

## **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРАТОВ НА РОСТ МИЦЕЛИЯ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM* (CURT.: FR.) P. KARST**

**Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Трухоновец В.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск,  
tatiashi@mail.ru*

<sup>2</sup>*Гомельский государственный университет им. Франциска Скорины, Гомель,  
trukhanavets@tut.by*

Гриб трутовик лакированный, рейши (*Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst.) очень популярен в народной медицине стран Юго-Восточной Азии. Препараты из плодовых тел рейши используются для повышения иммунитета, лечения заболеваний печени, почек, органов дыхания, для снижения кровяного давления, уровня холестерина в крови, а также как противоопухолевое средство. В настоящее время для медицинских целей используют плодовые тела как собранные в природе, так и выращенные в искусственных условиях. Это позволяет получать стандартную грибную продукцию независимо от погодных условий и времени года [7, 9].

В природе гриб встречается на пнях, живых и ослабленных деревьях преимущественно лиственных пород. Вызывает медленно развивающуюся белую гниль. В Беларуси *G. lucidum* является редким видом, поэтому актуальна разработка технологий искусственного культивирования гриба с использованием местного растительного сырья. Целью данной работы являлось изучение влияния различных субстратов на рост и биохимический состав плодовых тел *G. lucidum*.

В работе использовали штаммы гриба *G. lucidum*, которые поддерживали на агаризованной среде (сусло-агар, 8 Б). Состав и приготовление агаризованных питательных сред, определение параметров роста мицелия грибов и морфологии колоний проводили в соответствии с [1].

Субстраты для твердофазного культивирования грибов готовили путем смешивания компонентов и их увлажнения до 60-65%. Зерно предварительно отваривали. Субстрат раскладывали в чашки Петри или фасовали в термостойкие пакеты, затем стерилизовали автоклавированием при давлении 1,2 МПа в течение 1 часа. После остывания субстрат инокулировали грибным мицелием и инкубировали при 24-26°C для обрастания мицелием, 16-20°C – для образования плодовых тел. Урожайность грибов рассчитывали, как отношение массы свежих плодовых тел к массе сырого субстрата. Собранные плодовые тела высушивали и хранили при комнатной температуре. Перед проведением анализов плодовые тела размалывали на лабораторной мельнице. Влажность порошка находили весовым методом. Содержание общего азота в образцах определяли по Кьельдалю, затем рассчитывали содержание сырого

протеина ( $\times 6,25$ ). Истинный белок в образцах определяли по Барнштейну [3, 6]. Липиды экстрагировали по Фолчу [8]. Общие углеводы определяли фенол-серноокислотным методом после предварительного гидролиза образца 72% серной кислотой [2]. Полисахариды – фенол-серноокислотным методом после экстракции образца 1 н раствором NaOH [10]. Общие фенольные соединения определяли в спиртовых экстрактах плодовых тел с реактивом Фолина-Дениса [4]. Антиоксидантную активность образцов определяли по Накатани в модификации Капича [5].

Исследовано 5 штаммов гриба *G. lucidum* по скорости роста вегетативного мицелия на агаризованных питательных средах: сусло агар (4 и 8°Б), картофельно-глюкозный агар, глюкозо-пептонный агар, голодный агар с отваром зерна или осинового опилок. На данных средах грибы образовывали кожистые или более высокие, опушенные колонии, с плотным, сильно переплетенным мицелием, ярко выраженными концентрическими кругами и ровным, слегка приподнятым краем. Цвет колоний изменялся от белого до желтоватого или светло-коричневого. На реверзуме колоний чередовались темные и светлые зоны. Мицелий имел слабый грибной запах. Лучший рост наблюдался на сусло-агаре и картофельно-глюкозном агаре, где высота колонии достигала 2 мм, а плотность – 2-3 баллов. Полное заращение чашек при 25°С всеми штаммами наблюдалось к 7-12 суткам. Линейная скорость роста составляла 3,0-6,0 мм/сут, ростовой коэффициент - 90-108. Хороший рост гриба на картофельно-глюкозном агаре позволяет использовать эту среду как альтернативу сусло-агару для поддержания культуры в коллекции. Более высокой скоростью роста отличался штамм *G. lucidum* 3. Он также быстрее начинал формировать зачатки плодовых тел на лигноцеллюлозных субстратах.

В качестве компонентов твердых субстратов использовали зерно злаковых культур, листовые или сосновые опилки с добавлением отрубей. После посева грибов в чашки Петри рост мицелия отмечался уже на третьи сутки культивирования. Наиболее активно мицелий рос на зерновых субстратах, полное обрастание которых наблюдалось на 10-е сутки. Мицелий плохо рос на соломе и сосновых опилках, несколько лучше на опилках листовых пород деревьев (береза, дуб, осина). Смешивание опилок с пшеничными отрубями обеспечивало более активный рост мицелия, их полное обрастание наблюдалось на 12-14 сутки культивирования (табл. 1).

Плодовые тела выращивали на опилочном субстрате, смешанном с отрубями. Обрастание субстратных блоков мицелием и появление примордиев проходило при температуре 24-26°С в течение 42-45 суток. Карпофоры гриба появились через 2-2,5 месяца (при температуре 16-20°С, освещении 100-200 люкс в течение 8 часов, 5-10-кратном воздухообмене). Высокие урожаи плодовых тел получены на осинового и дубовых опилках, смешанных с отрубями в соотношении 9:1 или 4:1 – 6-10% от массы субстрата. Состав субстрата влиял и на биохимические показатели плодовых тел (табл. 2). На

опилках дуба, осины и сосны плодовые тела содержали больше общих фенольных соединений (1,8-1,9%). Добавление к опилкам пшеничных отрубей от 9:1 до 4:1 приводило к увеличению количества общего и истинного белка (на 10-12% и 20-25%, соответственно) и полисахаридов (на 20%). Содержание липидов изменялось незначительно.

**Таблица 1** – Диаметр колоний *G. lucidum* 3 на 7-е сутки роста (мм)

Субстрат, соотношение компонентов	Диаметр колоний, мм
Пшеница	62,0±1,6
Рожь	58,4±1,6
Ячмень	58,8±2,0
Солома	35,0±0,8
Осиновые опилки	45,7±1,2
Осиновые опилки, отруби, 4:1	59,7±2,2
Осиновые опилки, отруби 9:1	51,8±1,2
Опилки осиновые, отруби, 95:5	46,8±1,3
Дубовые опилки	42,5±1,5
Дубовые опилки, отруби, 4:1	56,8±1,1
Дубовые опилки, отруби, 9:1	52,0±2,3
Опилки дубовые, отруби, 95:5	44,8±1,6
Опилки сосновые	36,2±0,5

**Таблица 2** - Биохимический состав плодовых тел *G. lucidum*, % от сухой биомассы

Образец	Белок общий	Белок истинный	Липиды	Углеводы	Полисахариды	Общие фенольные соединения
Опилки осиновые, отруби, 4:1	22,0±1,2	16,0±0,5	6,8±0,3	65,2±1,8	12,5±0,4	1,3±0,1
Опилки осиновые, отруби, 9:1	21,5±1,4	14,4±0,4	6,5±0,2	65,6±1,1	10,7±0,5	1,5±0,1
Опилки осиновые, отруби, 95:5	20,8±0,3	12,0±0,2	6,4±0,1	64,2±1,5	9,8±0,4	1,8±0,2
Опилки дубовые, отруби, 4:1	20,5±0,5	15,8±0,4	6,8±0,2	65,3±1,1	12,0±0,5	1,7±0,1
Опилки дубовые, отруби, 9:1	18,6±0,4	13,8±0,3	6,6±0,1	64,2±0,9	11,3±0,6	1,9±0,2
Опилки дубовые, отруби, 95:5	18,2±0,7	12,6±0,4	6,4±0,1	64,5±0,8	9,6±0,2	1,9±0,1
Опилки сосновые	16,4±0,3	10,2±0,2	6,5±0,2	63,6±0,4	11,8±0,4	1,9±0,3

Показано, что 70 % спиртовые экстракты плодовых тел проявляли высокую антиоксидантную активность – 92-95% по отношению к активности антиоксиданта ионола. Более высокий уровень активности коррелировал с содержанием общих фенольных соединений.

Таким образом, проведено исследование роста мицелия гриба *G. lucidum* на агаризованных, зерновых и опилочных субстратах. Подобраны субстраты для хранения культур, получения инокулюма и плодовых тел. Недорогие местные лигноцеллюлозные субстраты (осиновые или дубовые опилки с добавлением отрубей в соотношении от 9:1 до 4:1) обеспечивали урожайность свежих плодовых тел не менее 6-10% от массы влажного субстрата. Плодовые тела содержали 63-65% общих углеводов, 9,6-12,5% полисахаридов, 10-16% истинного белка, 1,3-1,9% общих фенольных соединений. Спиртовые экстракты плодовых тел обладают высокой антиоксидантной активностью – 92-95% по отношению к активности антиоксиданта ионола.

### Литература

1. Бухало, А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев: Науковая думка, 1988. 144 с.
2. Гончарова И.А., Щерба В.В., Бабицкая В.Г. Полисахариды клеточной стенки базидиомицета *Coriolus hirsutus* // Прикл. биохим. и микробиол. 1996. Т. 32, № 4. С. 434–437.
3. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 256 с.
4. Запроматов М.Н. Фенольные соединения растений: биосинтез, превращение, функции // Новые направления в физиологии растений. М.: Наука, 1985. – С. 143-162.
5. Капич А.Н. Антиокислительная активность экстрактов мицелия ксилотрофных базидиомицетов // Микол. и фитопатол. 1995. Т. 29, № 5/6. С. 35-40.
6. Петербургский А.В. Практикум по агрохимии. М., 1963. 456 с.
7. Cör D., Knez Ž., Hrnčič M. K. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: a review // Molecules. 2018. Vol. 23, N 3. doi: 10.3390/molecules23030649. – Дата доступа: 15.07.2019.
8. Folch I., Lees M., Sloan-Staulet G.H.S. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, N 1. P. 491–509.
9. Stamets P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. – Hong Kong: Ten Speed Press, 2000. – 574 p.
10. Tang Y.J., Zhong J.J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enzyme and Microbial Technology. 2002. Vol. 31, N 1-2. P. 20-28.