

# РІСТ *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. І *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. ТА СИНТЕЗ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ В УМОВАХ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

Т. А. Круподьорова

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ

E-mail: yemets@list.ru

Отримано 04.06.2010

Досліджено динаміку росту та синтезу екзополісахаридів, описано морфологію колоній певних штамів лікарських грибів *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. і *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. за умов глибинного культивування на відходах харчової промисловості України — молочній сироватці та крохмальній крупці. Вивчено мікроморфологічні характеристики вегетативного міцелію, які забезпечують контроль за чистотою росту культур. Встановлено, що молочна сироватка була сприятливішим середовищем для накопичення культурального міцелію та екзополісахаридів для обох культур. Максимальну кількість ( $17,2 \pm 0,1$  г/л) міцелію *G. applanatum* 1572 отримано на 11-ту добу, *G. lucidum* 1621 —  $29,6 \pm 0,4$  г/л — на 5-ту добу. На 11-ту добу культивування найбільша кількість екзополісахаридів *G. applanatum* 1572 становила  $9,1 \pm 0,1$  г/л, а *G. lucidum* 1621 —  $10,0 \pm 0,1$  г/л.

**Ключові слова:** морфологія, *G. applanatum*, *G. lucidum*, біомаса, екзополісахариди, глибинне культивування.

Унікальність біологічних і біосинтетичних властивостей вищих базидіальних грибів зумовлює їх широке використання в сучасній біотехнології, фармакології, біомедицині. З метою отримання цінних харчових продуктів, різноманітних лікувально-профілактичних засобів і біологічно активних речовин проводять дослідження хімічного складу базидіоміцетів, розробляють нові методи культивування.

Ксилотрофні гриби роду *Ganoderma* Karst., зокрема *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. і *G. applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat., у східній медицині застосовують вже понад 4 тис. років. Терапевтична активність видів *G. lucidum* (ганодерма блискуча, трутовик лакований) і *G. applanatum* (ганодерма плоска, трутовик плоский) зумовлена наявністю в цих грибах біологічно активних компонентів, передусім полісахаридів. Понад 100 типів полісахаридів було ізольовано з плодкових тіл, спор та міцелію *G. lucidum* [1, 2]. Дані щодо різноманітності складу полісахаридів *G. applanatum* в літературі відсутні. Проте відомо, що біологічна дія зумовлена різними класами полісахаридів:  $\beta$ -1-3-,  $\beta$ -1-6-D-глюканами, гетероглюканами

та глікопротеїнами [2–5]. Екзополісахариди синтезуються грибами позаклітинно в умовах глибинного культивування. Як і ендополісахариди, вони мають широкий спектр біологічної дії, насамперед через стимуляцію імунної системи організму [6–11]. Особливий інтерес дослідників до вивчення екзополісахаридів пояснюється тим, що технологічна схема їх одержання значно простіша порівняно з виділенням із плодкових тіл або міцелію. Вченими з'ясовано вплив різних факторів на утворення екзополісахаридів *G. lucidum* і *G. applanatum* [12–15].

Враховуючи високу собівартість більшості комерційних живильних середовищ, перспективним напрямом вважають глибинне культивування видів роду *Ganoderma* на доступних та дешевих живильних середовищах. Такими субстратами для отримання біомаси вищих базидіальних грибів, на думку багатьох авторів [16–20], є відходи перероблення фруктів, овочів, картоплі, кукурудзи, молочна сироватка тощо. Однак робіт, пов'язаних з вивченням особливостей росту, синтезом метаболітів, розробкою способів отримання міцелію грибів роду *Ganoderma* на вищезазначених субстратах,

порівняно мало. Крім того, утилізація відходів харчової промисловості дає змогу вирішити два завдання: використовувати біологічно активні речовини, що залишаються у відходах, та зменшувати забруднення довкілля.

Метою роботи було вивчення росту *G. lucidum* і *G. applanatum* та синтезу екзополісахаридів на рідких середовищах (відходах харчової промисловості) в умовах глибинного культивування.

### Матеріали і методи

Попереднє вивчення потреб живлення досліджуваних штамів *G. applanatum* і *G. lucidum* дозволило відібрати штами, що краще за інші культури росли на живильних середовищах з лактозою або крохмалем і за швидкістю радіального росту належать до швидкорослої групи культур [21]. Об'єктами досліджень були штами *G. applanatum* 1572 і *G. lucidum* 1621, що зберігаються в колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України (ІБК) [22]. Як живильні комплексні середовища для *G. applanatum* 1572 і *G. lucidum* 1621 було обрано нативну молочну сироватку виробництва ВАТ «Яготинський маслозавод» (м. Яготин, Київська обл.) та крохмальну крупку — відхід виробництва ВАТ «Кремнянський крохмальний завод» (с. Кремно, Житомирська обл.). Середовища автоклаували 20 хв за 1 атм та температури 121 °С. Глибинне культивування [23] на рідких середовищах проводили на лабораторних качалках (120 об/хв) в колбах Ерленмеєра ємністю 250 мл, що містили 50 мл рідкого середовища. Середовища інокулювали гомогенізованою біомасою певного штаму (10% за об'ємом) та інкубували за температури  $28 \pm 2$  °С. Гриби вирощували на рідких середовищах такого складу:

- нативна молочна сироватка виробництва ВАТ «Яготинський маслозавод», масова частка (%): лактоза — 60; протеїн — 10; ліпіди — 2; молочна кислота — 7,85; вітаміни — 0,15; зола — 7 [24];

- нативна крупка (відхід виробництва ВАТ «Кремнянський крохмальний завод») — 20,0 г; вода — 1 л. Склад нативної крупки, масова частка (%): крохмаль — 76,3; протеїн — 15,6; ліпіди — 1,3; ендполісахариди — 5,2; зола — 1,6.

Розрахунки біомаси здійснювали ваговим методом [23] за абсолютно сухою речовиною після висушування за температури  $105 \pm 1$  °С до постійної ваги. Дослідження

мікроструктур культур виконували за допомогою сканувального електронного мікроскопа (СЕМ) зі збільшенням від 2 500 до 15 000, JSM-35С (Японія), за наведеною в літературі методикою [23].

Визначення синтезованої кількості біомаси, екзополісахаридів та рН культуральної рідини штамів (*G. applanatum* 1572 і *G. lucidum* 1621) проводили в динаміці кожні 48 год, починаючи з 1-ї до 19-ї доби глибинного культивування на нативній молочній сироватці та середовищі з нативною крупкою. Кількість екзополісахаридів визначали в культуральній рідині за описаною методикою [15]. Для виділення екзополісахаридів культуральну рідину упарювали в 2–3 рази, осаджували етиловим спиртом (1:1) та залишали за температури 4 °С до повного осадження. Потім осаджені полісахариди відділяли центрифугуванням, діалізували 3 доби проти дистильованої води, переосаджували спиртом, відділяли центрифугуванням та сушили за температури 4 °С до постійної маси.

Повторність проведених дослідів — п'ятикратна. Кількісні результати, що їх було отримано при порівняльному вивченні штамів у всіх проведених експериментах, оброблено статистичними методами за допомогою комп'ютерних пакетів Microsoft Office Excell і StatSoft Statistika 6.0.

### Результати та обговорення

Відомо, що умови глибинного культивування зумовлюють зміни морфології культур [16, 17, 20, 25, 26]. У наших експериментах у період активного росту культур *G. applanatum* 1572 та *G. lucidum* 1621 із міцеліальних ниток поступово утворювалися агломерати неправильної (рис. 1, 2) та правильної (рис. 3, 4) форм, які залишалися незмінними до 19-ї доби культивування. На зрізах агломерати не мали клітинної диференціації, міцелій згруповувався в щільні утворення.

Для росту вищих базидіоміцетів у глибинній культурі характерним є нитчасте дисперсне зростання або утворення різних за розмірами, щільністю та формою (неправильною чи кулькоподібною) міцеліальних агломератів, від яких можуть відходити різної довжини одиночні гіфи або гіфальні пучки чи тяжі [16, 17, 20]. Форма та розміри міцеліальних агломератів досліджуваних нами *G. applanatum* 1572 і *G. lucidum* 1621 змінювалися залежно від складу живильного середовища. Аналогічну закономірність для штамів *G. lucidum* було виявлено Гарібовою та ін. [27].

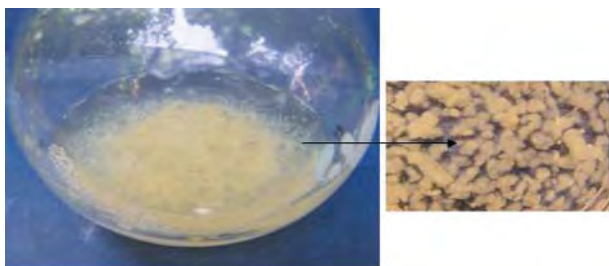


Рис. 1. Колонії *G. applanatum* 1572 в умовах глибинного культивування на крупці (×3)

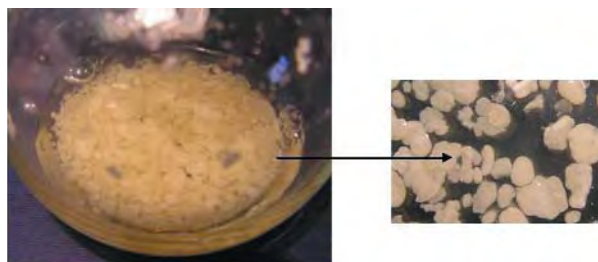


Рис. 2. Колонії *G. applanatum* 1572 в умовах глибинного культивування на молочній сироватці (×5)

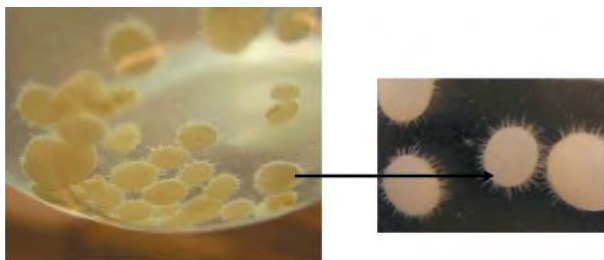


Рис. 3. Колонії *G. lucidum* 1621 в умовах глибинного культивування на крупці (×5)

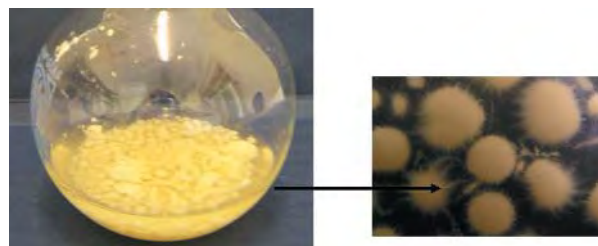


Рис. 4. Колонії *G. lucidum* 1621 в умовах глибинного культивування на молочній сироватці (×5)

В умовах глибинного культивування *G. applanatum* 1572 на крупці спостерігали появу пухких агломератів (рис. 1), а на молочній сироватці — гладких і твердих (рис. 2). *G. lucidum* 1621 характеризувались утворенням агломератів з нитчастим ростом на поверхні (рис. 3, 4). Агломерати, одержані на середовищі з крупкою, були твердішими за ті, що формувались на молочній сироватці.

Розміри утворених на молочній сироватці агломератів *G. lucidum* 1621, на противагу тим, які було отримано на крупці, істотно відрізнялись і варіювали від 0,5 до 3 мм у діаметрі, що збігається з результатами інших дослідників [28, 29]. Агломерати *G. applanatum* 1572, що були синтезовані на крупці, мали більш-менш однаковий розмір, на відміну від агломератів, сформованих під час культивування на молочній сироватці. Розмір останніх коливався від дрібних (1 мм у діаметрі) до досить великих (5 мм у діаметрі). Відомо, що перемішування впливає на структуру вже сформованих кульок. Так, збільшення швидкості обертання сприяє утворенню дрібних та компактних, а повільне перемішування — пухких, рихлих кульок [16]. Слід також зазначити, що утворення колоній у формі агломератів зумовлено низкою чинників: умовами культивування (швидкістю перемішування, рН, складом живильного середовища) [9, 16, 17,

20], взаємодією міцелію та стінок культивувального посуду під час перемішування, співвідношенням між частотою галуження гіф та швидкістю росту міцелію тощо [16]. На розмір агломератів *G. lucidum* може впливати також концентрація інокулюма [28] і, частково, значна концентрація глюкози [30]. В умовах нашого експерименту інтенсивність перемішування не змінювалась.

Відомо, що за умов глибинного культивування вищі базидіоміцети утворюють ті самі форми вегетативного та безстатевого спороношення, що й у процесі росту на щільних живильних середовищах [17]. На суусло-агаризованому середовищі, інокульованому глибинним міцелієм досліджуваних культур, з використанням СЕМ нами виявлено характерні для вищих базидіоміцетів анастомози (рис. 5, Б; 6, Б) та пряжки (рис. 7; А; 8, А). У обох видів відзначено тонкостінні, сферичні кутикулярні клітини (рис. 7, Б; 8, Б) з гладкою поверхнею та коралоподібні гіфи (5, А; 6, А). На відміну від *G. applanatum* 1572, у міцелії *G. lucidum* 1621 були наявні хламідоспори (рис. 9, А–В). Останнє є важливою характеристикою для систематики представників роду *Ganoderma* [3, 10]. Виявлені мікроструктури міцелію досліджуваних нами культур також описані іншими дослідниками [1, 19, 27, 31, 32].

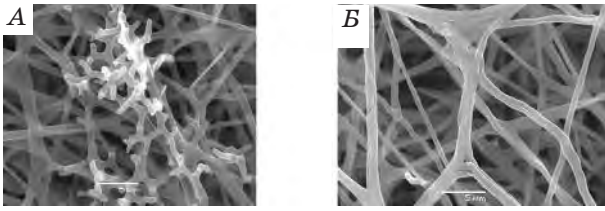


Рис. 5. Гіфи (А  $\times 5,000$ ) та анастомози (Б  $\times 4,000$ ) *G. applanatum* 1572

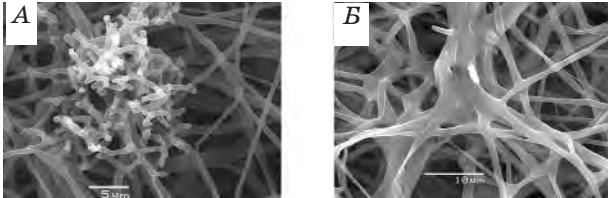


Рис. 6. Гіфи (А  $\times 2,700$ ) та анастомози (Б  $\times 2,500$ ) *G. lucidum* 1621

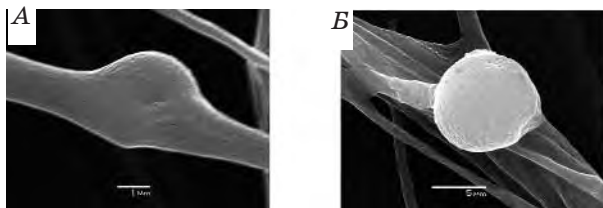


Рис. 7. Пряжка (А  $\times 15,000$ ), кутикулярна клітина (Б  $\times 5,000$ ) *G. applanatum* 1572

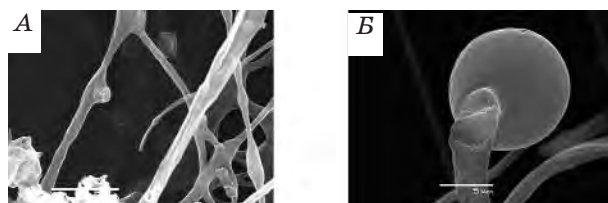


Рис. 8. Пряжка (А  $\times 3,000$ ), кутикулярна клітина (Б  $\times 5,000$ ) *G. lucidum* 1621

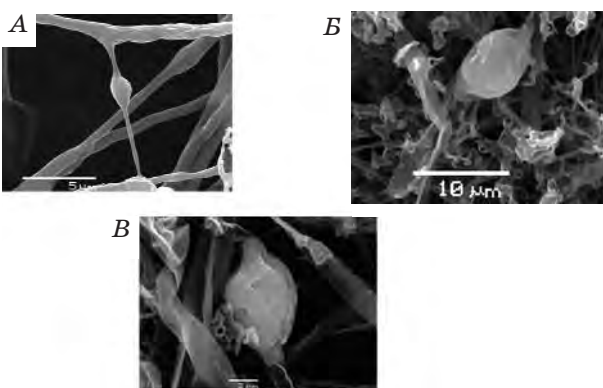


Рис. 9. Хламідоспори (А  $\times 5,000$ , Б  $\times 10,000$ , В  $\times 7,000$ ) *G. lucidum* 1621

Отримані нами дані щодо динаміки накопичення біомаси досліджуваних *G. applanatum* 1572 і *G. lucidum* 1621 (рис. 10–13) на обраних середовищах підпорядковувалися загальним закономірностям розвитку мікроорганізмів в умовах періодичної культури. Проте виявлено певні відмінності у тривалості фаз росту та синхронності динаміки росту культур і продукування полісахаридів.

Криві росту *G. applanatum* 1572 під час культивування на крупці й *G. lucidum* 1621 — на молочній сироватці майже з моменту засіву починали підніматися вгору (рис. 11, 12). У фазі активного росту кількість міцеліальної маси обох видів збільшувалась.

На середовищі з молочною сироваткою найкраще ріс *G. lucidum* 1621, його середня швидкість накопичення біомаси в активній фазі росту була вищою за дані літератури [14, 28, 31, 33–37] і становила 5,6 г/л/добу (рис. 11). Проте за умов культивування на живильному середовищі з крупкою цей штам мав найменшу середню швидкість накопичення біомаси — 0,95 г/л/добу (рис. 13), що збігається з результатами Tang і Zhong [33], одержаними в процесі культивування *G. lucidum* на синтетичному середовищі з лактозою (65 г/л), та Низковської [38] — під час вирощування цього виду на глюкозо-пептонному живильному середовищі.

Штам *G. applanatum* 1572 на обох живильних середовищах мав майже однакову середню швидкість накопичення біомаси: на молочній сироватці — 2,05 г/л/добу (рис. 10), на середовищі з крупкою — 2,2 г/л/добу (рис. 12).

Після активної фази росту збільшення біомаси, за винятком культивування *G. applanatum* 1572 на крупці (рис. 12), продовжувалось, але з меншою швидкістю. Причину цього можна пояснити як зростанням концентрації продуктів метаболізму, що можуть мати інгібувальну дію, так і погіршенням кисневого обміну [17, 25]. Типова стаціонарна фаза росту, коли зростання окремих клітин ще відбувається, але процес розмноження урівноважується процесом загибелі клітин, тривала 2 доби і спостерігалась в обох досліджуваних культур лише в разі культивування на молочній сироватці. Причому, в *G. applanatum* 1572 вона розпочиналась на 11-ту добу (рис. 10), а в *G. lucidum* 1621 — вже на 5-ту добу експерименту (рис. 11).

Зазначимо, що крива росту обох видів, за винятком *G. lucidum* 1621, під час культивування на молочній сироватці, після досягнення піку найбільшої концентрації біомаси (рис. 12, 13) та після стаціонарної фази

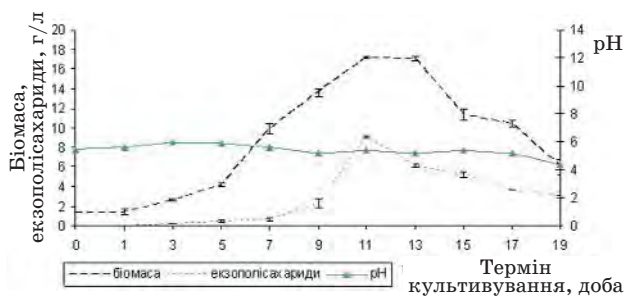


Рис. 10. Динаміка росту, синтезу екзополісахаридів і рН середовища під час культивування *G. applanatum* 1572 на молочній сироватці

культивування в *G. applanatum* 1572 на молочній сироватці (рис. 10) різко йде донизу. Існує думка, що це може бути зумовлено нестачею джерела вуглецю, тимчасом як решта компонентів середовища, величина рН, температура та інші параметри залишаються оптимальними для росту [25].

Встановлено, що криві динаміки накопичення міцелію й екзополісахаридів *G. lucidum* 1621 на обраних нами середовищах не збігались. Водночас, синхронність динаміки росту та утворення екзополісахаридів відзначено на 11-ту добу культивування *G. applanatum* 1572 на молочній сироватці (рис. 10).

Молочна сироватка була більш сприятливим середовищем для накопичення культурального міцелію та екзополісахаридів для обох культур. Максимальну кількість міцелію (*G. applanatum* 1572 —  $17,2 \pm 0,1$  г/л на 11-ту добу, *G. lucidum* 1621 —  $29,6 \pm 0,4$  г/л на 5-ту добу) та екзополісахаридів (*G. applanatum* 1572 —  $9,1 \pm 0,1$  г/л на 11-ту добу та *G. lucidum* 1621 —  $10,0 \pm 0,1$  г/л на 11-ту добу) отримано нами у процесі культивування саме на молочній сироватці (рис. 10, 11). Пік накопичення міцеліальної маси *G. applanatum* 1572 на крупці становив  $15,2 \pm 0,4$  г/л на 11-ту добу, *G. lucidum* 1621 —  $7,0 \pm 0,5$  г/л — на 9-ту добу експерименту, найбільшу кількість екзополісахаридів —  $5,3 \pm 0,5$  г/л було синтезовано *G. applanatum* 1572 на 13-ту до-

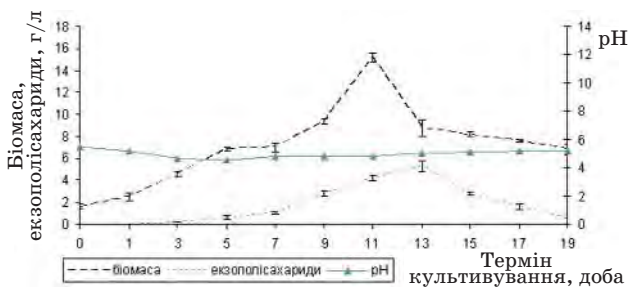


Рис. 12. Динаміка росту, синтезу екзополісахаридів і рН середовища під час культивування *G. applanatum* 1572 на крупці

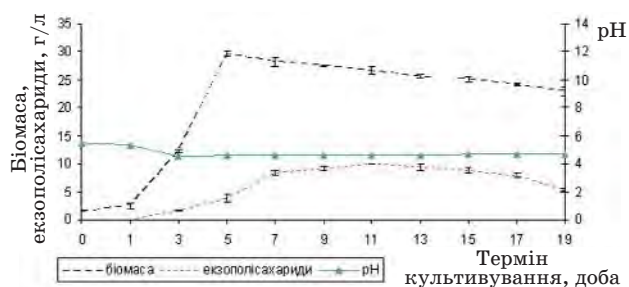


Рис. 11. Динаміка росту, синтезу екзополісахаридів і рН середовища під час культивування *G. lucidum* 1621 на молочній сироватці

бу росту, а *G. lucidum* 1621 —  $4,2 \pm 0,2$  г/л на 15-ту добу (рис. 12, 13).

Дані стосовно вивчення динаміки росту й синтезу вторинних метаболітів *G. applanatum* у глибинній культурі вкрай обмежені. Результати, отримані Низьковською [38] під час культивування штамів *G. applanatum* у ферментері, свідчать, що вони накопичували  $4,2-7,5$  г/л біомаси. Найбільшу кількість екзополісахаридів (2 г/л), за результатами Ahn та ін. [39], відзначено в стаціонарній фазі росту *G. applanatum*. За даними Ломберг [19], на 10-ту добу експерименту на різних середовищах з глюкозою *G. applanatum* синтезував  $2,5-4,4$  г/л біомаси. Отже, одержані нами показники накопичення біомаси та екзополісахаридів *G. applanatum* за культивування на нативних відходах харчової промисловості України вищі за результати, наведені в літературі.

Аналіз літератури [6-8, 12-14, 19, 28-30, 31, 35-38, 40, 41] свідчить, що урожай біомаси та екзополісахаридів *G. lucidum* залежно від умов експериментів та біологічних особливостей штамів істотно відрізняється — від  $2,3$  г/л до  $22,1$  г/л та від  $0,13$  г/л до  $20,0$  г/л відповідно. Наші дані щодо кількості екзополісахаридів (рис. 11, 13), що були синтезовані *G. lucidum* 1621 на обраних середовищах, збігаються з результатами деяких дослідників [14, 35, 40]. Найбільший інтерес для нас становили результати дослі-

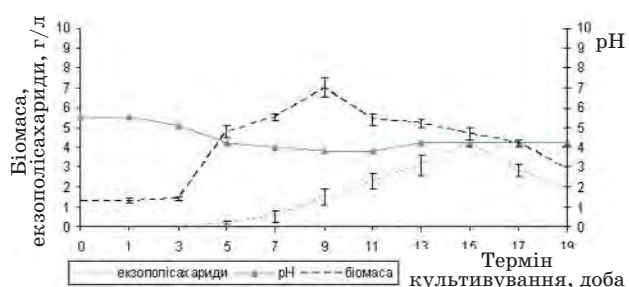


Рис. 13. Динаміка росту, синтезу екзополісахаридів і рН середовища під час культивування *G. lucidum* 1621 на крупці

джені, що були проведені в глибинній культурі на пивному суслі для штаму *G. lucidum* 1621: за умов досліду Бісько та ін. [40] найбільшу кількість біомаси — 21,8 г/л — одержано на 6-ту добу культивування; Ломберг [19] у своїй роботі зафіксувала понад 23 г/л на 10-ту добу. Іншою групою вчених [40] для вищезазначеного штаму встановлено максимальну кількість синтезованої біомаси —  $11,4 \pm 0,3$  г/л за співвідношення вуглецю та азоту 18:0, а на оптимізованому живильному середовищі одержано  $10,0 \pm 0,3\%$  ектополісахаридів та  $6,3 \pm 0,4$  г/л ектополісахаридів. На нативній молочній сироватці ми отримали крацій урожай біомаси — 28,1 г/л *G. lucidum* 1621 за коротший термін — 5 діб (рис. 11). Вихід біомаси *G. lucidum* 1621 за субстратом становив 46,8 г/л, що є принципово важливим показником з практичного погляду.

Таким чином, дані наших дослідів підтверджують можливість використання відходів харчової промисловості для глибинного культивування міцелію дереворуйнівних грибів *G. applanatum* і *G. lucidum*.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Stamets P.* Growing gourmet and medicinal mushrooms. — Hong Kong: Ten Speed Press, 2000. — 574 p.
2. *Wasser S. P., Weis A. L.* Medicinal mushrooms *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. (Reishi mushrooms) — Haifa-San Antonio-Kyiv, 1997. — 39 p.
3. *Щерба В. В., Бабицкая В. Г.* Полисахариды ксилотрофных базидиомицетов // Прикл. биохим. микробиол. — 2008. — Т. 44, № 1. — С. 90–95.
4. *Chen A. W., Seleen J., Babcock G.* Evidence-based potential benefits of *Ganoderma lucidum* // Inter. J. Med. Mushr. — 2007. — V. 9, N 3–4. — P. 289–290.
5. *Wang J., Zhang L.* Structure and chain conformation of five water-soluble derivatives of  $\beta$ -D-glucan isolated from *Ganoderma lucidum* // Carbohydr. Res. — 2009. — V. 344. — P. 105–112.
6. *Berovic M., Habijanac J., Zore I. et al.* Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides // J. Biotechnol. — 2003. — V. 103. — P. 77–86.
7. *Bisko N. A., Bilay V. T., Babitskaya V. G. et al.* Biologically active substances from mycelial of *Ganoderma lucidum* and *Lentinula edodes* / Proceedings of the 16<sup>th</sup> inter. congress, 14–17 march 2004, Miami. — P. 619–623.
8. *Boh B., Berovic M., Wraber B. et al.* *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd and *G. applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllorphomycetidae) from Slovenian habitats: cultivation, isolation, and testing of active compounds // Intern. J. Med. Mushr. — 2004. — V. 6, N 1. — P. 15–32.
9. *Chung W. T., Lee S. H., Kim J. D. et al.* Effect of mycelial culture broth of *Ganoderma lucidum* on the Growth characteristics of human cell lines // J. Biosci. Bioeng. — 2001. — V. 92, N 6. — С. 550–555.
10. *Fan H., Zhang J., Tang Q. et al.* Immune stimulatory activity of GLIS: a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum* // Sixth Inter. Conf. on Mushr. Biol. and Mush. Products. Bonn, 29 September–3 October, 2008 / World Society for Mushroom Biology and Mushroom Products, Gesellschaft fur angewandte mycologia und umweltstudien. — Bonn, 2008. — P. 62.
11. *Rubel R., Santa H. S. D., Fernandes L. C. et al.* High immunomodulatory and preventive effects against sarcoma 180 in Mice fed with Ling Zhi or Reishi mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllorphomycetidae mycelium) // Intern. J. Med. Mushr. — 2008. — V. 10, N 1. — P. 37–48.

12. Поєдинок Н. Л., Бабицька В. Г., Бісько Н. А. Вплив умов глибинного культивування лікарського гриба *Ganoderma lucidum* (рейши) на біосинтез полісахаридів // Наук. вісті Нац. тех. ун-ту України. — 2007. — № 2. — С. 92–100.
13. Пучкова Т. А., Бабицька В. Г., Осадчая О. В., Рожкова З. А. Биосинтетическая активность грибов в зависимости от условий культивирования // Мат. Междунар. науч. конф., 26–28 мая 2004 г., Минск. — С. 103–105.
14. Смирнов Д. А. Углеводы глубинной культуры *Ganoderma lucidum*: образование, характеристика: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Ин-т микробиол. та вірусол. НАНУ, 2007. — 23 с.
15. Babitskaya V. G., Scherba V. V., Mitropolskaya N. Y., Bisko N. A. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms production and composition // Intern. J. Med. Mushr. — 2000. — V. 2, N 1. — P. 51–54.
16. Бісько Н. А. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре — К.: Наук. думка, 1983. — 312 с.
17. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. — К.: Наук. думка, 1988. — 144 с.
18. Капич А. Н., Стахеев И. В., Бабицька В. Г. Глубинное культивирование дереворазрушающих базидиальных грибов на молочной сыворотке // Микол. фитопат. — 1984. — Т. 18, № 6. — С. 478–483.
19. Ломберг М. Л. Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.21 / Ін-т ботаніки НАНУ, 2005. — 20 с.
20. Соломко Э. Ф., Дудка И. А. Перспективы использования высших базидиомицетов в микробиологической промышленности. Обзорная информация. — М.: ВНИИСЭН-ТИ, 1985. — 48 с.
21. Круподьорова Т. А., Бісько Н. А. Вплив температури на швидкість радіального росту та культурально-морфологічні особливості штамів лікарських грибів *Ganoderma applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat та *G. lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. // Укр. бот. журн. — 2007. — Т. 64, № 6. — С. 875–884.
22. Бухало А. С., Митропольская Н. Ю., Михайлова О. Б. Каталог колекції культур шапинкових грибів ІБК. — К.: НВК «Славутич-дельфін», 2006. — 36 с.
23. Методы экспериментальной микологии: Справочник / Под ред. В. И. Билай. — К.: Наук. думка, 1982. — 583 с.
24. Сироватка молочна суха. Технічні умови : ДСТУ 4552:2006. — Національний стандарт України. Чинний від 2007-01-01. — К.: Держспоживстандарт України, 2006. — 9 с.
25. Ждан-Пушкина С. М. Основы роста культур микроорганизмов. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1983. — 188 с.
26. Wagner R., Mitchell D. F., Sasaki G. L. et al. Links between morphology and physiology of *Ganoderma lucidum* in submerged culture for the production of exopolysaccharide // J. Biotechnol. — 2004. — V. 114. — P. 153–164.
27. Гарибова Л. В., Антимонова А. В., Завьялова Л. А., Краснопольская Л. М. Рост и морфологические признаки мицелия трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* в зависимости от условий культивирования // Микол. фитопатол. — 2003. — Т. 37, № 3. — С. 14–19.
28. Fang Q.-H., Nang Y.-J., Zhong J.-J. Significance of inoculation density control in production of polysaccharide and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* // Proc. Biochem. — 2002. — N 37. — P. 1375–1379.
29. Lee K.-M., Lee S.-Y., Lee H.-Y. Effect of ammonium phosphate on mycelial growth and exopolysaccharides production of *Ganoderma lucidum* in an air-lift fermenter // J. Microbiol. Biotech. — 1999. — V. 9, N 6. — P. 726–731.
30. Fang Q.-H., Zhong J.-J. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites — ganoderic acid and polysaccharide // Proc. Biochem. — 2002. — N 10. — P. 61–65.
31. Автономова А. В., Краснопольская Л. М., Завьялова Л. А. Физиологические характеристики штаммов лекарственного базидиального гриба *Ganoderma lucidum* // Тр. междунар. конф., посвящ. 100-летию А. С. Бондарцева, 24–28 апреля 2005 г., Санкт-Петербург. — Т. 1. — С. 14–17.
32. Badalyan S. M., Sakeyan C. Z. Morphological, physiological, and growth characteristics of mycelia of several wood — decaying medicinal mushrooms (Aphyllophoromycetidae) // Int. J. Med. Mushr. — 2004. — V. 6, N 4. — P. 347–360.
33. Tang Y.-J., Zhong J.-J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enz. Microb. Technol. — 2002. — V. 31. — P. 20–28.
34. Tang Y.-J., Zhang W., Zhong J. J. Performance analyzes of a pH-shift and DT-shift integrated fed-bath fermentation process for the production of ganoderic acid and *Ganoderma* polysaccharides by medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. // Biores. Technol. — 2009. — V. 100. — P. 1852–1859.
35. Wagner R., Mitchell D., Sasaki G. Current techniques for the cultivation of *Ganoderma lucidum* for the production of biomass, ganoderic acid and polysaccharides // Food

- Technol. Biotechnol. — 2003. — V. 41, N 4. — P. 371–382.
36. Xu P., Ding Z.-Y., Qian Z. et al. Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB 97 using complex media // *Enz. Microb. Technol.* — 2008. — V. 42. — P. 325–331.
37. Yang H., Zhang L. Changes in some components of soymilk during fermentation with the basidiomycete *Ganoderma lucidum*. // *Food Chem.* — 2009. — V. 112. — P. 1–5.
38. Низковская О. П. Рост высших грибов в глубинной культуре // *Микол. фитопат.* — 1972. — Т. 6, № 4. — С. 306–312.
39. Ahn J. K., Lee W. Y., Park Y., Park S. Y. Submerged culture conditions for the production of exo- and endopolysaccharides by *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat // *Intern. J. Med. Mushr.* — 2005. — V. 7, № 3. — P. 370.
40. Бісько Н. А., Поединок Н. Л., Бабицька В. Г. та ін. Фактори регуляції біосинтетичної активності лікарських грибів // Пріоритети наукової співпраці ДФФД і БРФФД: матеріали спільних конкурсних проєктів ДФФД і БРФФД («ДФФД — БРФФД — 2005»). — К., 2007. — С. 312–325.
41. Chang M.-Y., Tsai G.-J., Hwang J.-Y. Optimization of the medium composition for the submerged culture of *Ganoderma lucidum* by Taguchi array design and steepest ascent method // *Enz. Microb. Technol.* — 2006. — V. 38. — P. 407–414.

**РОСТ *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.  
и *G. lucidum* (Curtis) P. Karst.  
И СИНТЕЗ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ  
ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ**

*Т. А. Круподерова*

ГУ «Институт пищевой биотехнологии  
и геномики НАН Украины»  
Институт ботаники им. Н. Г. Холодного  
НАН Украины, Киев

*E-mail: yemets@list.ru*

Исследована динамика роста и синтеза экзополисахаридов, описана морфология колоний определенных штаммов лекарственных грибов *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. и *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. в условиях глубинного культивирования на отходах пищевой промышленности Украины — молочной сыворотке и крахмальной крупке. Изучены микроморфологические характеристики вегетативного мицелия, которые обеспечивают контроль за чистотой роста культур. Установлено, что молочная сыворотка была более благоприятной средой для накопления культурального мицелия и экзополисахаридов для обеих культур. Максимальное количество ( $17,2 \pm 0,1$  г/л) мицелия *G. applanatum* 1572 получено на 11-е сутки, *G. lucidum* 1621 —  $29,6 \pm 0,4$  г/л — на 5-е сутки. На 11-е сутки культивирования наибольшее количество экзополисахаридов *G. applanatum* 1572 составило  $9,1 \pm 0,1$  г/л, а *G. lucidum* 1621 —  $10,0 \pm 0,1$  г/л.

**Ключевые слова:** морфология, *G. applanatum*, *G. lucidum*, биомасса, экзополисахариды, глубинное культивирование.

**GROWTH OF *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.  
AND *G. lucidum* (Curtis) P. Karst.  
STRAINS AND SYNTHESIS  
OF POLYSACCHARIDES  
IN SUBMERGED CULTURE**

*Т. А. Krupodorova*

Institute of Food Biotechnology and Genomics  
of National Academy of Sciences  
of Ukraine, Kyiv  
Kholodny Institute of Botany of National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

*E-mail: yemets@list.ru*

The production of biomass and exopolysaccharides for several strains of cultures *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. and *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. in submerged conditions on waste product of food industry of Ukraine — milk serum and starch meal are described. It was studied micromorphological characteristics of vegetative mycelium, that makes it possible to ensure the control of growth cleanness of cultures. Nutrient medium with milk serum for growth and synthesis of polysaccharides for investigated cultures was optimal. Maximal content of biomass ( $17,2 \pm 0,1$  g/l) was produced *G. applanatum* 1572 on the 11<sup>th</sup> day of cultivation, *G. lucidum* 1621 —  $29,6 \pm 0,4$  g/l on then 5<sup>th</sup> day grown. On the 11<sup>th</sup> day of growth the highest amounts of exopolysaccharides in *G. lucidum* 1621 —  $10,0 \pm 0,1$  g/l and in *G. applanatum* 1572 —  $9,1 \pm 0,1$  g/l were found.

**Key words:** morphology, *G. applanatum*, *G. lucidum*, biomass, exopolysaccharides, submerged conditions.