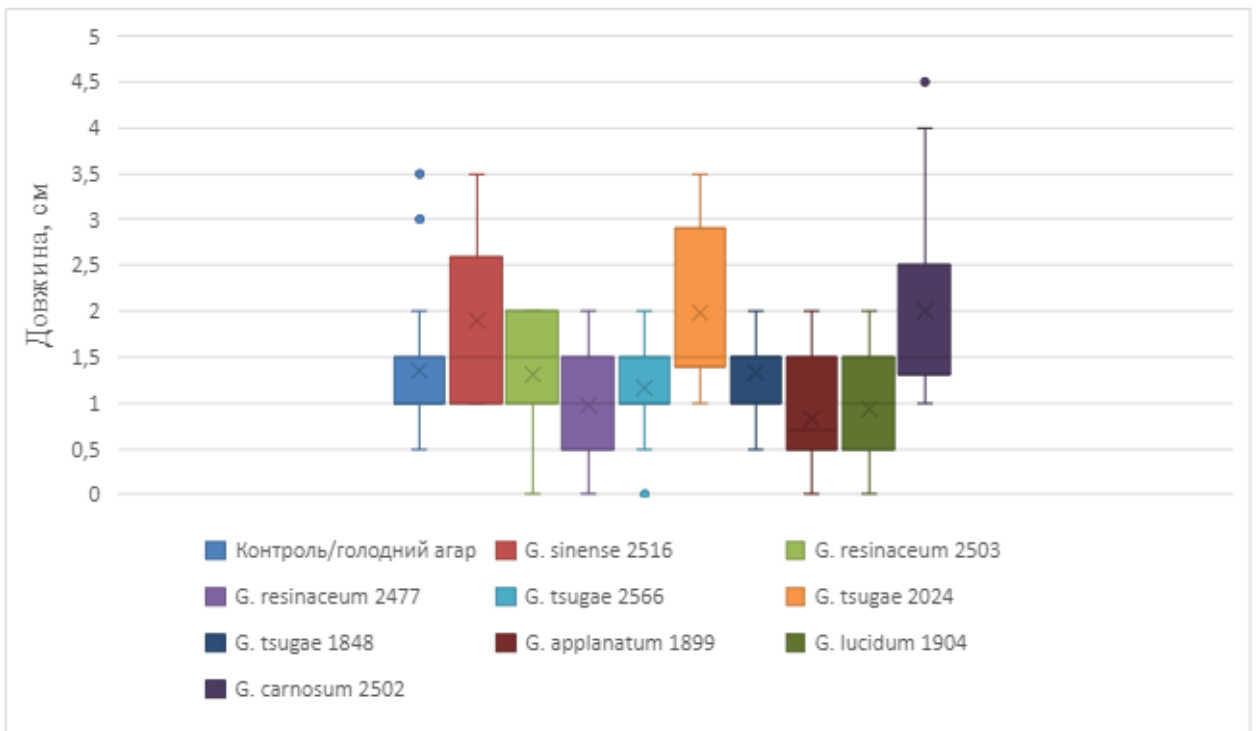


Рис. 5.3.2 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на довжину пагонів *Cucumis sativus* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

У підсумку, аналізуючи діаграму розподілу на рис. 5.3.4, можна зробити висновок, що загалом на ріст *Cucumis sativus* біомаса міцелію різних штамів видів роду *Ganoderma* впливає як позитивно, так і негативно. Можна стверджувати, що додавання міцелію *G. sinense* 2516 діє як слабкий стимулятор росту *C. sativus* – середня довжина рослини у цій групі була на 5 % більшою, ніж в контрольній. Середнє значення довжини *C. sativus* у групі із додаванням міцелію *G. tsugae* 2024 лежить у межах статистичної похибки з контрольною групою, тобто можна зробити висновок, що біомаса *G. tsugae* 2024 не впливає на розвиток *C. sativus* (рис. 5.3.4).

Біомаса міцелію *Ganoderma resinaceum* 2477 та *G. lucidum* 1904 проявляє найсильніший інгібуючий вплив на ріст *C. sativus*. Середня довжина рослини при додаванні міцелію вказаних штамів була відповідно на 61 % менша за довжину у контрольній групі в обох випадках (рис. 5.3.3).



Рис. 5.3.3 Порівняння контрольної вибірки (а) (проростання у голодному агарі) із групами рослин *Cucumis sativus*, що проростали в голодному агарі з додаванням біомаси *Ganoderma lucidum* 1904 (б) та біомаси *Ganoderma resinaceum* 2477 (в) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

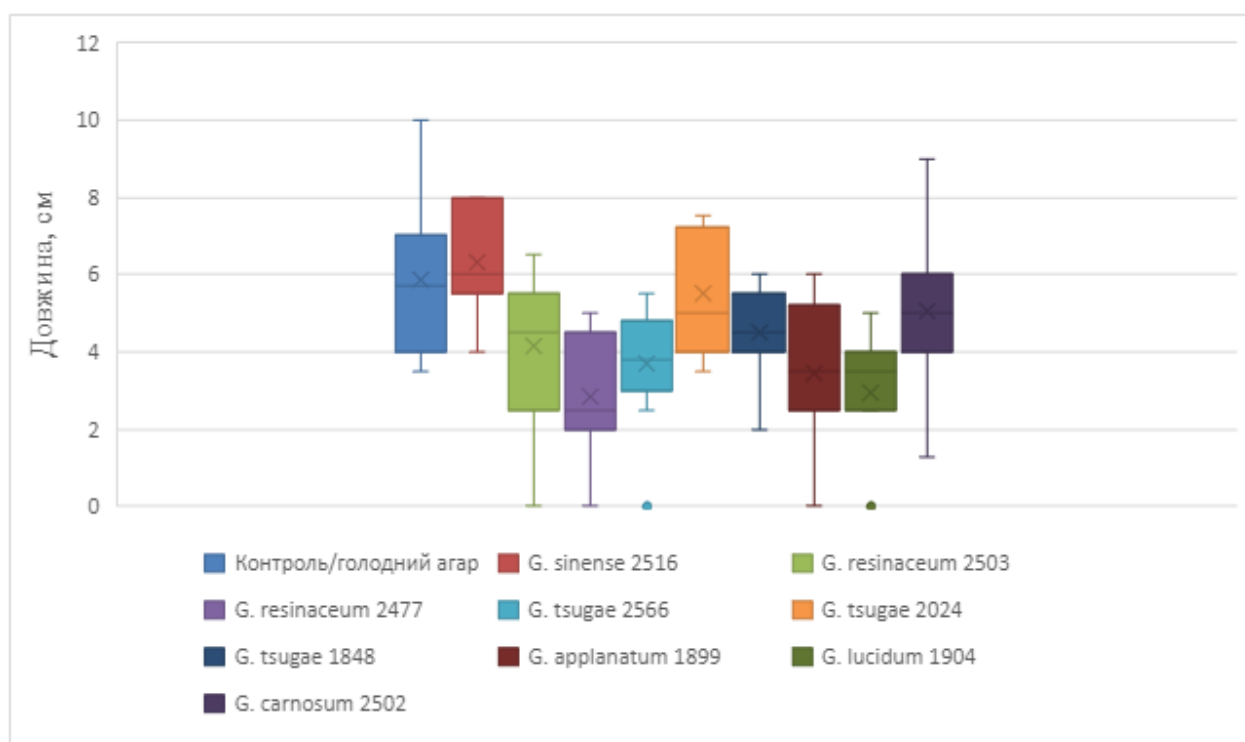


Рис. 5.3.4 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на довжину *Cucumis sativus* (корінь+пагін) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Біомаса міцелію інших видів, використаних у дослідженні, чинила в основному інгібуючий ефект на ріст *Cucumis sativus*. (рис. 5.3.4) (Boromenskyi et al., 2021c).

5.4. Вплив біомаси та екстрактів міцелію досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*

Як було описано у попередніх розділах, чисельні наукові дослідження показали, що плодові тіла, спори та міцелій грибів даного роду містять корисні для людини біологічно активні сполуки. Проте серед них є і такі, що проявляють активність до вищих рослин – цитокініни (Vedenicheva et al., 2018). Як відомо, останні стимулюють поділ клітин рослин і можуть впливати на їх ріст, проте недостатньо досліджень, які б підтверджували чи спростовували вплив біомаси чи екстрактів, отриманих з різних частин грибів роду *Ganoderma*, на ріст вищих рослин (Vedenicheva et al., 2019). До того ж, гриби даного роду у природі продукують ферменти, серед яких є лаказа, манган-пероксидаза та лігнін-пероксидаза (Sudheer et al., 2019), і, тим самим впливають на деревину, що робить їх цікавими об'єктами для визначення активності щодо вищих рослин.

Було доведено, що водні екстракти різних базидієвих грибів можуть, як інгібувати, так і стимулювати ріст та швидкість проростання насіння *Pinus banksiana* Lamb., інших рослин, а також лишайників (Brown et al., 1967). Встановлено, що деякі мікоризоутворюючі гриби виділяють речовини, які проявляють інгібуючий вплив на сусідні несимбіотичні рослини (Wardle et al., 2011). Масштабну експериментальну роботу з визначення інгібуючих властивостей плодових тіл 289 різних дикоростучих видів грибів провели Osivand зі співавторами (2019), проте зазначені властивості грибів роду *Ganoderma* у цьому дослідженні вони не вивчали.

5.4.1. Вплив біомаси різних видів роду *Ganoderma* на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*

Для цього дослідження було використано міцелій 9 штамів 6 видів грибів роду *Ganoderma* (100 мг висушеного міцелію у порошкоподібному стані (6,25 мг/мл)): *G. sinense* 2516; *G. resinaceum* 2503, 2477; *G. tsugae* 2566, 2024, 1848; *G. applanatum* 1899; *G. lucidum* 1904; *G. carnosum* 2502.

Встановлено, що з усіх використаних штамів лише біомаса міцелію *G. tsugae* 2024 достовірно негативно впливає на проростання насіння *Lepidium sativum* – з усієї вибірки було виявлено 7 непророслих насінин, тобто 23,3 % від загальної кількості, в той час як у контрольній вибірці проростання насіння – 100 %. При вивченні впливу біомаси міцелію інших штамів зафіксовані лише поодинокі непророслі насінини, проте враховуючи загальну їх кількість такі випадки є статистично допустимими та не впливають на загальні результати експерименту (рис. 5.4.1.1).

Вплив біомаси міцелію на ріст коренів *Lepidium sativum* вказує на суттєві інгібуючі властивості міцелію грибів роду *Ganoderma*. Як видно з даних, відображених на рис. 5.4.1.1, середня довжина кореню рослин, що зростали на контрольному середовищі, була набагато більшою за довжину кореня рослин, які зростали під впливом біомаси досліджених штамів видів роду *Ganoderma*, і сягала $6,1 \pm 0,8$ см.

Найбільший негативний вплив на ріст коренів *Lepidium sativum* чинить міцелій усіх штамів *Ganoderma tsugae* та *G. lucidum* 1904. Проте, варто виділити саме вплив біомаси штаму *G. tsugae* 2024 тому, що середня довжина кореня в цьому випадку зменшилась на 82,4 % порівняно з контрольним дослідом і сягала лише 1 см. Дещо менше на ріст коренів *L. sativum* впливає біомаса штамів *G. resinaceum* 2477, 2503, а також *G. applanatum* 1899 та *G. sinense* 2516 – довжина кореня при цьому була на 60,6 %, 63,9 %, 65,6 % та 68 % відповідно менша за таку ж в контролі. Порівняно з вищезазначеними штаматами видів роду *Ganoderma*, біомаса *G. carnosum* 2502 інгібувала ріст коренів *L. sativum* найменше, а саме, на 28,7 % порівняно з контролем (Рис. 5.4.1.1).

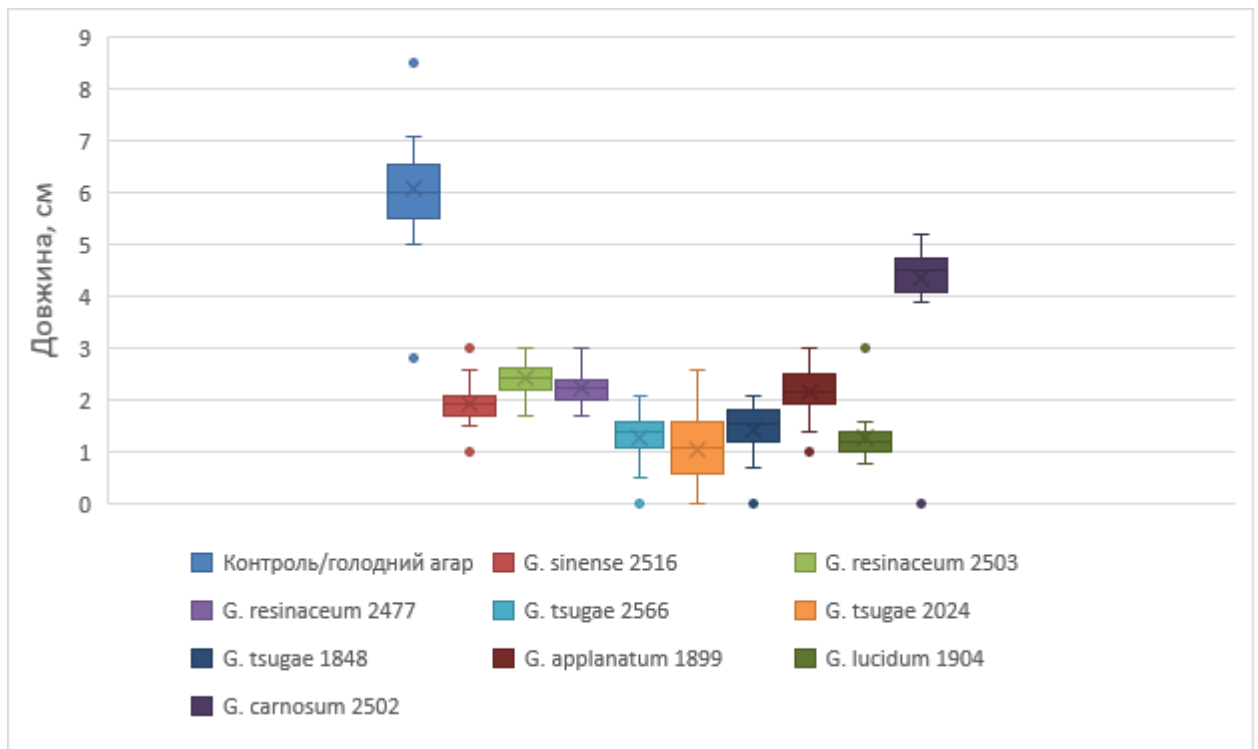


Рис. 5.4.1.1 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) штамів видів роду *Ganoderma* на довжину коренів *Lepidium sativum* на 3-ю добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Розподіл даних на рис. 5.4.1.2 свідчить про виразний пригнічуючий вплив біомаси міцелію досліджених видів на ріст пагонів *Lepidium sativum*. Як і у випадку із коренями, довжина пагону у контрольному досліді була більша, ніж у дослідях, де використовували біомасу грибів роду *Ganoderma*, і сягала $3,65 \pm 0,35$ см.

Додавання міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 призводило не тільки до зменшення довжини кореня, а й до пригнічення росту пагону *Lepidium sativum* – середнє значення довжини пагона у цьому випадку зменшилось на 78,3 % порівняно з контрольною групою, і сягало лише $0,79 \pm 0,09$ см. Інші 7 досліджених штамів (окрім *G. carnosum* 2502) також продемонстрували сильний інгібуючий ефект. Середнє значення довжини пагона під впливом біомаси міцелію *G. sinense* 2516, *G. resinaceum* 2503, 2477, *G. tsugae* 2566, 1848, *G. applanatum* 1899, *G. lucidum* 1904 статистично не відрізняється від такого у випадку впливу *G. tsugae* 2024 та менші на 69,3 – 74,3 % за значення, що були

отримані в контрольному досліді Виключенням є лише штам *G. carnosum* 2502, біомаса якого пригнічувала ріст пагона на 34 % в порівнянні з середнім значенням контрольної вибірки, довжина пагону при цьому була $2,4 \pm 0,2$ см (рис. 5.4.1.2).

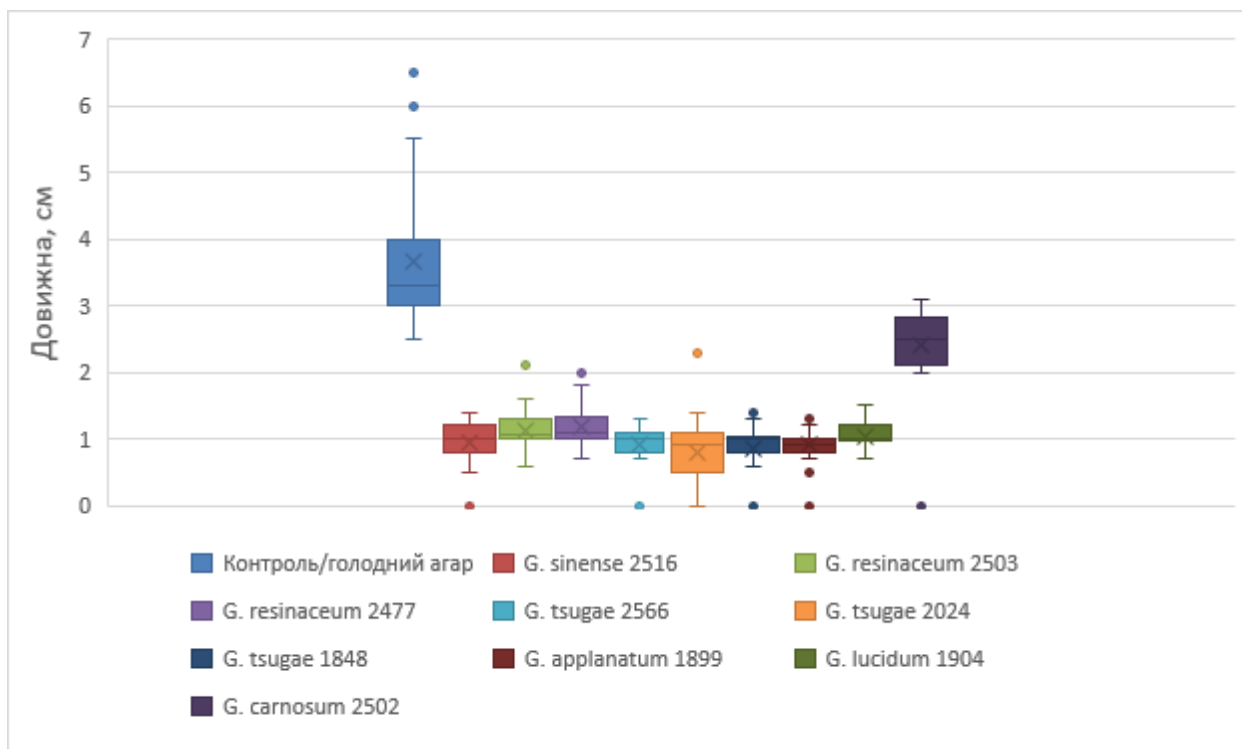


Рис. 5.4.1.2 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) штамів видів роду *Ganoderma* на довжину пагонів *Lepidium sativum* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Підсумовуючи результати впливу біомаси міцелію грибів роду *Ganoderma* на *Lepidium sativum* за допомогою ілюстрації вибірок значень, зображених на рис. 5.4.1.3, можна зробити висновок, що переважна більшість використаних для проведення експерименту штамів видів цього роду чинять суттєвий негативний вплив на ріст коренів та пагонів *L. sativum*.

В контрольній вибірці середнє значення довжини рослини сягало $9,74 \pm 0,5$ см. В той же час, найбільший інгібуючий ефект відмічено у біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 – в середньому лінійний розмір рослини зменшувався на 80,9 % відносно контрольної вибірки і сягав лише $1,86 \pm 0,15$ см. Подібним чином на розмір рослин впливала біомаса інших штамів *G. tsugae*, а також

G. lucidum 1904 (рис. 5.4.1.4), дещо слабше – біомаса штамів *G. resinaceum*, *G. sinense* 2516 та *G. applanatum* 1899 (рис. 5.4.1.3).

За своїми властивостями біомаса міцелію *Ganoderma carnosum* 2502 відрізняється від інших видів, проявляючи слабший інгібуючий ефект на рослину в цілому, лінійні розміри якої скорочувались на 30,7 % порівняно з контрольною групою і були $6,75 \pm 0,4$ см (рис. 5.4.1.3).

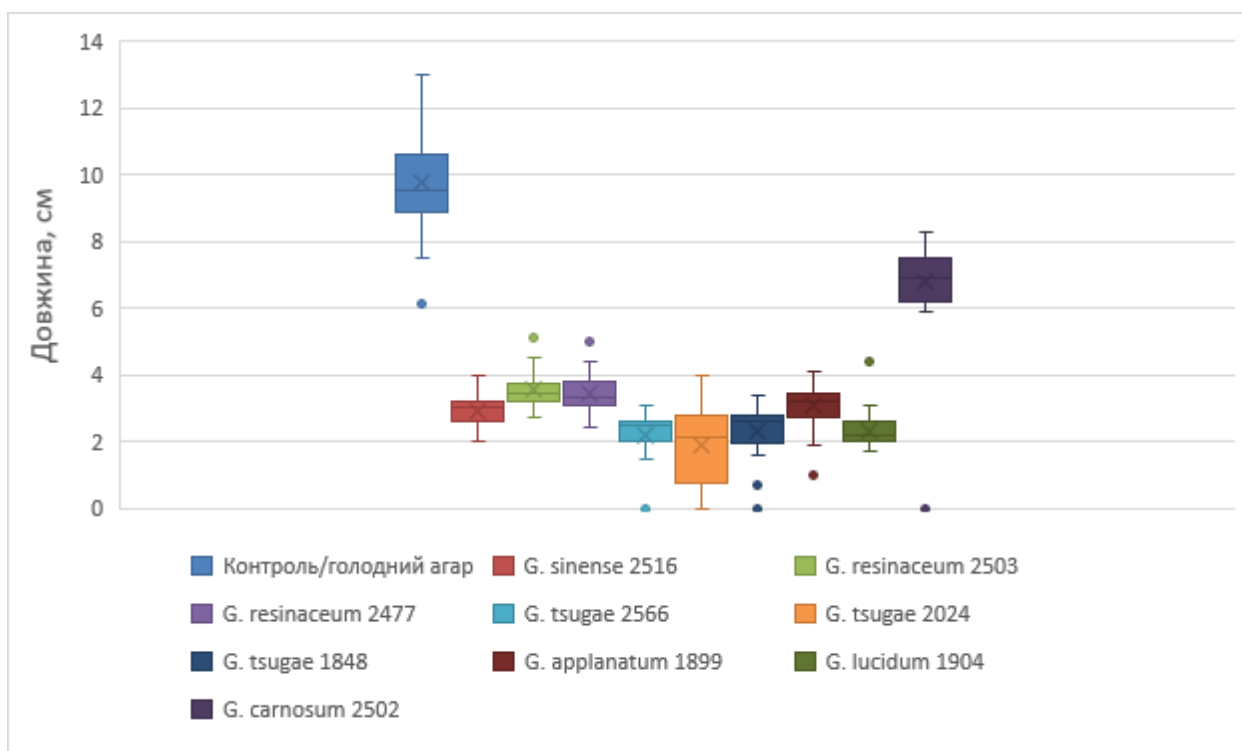


Рис. 5.4.1.3 Вплив біомаси міцелію (6,25 мг/мл) штамів видів роду *Ganoderma* на довжину *Lepidium sativum* (корінь+пагін) на 3-ю добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$



Рис. 5.4.1.4 Порівняння контрольної вибірки (проростання у голодному агарі) (а) із групами рослин *Lepidium sativum*, що проростали в агарі з додаванням біомаси *Ganoderma lucidum* 1904 (б) та біомаси *G. tsugae* 2024 (в) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$

У своїй роботі Osivand зі співавторами (2018) встановили вплив плодових тіл 289 видів грибів, зібраних у природних умовах, на проростання насіння *Lactuca sativa* var. Great Lakes 365. З усіх досліджених видів 54 проявляли суттєвий інгібуючий вплив (Osivand et al., 2018). Так, плодові тіла *Calocybe gambosa* (Fr.) Singer пригнічували ріст кореня на 2,8 %, *Heimiella japonica* Hongo – до 10,2 %. Найсильнішу пригнічуючу дію на ріст паростка чинили плодові тіла ряду видів: *Xeromphalina tenuipes* (Schwein.) A.H. Sm. – на 11,4 %; *Entoloma clypeatum* (L.) P. Kumm. – на 28,4 %. На загальний ріст рослини (довжина кореню та паростка) високий інгібуючий вплив проявляли кілька видів: *X. tenuipes* – 5,1 % на ріст кореня, 11,4 % на ріст паростка; *Leucoraxillus septentrionalis* Singer & A.H. Sm. – 14,8 % на ріст кореня та 21,4 % на ріст пагона відповідно. Проте автори у своєму дослідженні використовували меншу концентрацію біомаси – 10 мкг/10 мл агаризованого середовища, що менше ніж в нашому дослідженні, і може пояснювати слабший інгібуючий ефект, отриманий цими дослідниками (Osivand et al., 2018).

Нами вперше був встановлений вплив біомаси міцелію 9 штамів 6 видів роду *Ganoderma* на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*. Біомаса усіх штамів в концентрації 6,25 мг/мл проявляла суттєвий інгібуючий вплив на ріст, як коренів, так і паростків *L. sativum* і рослини в цілому.

Ріст кореня, паростка і загалом рослини найбільше інгібувався біомасою *Ganoderma tsugae* 2024 – на 82,4 %, 78,3 %, та 80,9 % відповідно порівняно з контролем.

Найслабшу інгібуючу активність на ріст кореня, паростка і загалом рослини проявляла біомаса *G. carnosum* 2502 – на 28,8 %, 34 %, та 30,7 % відповідно порівняно з контрольною групою.

Для подальших експериментів по впливу на *Lepidium sativum* використовували екстракти міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516, як біотехнологічно найперспективніших, виходячи з результатів попередніх досліджень.

5.4.2. Вплив водних екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *Ganoderma sinense* 2516 на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*

В даному експерименті ми використовували водні екстракти біомаси міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 в концентраціях 20, 50 та 100 мкл. Як контроль була використана стерильна вода на чашках Петрі з фільтрувальним папером.

Отримані нами результати свідчать, що тільки додавання 100 мкл водного екстракту міцелію *Ganoderma sinense* 2516 не дало прорости 2 з 30 насінин *Lepidium sativum*, тобто 6,7 % від загальної кількості. Інші концентрації водного екстракту міцелію *G. sinense* 2516 та різні концентрації водного екстракту міцелію *G. tsugae* 2024 не мали статистично достовірного впливу на проростання насінин (рис. 5.4.2.1).

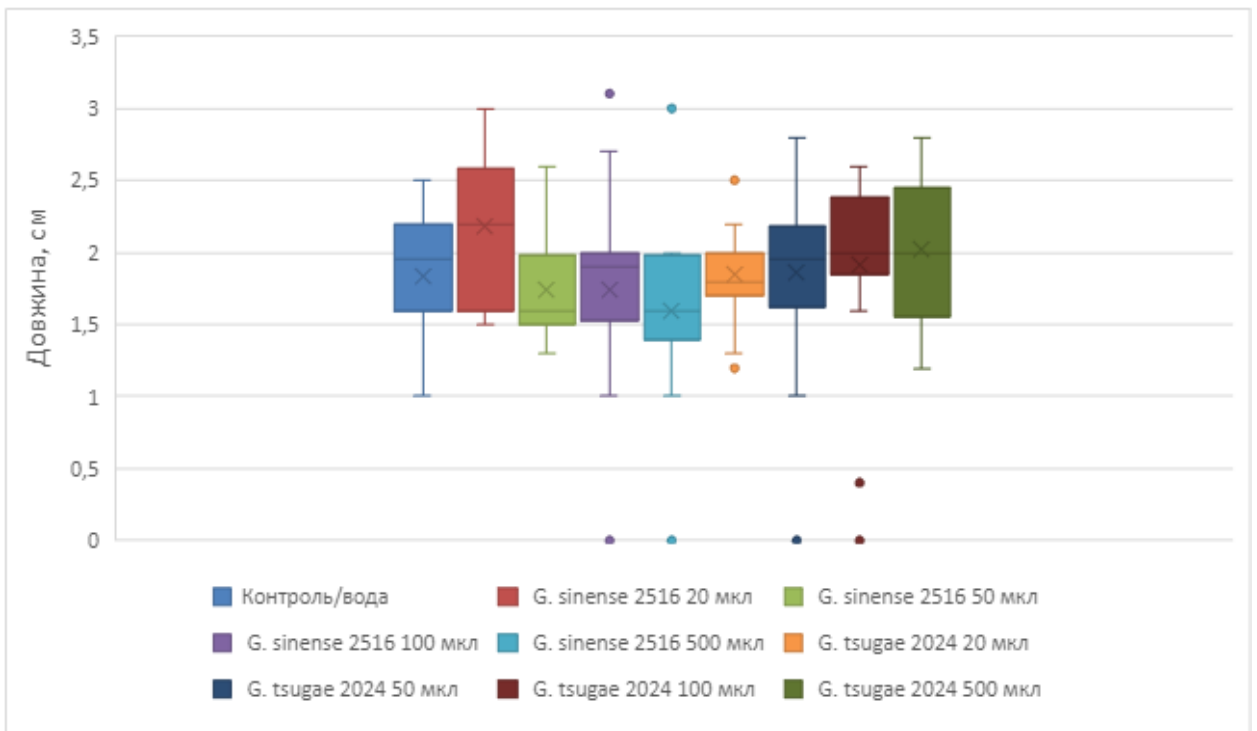


Рис. 5.4.2.1 Вплив різних концентрацій водних екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 на довжину коренів *Lepidium sativum* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$

Дані, зображені на рис. 5.4.2.1, вказують, що корені *Lepidium sativum*, пророщені у воді без додавання екстрактів міцелію, мають несуттєву перевагу у своєму розвитку. Більшість водних екстрактів впливають на корінь *L. sativum* дуже слабо, окрім екстракту з біомаси *G. sinense* 2516 у концентрації 500 мкл, при цьому середнє значення довжини кореня зменшується на 36 % порівняно з середнім значенням контрольної вибірки і є статистично достовірним ($p=0,001$).

Судячи з розподілу даних, зображених на рис. 5.4.2.2, додавання водних екстрактів міцелію обраних нами штамів може позитивно впливати на ріст пагонів *Lepidium sativum*. Діаграма, зображена на рис. 5.4.2.2, демонструє, що внесення 20 мкл водного екстракту біомаси міцелію *G. sinense* 2516 стимулює ріст пагону, збільшуючи середнє значення його довжини на 19,3 % в порівнянні з контрольною групою, що є статистично достовірним ($p=0,001$).

Інші концентрації даного екстракту достовірно не впливали на довжину пагонів.

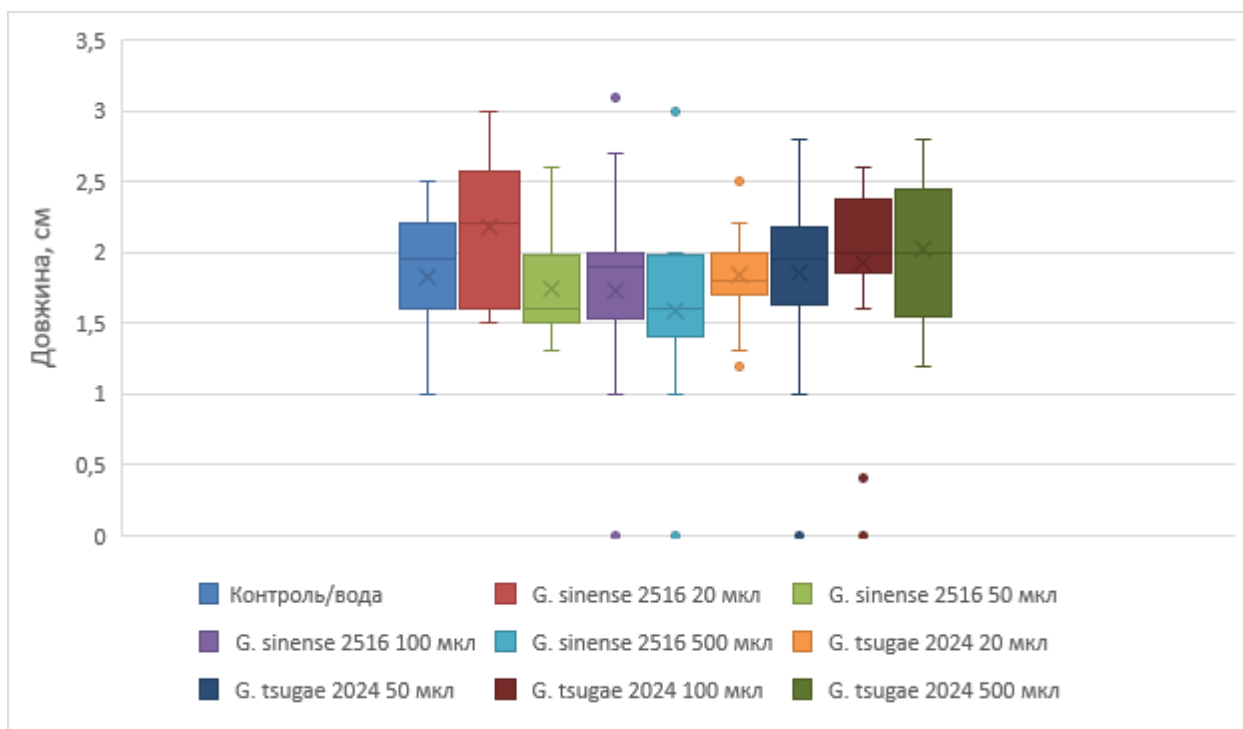


Рис. 5.4.2.2 Вплив різних концентрацій водних екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 на довжину пагонів *Lepidium sativum* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$

Розподіл груп даних на діаграмі, що зображена на рис. 5.4.2.3, демонструє, що більшість водних екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 не мають значного впливу на ріст *L. sativum*. Додавання 500 мкл водного екстракту міцелію *G. sinense* 2516 зменшував довжину рослини на 23,9 % по відношенню до контролю, що було статистично достовірним ($p=0,001$).

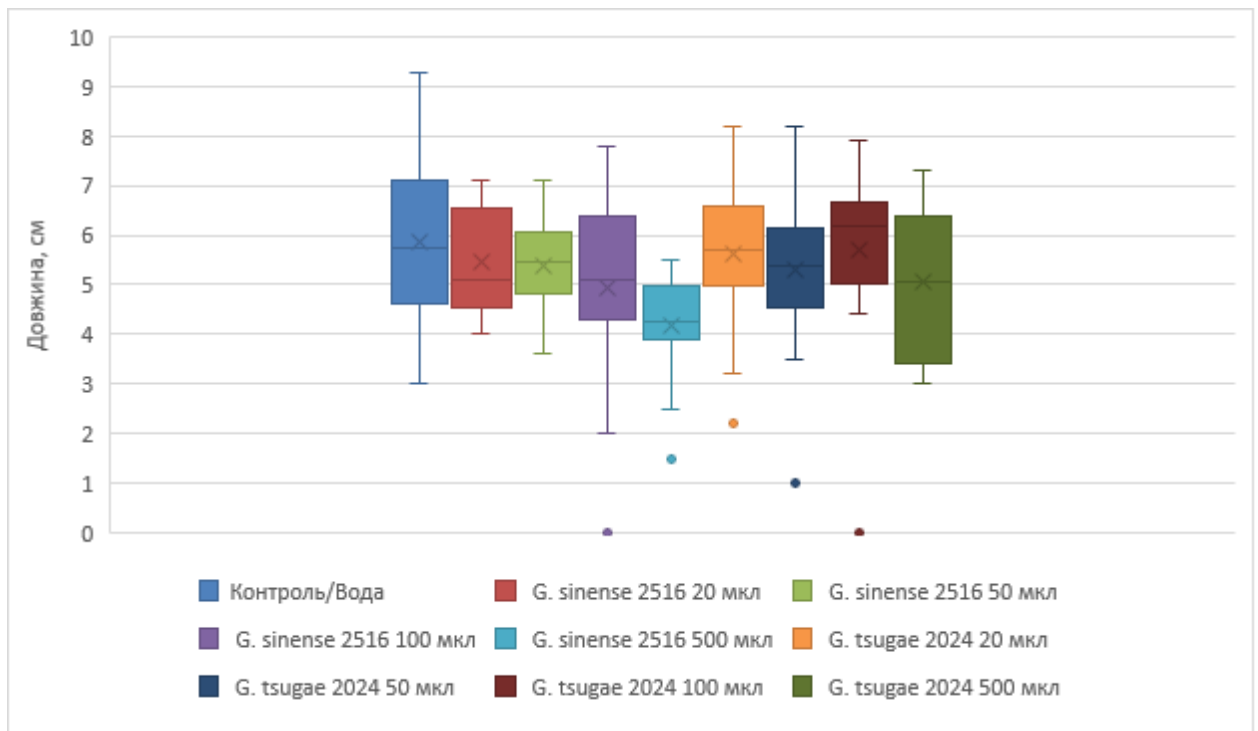


Рис. 5.4.2.3 Вплив різних концентрацій водних екстрактів біомаси міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 на довжину *Lepidium sativum* (корінь+пагін) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Результати впливу водних екстрактів біомаси міцелію досліджених нами штамів *Ganoderma tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 показують, що їх вплив на проростання насіння, ріст як окремих органів так і рослини в цілому в переважній більшості випадків є незначним. Це може бути пов'язано із тим, що спосіб, який ми використовували для екстракції, не дозволив перевести у водну фракцію ті речовини в потрібній кількості, які змогли перейти у розчинники, що були використані у подальшому експерименті.

5.4.3. Вплив метанольного та етилацетатного екстрактів біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*

В даному експерименті ми використовували метанольний та етилацетатний екстракти біомаси *Ganoderma tsugae* 2024 як виду, біомаса якого чинила найсильніший інгібуючий вплив на *Lepidium sativum*. Були використані концентрації 20, 50, 100 мкл, нанесені на фільтрувальний папір із

подальшим випаровуванням розчинників і додаванням стерильної води. Як контроль використовували фільтрувальний папір із додаванням чистих розчинників в аналогічних концентраціях, із подальшим випаровуванням розчинників і додаванням стерильної води.

Діаграма, зображена на рис. 5.4.3.1, показує значний інгібуючий вплив етилацетатних екстрактів на ріст коренів *Lepidium sativum*, особливо із підвищенням концентрації, в той час як метанольні екстракти впливали менш негативно. При додаванні 20 мкл етилацетатного екстракту середнє значення вибірки довжини коренів було на 61 % нижче, ніж аналогічне в контрольній вибірці. Внесення 50 мкл етилацетатного екстракту знижує довжину кореню порівняно з контролем на 88,9 %, і при цьому більша частина насінин (15 з 20, тобто 75 % від загальної кількості) не проросли взагалі. Було встановлено, що внесення 100 мкл етилацетатного екстракту міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 на 100 % пригнічує проростання насіння. Таким чином, можна спостерігати значний інгібуючий вплив етилацетатного екстракту біомаси обраного виду на коріння *L. sativum*. Метанольний екстракт біомаси *G. tsugae* 2024 чинить меншу інгібуючу дію на ріст коренів салату, яка при цьому не залежить від концентрації внесеного екстракту. Зменшення довжини кореня при додаванні 3-х концентрацій метанольного екстракту (20, 50 та 100 мкл) лежить в межах 28,8-32,6 % (Рис.5.4.3.1).

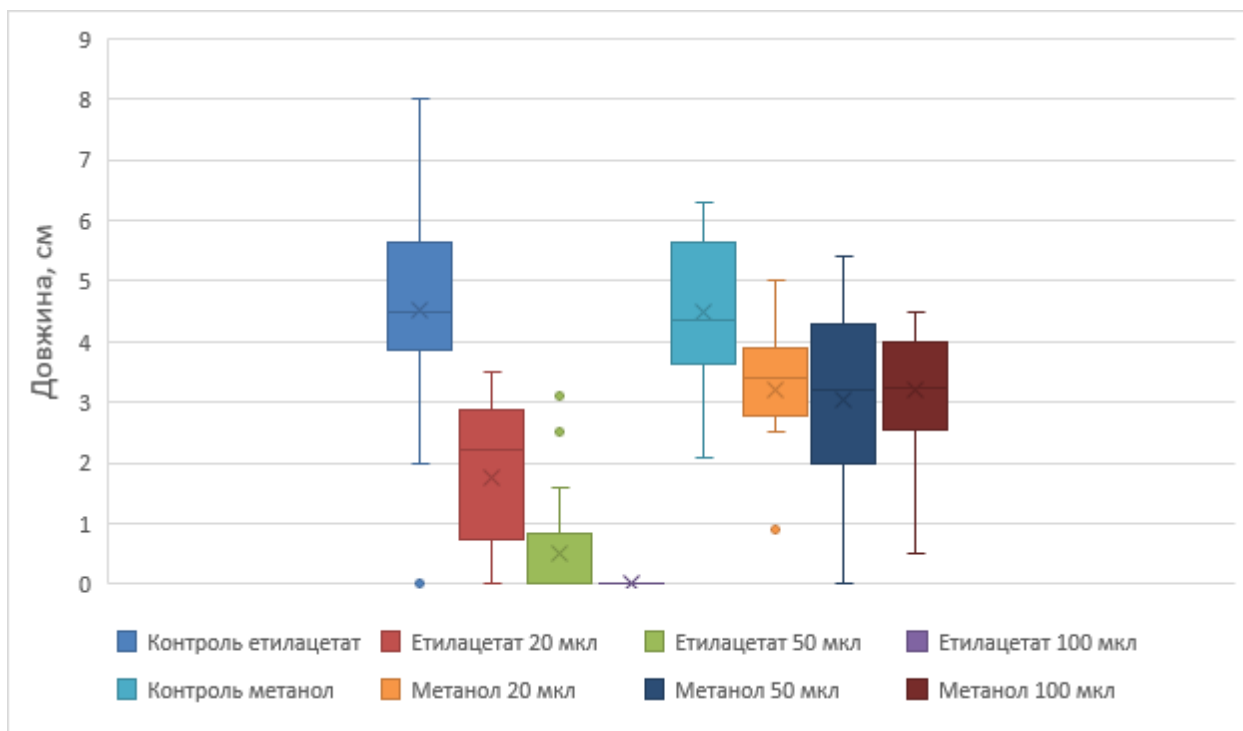


Рис. 5.4.3.1 Порівняння впливу різних концентрацій метанольного та етилацетатного екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 на довжину коренів *Lepidium sativum* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$

Подібна ситуація спостерігається і під час дослідження впливу екстрактів на ріст пагону *L. sativum*. Аналіз діаграми на рис. 5.4.3.2 свідчить про те, що додавання 20 мкл етилацетатного екстракту міцелію призводить до непроростання значної частини насіння (7 з 20, тобто 35 % від загальної кількості). Середнє значення довжини пагону при цьому на 67,4 % нижче, ніж аналогічне в контрольній групі. Додавання 50 мкл етилацетатного екстракту пригнічує розвиток рослини ще суттєвіше – кількість не пророслих насінин збільшилась більше ніж вдвічі (15 з 20, тобто до 75 % від загальної кількості), а середнє значення довжини пагонів було на 87,2 % нижче за таке в контролі. Внесення 100 мкл етилацетатного екстракту *G. tsugae* 2024 повністю пригнічує ріст пагону *L. sativum* (Рис.5.4.3.2).

На відміну від впливу на ріст кореню, додавання 100 мкл метанольного екстракту не спричиняло такої дії на ріст пагона порівняно з контрольною групою. Середні значення вказаних груп були практично однаковими.

Внесення 20 та 50 мкл метанольного екстракту *G. tsugae* 2024 пригнічують ріст пагона на 17,7 та 27 % відповідно порівняно з контрольною групою. Як і у випадку з коренями, спостерігається значно сильніша інгібуюча дія етилацетатних екстрактів на проростання пагону у порівнянні з метанольними.

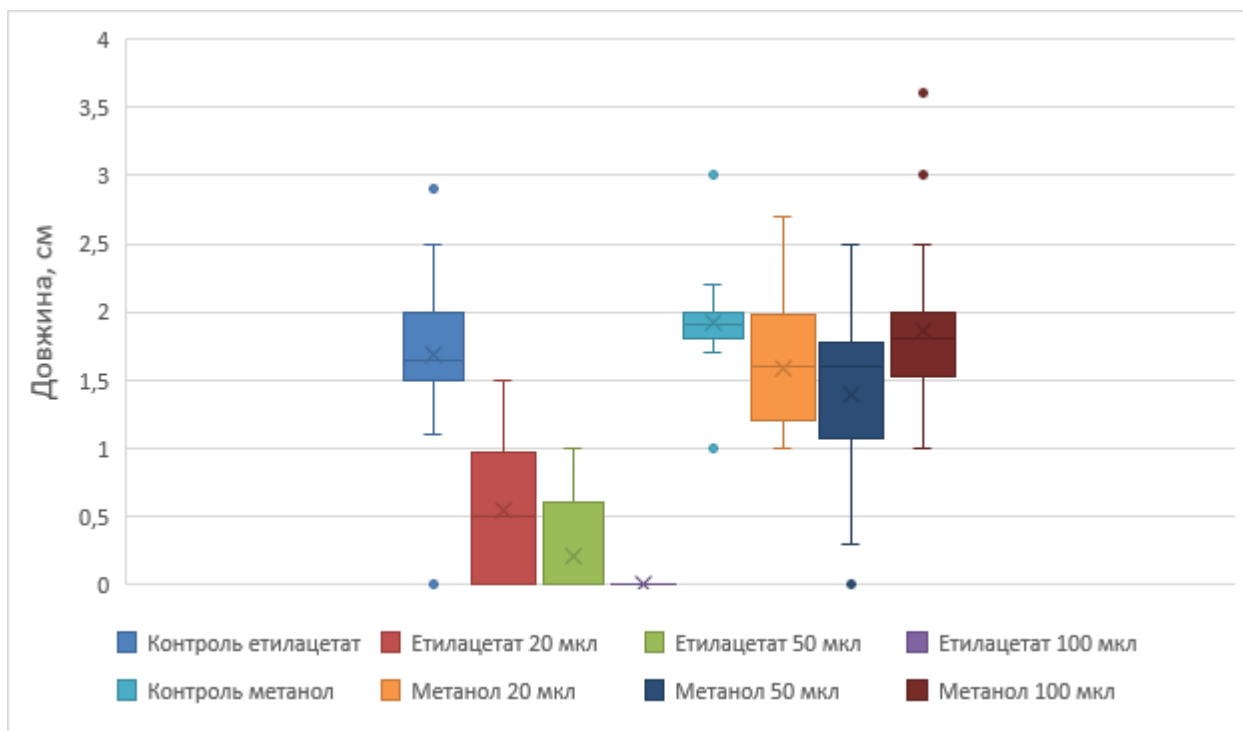


Рис. 5.4.3.2 Порівняння впливу різних концентрацій метанольного та етилацетатного екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 на довжину пагонів *Lepidium sativum* на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Підсумовуючи результати впливу етилацетатного та метанольного екстрактів *Ganoderma tsugae* 2024 на ріст рослин *Lepidium sativum* можна стверджувати, що етилацетатний екстракт із збільшенням концентрації суттєво пригнічує ріст, а додавання 100 мкл даного екстракту не дає проростати 100 % насінин (Рис.5.4.3.4).

Метанольний екстракт у різних концентраціях також проявляє інгібуючу дію, проте не настільки виражену, як при використанні етилацетатного (Рис.5.4.3.3).

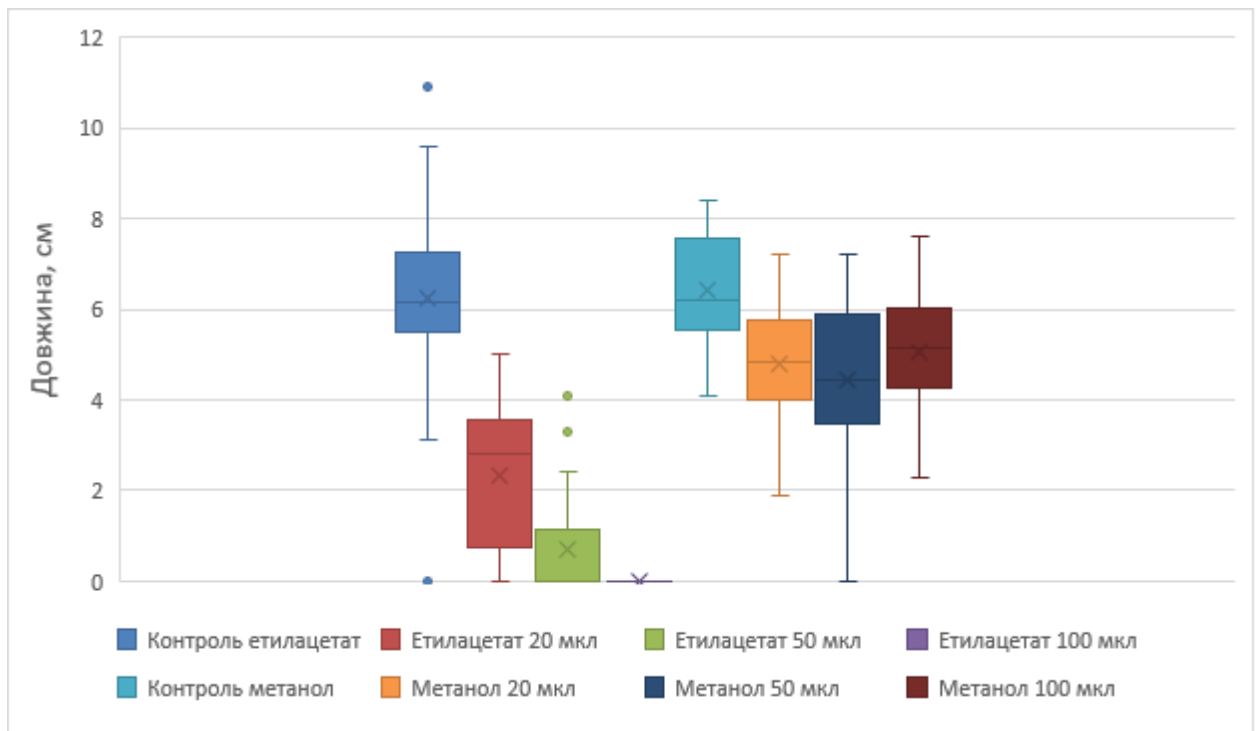


Рис. 5.4.3.3 Порівняння впливу різних концентрацій метанольного та етилацетатного екстрактів міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 на довжину *Lepidium sativum* (корінь+пагінь) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

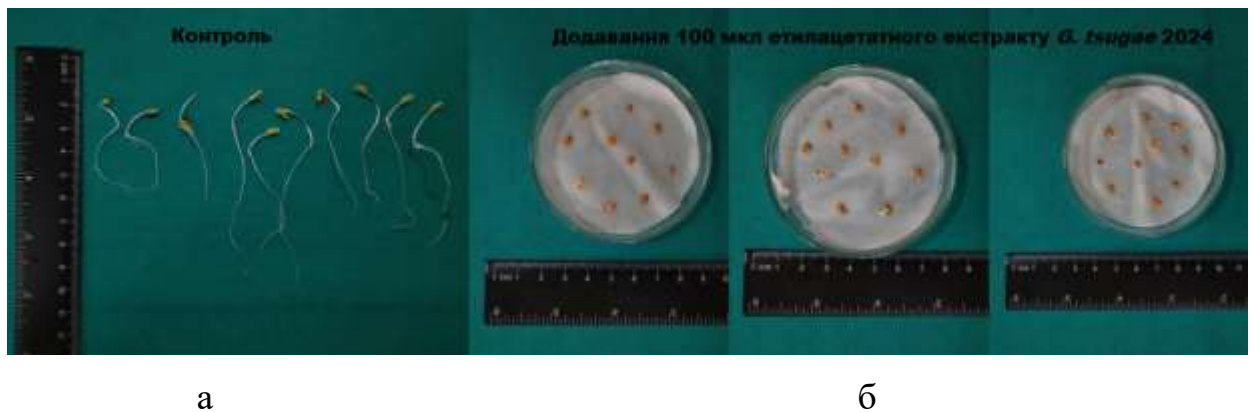


Рис. 5.4.3.4 Порівняння контрольної групи пророслого насіння *Lepidium sativum* (а) з експериментальними групами насіння при додаванні 100 мкл етилацетатного екстракту міцелію *Ganoderma tsugae* 2024 (б) на 3-у добу проростання за температури $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Підсумовуючи отримані результати проведеного експерименту можна зробити ряд висновків.

Біомаса та екстракти міцелію досліджених нами штамів проявляють як інгібуючу, так і стимулюючу дію на ріст рослини в цілому та окремо на різні її частини.

Біомаса міцелію 8 штамів 7 видів роду *Ganoderma* проявляє сильну та виключно інгібуючу дію на ріст як коренів, так і пагонів *L. sativum* (а отже і на всю рослину). Біомаса міцелію *G. carnosum* 2502 проявляє слабший інгібуючий вплив в порівнянні з біомасою інших досліджених видів та штамів.

Етилацетатний екстракт *G. tsugae* 2024 проявляє значну інгібуючу дію на ріст як *L. sativum* як в цілому, так і окремих його частин, що зростає із збільшенням концентрації, а при 100 мкл повністю пригнічує проростання насіння, що свідчить про те, що речовини, які пригнічують ріст рослин екстрагуються етилацетатом, але майже не екстрагуються водою.

Метанольний екстракт міцелію *G. tsugae* 2024 проявляє слабкий інгібуючий вплив на ріст *L. sativum* незалежно від концентрації.

Водні екстракти суттєво не діють на ріст рослини загалом, проте додавання 500 мкл екстракту біомаси міцелію *G. sinense* 2516 інгібує ріст кореня та рослини в цілому. А слабка концентрація (20 мкл) водного екстракту міцелію *G. sinense* 2516 впливає як стимулятор росту пагона *L. sativum* (Voromenskyi et al, 2021b).

При порівнянні впливу біомаси міцелію досліджених штамів видів роду *Ganoderma* на проростання насіння та ріст *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*, їх ріст у більшості випадків спостерігається інгібуюча дія різної інтенсивності на обидві рослини. Проте *C. sativus* при цьому демонструє більшу стійкість до негативної дії міцелію усіх штамів, а біомаса міцелію *G. sinense* 2516, *G. tsugae* 2024 та *G. carnosum* 2502 взагалі стимулює ріст пагонів *C. sativus*. За цим фактором ми відмітили відмінність *G. tsugae*: штами *G. tsugae* 1848 та 2566 інгібували ріст пагонів *C. sativus* порівняно з контролем, а *G. tsugae* 2024, як було вказано вище – навпаки.

Проведений експеримент демонструє перспективи для широкого застосування біомаси міцелію штамів видів роду *Ganoderma* або екстрактів з

нього. Тому можна допустити, що подальші дослідження у цьому напрямі можуть привести до відкриття нових гербіцидів природного походження для боротьби з інвазивними видами вищих рослин, або бур'янами, що шкодять сільськогосподарським культурам, наприклад, на основі етилацетатних екстрактів *G. tsugae* 2024, який може повністю пригнічувати проростання насіння *L. sativum*. Також можлива розробка стимуляторів росту на основі біомаси *G. sinense* 2516, які зможуть покращити урожайність культурних та економічно важливих рослин.

ВИСНОВКИ

- 1) Комплексне дослідження біологічних властивостей вегетативного міцелію 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України дозволило отримати нові для науки відомості щодо культурально-морфологічних та біосинтетичних властивостей цих видів у культурі.
- 2) Вперше за допомогою скануючої електронної мікроскопії для вегетативного міцелію *G. carnosum* описані подвійні пряжки, пряжки з анастомозами та коралоподібні гіфи. Для вегетативного міцелію *G. sinense* вперше описані коралоподібні гіфи.
- 3) Визначено швидкість радіального росту для 10 штамів 7 видів роду *Ganoderma* на ГПДА середовищі при $26 \pm 0,1$ °C. Було виявлено, що 4 штами відносяться до швидкоростучих (>8мм/добу): *G. lucidum* 1904, *G. resinaceum* 2477, *G. resinaceum* 2503, *G. applanatum* 1899; 2 штами проявляли середню швидкість росту (4-8мм/добу): *G. tsugae* 2024 та *G. tsugae* 2566 та 4 штами росли повільно (<4 мм/добу): *G. tsugae* 1848, *G. oregonense* 2560, *G. carnosum* 2502, *G. sinense* 2516.
- 4) Дослідження культурально-морфологічних особливостей дозволило виявити, що 6 з 10 (*G. sinense* 2516, *G. applanatum* 1899, *G. carnosum* 2502, *G. tsugae* 1848, *G. tsugae* 2024, *G. tsugae* 2566) штамів змінювали забарвлення міцелію з білого кольору на різні відтінки вохряного при довготривалому культивуванні. На тридцятидобових колоніях *G. resinaceum* 2503, *G. tsugae* 2024, *G. sinense* 2516 та *G. lucidum* 1904 відмічено утворення примордіїв. Для штамів *G. tsugae* 1848, 2024, 2566 *G. sinense* 2516, *G. resinaceum* 2477, 2503, *G. carnosum* 2502, *G. oregonense* 2560 культурально-морфологічні особливості досліджені вперше.

- 5) Встановлено, що найстійкішими до впливу підвищених температур виявились штами *G. resinaceum* 2477, 2503 та *G. lucidum* 1904, які зберігали життєздатність міцелію за температури $42 \pm 0,1$ °С.
- 6) Вперше наведено дані щодо накопичення біомаси та ендopolісахаридів штамами видів *G. carnosum* та *G. oregonense*. Біомаса *G. carnosum* у поверхневій культурі на 14 добу складала $2,7 \pm 0,2$ г/л і у глибинній культурі – $10,5 \pm 0,2$ г/л, вміст ендopolісахаридів був $6,8 \pm 0,2$ та $6,6 \pm 0,3$ % відповідно. Біомаса *G. oregonense* у поверхневій культурі на 14 добу складала $9,3 \pm 0,3$ г/л, у глибинній культурі – $9,5 \pm 0,5$ г/л, вміст ендopolісахаридів був $8,2 \pm 0,4$ % та $7,7 \pm 0,3$ % відповідно.
- 7) Запропоновано модифікований спосіб екстракції ганодерових кислот (ГК) з міцелію грибів роду *Ganoderma*, що дозволив скоротити час першого етапу екстракції у 7 разів в порівнянні з класичним методом, без впливу на вміст ГК у біомасі.
- 8) Вперше досліджена динаміка синтезу ганодерових кислот та їх вихід штамами *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024. Найвищий вміст ганодерових кислот встановлено у міцелії штаму *G. sinense* 2516, вирощеного в глибинній культурі на 14 добу культивування ($25,2 \pm 1,5$ мг/г). Найбільше значення виходу ГК було характерно для *G. sinense* 2516 на 14 добу і для *G. tsugae* 2024 на 16-у добу культивування – $\pm 0,35$ г/л.
- 9) Досліджено вміст фенольних сполук та їх вихід міцелієм штамів *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516. Найвищий їх вміст був у міцелії *G. sinense* 2516 і складав $51,2 \pm 1$ мг/г. Найвищий вихід для обох штамів для *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516 склав $1,2 \pm 0,02$ мг/л.
- 10) Вперше отримані дані щодо антифунгальної активності екстрактів біомаси міцелію *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024. Було доведено, що етилацетатні екстракти *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 суттєво пригнічують розвиток *Aspergillus niger* – зона інгібування складала 50

± 3 мм та 34 ± 2 мм відповідно, метанольні екстракти цих видів суттєво пригнічують ріст *Penicillium polonicum*. Зони інгібування для екстрактів *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 були $45 \pm 2,4$ мм та $37 \pm 2,1$ мм відповідно.

- 11) Вперше встановлено вплив біомаси міцелію 6 видів, 9 штамів грибів роду *Ganoderma* в концентрації 6,25 мг/мл на проростання насіння та ріст *Lepidium sativum*. Біомаса усіх видів та штамів суттєво пригнічувала ріст як коренів так і паростків *L. sativum*. Найсильнішу інгібуючу дію проявляла біомаса міцелію *G. tsugae* 2024 – загальна довжина рослини була меншою на 80,9 % порівняно з контролем. Найслабшу інгібуючу активність проявляла біомаса *G. carnosum* 2502 – загальна довжина рослини зменшилась на 30,7 % порівняно з контрольною групою. Було визначено, що етилацетатний екстракт з біомаси міцелію *G. tsugae* 2024 суттєво пригнічує ріст *L. sativum*, а додавання 100 мкл даного екстракту на 100 % не дає проростати насінням.
- 12) Вперше встановлено вплив біомаси міцелію 6 видів, 9 штамів грибів роду *Ganoderma* в концентрації 6,25 мг/мл на проростання насіння та ріст *Cucumis sativus*. Біомаса міцелію *G. resinaceum* 2477 та *G. lucidum* 1904 проявляє найсильніший інгібуючий вплив на ріст *C. sativus*. Середня довжина рослини при додаванні міцелію вказаних штамів була на 61 % менша за довжину у контрольній групі в обох випадках. Було доведено, що біомаса *G. sinense* 2516 може впливати, як слабкий стимулятор росту *C. sativus* – середня довжина рослини при додаванні міцелію *G. sinense* 2516 була на 5 % статистично достовірно більшою ніж в контрольній групі.
- 13) Досліджена антиоксидантна активність метанольних, етилацетатних та водних екстрактів різних концентрацій з біомаси міцелію *G. tsugae* 2024 та *G. sinense* 2516. Доведено, що використання етилацетату та метанолу для отримання екстрактів підвищує їх

антиоксидантну активність: при їх використанні вона складає 93,1 і 90,6 % для *G. sinense* 2516 та 97,7 і 92,2 % для *G. tsugae* 2024. Водні екстракти *G. sinense* 2516 та *G. tsugae* 2024 давали показники у 30,3 і 23,9 % відповідно.

- 14) Визначено, що штам *G. tsugae* 2024 є біотехнологічно найперспективнішим за показниками накопичення біомаси ($20,3 \pm 0,5$ г/л), виходом ендopolісахаридів ($1,58 \pm 0,08$ г/л), ганодерових кислот ($0,35 \pm 0,02$ г/л), фенольних сполук ($1,2$ мг/л $\pm 0,02$), і високою антиоксидантною, антифунгальною та інгібуючою проти вищих рослин активністю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Автономова, А. В. (2006). *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., трутовик лакированный: штаммовое разнообразие, антибиотические свойства и противоопухолевое действие. (Дис. канд. биол. наук). МГУ им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва.
2. Аль-Маалі, Г.А. (2016). *Вплив цитратів металів, отриманих методом аквананотехнології на біологію Ganoderma lucidum (Curtis) P.Karst. і Trametes versicolor (L.) Lloyd. у культурі.* (Дис. канд. біол. наук). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
3. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А., Смирнов Д.А., Бисько Н.А., & Поединок Н.Л. (2007). Влияние условий глубинного культивирования лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* на образование полисахаридов. *Биотехнология*. 6: 34-41
4. Бадалян, С. М., Гарибян, Н. Г., & Асатрян, А. Н. (2012). *Антифунгальная активность некоторых видов рода Ganoderma к опортунально патогенным для человека и животных кератинофильным грибам.* Сессия: Микробиология - ключ к биотехнологическим разработкам.
5. Белова, Н.В. (2016). Ланостановые тритерпеноиды и стероиды высших грибов. *Advances in Biology & Earth Sciences*. (1), 111-114.
6. Бисько, Н.А., Бабицкая, В.Г., Бухало, А.С., Круподерова, Т.А., Ломберг, М.Л., Михайлова, О.Б., Пучкова, Т.А., Соломко, Э.Ф., Щерба, В.В. (2012). *Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре.* С.П. Вассер (Ред.) (Т. 2. 459 с.) Киев: Альтерпрес.
7. Бороменський, Д. О., & Бісько, Н. А. (2020). Вплив умов культивування на накопичення біомаси та ендополісахаридів грибами роду *Ganoderma* (Ganodermataceae). *Український ботанічний журнал*. 77(2), 117-124. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj77.02.117>.
8. Бороменський, Д.О., & Бісько, Н.А. (2019) Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma* (Ganodermataceae) в культурі. *Український ботанічний журнал*. 76(6), 486-492.

9. Бухало, А. С. (1988). Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Київ: Наукова думка.
10. Вассер, С. П. (2015). Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, доказательства и вызовы. *Биосфера*. 7(2), 238-248.
11. Дуденко, Ю. Ю. (2012). Біологічно активні сполуки лікарського гриба *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr) P. Karst. *Мікробіологія і біотехнологія*. 6-19.
12. Змитрович, И. В. (2012). *Феноменология мицелия*. Материаллы VI Всероссийской микологической школы-конференции с международным участием «Мицелиальный образ жизни и эколого-трофические группы грибов». Москва.
13. Іваненко, О. М. (2020). *Афілофоройдні гриби Київського плато*. (Дис. канд. біол. наук). Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
14. Королева, О. В. (2006) *Лакказы базидиомицетов: свойства, структура, механизм действия и практическое применение*. (Дис. доктора биологических наук). Институт биохимии им. А. Н. Баха, РАН, Москва.
15. Круподьорова, Т. А. 2009. *Біологічні особливості Ganoderma applanatum (Pers.: Wallr.) Pat. та G. lucidum (Curtis: Fr.) P. Karst. в культурі*. (Дис. канд. біол. наук) Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ.
16. Теплякова, Т. В., Канаева, О. И., Косонова, Т. А., Костина, Н. Е., Бардашева, А. В., & Трошкова, Г. П. (2011). Отбор продуцентов противоопухолевых соединений среди базидиальных грибов. *Наука и современность*. (12-1), 217-223.
17. Шлеев, С. В., & Зайцева, Е. А. (2003). Спектральное и электрохимическое изучение лакказ базидиальных грибов. *Вестник Московского университета*. 44(1), 35-39.

18. Abdulghani, A., Jitendra, G., Vaidya S., Subhash S., & Deokule. (2011). In vitro evaluation of anti-staphylococcal activity of *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma praelongum* and *Ganoderma resinaceum* from Pune, India. *African Journal of Microbiology Research*. 5(3), 328-333. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.070>
19. Abdul-Hadi, S. Y., Owaid, M. N., Rabeea, M. A., Aziz, A. A., & Jameel, M. S. (2020). Rapid mycosynthesis and characterization of phenols-capped crystal gold nanoparticles from *Ganoderma applanatum*, Ganodermataceae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101683>
20. Abdullah, S., Jang, S. E., & Kwak, M. K. (2020). *Ganoderma boninense* mycelia for phytochemicals and secondary metabolites with antibacterial activity. *Journal of Microbiology*. 58, 1054-1064. <https://doi.org/10.1007/s12275-020-0208-z>
21. Abdullah, S., Oh, Y. S., & Kwak, M. K. (2021). Biophysical characterization of antibacterial compounds derived from pathogenic fungi *Ganoderma boninense*. *Journal of Microbiology*. 59, 164-174. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-0551-8>
22. Adaskaveg J. E. & Gilbertson R. L. (1986). Cultural Studies and Genetics of Sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae* in Relation to the Taxonomy of the *G. lucidum* Complex. *Mycologia*. 78(5), 694-705.
23. Adaskaveg J. E. & Gilbertson R. L. (1989). Cultural studies of four North American species in the *Ganoderma lucidum* complex with comparisons to *G. lucidum* and *G. tsugae*. *Mycological Research*. 92 (2), 182-191.
24. Akulov, O. Yu., Usichenko, A. S., Leontyev, D. V., Yurchenko, E. O., & Prydiuk, M. P. (2002). Annotated checklist of aphylophoroid fungi of Ukraine. *Mycena*. 2(2), 1-72.
25. Alanis, A. J. (2005). Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era? *Archives of Medical Research*. 36(6), 697-705. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.06.009>

26. Alvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L. A., Martínez, N. R., & González, G. A. A. (2007). Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from chihuahua, mexico fenoles totalesy capacidad antioxidante de hongos comercialesy silvestres de chihuahua, méxico. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, 5(5), 329–334. <https://doi.org/10.1080/11358120709487708>
27. Aruoma, I. O. (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 75, 199–212.
28. Aziz, S. D. A., Jafarah, N. F., Sabri, S., Wahab, M. A. A., & Yusof, Z. N. B. (2019). Antifungal activity of dichloromethane and hexane extracts of four Malaysian seaweed species against *Ganoderma boninense*. *Malaysian Applied Biology*. 48 (3), 189-196.
29. Badalyan, S. & Gharibyan, N. (2017). *Characteristics of mycelial structures of different fungal collections*. YSU Press.
30. Badalyan, S. M., Gharibyan, N. G., Iotti, M., & Zambonelli, A. (2019). Morphological and ecological screening of different collections of medicinal white-rot bracket fungus *Ganoderma adpersum* (Schulzer) Donk (Agaricomycetes, Polyporales) *Italian Journal of Mycology*. 48, 1-15.
31. Badalyan, S., Gharibyan, N., Iotti, M., & Zambonelli, A. (2012, August). Morphological and genetic characteristics of different collections of *Ganoderma* P. Karst. species. In *The 18th Congress of the International Society for Mushroom Science* (pp. 247-254). Agriculture Press.
32. Balaes, T., & Tanase, C., 2012, Description of in vitro cultures for some spontaneous lignicolous basidiomycetes species. *Biologie vegetala*. 58(2), 19-29.
33. Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., & Li, X. Y. (2002). Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 59(2), 175–181. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(01)00450-2)

34. Bezmenova, A., Penin, A., Zvyagina, E., Kasianov, A., Neretina, T., Bazykin, G., & Kondrashov, A. (2017). Accumulation of mutations in experimental evolution of basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*. In *Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB 2017)* (pp. 61-61).
35. Bilal, A. W., (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(24), 2598–2604. <https://doi.org/10.5897/jmpr09.565>
36. Bisko, N.A., Lomberg, M.L., Mychaylova, O.B., & Mytropolska, N.Yu. (2020). The IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.1. <http://doi.org/10.15468/dzdsqu>
37. Boh, B., Berovic, M., Zhang, J., & Zhi-Bin, L. (2007). *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Review*. 13, 265–267. [https://doi.org/10.1016/s1387-2656\(07\)13010-6](https://doi.org/10.1016/s1387-2656(07)13010-6)
38. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021b). The influence of biomass and its extracts of ganoderma species on the seeds germination and the growth of *Lepidium sativum* L. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*. 3(1), 1-5. <https://doi.org/10.5505/ijabes.2021.87487>.
39. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021c). The influence of biomass of *Ganoderma* species on seed germination and seedlings growth of *Cucumis sativus* L. *Plant & Fungal Research*. 4(1), 25-29.
40. Boromenskyi, D. O., Bisko, N. A., Al-Maali, G. A., & Polishchuk, O. V. (2021a). The contents of ganoderic acids in mycelium of different species and strains of the genus *Ganoderma* (Ganodermataceae) obtained by different methods of cultivation. *Вісник київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 1(84), 14-18 https://doi.org/10.17721/1728_2748.2021.84.14-18
41. Brown, R. T. (1967). Influence of naturally occurring compounds on germination and growth of jack pine. *Ecology*, 48: 542–546.

42. Bryant, J. M., Bouchard, M., & Haque, A., (2017) Anticancer activity of ganoderic acid DM: current status and future perspective. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*. 8(6):535. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000535>
43. Buchalo, A. S., & Didukh M. Ya., 2005, Micromorphological characteristics of culinary-medicinal mushroom and fungi cultures. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 7(1), 249-261.
44. Buchalo, A. S., Mykchaylova, O.B., Lomberg, M.L., Wasser, S.P. (2009). *Microstructures of vegetative mycelia of macromycetes in pure cultures*. K.: Alterpress.
45. Cao, Y., & Yuan, H. S. (2013). *Ganoderma mutabile* sp. nov. from southwestern China based on morphological and molecular data. *Mycological Progress*. 12(1), 121-126.
46. Cao, Y., Wu, SH., & Dai, Y. C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”. (2012). *Fungal Diversity*. 56, 49–62 <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0178-5>
47. Chang, M.Y, Tsai G.J, & Houng, J.Y. (2006). Optimization of the medium composition for the submerged culture of *Ganoderma lucidum* by Taguchi array design and steepest ascent method. *Enzyme Microb Technol*. 38, 407–414.
48. Chang, S. T., & Miles, P. G. (1989). *Edible mushrooms and their cultivation*, CRC Press.
49. Chang, Z., Billmyre, R. B., Lee, S. C., & Heitman, J. (2019). Broad antifungal resistance mediated by RNAi-dependent epimutation in the basal human fungal pathogen *Mucor circinelloides*. *PLOS Genetics*, 15(2), <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007957>
50. Chao, L., Qionghui, P., Hongqing, W., & Ruoyun, C. (1994). Chemical constituents from fruiting bodies of *Ganoderma tsugae* (II). *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 0(11).

51. Chen, A. W. (2002). Cultivation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst (Reishi) in North America (3) (online). *MushWorld – Cultivation*, http://www.mushworld.com/sub_en.html
52. Chen, A. W. (2003). A fresh look at an ancient mushroom *G. lucidum* (Reishi). *MushWorld–Cultivation* (online). <http://www.mushworld.com>
53. Chen, B., Tian, J., Zhang, J., Wang, K., Liu, L., Yang, B., Bao, L., & Liu, H. (2017). Triterpenes and meroterpenes from *Ganoderma lucidum* with inhibitory activity against HMGs reductase, aldose reductase and I-glucosidase. *Fitoterapia*. 120, 6-16.
54. Chen, D. H, Shiou, W. Y., Wang, K. C., Hwang, S. Y., Shie, Y. T., Tsai, C. M., Shie J. F., & Chen K. D., (1999). Chemotaxonomy of triterpenoid pattern of HPLC of *G. lucidum* and *G. tsugae*. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*. 46, 47–51.
55. Chen, H. Z., & Chen, J. (2004). A preliminary report on solid-state fermentation of *G. lucidum* with Radix astragali containing medium. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2, 216–218.
56. Chen, J., & Seviour, R. (2007). Medicinal importance of fungal β -(1→3),(1→6)-glucans. *Mycological research*. 111(6), 635-652.
57. Chen, Y., Xie, M.-Y., Nie, S.-P., Li, C., & Wang, Y.-X. (2008). Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*. *Food Chemistry*. 107(1), 231–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.021>
58. Chengyuan, L., Danni, T., Yuzhi, L., Han, L., Jialiang, Z., Min, L., Minhang, X., & Juan, X. (2019). Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X and Y. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 174, 130-141. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.039>.
59. Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., & Ooi, V. E. C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*. 81(2), 249–255. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00419-3](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00419-3)

60. Chiu, S.W., Wang, Z.M., Leung, T.M., Moore, D. (2000). Nutritional value of *Ganoderma* extract and assessment of its genotoxicity and antigenotoxicity using comet assays of mouse lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 38, 173–178.
61. Cilerdzic J., Stajic M., & Vukojevic J. (2016). Potential of Submergedly Cultivated Mycelia of *Ganoderma* spp. as Antioxidant and Antimicrobial Agents *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 17(3), 275-282.
62. Clarke H. T. (2015). *Chemistry of Penicillin* Princeton University Press, 1120 pp
63. Clark, T. A., & Anderson, J. B. (2004). Dikaryons of the basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*: evolution in long-term culture. *Genetics*. 167(4), 1663-1675.
64. Coetzee, M.P., Marincowitz, S., Muthelo, V.G., & Wingfield, M.J. (2015). *Ganoderma* species, including new taxa associated with root rot of the iconic *Jacaranda mimosifolia* in Pretoria, South Africa. *IMA Fungus*. 6, 249–256.
65. Cör, D., Knez, Ž., & Knez Hrnčič, M. (2018). Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules*, 23(3), 649.
66. Costa, T. M., Lenzi, J., Paganelli, C. J., Filho, H. H. da S., Alberton, M. D., Tavares, L. B. B., & Oliveira, D. (2019a). Liposoluble compounds from *Ganoderma lipsiense* grown on solid red rice medium with antiparasitic and antibacterial properties. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. <https://doi.org/10.1002/bab.1851>
67. Costa, T.M., Kaufmann, V., & Paganelli, C.J. (2019b). Kinetic identification of phenolic compounds and potential production of caffeic acid by *Ganoderma lipsiense* in solid-state fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 42, 1325–1332. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02131-8>
68. Daskayadikmen, C., Yucetepe, A., Karbanciogluguler, F., Daskaya, H., & Ozcelik, B. (2017) Angiotensin-I-Converting enzyme (ACE)-Inhibitory peptides from plants. *Nutrients*. 9, 316.

69. Decker, E. A. (1997) Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutrition Reviews* 55:396–407
70. Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 17(9), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.004>
71. Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., & Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains -sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*. 135(3), 950-959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058>
72. Douanla-Meli, C., & Langer, E. 2009. *Ganoderma carocalcareus* sp. nov., with crumbly-friable context parasite to saprobe? on *Anthocleista nobilis* and its phylogenetic relationship in *G. resinaceum* group. *Mycological Progress*. 8, 145-155, doi 10.1007/s11557-009-0586-4
73. Elfahri, K. R., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2016). Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected lactobacillus helveticus strains. *Journal of Dairy Science*. 99(1), 31-40. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10160>
74. Elsevier Ltd. (2009). *Encyclopedia of microbiology*. New York: Elsevier Science Direct.
75. Faizule. H., Shuisong. N., Becker. T. L., Kinstedt, C. M., Abdul-Samad J. L., Actis L. A., & Kennedy M. (2019). Evaluation of the Antibacterial Activity of 75 Mushrooms Collected in the Vicinity of Oxford, Ohio (USA) *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 21(2), 131-141. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018029710>
76. Fang, Q. H., & Zhong, J. J. (2002). Two-Stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum*. *Biotechnol Progress*. 18:51–54
77. Ferreira, I. C., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R., Vasconcelos, M. H., & Sokovic, M. (2015). Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities.

<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.011>

78. Frankel, E. N. (1997). Nutritional benefits of flavonoids. In: Ohigashi H, Osawa T, Terao J, Watanabe S, & Yoshikawa T. Food factors for cancer prevention. *Springer*. 613–616.
79. Fukuzawa, M., Hide, I., Chen, Z., Hirai, Y., Sugimoto, A., Yasuhara, T., & Nakata, Y. (2008). Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *G. lucidum* (Reishi Houshi) to its antitumor activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 31:1933–1937.
80. Gao, Y. (2002). A phase I/II study of a *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr), P. Karst. extract (ganopoly) in patients with advanced cancer *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 4(3), 207—214.
81. Gao, Y., Zhou, Sh., Huang, M., Xu, A. (2003) Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (Aphylophoromycetidae): a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 5 (3), 235–246.
82. Gao, Y., Gao, H., Chan, E., Tang, W, Xu, A., Yang, H., Huang, M., Lan, J., Li, X., Duan, W., Xu, C., & Zhou, S. (2005). Antitumor activity and underlying mechanisms of ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *G. lucidum* in mice. *Immunological Investigations*. 34:171–198.
83. Gao, Y., Zhu, L., Guo, J., Yuan, T., Wang, L., Li H., & Chen, L. (2017) Farnesyl phenolic enantiomers as natural MTH1 inhibitors from *Ganoderma sinense*. *Oncotarget*. 8(56): 95865–95879.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.21430>
84. Gonzalez-Matute, R, Figlas, D, Devalis, R, Delmastro, S, & Curvetto, N (2002) Sunflower seed hulls as a main nutrient source for cultivating *G. lucidum*. *Micologia aplicada internacional*. 14:19–24
85. Gottlieb, A. M., & Wright, J. E. (1999). Taxonomy of *Ganoderma* from southern South America: subgenus *Ganoderma*. *Mycological Research*. 103(6), 661-673.

86. Gottlieb, A. M., & Wright, J. E. (1999). Taxonomy of *Ganoderma* from southern South America: subgenus *Elfvigia*. *Mycological Research*. 103(10), 1289-1298.
87. Guo, X.Y., Liu, D., Ye, M., Han, J., Deng, S., Ma, X.C., Zhao, Y., Zhang, B., Shen, X., & Che, Q.M., (2013). Structural characterization of minor metabolites and pharmacokinetics of ganoderic acid C2 in rat plasma by HPLC coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 75, 64-73.
88. Gupta, P. K. (2018). Toxicity of Fungicides. *Veterinary Toxicology*, 569–580. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811410-0.00045-3>.
89. Ha, C. L. (2003). The inhibitory effect of the Chinese herb *Ganoderma lucidum* mycelium on gut immunoglobulin. A responses to cholera toxin in mice *Nutrition Research*. 23(25): 691-701.
90. Habijanac, J., & Berovic, M. (2000). The relevance of solid-state substrate moisturing on *G. lucidum* biomass cultivation. *Food Technology and Biotechnology*. 38(3):225–228.
91. Hajjaj, H, Mace, M, Roberts, M, Niederberger, P, & Fay, L.B. (2005) Effect of 26-oxygenosterols from *G. lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. *Applied and Environmental Microbiology*. 71:3653–3658.
92. Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*. 33(7), 601–617. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00024-v](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00024-v).
93. Han, M.D. (1998). Production of nitric oxide in RAW 264.7 macrophages treated with ganoderan, the beta-glucan of *Ganoderma lucidum*. *Korean Journal of Medical Mycology*. 26:246-255.
94. Hare, R. (1982). New light on the history of penicillin. *Medical History*. 26(1), 1-24. <https://doi.org/10.1017/S0025727300040758>.
95. Heleno, S.A, Barros, L, Martins, A, & Ferreira, I. (2012). Fruiting body spores and in vitro produced mycelium of *G. lucidum* from Northeast

- Portugal: a comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International*. 46,135–140.
96. Heleno, S.A. Ferreira, I.C.F.R., Esteves, A.P., Ciric, A., Glamoclija, J., Martins, A., Sokovic, M., & Queiroz, M.J.R.P. (2013). Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, phydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.025>.
97. Highley, T. L. & Murmanis, L. L. (1987). Micromorphology of Degradation in Western Hemlock and Sweetgum by the White-Rot Fungus *Coriolus versicolor*. *Holzforschung*. 41(2) 67-71.
98. Hobbs, C. (2002). *Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing, and Culture*. Book Publishing Company.
99. Hollman, P. C. (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81(9), 842–852. <https://doi.org/10.1002/jsfa.900>.
100. Hong, S. G., & Jung, H. S. (2004). Phylogenetic analysis of *Ganoderma* based on nearly complete mitochondrial small-subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia*. 96(4), 742-755.
101. Hong, J.S., & Chen, Q. (2005). A new cytotoxic lanostane triterpenoids from the basidiomycete *Hebeloma versipelle*. *The Japan journal antibiotics*. 58(12): 828-831.
102. Hsieh, C, & Yang, F (2004). Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *G. lucidum*. *Bioresour Technol*. 91(1):105–109.
103. Hsu, C.-L., & Yen, G.-C. (2014). Ganoderic Acid and Lucidenic Acid (Triterpenoid). *Natural Products and Cancer Signaling: Isoprenoids, Polyphenols and Flavonoids*. 33–56. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802215-3.00003-3>.
104. Huang, J., Zhang, L., X., Hu, S. N., & Yu, L. J. (2008). Optimizing expression of LZ-8 protein and primary assaying of its immunomodulatory activity. *Journal of Agriculture & Life Science*. 34, 7–12.

105. Huang, L.-C. (2000). Antioxidant properties and polysaccharide composition analysis of *Antrodia camphorata* and *Agaricus blazei*. Masters Thesis, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan.
106. Hui, S. (2003). A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*. *Biochemistry & Molecular Biology Journal*. 36, 214-222.
107. Ihayere, C.A., Oghenekaro, A.O., Osemwegie, O.O., & Okhuoya, J.A. (2010). Chemical nature of *G. lucidum* (Curtis) Karsten from woodlands of Edo state, Nigeria. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*. 3, 8–15.
108. Imtiaj, A., & Tae-Soo, L. (2007). Screening of Antibacterial and Antifungal Activities from Korean Wild Mushrooms. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(3), 316-321.
109. Ipulet, P & Ryvarde, L. (2005). New and interesting polypores from Uganda. *Synopsis Fungorum*. 20: 87–89.
110. Janež, D., Kreft, S., Jurc, M., Seme, K., & Štrukelj, B. (2007). Antibacterial Activity in Higher Fungi (Mushrooms) and Endophytic Fungi from Slovenia. *Pharmaceutical Biolog.* 45(9), 700–706. <https://doi.org/10.1080/13880200701575189>
111. Jianhua, X., & Peng, L. (2019) Researches and Application of *Ganoderma* Spores Powder. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1181, 157-186
112. Johnson, B.M., Doonan, B.P., Radwan, F.F., & Haque, A. (2010). Ganoderic acid DM: an alternative agent for the treatment of advanced prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 3, 78.
113. Kamble, R., Venkata, S., & Gupte, A.M. (2011), Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Mycelia. *Journal of pure and applied microbiology*. 5 (2), 1-3.
114. Kamra, A. (2012). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* extracts against human pathogenic bacteria.

- International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4, 359-362.
115. Karsten, P. A. (1881). "Enumeratio Boletinearum et Polyporearum Fennicarum, systematenovo dispositarum". *Revue mycologique*, Toulouse (in Latin). 3 (9), 16–19.
116. Keypour, S., Rafati, H., Riahi, H., Mirzajani, F., & Moradali, M. F. (2010). Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS), *Food Chemistry*. 119, 1704-1708.
117. Khatijah, I., Syahriel, A., & Khimphin, C. (2014). Screening For Potential Antimicrobial Compounds From Ganoderma boninense Against Selected Food Borne And Skin Disease. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(2), 771-774
118. Kim, K. C., & Kim, I. G. (1999). *Ganoderma lucidum* extract protects DNA from strand breakage caused by hydroxyl radical and UV irradiation. *International Journal of Molecular Medicine*. 4(3), 273-280.
119. Kinge, T. R., & Mih, A. M. (2011). *Ganoderma ryvardense* sp. nov. associated with basal stem rot (BSR) disease of oil palm in Cameroon. *Mycosphere*. 2(2), 179-188.
120. Kinge T.R, & Mih A.M. (2015) Diversity and distribution of species of *Ganoderma* in South Western Cameroon. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 6 (2), 17–24.
121. Kinge, T. R., Mih, A. M., dos Santos Neves, M., de Sousa, D. R. T., & Frota, M. Z. M. (2015). Diversity and distribution of species of *Ganoderma* in South-Western Cameroon. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 6(2), 17-24.
122. Kino K., Yamashita A., Yamaoka K., Watanabe J., Tanaka S., Ko K., Shimizu K., & Tsunoo H., (1989). Isolated and characterization of a new immunomodulatory protein Lingzhi-8 (LZ-8), from *G. lucidum*. *Journal of Biological Chemistry*. 264:472–478.

123. Klaus A., Kozarski M., Vunduk J., Petrović P., Nikšić M. (2016). Antibacterial and antifungal potential of wild basidiomycete mushroom *Ganoderma applanatum*. *Lekovite Sirovine*, 36, 37-46.
124. Kolesnikova O.P, Tuzova M.N, & Kozlov V.A (1997). Screening of immunoactive properties of alkanecarbonic acid derivatives and germanium-organic compounds in vivo. *Immunologiya*, 10:36–38
125. Koyama, K., Imaizumi, T., Akiba, M., Kinoshita, K., Takahashi, K., Suzuki, A., Yano, S., Horie, S., Watanabe, K., & Naoi, Y. (1997). Antinociceptive components of *Ganoderma lucidum*. *Planta Medica*. 63, 224-227.
126. Koyner, J. L., Sher Ali, R., & Murray, P. T. (2008). Antioxidants. *Nephron Experimental Nephrology*. 109(4), 109-117. <https://doi.org/10.1159/000142935>
127. Krupodorova, T. A., Barshteyn V. Yu., Zabeida E. F., and Pokas E. V. (2016). Antibacterial Activity of Macromycetes Mycelia and Culture Liquid. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 44(3), 246–253. <http://dx.doi.org/10.4014/mbl.1603.03003>.
128. Kubota, T., Asaka, Y., Miura, I., & Mori, H. (1982). Structures of Ganoderic Acid A and B, Two New Lanostane Type Bitter Triterpenes from *Ganoderma lucidum* (FR.) KARST. *Helvetica Chimica Acta*. 65(2), 611–619. <https://doi.org/10.1002/hlca.19820650221>.
129. Kumari, K., Prakash, V., Rana, S., & Sagar, A. (2016). In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *G. lucidum* (Curt.) P. Karst. *International Journal of Academic Scientific Research*, 1(5), 51–54
130. Lee. S.S., & Chang Y.S. (2016). *Ganoderma* Jekyll and Hyde mushrooms. *Utar agriculture science journal*. 2 (1), 22-31.
131. Leung, S.W.S. (2002). Lingzhi (*Ganoderma*) research – the past, present and future perspectives. In: *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics*. Proceedings of International Symposium on *Ganoderma* Research, Shanghai. Beijing, Medical University Press.

132. Li, C. H., Chen, P. Y., Chang, U. M., Kan, L. S., Fang, W. H., Tsai, K. S., S. & Lin, B., (2005). Ganoderic acid X, a lanostanoid triterpene, inhibits topoisomerases and induces apoptosis of cancer cells. *Life Sciences*. 77 252-265.
133. Li, Q. Z., Wang, X. F., & Zhou, X. W. (2011b). Recent status and prospects of the fungal immunomodulatory protein family. *Critical Reviews in Biotechnology*., 31, 365-375
134. Li, Y. G., Ji, D. F., Zhong, S., Zhu, J. X., Chen S, & Hu, G. Y. (2011a). Anti-tumor effects of proteoglycan from *Phellinus linteus* by immunomodulating and inhibiting Reg IV/EGFR/Akt signaling pathway in colorectal carcinoma. *Int J Biol Macromol.*, 48, 511-517.
135. Liu, J. Q., Lian, C. L., Hu, T. Y., Wang, C. F., Xu, Y., Xiao, L., & Cheng, B. H. (2018b). Two new farnesyl phenolic compounds with anti-inflammatory activities from *Ganoderma duripora*. *Food Chemistry*. 263, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.097>
136. Liu, J., Shiono, J., Shimizu, K., & Kondo, R., (2010). Ganoderic acids from *Ganoderma lucidum*: inhibitory activity of osteoclastic differentiation and structural criteria. *Planta Medica*. 76, 137.
137. Liu, Q. G., Ren, P. G., Wang, L. X., & Zhao, Y. (2011). Statistical optimization of key medium components by response surface methodology to promote ganoderic acid formation by medicinal mushroom *Ganoderma sinense* in submerged culture. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(3), 425-431.
138. Liu, Z. D., Li, L., & Xue, B., (2018a). Effect of ganoderic acid D on colon cancer Warburg effect: role of SIRT3/cyclophilin D, *European Journal of Pharmacology*. 824, 72-77.
139. Liu. R. M., Li, Y. B., & Zhong, J. J. (2012). Cytotoxic and pro-apoptotic effects of novel ganoderic acid derivatives on human cervical cancer cells in vitro. *European Journal of Pharmacology*. 681, 23-33.

140. Li-Ying L., Hui C., Chao L., Hong-Qing W., Jie K., Yan L., Ruo-Yun C. (2014). Triterpenoids of *Ganoderma theaecolum* and their hepatoprotective activities. *Fitoterapia*. 98, 254-259. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.08.004>.
141. Loyd, A. L., Barnes, C. W., Held, B. W., Schink, M. J., Smith, M. E., Smith, J. A., & Blanchette, R. A. (2018). Elucidating “lucidum”: Distinguishing the diverse laccate *Ganoderma* species of the United States. *Plos One*. 13(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199738>
142. Luangharn, T., Karunarathna, S. C., Khan, S., Xu, J. C., Mortimer, P. E., & Hyde, K. D. (2017). Antibacterial activity, optimal culture conditions and cultivation of the medicinal *Ganoderma australe*, new to Thailand *Mycosphere*. 8(8), 1108-1123.
143. Lugauskas, A., & Jaskelvičius, B. (2007). Micromycetes Hazardous to Human Health in Buildings of Various Age and Use in Vilnius. *Indoor and Built Environment*. 16(4), 358-370. <https://doi.org/10.1177/1420326x06081097>
144. Luna, L. E. (1984). The healing practices of a peruvian shaman. *Journal of Ethnopharmacology*. 11(2), 123-133. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90035-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(84)90035-7).
145. Lv, G. P., Zhao, J., Duan, J. A., Tang, Y. P., & Li, S. P. (2012). Comparison of sterols and fatty acids in two species of *Ganoderma*. *Chemistry Central Journal*. 6(1), 10.
146. Lyndal, M. R. (2004). Australian *Ganoderma*: identification growth and antibacterial properties. (Master's thesis). Environment and Biotechnology Centre School of Engineering and Science Swinburne University of Technology.
147. Ma, Y., He, H., & Wu, J. (2018) Assessment of Polysaccharides from Mycelia of genus *Ganoderma* by Mid-Infrared and Near-Infrared Spectroscopy. *Sci Rep*. 8(10). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18422-7>

148. Mahapatra, S., Banerjee, D. (2009). Extracellular tannase production by endophytic *Hyalopus* sp. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 55, 255-259.
149. Maiya, S., Grundmann, A., Li, X., Li, S.-M., & Turner, G. (2007). Identification of a Hybrid PKS/NRPS Required for Pseurotin A Biosynthesis in the Human Pathogen *Aspergillus fumigatus*. *ChemBioChem*. 8(14), 1736-1743. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700202>
150. Maldonado, M. C., & Saad, A. M. S. (1998), Production of pectinesterase and polygalacturonase by *Aspergillus niger* in submerged and solid state systems. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 20, 34–38.
151. Mao, T. (1999). Two mushrooms, *Grifola frondosa* and *Ganoderma lucidum*, can stimulate cytokine gene expression and proliferation in human T lymphocytes. *International Journal of Immunology and Immunotherapy*. 15, 13-22.
152. Martinez-Gomez, A., Caballero, I., & Blanco, C. A. (2020). Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. *Biomolecules*. 10(3), 400. <https://doi.org/10.3390/biom10030400>
153. Matsushita, S., & Kimura, T. (2002). Advance in treatment strategy and immune reconstruction against HIV1 infection. *Microbiology and Immunology*. 46, 231–239.
154. Mau, J. L., Lin, H. C., & Chen, C. C. (2002a) Antioxidant Properties of Several Medicinal Mushrooms *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21), 6072-6077. <https://doi.org/10.1021/jf0201273>.
155. Mau, J. L., Lin, H., C., Song, S.F. (2002b). Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International*. 35(6), 519-526.
156. Mau, J., Tsai, S., Tseng, Y., & Huang, S. (2005). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*. 93(4), 641-649. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.043>

157. Méndez-Vilas, A. (2010). *Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology*. Badajoz, Spain: Formatex Research Center
158. Mendonça, R. T., Jara, J. F., González, V., Elissetche, J. P., & Freer, J. (2008). Evaluation of the white-rot fungi *Ganoderma australe* and *Ceriporiopsis subvermispora* in biotechnological applications. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 1323–1330. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0414-x>
159. Menendez-Arias, L. (2002). Targeting HIV: antiretroviral therapy and development of drug resistance. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 381–388.
160. Min, B. S., Nakamura, N., Miyashiro, H., Bae, K.W., & Hattori, M. (1999). Triterpens from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 46, 1607-1612.
161. Misra, J., K., & Deshmukh, S. K., (2019). *Fungi from Different Environments*. CRC Press.
162. Miyamoto, I., Liu, J., Shimizu K., Sato M., Kukita A., Kukita T., & Kondo R. (2009). Regulation of osteoclastogenesis by ganoderic acid DM isolated from *Ganoderma lucidum*. *European Journal of Pharmacology*. 602(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.11.005>.
163. Mizuno, T. (1995). *G. lucidum* and *G. tsugae*: bioactive substances and medicinal effects. *Food Reviews International*. 11(1), 151–166.
164. Moncalvo, J. M., & Ryvarden, L. (1997). *A nomenclatural study of the Ganodermataceae Donk*. Synopsis Fungorum 11. Oslo, Norway: *Fungiflora*.
165. Monkai, J. M., Hyde, K. D., Xu, J. C., & Mortimer, P. E. (2016). Diversity and Ecology of soil fungal communities in rubber plantation. *Fungal Biology Reviews*. 31, 1-11.
166. Moradali, M. F., Mostafavi, H., Hejaroude, G. A., Tehrani, A. S., Abbasi, M., & Ghods, S. (2006). Investigation of Potential Antibacterial

- Properties of Methanol Extracts from Fungus *Ganoderma applanatum*. *Chemotherapy*. 52(5), 241–244. <https://doi.org/10.1159/000094866>
167. Mothana, R. A. ., Awadh Ali, N. ., Jansen, R., Wegner, U., Mentel, R., & Lindequist, U. (2003). Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma pfeifferi*. *Fitoterapia*. 74(1-2), 177–180. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00305-2](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00305-2)
168. Murugesan, K., Yang, I.-H., Kim, Y.-M., Jeon, J.-R., & Chang, Y.-S. (2009). Enhanced transformation of malachite green by laccase of *Ganoderma lucidum* in the presence of natural phenolic compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 82(2), 341–350. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1819-1>
169. Naveenkumar C., Srikumar R., Swathi S. Chidambaram R, Muthukrishnan G., & Prabhakar E. (2018a). Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of *Ganoderma lucidum*. *Indian Journal of Public Health Research & Development*. 9(12), 130-135.
170. Naveenkumar C., Swathi S., Jayalakshmi G., Chidambaram R., & Srikumar R. (2018b). Screening of Antifungal Activity of *Ganoderma lucidum* Extract Against Medically Important Fungi. *Indian Journal of Public Health Research & Development*. 9(1), 269-272.
171. Nie, S., Zhang, H., Li, W., & Xie, M. (2013). Current development of polysaccharides from *Ganoderma*: Isolation, structure and bioactivities. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 1(1), 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.01.001>
172. Nishitoba, T., Goto, S., Sato, H., & Sakamura, S. (1989). Bitter triterpenoids from the fungus *Ganoderma applanatum*. *Phytochemistry*. 28(1), 193-197. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)85036-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)85036-8).
173. Nobles, M. K. (1953). Studies in wood-inhabiting hymenomycetes: i. *Odontia bicolor*. *Canadian Journal of Botany*. 31(6), 745-749.
174. Nunez, F., Díaz, M. C., Rodriguez, M., Aranda, E., Martin, A., & Asensio, M. A. (2000). Effects of substrate, water activity, and temperature

- on growth and verrucosidin production by *Penicillium polonicum* isolated from dry-cured ham. *Journal of food protection*. 63(2), 231-236.
175. Ofodile, L. N., Uma, N. U., Kokubun, T., Grayer, R. J., Ogundipe, O. T., & Simmonds, M. S. J. (2005). Antimicrobial activity of some *Ganoderma* species from Nigeria. *Phytotherapy Research*. 19(4), 310-313. <https://doi.org/10.1002/ptr.1641>.
176. Ofodile, L. N., Uma, N., Grayer, R. J., Ogundipe, O. T., & Simmonds, M. S. J. (2011). Antibacterial Compounds from the Mushroom *Ganoderma colossum* from Nigeria. *Phytotherapy Research*. 26(5), 748–751. <https://doi.org/10.1002/ptr.3598>.
177. Osivand, A., Araya, H., Appiah, K.S., Mardani, H, Ishizaki, & T., Fujii, Y. (2018). Allelopathy of Wild Mushrooms—An Important Factor for Assessing Forest Ecosystems in Japan. *Forests*, 9 (773) 1-15; doi:10.3390/f9120773
178. Pegler D.N. (2002). Useful fungi of the world: the Ling-zhi – the mushroom of immortality. *Mycologist*. 16, 100-101.
179. Peng, X., & Qiu, M. (2018). Meroterpenoids from *Ganoderma* Species: A Review of Last Five Years. *Nat. Prod. Bioprospect*. 8, 137–149. <https://doi.org/10.1007/s13659-018-0164-z>.
180. Pereira, J. A. S jr., Rodrigues, D. P. , Peixoto-Filho, R. C., Isla, V., Bastos, G. A., Oliveira, G. G., Araújo, J. M. & Melo, S. J. (2013). Contribution to Pharmacognostic and Morphoanatomical Studies, Antibacterial and Cytotoxic Activities of *Ganoderma parvulum* Murrill (Basidiomycota, Polyporales, Ganodermataceae). *Latin American Journal of Pharmacy*. 32 (7), 996-1003.
181. Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/np9904509>.
182. Pilotti, C. (2005). Stem rots of oil palm caused by *Ganoderma boninense*: Pathogen biology and epidemiology. *Mycopathologia*. 159, 129–137 <https://doi.org/10.1007/s11046-004-4435-3>.

183. Pooja, S. & Modi, H.A. (2018). Optimization of Culture Conditions for Biomass Production of *Ganoderma lucidum*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 7(2), 1882-1889. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.227>
184. Prasad, Y. (2008). Antibacterial activity of the bio — multidrug (*Ganoderma lucidum*) on multidrug resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Advanced biotechnology*. 9-16.
185. Qiao Y., Zhang X. (2007). Two novel lanostane triterpenoids from *G. sinense*. *Molecules*. 12, 2038-2046.
186. Quattelbaum, D., Carner, G. R. (1980). A technique for preparing *Beaveria* spp. for scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany*. 58, 1700-1703. <https://doi.org/10.1139/b80-198>.
187. Rakib, M.R.M., Bong, C.F.J., Khairulmazmi, A. & Idris, A.S. (2014). Genetic and morphological diversity of *Ganoderma* species isolated from infected oil palms (*Elaeis guineensis*). *International Journal of Agriculture And Biology*. 16, 691–699.
188. Ren Z., Mao X., Krishnaraj C.,R., Qin J., Mandal P., Romanowski M., McMurray J., & Chen X., (2008). Crystal structure of unphosphorylated STAT3 core fragment, *Biochem. Biochemical and Biophysical Research Communications*. 374, 1-5.
189. Ren, L., Hemar, Y., Perera, C. O., Lewis, G., Krissansen, G. W., & Buchanan, P. K. (2014). Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 3(2), 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003>.
190. Revankar, M., & Lele, S. (2007). Synthetic dye decolorization by white rot fungus, *Ganoderma* sp. WR-1. *Bioresource Technology*. 98(4), 775–780. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.020>.
191. Richter, C., Wittstein, K., Kirk, M. P., & Stadler, M. (2014). An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. *Fungal Diversity*. 71(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0313-6>.

192. Royse, D. J. (1996). *Specialty mushrooms*. In: Janick J (ed) *Progress in new crops*. ASHS Press, Arlington.
193. Russel, R, & Paterson, M. (2006). *Ganoderma* — a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*. 67, 1985—2001.
194. Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2014). Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. *Food Chemistry*. 156, 264-270. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.105>.
195. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., & Stocchi, V. (2015). Biochemical Characterization and Antioxidant and Antiproliferative Activities of Different *Ganoderma* Collections. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 25(1), 16–25. <https://doi.org/10.1159/000369212>.
196. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Iotti, M., Zambonelli, A., Buffalini, M., Casadei, L. & Stocchi, V. (2009). Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chemistry*, 116(1), 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.023>.
197. Sanodiya, B., Thakur, G., Baghel, R., Prasad, G., & Bisen, P. (2009). *Ganoderma lucidum*: A Potent Pharmacological Macrofungus. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 10(8), 717–742. <https://doi.org/10.2174/138920109789978757>
198. Sharma, D., Singh, V. P., & Singh, N. K. A (2018). Review on Phytochemistry and Pharmacology of Medicinal as well as Poisonous Mushrooms. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 18(13), 1095-1109.
199. Shi, L., Ren, A., & Mu, D. (2010). Current progress in the study on biosynthesis and regulation of ganoderic acids. *Appl Microbiol Biotechnol*. 88, 1243–1251. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2871-1>.
200. Shi, Q. Q., Huang, Y. J., Su, H. G., Gao, Y., Lu, S. Y., Peng, X. R., & Qiu, M. H. (2020). Structurally Diverse Lanostane Triterpenoids from

- Medicinal and Edible Mushroom *Ganoderma resinaceum* Boud. *Bioorganic Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103871>.
201. Shimizu, A., Yano, T., Saito, Y., Inada, Y. (1985). Isolation of an inhibitor of platelet aggregation from a fungus, *G. lucidum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 33(7), 3012–3015.
202. Si, J., Meng, G., Wu, Y., Ma, H.-F., Cui, B.-K., & Dai, Y.-C. (2018). Medium composition optimization, structural characterization, and antioxidant activity of exopolysaccharides from the medicinal mushroom *Ganoderma lingzhi*. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.274>.
203. Singh, S.K., Doshi, A., Pancholy, A., Pathak, R. (2013). Biodiversity in wood–decay macro–fungi associated with declining arid zone trees of India as revealed by nuclear rDNA analysis. *European Journal of Plant Pathology*. 136, 373–382.
204. Smania, A., Smania, E. F. A., Monache, F. D., Pizzolatti, M. G., & Monache, G. D. (2006). Derivatization Does Not Influence Antimicrobial and Antifungal Activities of Applanoxidic Acids and Sterols from *Ganoderma* spp. *Zeitschrift Für Naturforschung*. 61(1-2), 31–34. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-1-206>.
205. Smania, E. F. A., Delle Monache, F., Smania, A., Yunes, R. A., & Cuneo, R. S. (2003). Antifungal activity of sterols and triterpenes isolated from *Ganoderma annulare*. *Fitoterapia*. 74(4), 375–377. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(03\)00064-9](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(03)00064-9).
206. Smith, B. J., & Sivasithamparam, K. (2000). Internal transcribed spacer ribosomal DNA sequence of five species of *Ganoderma* from Australia. *Mycological Research*. 104(8), 943-951.
207. Smith, B. J., & Sivasithamparam, K. (2000). Isozymes of *Ganoderma* species from Australia. *Mycological Research*. 104(8), 952-961.

208. Smith, B. J., & Sivasithamparam, K. (2003). Morphological studies of *Ganoderma* (Ganodermataceae) from the Australasian and Pacific regions. *Australian Systematic Botany*. 16(4), 487. <https://doi.org/10.1071/sb02001>.
209. Sridhar, S., Sivaprakasam, E., Balakumar, R., & Kavitha, D. (2011). Evaluation of antibacterial and antifungal activity of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst fruit bodies extracts. *World Journal of Science and Technology*. 1(6), 08-11.
210. Stalpers, J.A. (1978) Identification of Wood-Inhabiting Aphyllophorales in Pure Culture. *Stadies in Micology*. 16, 248.
211. Steyaert, R. L. (1980). Study of some *Ganoderma* species. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België*, 135-186.
212. Stojković, D. S., Barros, L., Calhella, R. C., Glamočlija, J., Ćirić, A., van Griensven, L. J. L. D., Ferreira, I. C. F. R. (2013). A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 65(1), 42–47. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.832173>.
213. Su, C. H., Yang, Y. Z., Ho, H. O., Hu, C. H., & Sheu, M. T. (2001). High-Performance Liquid Chromatographic Analysis for the Characterization of Triterpenoids from *Ganoderma*. *Journal of Chromatographic Science*. 39(3), 93–100. <https://doi.org/10.1093/chromsci/39.3.93>.
214. Sudheer, S., Alzorqi, I., Manickam, S., & Ali, A. (2019). Bioactive Compounds of the Wonder Medicinal Mushroom “*Ganoderma lucidum*.” *Reference Series in Phytochemistry*. 1863–1893. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_45
215. Sullivan, R., Smith, J. E., & Rowan, N. J. (2006). Medicinal Mushrooms and Cancer Therapy: translating a traditional practice into Western medicine. *Perspectives in Biology and Medicine*. 49(2), 159–170. <https://doi.org/10.1353/pbm.2006.0034>.

216. Sun, Y.-F., Costa-Rezende, D. H., Xing, J.-H., Zhou, J.-L., Zhang, B., Gibertoni, T. B., Cui, B.-K. (2020). Multi-gene phylogeny and taxonomy of *Amauroderma* s. lat. (Ganodermataceae). *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 44(1), 206–239. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2020.44.08>.
217. Supramani, S., Ahmad, R., Ilham, Z., Annuar, M., Klaus, A., & Wan-Mohtar, W. (2019). Optimisation of biomass, exopolysaccharide and intracellular polysaccharide production from the mycelium of an identified *Ganoderma lucidum* strain QRS 5120 using response surface methodology. *AIMS microbiology*. 5(1), 19–38. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2019.1.19>
218. Surendran, A., Siddiqui, Y., Ali, N. S., & Manickam, S. (2018). Inhibition and kinetic studies of cellulose- and hemicellulose-degrading enzymes of *Ganoderma boninense* by naturally occurring phenolic compounds. *Journal of Applied Microbiology*. 124(6), 1544–1555. <https://doi.org/10.1111/jam.13717>.
219. Susanto, A., Sudharto, P. & Purba, R. (2005). Enhancing biological control of basal stem rot disease (*Ganoderma boninense*) in oil palm plantations. *Mycopathologia*. 159, 153–157 <https://doi.org/10.1007/s11046-004-4438-0>.
220. Swann, J. P. (1983). The Search for Synthetic Penicillin during World War II. *The British Journal for the History of Science*.16(2), 154–190.
221. Synytsya, A., Novak, M. (2013). Structural diversity of fungal glucans, *Carbohydrate Polymers*. 92 (1) 792–809.
222. Tang Y. J., Zhang W., Zhong J. J., (2009). Performance analyses of a pHshift and DOT-shift integrated fed-batch fermentation process for the production of ganoderic acid and *Ganoderma* polysaccharides by medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Bioresource Technology*. 100, 1852-1859.
223. Tchotet Tchoumi, J.M, Coetzee, M. P. A., Rajchenberg, M., Wingfield, M. J., Roux, J. (2018). Three *Ganoderma* species, including *Ganoderma*

- dunense* sp. nov., associated with dying *Acacia cyclops* trees in South Africa. Australasian. *Plant Pathology*. 47, 431-447.
224. Teerapatsakul, C., Abe, N., & Bucke, C. (2007). Novel laccases of *Ganoderma* sp. KU-Alk4, regulated by different glucose concentration in alkaline media. *World J Microbiol Biotechnol*. 23, 1559–1567.
225. Tekaiia, F., & Latgé, J.-P. (2005). *Aspergillus fumigatus*: saprophyte or pathogen? *Current Opinion in Microbiology*. 8(4), 385-392. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.017>.
226. Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M. E., Rehman, M. U., Adhikari, A., Türkoğlu, A., & Choudhary, M. I. (2015). Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*. *Industrial Crops and Products*. 76, 749-754. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.042>.
227. Tham, L. X. (1998). A phylogenetic hypothesis of the *Ganodermataceae* based on a possible mode of basidiospore evolution. *Mycotaxon*. 69:1–12.
228. Torres-Torres, M. G., & Guzmán-Dávalos, L. (2012). The morphology of *Ganoderma* species with a laccate surface. *Mycotaxon*, 119, 201-216.
229. Trevor, M. (1999). Lignin-modifying enzymes of the white rot basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *AEM*. 65(12), 5307-5313.
230. Trutmann, P. (2012). The Forgotten Mushrooms of Ancient Peru Global Mountain Action. *Fungi and Mountains Publication Series*. 1, 33.
231. Tsai, L. L. (2007). US Patent US 7601808. B2 Immunomodulatory protein cloned from *G. microsporum*.
232. Tsivileva, O., Nguyen, T., Vu, L., Yurasov, N., Chernyshova, M., Petrov, A., Galushka, V., Markin, A., Koftin, O. (2016). Vietnamese *Ganoderma*: growth, peculiarities, and low-molecular composition compared to European and Siberian strains. *Turkish Journal of Botany*. 40, 269-286. <https://doi.org/10.3906/bot-1410-15>.

233. Tsujikura Y, Higuchi T, Miyamoto Y, & Sato S (1992). Manufacture of ganoderic acid by fermentation of *Ganoderma lucidum* (in Japanese). JP 04304890. Jpn Kokai Tokkyo Koho
234. Upton, D. J., McQueen-Mason, S. J., & Wood, A. J. (2017). An accurate description of *Aspergillus niger* organic acid batch fermentation through dynamic metabolic modelling. *Biotechnology for biofuels*. 10(1), 1-14.
235. Utomo, C., Werner, S., & Niepold, F. (2005). Identification of *Ganoderma*, the causal agent of basal stem rot disease in oil palm using a molecular method. *Mycopathologia*. 159, 159–170. <https://doi.org/10.1007/s11046-004-4439-z>.
236. Van Der Ven, L., Rorije, E., Sprong, C., Zink, D., Derr, R., Hendriks, & G., Luijten, M. (2020). A case study with triazole fungicides to explore practical application of next generation hazard assessment methods for human health. *Chemical Research in Toxicology*. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00484>.
237. Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Bisko N.A., & Mytropolska N.Yu. (2018). 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>.
238. Veljović, S., Veljović, M., & Nikićević, N. (2017). Chemical composition, antiproliferative and antioxidant activity of differently processed *Ganoderma lucidum* ethanol extracts. *Journal of Food Science and Technology*. 54, 1312-1320 <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2559-y>.
239. Venkatarayan, S. V. (1936). The biology of *Ganoderma lucidum* on areca and coconut palms. *Phytopathology*. 26, 153–175.
240. Vermani, K., & Garg, S. (2002). Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS. *J. Ethnopharmacology*. 80, 49–66.

241. Wang, H., & Ng, T. B. (2006). Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Peptides*. 27(1), 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.06.009>.
242. Wang, K., Bao, L., Xiong, W., Ma, K., Han, J., Wang, W., Yin, W., & Liu, H. (2015). Lanostane triterpenes from the Tibetan medicinal mushroom *Ganoderma leucocontextum* and their inhibitory effects on HMG-CoA reductase and α -glucosidase. *Journal of Natural Products*. 78 1977-1989.
243. Wang, X., Sun, D., Tai, J., Wang, L., (2017). Ganoderic acid A inhibits proliferation and invasion, and promotes apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells, *Molecular Medicine Reports*. 16, 3894-3900.
244. Wasser, S.P., (2005). Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). *Encyclopedia of Dietary Supplements*. 603-622. <https://doi.org/10.1081/e-eds-120022119>
245. Wasser, S.P. (2010). Medicinal mushrooms science: history, current status, future trends and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 12(1): 1–16.
246. Wasser, S.P. (2011) Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89, 1323–1332. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3067-4>.
247. Wasser, S.P. (2013). Probing Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes): A Bitter Mushroom with Amazing Health Benefits. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 15(2), 127-143. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v15.i2.20>.
248. Wasser, S.P. (2014) Medicinal Mushroom Science: Current Perspectives, Advances, Evidences, and Challenges. *Biomedical Journal*. 37(6), 345-356. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.138318>
249. Wei, Z., Duan, Y., Qian, Y., Guo, X., Li, Y., Jin, S., Zhou, X., Shan, S., Wang, C. Chen, X., Zheng, Y., & Zhong, J. (2014). Screening of *Ganoderma* strains with high polysaccharides and ganoderic acid contents and optimization of the fermentation medium by statistical methods. *Bioprocess*

- and Biosystems Engineering*. 37(9), 1789–1797. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1152-2>.
250. Wei, Z., Liu, L., Guo, X., Li, Y., Hou, B., Fan, Q., Wang, K., Luo, Y., & Zhong, J.-J. (2015). Sucrose fed-batch strategy enhanced biomass, polysaccharide, and ganoderic acids production in fermentation of *Ganoderma lucidum* 5.26. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(1), 37–44. doi:10.1007/s00449-015-1480-x
251. Welti, S., & Courtecuisse, R. (2010). The Ganodermataceae in the French West Indies (Guadeloupe and Martinique). *Fungal Diversity*, 43(1), 103-126.
252. Widiyanti, F., Yulia E. & Nasahi C. (2019). *Antifungal Activity of Methanol-Extracted Secondary Metabolites of Rhizobacteria Isolated from Rhizosphere of Oil Palm Trees Against Ganoderma Boninense Pat.* IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.
253. Williams, D. L. 1997. Overview of (1→3)-beta-d-glucan immunobiology. *Mediators of Inflammation.*, 6: 247–250.
254. Wu, G. S., Guo, J. J., Bao, J. L., Li, X. W., Chen, X. P., Lu, J. J., & Wang, Y. T. (2013). Anti-cancer properties of triterpenoids isolated from – a review. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 22(8), 981–992. <https://doi.org/10.1517/13543784.2013.805202>.
255. Wu, G. S., Lu, J.J., Guo, J.J., Li, Y.B., Tan, W., Dang, Y.Y., Zhong, Z.F., Xu, Z.T., Chen, X.P., & Wang, Y.T. (2012). Ganoderic acid DM, a natural triterpenoid, induces DNA damage, G1 cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells, *Fitoterapia*. 83(2), 408-414. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.004>.
256. Xia, Q., Zhang, H., Sun, X., Zhao, H., Wu, L., Zhu, D., & She, G. (2014). A Comprehensive Review of the Structure Elucidation and Biological Activity of Triterpenoids from *Ganoderma* spp. *Molecules*. 19(11), 17478–17535. <https://doi.org/10.3390/molecules191117478>.

257. Xia, Z.N., Jiang J.A., He C.Z., & Liu D.Y. (2003). Preliminary researchers on high yield cultivation techniques of *Ganoderma*. *Hunan Agric Sci Technol.* 6, 56-58.
258. Xing, J. H., Sun, Y. F., Han, Y. L., Cui, B. K., & Dai, Y. C. (2018). Morphological and molecular identification of two new *Ganoderma* species on *Casuarina equisetifolia* from China. *MycKeys.* 34, 93–108. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.34.22593>.
259. Xu, J. W., Zhao, W., & Zhong J. J. (2010). Biotechnological production and application of ganoderic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 87, 457-466.
260. Xu, P., Ding, Z. Y., Qian, Z., Zhao, C. X., & Zhang, K. C. (2008). Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media. *Enzyme and Microbial Technology.* 42(4), 325-331.
261. Xu, X. F., Yan, H. D., Chen J., & Zhang X.W. (2011a). Bioactive proteins from mushrooms. *Biotechnology Advances.* 29, 667-674.
262. Xu, Z., Chen, X., Zhong, Z., Chen, L., & Wang, Y. (2011b). *Ganoderma lucidum* Polysaccharides: Immunomodulation and Potential Anti-Tumor Activities. *The American Journal of Chinese Medicine.* 39(01), 15-27. <https://doi.org/10.1142/s0192415x11008610>.
263. Yakovleva, G., Sagadeev, E., Stroganov, V., Kozlova, O., Okunev, R., & Ilinskaya, O. (2018). Metabolic Activity of Micromycetes Affecting Urban Concrete Constructions. *The Scientific World Journal.* 1-9. <https://doi.org/10.1155/2018/8360287>.
264. Yalcin, O. U., Sarikurkcu, C., Cengiz, M., Gungor, H., & Ćavar Zeljković, S. (2020). *Ganoderma carnosum* and *Ganoderma pfeifferi*: Metal concentration, phenolic content, and biological activity. *Mycologia.* 1-8 <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1689748>.

265. Yang, F. C. & Liao C. B. (1998). The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. *Process Biochemistry*. 33, 547–553.
266. Yang, F. C., Ke, Y. F., & Kuo, S. S. (2000). Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in shake flask cultures. *Enzyme and Microbial Technology*. 27(3-5), 295–301. [https://doi.org/10.1016/s0141-0229\(00\)00213-1](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(00)00213-1).
267. Yang, F.C, Hsieh, C., Chen, H.M. (2003). Use of stillage grain from a rice-spirit distillery in the solid-state fermentation of *G. lucidum*. *Process Biochem*. 39, 21-26.
268. Yen, G. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*. 65(3), 375–379. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00239-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00239-8).
269. Yoon, S.Y., Eo, S.K., Kim, Y.S., Lee, C.K., & Han, S.S. (1994). Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics. *Archives of Pharmacal Research*. 17, 438–442.
270. Young, I. S. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*. 54(3), 176–186. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>.
271. Zárate-Chaves, C. A., Romero-Rodríguez, M. C., Niño-Arias, F. C., Robles-Camargo, J., Linares-Linares, M., Rodríguez-Bocanegra, M. X., & Gutiérrez-Rojas, I. (2013). Optimizing a culture medium for biomass and phenolic compounds production using *Ganoderma lucidum*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44(1), 215–223. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013005000032>.
272. Zeng R., , Xia, L., Wei, W., Meng Yao, Y., Rui Tao, H., Xiao Ping, Z., & Lin Yong, Z. (2009). Antioxidant properties and antioxidant components of extracts from mushroom *Ganoderma sinensis*. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 7(1), 75-82.

273. Zeng, X.T., Li, P.Y., Chen, X., Kang, Y., Xie, Y., Li, X., Xie, T.H., Zhang, Y.K., (2019). Effects of deproteinization methods on primary structure and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides, *Int. International Journal of Biological Macromolecules*, 126 867–876.
274. Zhang, W, Tang, Y.J.A. (2008). Novel three-stage light irradiation strategy in the submerged fermentation of medicinal mushroom *G. lucidum* for the efficient production of ganoderic acid and *Ganoderma* polysaccharides. *Biotechnology Progress*. 24, 1249–1261.
275. Zhang, W.X., & Zhong J.J. (2009). Impact of oxygen level in gaseous phase on gene transcription and ganoderic acid biosynthesis in liquid static cultures of *Ganoderma lucidum*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 33, 683-690. <https://doi.org/10.1007/s00449-009-0379-9>.
276. Zhao, J. D., 1989. *The Ganodermataceae in China*, Bibliotheca Mycologica 132. J. Cramer, Berlin.
277. Zhe, J. (2007) Immunomodulation of RAW264.7 macrophages by GLIS, a proteopolysaccharide from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Ethnopharmacology*. 112(3), 445-450. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.035>.
278. Zhou, L. W, Cao, Y., Wu, S.H., Vlasák, J., Li, D. W., Li M. J., & Dai, Y. C. (2015). Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multi-locus phylogeny. *Phytochemistry*. 114, 7–15.
279. Zhou, L. W., Nakasone, K. K., & Burdsall, H. H. (2016). Polypore diversity in North America with an annotated checklist. *Mycological Progress*. 15, 771-790. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1207-7>.
280. Zhou, X.W., Siu, K., & Zhang, Y.M. (2012). Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 93, 941–963.

281. Zhuang, Y., Pan, Y., Xie, X. M., & Zhang, L. Y. (2007). The origin, development and its advantage and potential of the bi-directional solid fermentation for medicinal fungi. *Edible Fungi China*. 26, 3-6.

ДОДАТОК А. ПАСПОРТИ ШТАМІВ ВИДІВ РОДУ *GANODERMA*

Паспорт *Ganoderma lucidum* 1904

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. (1881)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, *Ganoderma*

Номер штаму: 1904

Виділено з плодового тіла, Крим, Україна, 2006 р.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*:

Примордії

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $9,7 \pm 0,4$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 43 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW748295

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія була порошиста, а ближче до країв – шовковиста, колонія мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня.

Мицелій білого кольору, утворював багаточисленні тяжі. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

12,1 ± 0,4 г/л

Ендополісахариди:

вміст 7,5 ± 0,3 % від сухої біомаси,

вихід 0,43 ± 0,09 г/л

Ганодерові кислоти:

вміст 21 ± 0,8 мг/г сухої маси

вихід 0,258 ± 0,016 г/л

Фенольні сполуки

Антимікробна активність – не досліджена

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність – не досліджена

Паспорт *Ganoderma sinense* 2516

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma sinense J.D. Zhao, L.W. Hsu & X.Q. Zhang (1979)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2516

Отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

Історія штаму з моменту його отримання: Колекція культур шапинкових грибів ІВК (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Кораловидні гіфи.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*:

Примордії

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: 3,5 ± 0,2 мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 40 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: шовковиста, з вираженою зональністю, міцелій білого кольору. Реверзум не змінював забарвлення, край колонії притиснутий.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$10,6 \pm 0,3$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $7 \pm 0,3$ % від сухої біомаси,

вихід $0,74 \pm 0,06$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $25,2 \pm 0,8$ мг/г сухої маси

вихід $0,264 \pm 0,013$ г/л

Фенольні сполуки:

Метанольний екстракт біомаси $51,2 \pm$ мг/г сухої маси

Етилацетатний екстракт біомаси $31,4 \pm$ мг/г

Антимікробна активність: екстракти біомаси (затримка росту тест-культур мікроміцетів *Aspergillus niger*, *Mucor globosus*)

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність:

Метанольний екстракт біомаси – $93,1 \pm 0,55$ %,

Етилацетатний екстракт – $90,6 \pm 0,84$ %

Паспорт *Ganoderma tsugae* 2024

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma tsugae Murrill (1902)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2024

Отримано з колекції Таврійського державного агротехнологічного університету, Мелітополь, Україна, 2010 р.

Історія штаму з моменту його отримання: Колекція культур шапинкових грибів *IBK* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, пряжки з анастомозами.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*:

Примордії

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $5,1 \pm 0,1$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 40 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: шовковиста, у вигляді плівки з ущільненням по центру колонії, з вираженою зональністю, краї не притиснуті, міцелій білого кольору, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

20,3 ± 0,5 г/л

Ендополісахариди:

вміст 7,8 ± 0,2 % від сухої біомаси,

вихід 1,58 ± 0,08 г/л

Ганодерові кислоти:

вміст 18 ± 1,2 мг/г сухої маси

вихід 0,354 ± 0,066 г/л

Фенольні сполуки:

Метанольний екстракт біомаси 44,7 ± мг/г сухої маси

Етилацетатний екстракт біомаси 48,3 ± мг/г

Антимікробна активність: екстракти біомаси (затримка росту тест-культур бактерій *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та мікроміцетів *Aspergillus niger*, *Mucor globosus*)

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Етилацетатний екстракт – повне пригнічення проростання насіння.

Антиоксидантна активність:

Метанольний екстракт біомаси – 97,7 ± 0,62 %,

Етилацетатний екстракт – 92,2 ± 0,45 %

Паспорт *Ganoderma tsugae* 1848

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma tsugae Murrill (1902)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 1848

Отримано з колекції НАІ (International Centre for Cryptogamic Plants and Fungi, Institute of Evolution, University of Haifa), Хайфа, Ізраїль, 2005р.

Історія штаму з моменту його отримання: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки: – не досліджено

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: – не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $2,9 \pm 0,3$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °С

Критичні температури: 4 °С та 40 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °С, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: шовковиста, пухка, характерна яскраво виражена зональність. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$11,4 \pm 0,4$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $6,2 \pm 0,3$ % від сухої біомаси,

вихід $0,7 \pm 0,07$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $18,6 \pm 1,2$ мг/г сухої маси

вихід $0,216 \pm 0,013$ г/л

Фенольні сполуки: – не досліджено

Антимікробна активність: – не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: – не досліджено

Паспорт *Ganoderma tsugae* 2566

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma tsugae Murrill (1902)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2566

Отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

Історія штаму з моменту його отримання: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, пряжки з анастомозами

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $2,9 \pm 0,3$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 40 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: шовковиста, була характерна виражена зональність з ущільненням по центру колонії. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

17,8 ± 0,3 г/л

Ендополісахариди:

вміст 5,1 ± 0,4 % від сухої біомаси,

вихід 0,9 ± 0,07 г/л

Ганодерові кислоти:

вміст 20,4 ± 2,1 мг/г сухої маси

вихід 0,36 ± 0,144 г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: не досліджено

Паспорт *Ganoderma applanatum* 1899

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma applanatum (Pers.) Pat. (1887)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 1899

Виділено з плодового тіла, Крим, Україна, 2006 р.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів ІВК (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: 10,5 ± 0,2 мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 40 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія біля центру порошиста, але шовковиста по краям, зональність відсутня. Міцелій білого кольору, пігментація відсутня, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$18,9 \pm 0,4$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $6,3 \pm 0,2$ % від сухої біомаси,

вихід $1,2 \pm 0,1$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $17,4 \pm 1,2$ мг/г сухої маси

вихід $0,324 \pm 0,022$ г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: не досліджено

Паспорт *Ganoderma carnosum* 2502

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma carnosum Pat. (1889)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales,
Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2502

Виділено з плодового тіла, Крим, Україна, 2006 р.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *IBK* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, пряжки з анастомозами, подвійні пряжки з анастомозами, коралоподібнігіфи, потовщення на гіфах.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $3,3 \pm 0,3$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 39 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW748294

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія ватоподібна, міцелій нещільний, пухкий, повітряний, зональність відсутня. Міцелій білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$10,5 \pm 0,2$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $6,6 \pm 0,3$ % від сухої біомаси,

вихід $0,69 \pm 0,1$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $18 \pm 1,5$ мг/г сухої маси

вихід $0,192 \pm 0,006$ г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: не досліджено

Паспорт *Ganoderma resinaceum* 2477

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma resinaceum Boud. (1889)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2477

Виділено з плодового тіла, Вилково, Одеська область, Україна, 2016р

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, коралоподібні гіфи, хламідоспори.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $11,3 \pm 0,1$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 43 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW748297

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1^\circ\text{C}$, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія порошиста, мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня. Міцелій білого кольору утворював багаточисленні тяжі. Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$12,3 \pm 0,4$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $4,4 \pm 0,2$ % від сухої біомаси,

вихід $0,54 \pm 0,05$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $18,6 \pm 1,2$ мг/г сухої маси

вихід $0,228 \pm 0,018$ г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: не досліджено

Паспорт *Ganoderma resinaceum* 2503

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma resinaceum Boud. (1889)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2503

Отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

Історія штаму з моменту його виділення: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, коралоподібні гіфи, хламідоспори.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*:

Примордії

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $11 \pm 0,2$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °С

Критичні температури: 4 °С та 43 °С

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: ні

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °С, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія порошиста, мала вигляд щільної плівки, зональність відсутня. Міцелій білого кольору утворював багаточисленні тяжі, Край колонії притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$13,2 \pm 0,5$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $5,3 \pm 0,3$ % від сухої біомаси,

вихід $0,7 \pm 0,05$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $17,4 \pm 1,02$ мг/г сухої маси

вихід $0,234 \pm 0,03$ г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: біомаса (пригнічення росту проростків *Cucumis sativus* та *Lepidium sativum*)

Антиоксидантна активність: не досліджено

Паспорт *Ganoderma oregonense* 2560

Назва організму (включаючи назву авторів та рік опису):

Ganoderma resinaceum Boud. (1889)

Класифікація: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma

Номер штаму: 2560

Отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

Історія штаму з моменту його отримання: Колекція культур шапинкових грибів *ІВК* (Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна)

Мікроморфологічні ознаки:

Пряжки, потовщення на гіфах.

Типи репродуктивних структур, що утворює штам *in vitro*: не виявлено

Умови культивування:

Середовище: ГПДА

Швидкість росту: середовище ГПДА: $3,4 \pm 0,2$ мм/добу

Температура: $26 \pm 0,1$ °C

Критичні температури: 4 °C та 36 °C

Режим освітлення: без світла

Штам генетично модифікований: ні

Вид генетично підтверджений: MW748296

Рекомендований метод для тривалого збереження: у пробірках зі скошеним середовищем ГПДА за $4 \pm 0,1$ °C, не більше 10 місяців

Морфологія: на середовищі ГПДА: колонія шовковиста, зональність відсутня. Поверхня міцелію білого кольору, край колонії не притиснутий, реверзум не змінював забарвлення.

Особливості в умовах глибинного культивування протягом 14 діб:

Біомаса:

$9,5 \pm 0,5$ г/л

Ендополісахариди:

вміст $7,7 \pm 0,3$ % від сухої біомаси,

вихід $0,73 \pm 0,09$ г/л

Ганодерові кислоти:

вміст $19,2 \pm 1,8$ мг/г сухої маси

вихід $0,18 \pm 0,186$ г/л

Фенольні сполуки: не досліджено

Антимікробна активність: не досліджено

Інгібуюча активність: не досліджено

Антиоксидантна активність: не досліджено

ДОДАТОК Б. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ
ДИСЕРТАЦІЇ.

Статті у періодичних наукових виданнях інших держав

1. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021). The influence of biomass and its extracts of *Ganoderma* species on the seeds germination and the growth of *Lepidium sativum* L. *International Journal of Applied Biology and Environmental Science*. 3(1) 1-5. <https://doi.org/10.5505/ijabes.2021.87487>.

(Особистий внесок здобувача: здобувачем були проведені усі дослідження з вивчення впливу біомаси міцелію та екстрактів, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

2. Boromenskyi, D., Al-Maali, G., & Bisko, N. (2021). The influence of biomass of *Ganoderma* species on seed germination and seedlings growth of *Cucumis sativus* L. *Plant & Fungal Research*. 4(1), 25-29.

(Особистий внесок здобувача: здобувачем були проведені усі дослідження з вивчення впливу біомаси міцелію та екстрактів, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

**Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових видань
України**

1. Бороменський, Д.О., & Бісько, Н.А. (2019). Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma* (Ganodermataceae) в культурі. *Український ботанічний журнал*. 77(2), 117–124.

(Особистий внесок здобувача: здобувачем були проведені усі дослідження з культивування культур базидієвих грибів та підготовки зразків для сканувальної електронної мікроскопії, написано основну частину тексту статті)

2. Бороменський, Д.О., & Бісько, Н.А. (2020) Вплив умов культивування на накопичення біомаси та ендополісахаридів грибами роду *Ganoderma* (Ganodermataceae) *Український ботанічний журнал*. 77(2), 117–124. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj77.02.117>

(*Особистий внесок здобувача*: здобувачем було проведено дослід з культивування культур базидієвих грибів в різних умовах, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

3. Boromenskyi, D.O., Bisko, N.A., Al-Maali, G.A., & Polishchuk O.V. (2021). The contents of ganoderic acids in mycelium of different species and strains of the genus *Ganoderma* (Ganodermataceae) obtained by different methods of cultivation. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 1(84), 14-18. DOI 10.17721/1728_2748.2021.84.14–18

(*Особистий внесок здобувача*: здобувачем було проведено дослід з культивування культур базидієвих грибів в різних умовах, проаналізовано отримані дані, написано основну частину тексту статті)

Публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій

1. Бороменський, Д.О., & Аль-Маалі Г.А. (2018). Культуральні та мікроморфологічні особливості міцелію різних штамів грибів роду *Ganoderma*. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*, 12. Публікація тез, усна доповідь.

2. Бороменський, Д. О. (2019). Вміст ендополісахаридів у міцелії різних штамів грибів роду *Ganoderma* отриманого методом глибинного культивування. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*, 54. Публікація тез, усна доповідь.

3. Бороменський, Д.О., Герасимнюк, В.О., Кравченко, Є.І., & Мірошніченко, М.С. (2018). Інтродукція в культуру перспективних для біотехнології видів макроміцетів. *II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «біотехнологія: досвід, традиції та інновації»*, 15. Публікація тез, заочна участь.

4. Веденичова, Н.П., Аль-Маалі, Г.А., Бороменський, Д.О., Бісько, Н.А., Косаківська, І.В., Гарманчук, Л.В., & Остапченко, Л.І. (2021). Протипухлинна активність цитокінінових екстрактів з міцелію лікарських грибів *Ganoderma lucidum* і *Lentinula edodes in vitro*. *Planta+ наука, практика та освіта*, 294-298. *Публікація тез, заочна участь.*
5. Boromenskyi, D.O., & Al-Maali, G.A. (2018). Продуктивність за полісахаридами різних штамів грибів роду *Ganoderma* (P. Karst). *VII Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії»*, 22. *Публікація тез, заочна участь.*