

РОЗДІЛ I

Ботаніка

УДК 582.28:581.19

Ніна Бісько,
Надія Джуренко,
Олена Паламарчук,
Інна Коваль

Трансформація рослинних субстратів міцелієм лікарського гриба *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst

У статті представлено результати досліджень трансформації рослинних субстратів – відходів лікарської сировини в процесі росту міцелію базидієвого лікарського гриба *Ganoderma lucidum*. Вивчено зміни у вмісті біологічно активних речовин у трансформованих під впливом життєдіяльності міцелію *G. lucidum* рослинних субстратах – шротах із плодів обліпихи, винограду, актинідії, листках шовковиці.

Ключові слова: *Ganoderma lucidum*, ріст міцелію, трансформовані рослинні субстрати, біологічно активні речовини.

Постановка наукової проблеми та її значення. У XXI ст., за даними вчених, має відбутися «незелена революція», унаслідок якої понад 70 % рослинних залишків, які не утилізувалися, будуть трансформовані в продукти харчування й лікарські речовини, завдяки новим технологіям, зокрема в галузі культивування їстівних та лікарських грибів [9]. Відомо, що у світі нараховується близько 400 видів шапинкових грибів, які виявляють лікарські властивості (імуномодулюючі, протипухлинні, антивірусні, протибактеріальні, гепатопротекторні, антисклеротичні та ін.) [10, 11, 14]. Історія культивування рейши (*Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst), який є одним із найвідоміших у світі видів лікарських грибів, починається з 600–900 р. н. е. [14]. Плодові тіла та міцелій *G. lucidum* широко використовуються як лікувально-профілактичний засіб при алергічних захворюваннях, порушеннях серцевого ритму, при лікуванні онкологічних захворювань, атеросклерозі, гіпертонії, імунодефіциті, сприяє зниженню ваги, ефективний при захворюваннях шкіри та ін. [12, 13].

Аналіз досліджень цієї проблеми. Лікувально-профілактичні властивості шапинкових лікарських грибів зумовлені їхньою здатністю синтезувати комплекс біологічно активних сполук, який певною мірою залежить від субстрату культивування (деревина, тирса, солома злакових рослин, виноградні вичавки, залишки виробництва кави та ін.) [1].

Рослинний матеріал, який містить комплекс біологічно активних сполук (флаваноїди, вітаміни, полісахариди, дубильні речовини й ін.), доцільно використовувати не лише як субстрат для культивування різних видів їстівних грибів, але й для отримання нової цінної сировини, яка включає оригінальне поєднання біологічно активних сполук, притаманних лікарським грибам та рослинам.

Мета статті – установити можливість використання рослинних відходів лікарської сировини для культивування міцелію лікарського гриба *G. lucidum* та дослідити вміст біологічно активних сполук у трансформованих унаслідок життєдіяльності міцелію *G. lucidum* субстратах.

Матеріали й методи дослідження. Об'єктом дослідження був штам лікарського гриба з колекції культур шапинкових грибів ІВК Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України *G. lucidum* 1900 [2]. Субстратами для культивування міцелію цього гриба були різні рослинні відходи лікарської сировини – шроти з плодів винограду, актинідії, обліпихи та листки шовковиці. До рослинного субстрату масою 10 г додавали 20 мл водопровідної води й поміщали в конічні колби об'ємом

250 см³. Зволожений субстрат стерилізували 40 хв в автоклаві при 1 атм. Інокулюм культивували на агаризованому пивному суслі в чашках Петрі. Інокуляцію проводили дисками міцелію діаметром 5 мм із розрахунку п'ять дисків на одну колбу. Ріст міцелію на рослинних субстратах оцінювали за ступенем їх обростання на 10-, 15- та 25-ту добу культивування при температурі 28°C. Аналіз біологічно активних речовин у трансформованих субстратах проводили на стадії їх повного обростання міцелієм *G. lucidum* на 15-ту добу.

Дослідження біологічно активних сполук у вихідних і трансформованих рослинних субстратах проводили з використанням загальноприйнятих методик.

Кількісне визначення антоціанів, катехинів та лейкоантоціанів (флаваноїдів) здійснювали згідно з методикою [6]. Уміст полісахаридів визначали методом фотоелектроколориметрії [4].

Дубильні речовини визначали кількісним методом перманганатометрії, який дає змогу визначити не лише дубильні речовини, а й також інші окислювальні поліфеноли [3]. Установлення аскорбінової кислоти засновано на її редуруючих властивостях за реакцією Тільманса [7]. Уміст фотосинтезуючих пігментів (хлорофілів) установлювали спектрофотометричним методом [8] на спектрофотометрі SPEKOL 1500 із фотометричною правильністю – 0,004, при довжині хвиль 665 та 649 нм. Каротиноїди визначали згідно з методикою [15], для екстракції пігментів використовували бензин.

Біохімічні аналізи проводили в 5-кратній повторності в кожному варіанті досліду. Наведені дані представлено в перерахунку на суху речовину. Результати обробляли статистично [5], за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel 98», стандартні відхилення не перевищували 5 %.

Статистичну обробку отриманих цифрових даних проводили методами варіаційної статистики й дисперсного аналізу.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Отримані дані свідчать про те, що найбільш активно міцелій штаму *G. lucidum* 1900 обростає субстрати зі шроту плодів винограду, актинідії та обліпихи – на 70–90 % на 10-ту добу (табл. 1). Листки шовковиці виявилися менш доступним рослинним матеріалом для обростання міцелієм дослідженого штаму, про що свідчить те, що на 10-ту добу лише 30 % субстрату освоєно міцелієм гриба (табл. 1).

Спостереження за динамікою росту міцелію *G. lucidum* 1900 дає підставу констатувати, що повне обростання всіх досліджених рослинних субстратів відбувається на 15-ту добу культивування (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка обростання рослинних субстратів міцелієм *Ganoderma lucidum* 1900, % до загального об'єму субстрату

Субстрати											
шрот із плодів обліпихи			шрот із плодів винограду			шрот із плодів актинідії			шовковиця (листки)		
доба культивування											
10	15	25	10	15	25	10	15	25	10	15	25
80	100	100	90	100	100	70	100	100	30	100	100

Установлено, що всі трансформовані внаслідок культивування міцелію *G. lucidum* 1900 рослинні субстрати містять весь комплекс біологічно активних сполук, що був визначений для вихідних субстратів, – Р-активні речовини, аскорбінову кислоту, каротиноїди, хлорофіли, флаваноїди, полісахариди та дубильні речовини (рис. 1–5).

Отримані результати свідчать, що флаваноїдні сполуки – катехіни та лейкоантоціани – у значних кількостях накопичуються під час використання для культивування *G. lucidum* 1900 шротів із плодів актинідії й винограду (рис. 1). Максимальні значення вмісту антоціанів відзначено в трансформованому *G. lucidum* субстраті з листків шовковиці (рис. 1).

У досліджених після культивування міцелію *G. lucidum* 1900 субстратах виявлено незначний уміст аскорбінової кислоти – від 23,3 мг% у шроті з плодів актинідії до 38,1 мг% у листках шовковиці (рис. 2).

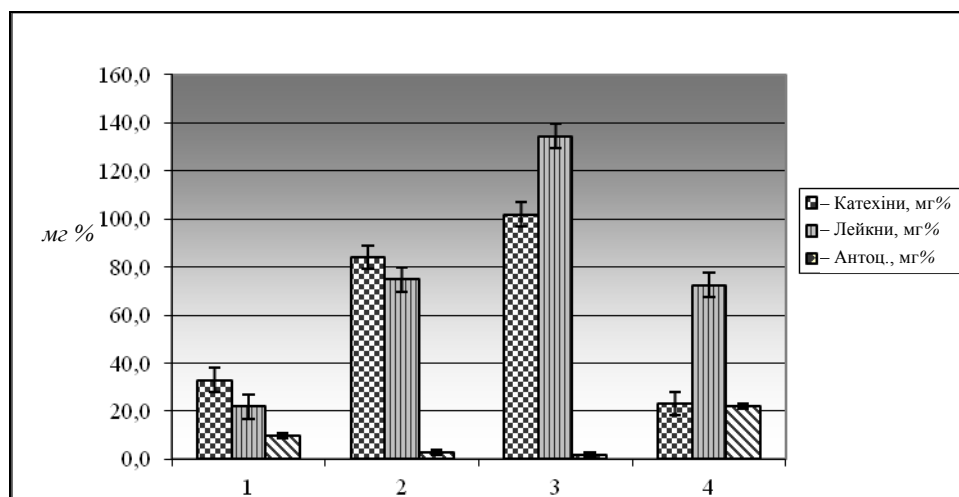


Рис. 1. Уміст P-активних сполук у трансформованих *Ganoderma lucidum* 1900 субстратах: 1 – шрот із плодів обліпихи, 2 – шрот із плодів винограду, 3 – шрот із плодів актинїдії, 4 – листки шовковиці.

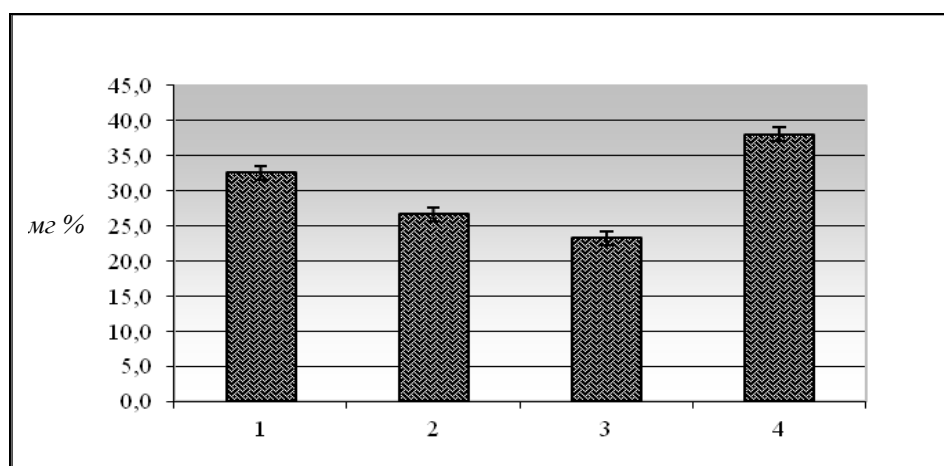


Рис. 2. Уміст аскорбінової кислоти в трансформованих *Ganoderma lucidum* 1900 субстратах: 1 – шрот із плодів обліпихи; 2 – шрот із плодів винограду; 3 – шрот із плодів актинїдії; 4 – листки шовковиці.

Максимальні показники щодо вмісту каротиноїдів та суми хлорофілів визначені в трансформованому *G. lucidum* 1900 субстраті – листках шовковиці – 7,2 мг % та 34,8 мг % відповідно (рис. 3; 4).

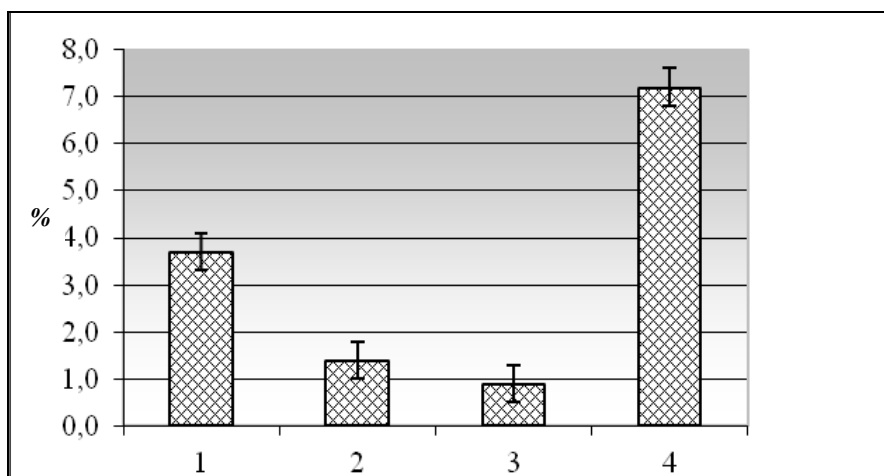


Рис. 3. Уміст каротиноїдів у трансформованих *Ganoderma lucidum* 1900 субстратах: 1 – шрот із плодів обліпихи, 2 – шрот із плодів винограду, 3 – шрот із плодів актинїдії, 4 – листки шовковиці.

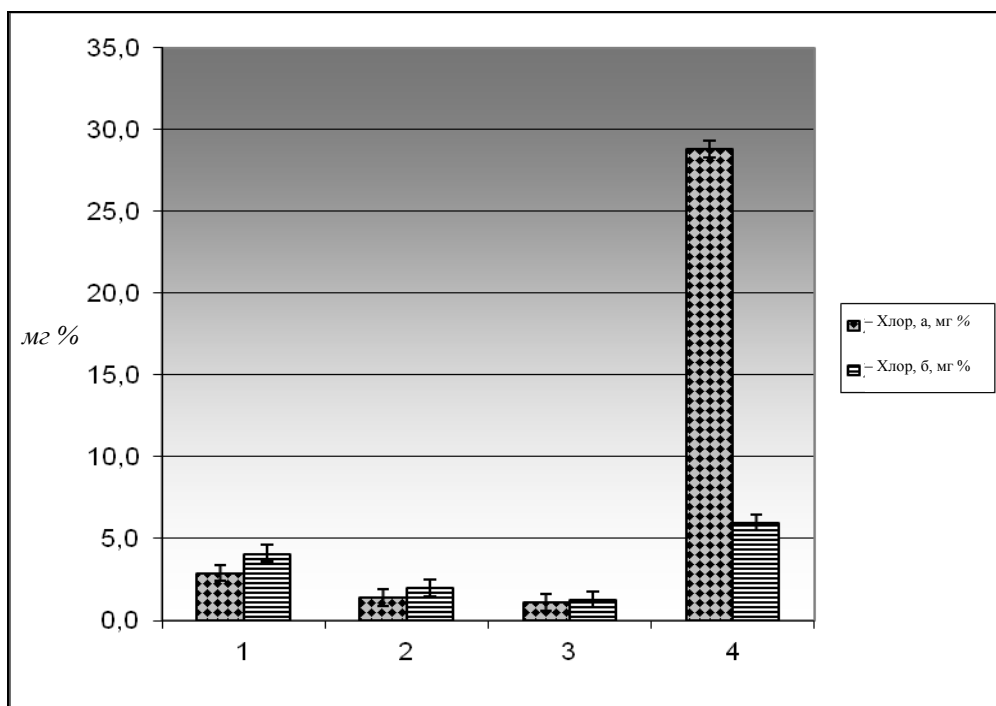


Рис. 4. Уміст хлорофілів у трансформованих *Ganoderma lucidum* 1900 субстратах: 1 – шрот із плодів обліпихи, 2 – шрот із плодів винограду, 3 – шрот із плодів актинідії, 4 – листки шовковиці.

Найвищі показники вмісту полісахаридів характерні для трансформованого внаслідок культивування міцелію *G. lucidum* 1900 субстрату з листків шовковиці (7,5 %) та шроту з плодів актинідії (5,0 %) (рис. 5). Установлено, що найбільший уміст дубильних сполук серед досліджених трансформованих субстратів спостерігаємо для шроту з плодів обліпихи (рис. 5).

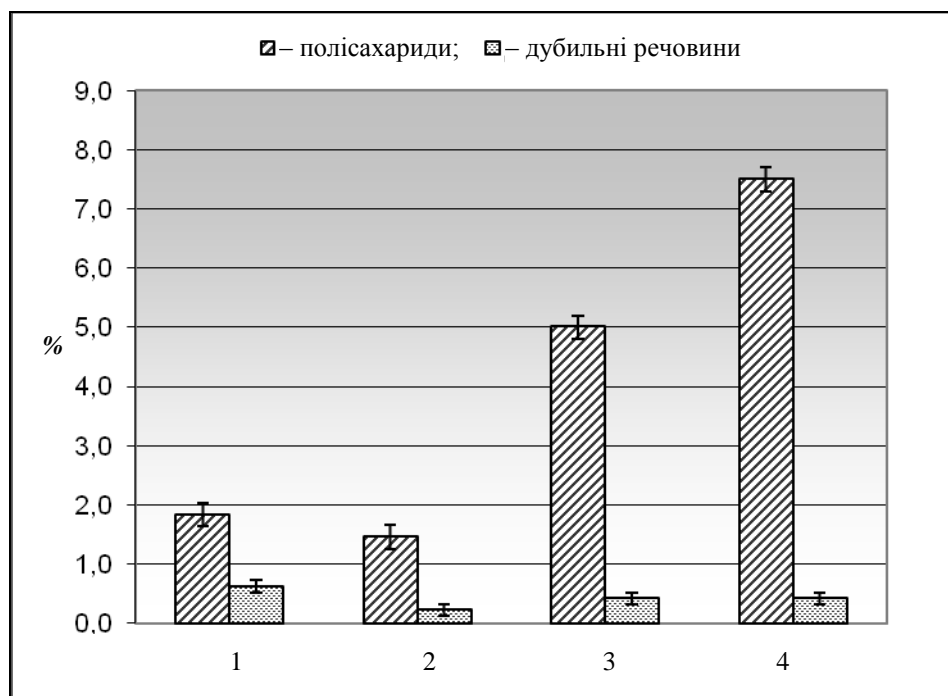


Рис. 5. Уміст полісахаридів та дубильних сполук у трансформованих *Ganoderma lucidum* 1900 субстратах: 1 – шрот із плодів обліпихи, 2 – шрот із плодів винограду, 3 – шрот із плодів актинідії, 4 – листки шовковиці.

У результаті проведених досліджень з'ясовано значну відмінність між вихідними та трансформованими в результаті життєдіяльності міцелію *G. lucidum* 1900 субстратами за вмістом біологічно активних речовин. Так, кількість катехинів і лейкоантоціанів у трансформованому шроті обліпихи складає 2 % від вмісту у вихідному субстраті, а антоціанів – 200 % (табл. 2). Завдяки життєдіяльності міцелію лікарського гриба в шроті обліпихи значно збільшується також сума хлорофілів а+б, що входить до складу вітамінного комплексу (табл. 2).

Таблиця 2

Уміст біологічно активних сполук у трансформованих міцелієм *Ganoderma lucidum* 1900 рослинних субстратах порівняно з вихідними субстратами

	Шрот із плодів обліпихи	Шрот із плодів винограду	Шрот із плодів актинїдії	Листки шовковиці
Р-активні сполуки				
Катехіни, мг%	33,00±3,22	84,00±4,54	102,00±5,62	23,10±2,15
% до вихідного субстрату	2,13	1,75	68,00	15,40
Лейкоантоціани, мг%	22,00±2,51	74,80±2,34	134,40±6,30	72,60±4,81
% до вихідного субстрату	1,98	5,48	43,64	43,47
Антоціани, мг%	10,00±0,12	3,00±0,15	1,70±0,20	22,00±1,89
% до вихідного субстрату	200,0	12,5	17,0	44,0
Вітамінний комплекс				
Каротиноїди, мг%	3,70±0,44	1,40±0,36	0,90±0,21	7,20±0,48
% до вихідного субстрату	19,68	20,0	15,25	128,57
Аскорбінова кислота, мг%	32,60±1,21	26,70±0,95	23,30±1,01	38,10±1,28
% до вихідного субстрату	65,86	133,5	72,81	91,15
Сума хлорофілів, а+б, мг%				
Сума хлорофілів, а+б, мг%	7,00±0,38	3,40±0,17	2,40±0,12	34,80±1,22
% до вихідного субстрату	170,73	56,67	77,42	15,51
Дубильні сполуки, %				
Дубильні сполуки, %	0,62±0,11	0,21±0,09	0,42±0,21	0,42±0,23
% до вихідного субстрату	20,67	5,68	28,97	22,11
Полісахариди, %				
Полісахариди, %	1,83±0,26	1,45±0,39	5,00±0,32	7,50±0,40
% до вихідного субстрату	15,78	11,6	22,22	136,35

Різка падіння кількості катехинів та лейкоантоціанів, порівняно з вихідним субстратом, відзначено також у трансформованому шроті винограду (табл. 2). На відміну від трансформованого шроту обліпихи в складі вітамінного комплексу шроту винограду, унаслідок росту міцелію *G. lucidum* 1900 значною мірою відносно вихідного субстрату зросла кількість аскорбінової кислоти (табл. 2).

Усі проаналізовані показники біологічно активних речовин у трансформованому шроті актинїдії були значно нижчими, ніж у вихідному субстраті, та склали від 15 % (уміст каротиноїдів) до 77 % (уміст суми хлорофілів а+б) відносно вихідного шроту актинїдії (табл. 2).

Аналізуючи показники вмісту біологічно активних речовин у трансформованих листках шовковиці, потрібно відзначити підвищення, порівняно з вихідним субстратом, кількості каротиноїдів, що входять до складу вітамінного комплексу та полісахаридів (табл. 2).

Підкреслюємо, що вміст окремих біологічно активних речовин у вихідних рослинних субстратах у більшості випадків не впливав на їх кількість у трансформованих під впливом життєдіяльності міцелію *G. lucidum*. Так, у вихідному шроті з плодів винограду містилася максимальна відносно інших субстратів кількість катехинів (4800 мг%), лейкоантоціанів (1365 мг%) і дубильних сполук (3,7 %), але серед трансформованих під впливом лікарського гриба субстратів найбільший уміст катехинів і лейкоантоціанів зафіксовано в шроті з плодів актинїдії, а дубильних речовин – у листках шовковиці (табл. 2). Аналогічна тенденція розбіжності між умістом біологічно активних речовин у трансформованих у результаті життєдіяльності міцелію *G. lucidum* 1900 субстратах та у вихідних субстратах характерна для всіх проаналізованих біологічно активних речовин, окрім антоціанів і суми хлорофілів а+б у листках шовковиці, максимальну кількість яких визначено як у вихідному (50 мг% антоціанів та 224,4 мг% суми хлорофілів а+б), так і у трансформованому субстраті (табл. 2).

У досліджених трансформованих субстратах уміст окремих біологічно активних сполук, завдяки культивуванню міцелію лікарського гриба *G. lucidum* 1900, можна розмістити за зниженням кількості таким чином: катехіни – шрот із плодів актинїдії – шрот із плодів винограду – шрот із плодів обліпихи – листки шовковиці; лейкоантоціани – шрот із плодів актинїдії – шрот із плодів винограду – листки шовковиці – шрот із плодів обліпихи; антоціани, каротиноїди, сума хлорофілів а+б та аскорбінова кислота – листки шовковиці – шрот із плодів обліпихи – шрот із плодів винограду – шрот із плодів актинїдії; дубильні речовини – шрот із плодів обліпихи – шрот із плодів актинїдії – шрот із плодів винограду – листки шовковиці; полісахариди – листки шовковиці – шрот із плодів актинїдії – шрот із плодів обліпихи – шрот із плодів винограду.

Висновки та перспективи подальших досліджень. З'ясовано, що міцелій лікарського гриба *G. lucidum* 1900 росте на субстратах, які залишаються після переробки лікарської сировини – плодів винограду, актинїдії, обліпихи у вигляді шротів і листках шовковиці.

Установлено, що вміст біологічно активних сполук у трансформованих субстратах змінюється під впливом життєдіяльності міцелію *G. lucidum* 1900 – у шроті обліпихи зростає відносно вихідного субстрату кількість антоціанів та суми хлорофілів а+б, у шроті винограду – кількість аскорбінової кислоти, у листках шовковиці – уміст каротиноїдів і полісахаридів. Отримані результати свідчать про перспективність продовження досліджень впливу життєдіяльності міцелію лікарських грибів на вміст комплексів біологічно активних сполук рослинної сировини.

Джерела та література

1. Бухало А. С. Культивирование съедобных и лекарственных грибов / А. С. Бухало, Н. А. Бисько, Э. Ф. Солонко. – Киев : Чернобыльинтеринформ, 2004. – 128 с.
2. Бисько Н. А. Коллекция культур шапинковых грибов ИВК / Н. А. Бисько, М. Л. Ломберг, Н. Ю. Митропольська та ін. – Київ : Альтерпрес, 2016. – 120 с.
3. Государственная фармакопея СССР. – Вып. 1 : Общие методы анализа. МЗСССР. – 2-е изд, доп. – Москва : Медицина, 1987. – С. 286–287.
4. Кузнецова О. Ю. Фотокolorиметрический метод определения содержания полисахаридов в водных извлечениях чаги (*Inonotus obliquus*) / О. Ю. Кузнецова, М. А. Сысоева, В. С. Гамаюрова // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты : сб. науч. трудов. – Москва, 2002. – Вып. 6. – С. 237–243.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов. / Г. Ф. Лакин. – Москва : Высш. шк., 1980. – 293 с.
6. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. – Ялта : ГНБС, 1982. – С. 11–17.
7. Методы биохимического исследования растений / [под ред. А. И. Ермакова]. – Ленинград : Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1987. – 430 с.
8. Мусієнко М. М. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у вищих рослин. / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. – Київ : Фітосоціоцентр, 2001. – С. 99–101.
9. Chang S. T. Global impact of edible and medicinal Mushrooms on human welfare in the 21-st century: nongreen revolution // Int. J. Med. Mushr. – 1999. – Vol. 1, №1. – P. 1–7.
10. Wasser S. P. Dietary supplements from Medicinal Mushrooms: diversity of types and variety of regulations / S. P. Wasser, E. Nevo, D. Sokolov // Int. J. Med. Mushr. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 1–19.

11. Ikekava T. Beneficial effects on edible and medicinal mushrooms on health care / T. Ikekava // Int. J. Med. Mushr. – 2001. – Vol. 3, №4. – P. 291–398.
12. Patel S. Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review / S. Patel, A. Goyal // J. of Biotechn. – 2012. – Vol. 2, №1. – P.1–15.
13. Paterson R. Ganoderma – a therapeutic fungal biofactory / R. Paterson, M. Russel // Phytochemistry. – 2006. – Vol. 67, № 18. – P. 1985–2001.
14. Wasser S. P. Medicinal Properties of Substances Occuring in Higher Basidiomycetes mushrooms: Current Perspectives (Review) / S. P. Wasser, A. L. Weis // Int. J. Med. Mushr. – 1999. – Vol.1, № 1. – P. 31–62.
15. Wellburn A. R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution / A. R. Wellburn // J. of Plant Physiology. – 1994. – Vol. 144, № 3 – P. 307–313.

Бисько Ніна, Джуренко Надежда, Паламарчук Елена, Коваль Інна. Трансформація растительных субстратов мицелием лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. В статті представлені результати досліджень трансформації растительных субстратов – отходов лекарственного сырья в процесі росту мицелія базидієвого лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* 1900 із колекції шляпочних грибів ІВК Інституту ботаніки ім. Н. Г. Холодного НАН України. Показана динаміка обрастания растительных субстратов мицелием *G. lucidum*. Изучены изменения содержания биологически активных веществ (витаминовый комплекс, хлорофиллы, полисахариды, дубильные вещества, Р-активные соединения) в трансформированных под влиянием жизнедеятельности мицелия *G. lucidum* растительных субстратах – шроте плодов облепихи, шроте плодов винограда, шроте плодов актинидии, листьях шелковицы. Установлено, что в результате роста мицелия *G.lucidum* содержание антоцианов в трансформированном шроте облепихи увеличивается в два раза, а суммы хлорофиллов а+б – на 70 %, количество аскорбиновой кислоты в трансформированном шроте винограда возрастает на 33 %, содержание каротиноидов в трансформированных листьях шелковицы увеличивается на 28 %, а полисахаридов – на 36 % по сравнению с исходными субстратами.

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum*, рост мицелия, трансформированные растительные субстраты, биологически активные вещества.

Bis'ko Nina, Dzhurenko Nadezda, Palamarchuk Olena, Koval Inna. Transformation of Plant Substrates by Mycelium of Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. The article presents the results of investigation of transformation plant substrates – the waste of medicinal raw materials due to the mycelium growth of basidial medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* 1900 from the IBK Mushroom Culture Collection of M. G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine. It was demonstrated the dynamics of mycelium growth of *G.lucidum* on plant substrates. It were determined the content changes of biologically active substances (complex of vitamins, chlorophylls, polysaccharides, tannins, P-active compounds) in transformed plant substrates due to the influence of *G. lucidum* mycelium growth-meal of sea buckthorn fruits, meal of grapes fruits, meal of actinidia fruits, leaves of mulberry. It was demonstrated that the content of anthocyanins and sum of chlorophylls a+b increases in 2 times and on 70 % in transformed meal of sea buckthorn fruits accordingly, the content of ascorbic acid increases on 33 % in transformed meal of grapes fruits, the content of carotenoids increase on 28 % and polysaccharides on 36 % in transformed leaves of mulberry accordingly as compared with initial substrates.

Key words: *Ganoderma lucidum*, mycelium growth, transformed plant substrates, biologically active substances.

Стаття надійшла до редколегії
11.11.2017 р.

УДК 633.812:581.14(477.84)

Олена Мельничук

Окремі аспекти інтродукції рослин роду *Lophanthus* Adans. в умовах Кременецького ботанічного саду

Установлено сезонні ритми росту, розвитку й особливості онтоморфогенезу рослин роду *Lophanthus* Adans. в умовах Кременецького ботанічного саду. Ця морфометрична характеристика вегетативно-генеративних пагонів, суцвіть, листків залежно від сортових особливостей у період масового цвітіння рослин *L.anisatus*. Визначено масу 1000 еремів, схожість та енергію проростання насіння рослин роду *Lophanthus* залежно від генотипових особливостей.

Ключові слова: *Lophanthus anisatus* (cv. *Siniy veleten*, cv. *Leleka*), інтродукція, насіння, схожість, енергія проростання.

© Мельничук О., 2017