

В.М. ЛІНОВИЦЬКА<sup>1,2</sup>, А.С. БУХАЛО<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Національний технічний університет України  
«Київський політехнічний інститут»  
просп. Перемоги, 37, Київ, 03057, Україна

<sup>2</sup> Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська, 2, МСП-1, Київ, 01601, Україна

**ДОСЛІДЖЕННЯ КУЛЬТУР ЛІКАРСЬКОГО  
ГРИБА *GRIFOLA FRONDOSA* (DICKS: FR.)  
S.F. GRAY (*BASIDIOMYCETES*,  
*POLYPORACEAE*) НА АГАРИЗОВАНИХ  
ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ**

*Ключові слова: Grifola frondosa, агаризовані живильні середовища, ріст, колонія, морфологія, ферментативна активність*

Їстівний лікарський гриб *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray (грифола кучерява, маїтаке) належить до родини *Polyporaceae*, порядку *Poriales*, класу *Basidiomycetes* [1]. У природних умовах поширений у листяних лісах помірної зони Європи, Північної Америки та Східної Азії. На території України *G. frondosa* трапляється зрідка, місцезнаходження відомі з Карпат, Полісся, гірських районів Криму. Цей сапротрофний вид здебільшого знаходять у рідколіссях на пеньках або стовбурах мертвих і відмираючих листяних дерев, переважно на дубі, буці, в'язі, клені, рішце — на модрині. Плодові тіла з'являються, починаючи з другої половини липня і до серпня [2, 8, 25]. Як рідкісний вид *G. frondosa* занесений до Червоної книги України [6].

У східній народній медицині плодові тіла *G. frondosa* здавна використовували як загальнозмцнюючий та підвищуючий імунітет засіб [4, 5, 15, 20]. В останнє десятиліття встановлено, що плодові тіла, міцелій та метаболіти з *G. frondosa* містять речовини, які виявляють антибактерійну, антивірусну, зокрема проти ВІЛ, антифунгальну, протипухлинну та імуностимулюючу активність, а також регулюють кров'яний тиск і мають антидіабетичні властивості [7, 10–12, 18, 25, 27–29]. Основними біологічно активними компонентами, які отримують з плодових тіл *G. frondosa*, є розчинні у воді полісахариди  $\beta$ -(1→6)-глюкани з  $\beta$ -1,3-глікозидними та  $\beta$ -(1→3)-глюкани з  $\beta$ -1,6-глікозидними зв'язками та водонерозчинні гетерополісахариди маногалактофукани, маноксиліглюкани, ксиліглюкани, глюкуронова кислота, а також глікопротеїди. Гетерополісахариди, виділені з культурального міцелію маїтаке, мають аналогічну будову. Загалом із 29 полісахаридних фракцій з плодових тіл та 28 полісахаридних фракцій з культурального міцелію *G. frondosa* протипухлинну активність проявляли, відповідно 20 і 24 [13, 14, 17, 19, 21, 24, 27]. З *G. frondosa* також отримують препарат грифолан, який активує ланки імунітету, що відповідають

© В.М. ЛІНОВИЦЬКА, А.С. БУХАЛО, 2004

за протипухлинний захист організму і здійснюють антибактерійний, антифунгальний та противірусний вплив [7, 10, 23, 26, 27].

Дослідження біологічних особливостей цього рідкісного виду є також важливими для відновлення *G. frondosa* у природному середовищі.

У цій статті ми повідомляємо результати досліджень біологічних властивостей та морфологічних характеристик культур *G. frondosa* на агаризованих середовищах різного складу за різних умов культивування та відбором штамів, перспективних для подальших біотехнологічних досліджень. Виконана робота є необхідним важливим етапом для створення в Україні технології культивування цього цінного їстівного лікарського гриба з метою отримання плодівих тіл, міцеліальної маси та метаболітів.

### Матеріал і методи досліджень

Було досліджено 8 штамів вищого базидіоміцета *G. frondosa* з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК) різного походження.

Ріст і морфологію культур досліджували у чашках Петрі на чотирьох живильних середовищах різного складу: агаризованому пивному суслі з 4 % цукру (СА), картопляно-глюкозному агарі (КА) і середовищі Норкранс (СН) [3], а також на синтетичному середовищі (СС) такого складу, г/л:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  — 3,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  — 0,6, агар — 10, глюкоза — 10. Культуру гриба інокулювали міцеліальним диском діаметром 4 мм на живильне середовище у центр чашки Петрі. Кожну добу вимірювали діаметр колонії у двох напрямках, її висоту (мм) та відмічали щільність колонії за трибальною системою (1 — розріджена, 2 — середня, 3 — щільна). За отриманими даними вираховували ростовий коефіцієнт (PK):

$$PK = \frac{dhg}{t},$$

де  $d$  — діаметр колонії, мм;  $h$  — висота колонії, мм;  $g$  — щільність колонії, бали;  $t$  — вік колонії, доби [3].

Культивування на усіх середовищах проводили за температури +4, +20, +28 та +38 °С. Повторність дослідів була трикратною.

Активність гідролітичних ферментів — протеазу, амілазу, целюлазу (глюкозидазу, КМЦ-активність), ліпазу та ксиланазу — визначали за допомогою ферментативних тестів (кольорових реакцій) на середовищах, що містили відповідний субстрат, з наступним використанням хімічних сполук для виявлення активності [16].

За наявність протеазної активності свідчила поява прозорих зон у середовищі з 4 % желатину під колонією гриба та навколо неї. Позитивну реакцію на амілазу визначали за наявністю безбарвних зон у середовищі з 0,2 % крохмалю після обробки розчином Люголя (негативній реакції відповідає синє забарвлення середовища), КМЦ-активність — за утворенням прозорих зон біля

колоній після обробки середовища з додаванням 0,5%-ї карбоксиметилцелюлози (КМЦ) розчином конго-червоного (0,001 %), який зафарбовував середовище з нерозщепленою КМЦ у червоний колір. Наявність активності  $\beta$ -глюкозида підтверджувала поява бурого забарвлення в середовищі з арбутином (0,5 %) за умов додавання 1%-го розчину хлориду заліза(III). Позитивна реакція на ліпазу проявлялася утворенням осаду з омиленних сполук у середовищі з ТВІН 80 (1 %) після обробки хлоридом кальцію. Ксиланазна активність визначалася за утворенням безбарвних зон в середовищі з 0,25 % ксилану після обробки 96%-м етанолом.

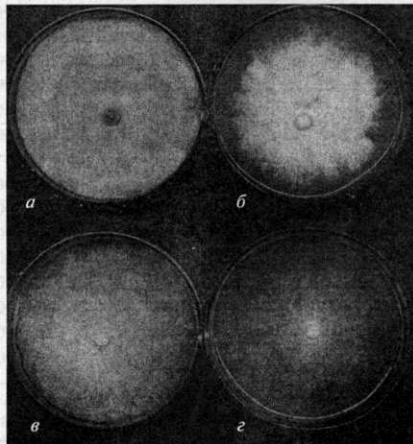
Ферментативну активність оксидаз також визначали за допомогою якісних хімічних кольорових реакцій. Активність лакази, тирозинази та пероксидази виявляли нанесенням  $\alpha$ -нафтолу (синє або фіолетове забарвлення за наявності активності), *p*-крезолу (руде забарвлення) та пірогалолу (оранжево-коричневе або морквяно-червоне забарвлення за наявності активності), відповідно на поверхню колонії на усіх середовищах [3].

### Результати досліджень та їх обговорення

У результаті проведених досліджень було виявлено мінливість морфології колоній *G. frondosa* насамперед залежно від складу середовища (рисунок). Так, практично всі штами найщільніші колонії мали на СА за різних температур інкубації (3 бали). На інших середовищах спочатку спостерігали ріст моношарового поверхневого міцелію, що утворював досить прозору колонію, яка з віком, починаючи з центру, ущільнювалася і утворювала білий повітряний пухнастий або ватоподібний міцелій. На СН, незалежно від температури інкубації, ріст більшості штамів був нерівномірним, з ділянками міцелію різної висоти та щільності, а на середовищі КГА — зі слабкою радіальною зональністю. Під час старіння колонії зникала нерівномірність росту міцелію, збільшувалась їхня щільність та висота, і лише на середовищі СС ріст був дуже слабкий і колонія залишалася практично моношаровою. Молоді колонії в усіх досліджуваних штамів за усіх умов

Колонії *Grifola frondosa* (штам 1705) на агаризованих живильних середовищах: *a* — агаризоване пивне сусло (СА); *b* — картопляно-глюкозний агар (КГА); *в* — середовище Норкранс (СН); *г* — синтетичне середовище (СС)

Colonies of *G. frondosa* (strain 1705) on agar medium: *a* — beer wort agar; *b* — potato dextrose agar; *в* — Norkrans agar; *г* — synthetic medium



культивування мали білий колір. Лише на 15–20-ту добу культивування при +20 та +28 °С на СА та КГА починали утворюватись тонкі шкірясті жовтуваті або світло-руді зони. Реверзум не забарвлювався.

Вплив температури на морфологію міцеліальної колонії *G. frondosa* був не таким значним: при +4, +20 та +28 °С загалом вона залежала лише від середовища, на якому культивувалися штами. Основні штамові особливості та залежність від умов культивування проявлялися у швидкості росту міцелію, тобто у значеннях ростового коефіцієнта (табл. 1).

Таблиця 1. Ростові коефіцієнти (РК) міцеліальних колоній штамів *Grifola frondosa* на агаризованих живильних середовищах

Штам	СА					КГА					СН					СС				
	d	h	g	t	РК	d	h	g	t	РК	d	h	g	t	РК	d	h	g	t	РК
	+4 °С																			
332	56	2	2	40	5,6	71	2	2	40	7,1	77	1	2	40	3,9	30	1	2	40	1,5
923	44,5	3	3	40	10,0	47,5	3	3	40	10,7	75	2	2	40	7,5	31	1	2	40	1,6
962	41	2	2	40	4,1	68	1	1	40	1,7	47	1	1	40	1,2	21	1	1	40	0,5
976	14	1	1	37	0,4	12	1	1	37	0,3	11	1	1	37	0,3	5	1	1	37	0,1
1705	18,5	2	2	37	2,0	17	2	2	37	1,8	18	2	2	37	1,9	22	1	1	37	0,6
1707	55,5	2	2	37	6,0	55	2	2	37	5,9	52,5	2	2	37	5,7	60	1	2	37	3,2
1790	78	2	2	40	7,8	75	2	2	40	7,5	72	2	2	40	7,2	68	1	2	40	3,4
1794	44	2	3	40	6,6	40,5	2	3	40	6,1	58	2	2	40	5,8	44	1	2	40	2,2
	+20 °С																			
332	90	1	2	12	15,0	90	2	1	20	9,0	90	1	2	13	13,8	90	0,1	1	38	0,2
923	90	3	3	16	50,6	90	2	2	16	22,5	90	1	2	17	10,6	90	1	1	30	3,0
962	90	2	3	18	30,0	90	1	2	10	18,0	90	1	1	11	8,2	90	0,5	1	22	2,0
976	90	2	3	25	21,6	90	2	2	22	16,4	90	1	2	25	7,2	90	1	1	13	6,9
1705	90	2	3	25	21,6	90	2	3	27	20,0	90	1	2	27	6,7	90	1	2	30	6,0
1707	90	2	2	22	16,4	90	1	2	19	9,5	90	1	2	22	8,2	90	1	1	31	2,9
1790	90	3	3	24	33,8	90	0,5	1	12	3,8	90	0,5	1	12	3,8	90	0,1	1	38	0,2
1794	90	2	2	19	18,9	90	1	2	17	10,6	90	1,5	2	20	13,5	90	0,1	1	37	0,2
	+28 °С																			
332	90	2,5	2	9	50,0	90	1	1	10	9,0	90	2	2	14	25,7	35	0,1	1	40	0,1
923	90	2	2	11	32,7	90	2	3	13	41,5	90	1	2	13	13,8	67	1	2	40	3,4
962	90	2	3	16	33,8	90	1	2	9	20,0	90	1	1	10	9,0	90	1	1	27	3,3
976	90	1	1	7	12,9	90	1	1	17	5,3	90	0,6	2	16	6,8	70	0,5	1	40	0,9
1705	90	1	2	21	8,6	90	1	2	24	7,5	90	0,5	2	10	9,0	67	0,7	2	40	2,3
1707	90	2	2	35	10,3	90	1	2	21	8,6	90	1	2	20	9,0	90	0,1	1	40	0,2
1790	90	1	2	21	8,6	90	1	2	24	7,5	90	1	1	12	7,5	90	1	1	40	2,3
1794	90	2	3	6	90,0	90	1	1	11	8,2	90	1	1	12	7,5	75	0,1	1	40	0,2

Примітка. СА — агаризоване пивне сусло; КГА — картопляно-глюкозний агар; СН — середовище Норкранс; СС — синтетичне середовище; d — середній діаметр колонії, мм; h — висота колонії, мм; g — щільність колонії, бали; t — вік колонії, доби.

За температури +28 °С в усіх досліджуваних штамів, крім 923, залежність значення ростового коефіцієнта гриба від типу середовища була подібною (табл. 1): найбільший РК спостерігався на СА (8,6–90,0), на КГА та СН — 5,3–41,5 та 6,8–25,7 відповідно, і на СС — від 0,1 до 3,4. СС. При цьому, у штамів 962, 1790 і 1794 ростовий коефіцієнт на КГА був більшим, ніж на СН, а в інших штамів — менший. У штаму 923 найбільше значення ростового коефіцієнта спостерігалось на КГА, а не на СА. При +20 °С РК був найбільшим на СА (15,0–50,6), а найменшим — на СС (0,2–6,9) для усіх штамів *G. frondosa* (табл. 1). Зауважимо, що оптимальна температура культивування різнилася у різних штамів: штами 976, 1705 і 1707 мали в 1,5–2,0 рази вищий РК на усіх середовищах при +20, а не при +28 °С. Тобто вони мали нижчий температурний оптимум росту, на відміну від штамів 332, 923, 962 і 1794, що швидше росли при +28 °С. Водночас в умовах зниженої температури (+4 °С) значно затримується ріст усіх штамів незалежно від складу середовища, але усі штами на чотирьох середовищах залишалися життєздатними (табл. 1) і відновлювали ріст за температури +20 або +28 °С.

Під час культивування при +38 °С штами не росли на жодному із середовищ. Перенесення культур на 10–15-ту добу інкубації у термостат при +28 °С також не ініціювало міцеліальний ріст, і лише у штамів 923 і 962 спостерігали початок дуже слабкого росту поверхневого міцелію.

Отже ростовий коефіцієнт більшості штамів *G. frondosa* при +4, +20 і +28 °С на усіх середовищах був меншим 50, тобто вони належать до макроміцетів із повільною швидкістю росту. На відміну від них штами 332 і 1794 на СА мали РК відповідно, 50,0 і 90,0 і належали до штамів із середньою швидкістю росту.

Важливим етапом розробки сучасної біотехнології, зокрема підбору культивационних середовищ та субстратів, є визначення у грибів різних груп фер-

Таблиця 2. Ензиматичні реакції на наявність гідролітичних ферментів у досліджених штамів *G. frondosa*

Штам	Фермент, який визначається					
	протеїназою	амілазою	глюкозидазою	КМЦ-активністю	ксиланазою	ліпазою
332	++	++	++	++	+	+
923	++	+++	++	++	+	+
962	++	+++	++	++	+	+
976	++	++	++	++	+	+
1705	++	+++	++	++	+	+
1707	++	++	++	++	+	+
1790	++	+++	++	++	+	+
1794	++	+++	++	++	+	+

Примітка. Інтенсивність реакції: (+) — слабка, (++) — помірна, (+++) — сильна.

ментів. Ми досліджували наявність низки гідролітичних ферментів: протеази, амілази, целюлази (глюкозидази, КМЦ-активності), ксиланази та ліпази у культур *G. frondosa* (табл. 2). У всіх штамів спостерігали подібні позитивні реакції на всі ферменти, активність яких визначали.

Активність окиснювальних ферментів (лакази, тирозинази та пероксидази) *G. frondosa*, яку визначали на різних живильних середовищах, залежала від штаму і не залежала від складу середовища. Лаказну активність встановлено у штамів 332, 923, 1707, 1790 і 1794 на усіх середовищах. Штами 1707 і 1790 виявили також і тирозиназну активність. Пероксидазну активність не виявлено у жодного дослідженого штаму.

### Висновки

1. Досліджено ріст і морфогенез міцеліальних культур 8 штамів *G. frondosa* на агаризованих середовища різного складу за різної температури. Показано, що штамів 332 і 1794 за показниками ростового коефіцієнта на СА (РК, відповідно, 50,0 і 90,0) можуть бути віднесені до групи грибів із середньою швидкістю росту, на відміну від всіх інших штамів, які ростуть повільно. Склад живильного середовища справляв істотний вплив на морфологію міцеліальних колоній.

2. Встановлено, що оптимальною температурою росту міцелію штамів 976, 1705 і 1707 є +20, а для усіх інших — +28 °С. При +4 °С усі штамів росли добре, але повільно, а при +38 °С — втрачали життєздатність.

3. Усі досліджені штамів мали позитивну реакцію на протеазу, амілазу, целюлази (глюкозидазу, КМЦ-активність), ліпазу та ксиланазу, штамів 332, 923, 1707, 1790 і 1794 — на лаказу, 1707 і 1790 — також на тирозиназу. Пероксидазну активність у досліджуваних штамів не виявлено.

4. Для подальших біотехнологічних досліджень ми відібрали штамів 332 і 1794 *G. frondosa*, які мали найбільший РК та відзначалися широким спектром ферментативної активності. Для їх культивування та збереження в лабораторних умовах рекомендовано використовувати агаризоване пивне сусло (4 % цукру) і температуру інкубування +28 °С.

1. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. — М.; Л.: Изд-о АН СССР, 1953. — 1020 с.
2. Бондарцева М. А. Семейства альбатрелловые, апориевые, болетопсиевые, бондарцевиевые, ганодермовые, кортициевые (виды с порообразным гименофором), лахноклаевые (виды с трубчатым гименофором), полипоровые (роды с трубчатым гименофором), пориевые, ригидопоровые, феоловые, фистулиновые. — С.-Пб.: Наука, 1998. — 391 с. — (Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые; вып. 2).
3. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. — Киев: Наук. думка, 1988. — 144 с.
4. Денисова Н. П. Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк. — С.-Пб.: Изд-во С.-Пб. ГМУ, 1998. — 59 с.
5. Соломко Э. Ф., Бухало А. С., Митропольская Н. Ю. Лекарственные свойства базидиальных макромитетов // Проблемы эксперим. ботаники та екології рослин. — 1997. — Вып. 1. — С. 156—167.



6. Червона книга України. Рослинний світ / Відп. ред. Ю.П. Шеляг-Сосонка. — К.: Вид-во «Українська енциклопедія» ім. М.П. Бажана, 1996. — 608 с.
7. Adachi Y., Okazaki M., Ohno N., Yadomae T. Enhancement of cytokine production by macrophages stimulated with (1-3)-beta-D-glucan, grifolan (GRN), isolated from *Grifola frondosa* // Biol. Pharm. Bull. — 1994. — 17, N 12. — P. 1554—1560.
8. Chen A.W., Stamets P., Cooper R.B. et al. Ecology, morphology and morphogenesis in nature of edible and medicinal mushroom *Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) S.F. Gray — Maitake (Aphyllorphomycetidae) // Int. J. Med. Mushr. — 2000. — 2. — P. 221—228.
9. Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C., Pegler D.N. Dictionary of the Fungi // CAB International. — 2000.
10. Konno S., Shahrad A., Dolin D.J., Schwartz A.M. et al. Anticancer and hypoglycemic effects of polysaccharides in edible and medicinal maitake mushroom [*Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) S.F. Gray] // Int. J. Med. Mushr. — 2002. — 4. — P. 185—195.
11. Kubo K., Aoki H., Nanba H. Anti-diabetic activity present in the fruit body *Grifola frondosa* (Maitake) // Biol. Pharm. Bull. — 1994. — 17. — P. 1106—1110.
12. Mao T., Van de Water J., Keen C.L. et al. Two mushrooms, *Grifola frondosa* and *Ganoderma lucidum*, can stimulate cytokine gene expression and proliferation in human T-lymphocytes // Int. J. Immunotherapy. — 1999. — 15. — P. 13—22.
13. Minato K.-I., Mizuno M., Kawakami S. et al. Changes in immunomodulating activities and content of antitumor polysaccharides during the growth of two medicinal mushrooms, *Lentinus edodes* (Berk.) and *Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) S.F. Gray // Int. J. Med. Mushr. — 2001. — 3. — P. 1—7.
14. Mizuno T. A Development of antitumor polysaccharides from mushroom fungi // FFI J. — 1996. — 167. — P. 69—85.
15. Mizuno T. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan (Review) // Int. J. Med. Mushr. — 1999. — 1. — P. 9—29.
16. Molitoris H.P., Schaumann K. Physiology of marine fungi. A screening program for marine fungi // The biology of marine fungi / Eds. by S.T. Moss. — Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1986. — P. 35—47.
17. Nanba H., Hamaguchi A., Kuroda H. The Chemical Structure of an Antitumor Polysaccharide in Fruit Bodies of *Grifola frondosa* (Maitake) // Chem. Pharm. Bull. (Tokio). — 1987. — 35. — P. 1162—1168.
18. Nanba H., Kodama N., Schar D., Turner D. Effect of Maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients // Mycoscience. — 2000. — 41. — P. 293—295.
19. Ohno N., Adachi Y., Suzuki I. et al. Characterization of the antitumor glukan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa* // Ibid. — 1986. — 34. — P. 1709—1715.
20. Ooi V.E.C. Pharmacological studies on certain mushrooms from China // Int. J. Med. Mushr. — 2001. — 3. — P. 341—354.
21. Sawai M., Adachi Y., Kanai M. et al. Extraction of conformationally stable (1-6)-branched (1-3)-beta-glucans from pre-mixed edible mushroom powders by cold alkaline solution // Ibid. — 2002. — 4. — P. 197—205.
22. Stamets P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Third edit. — CA: Ten Speed press, 2000.
23. Stott K., Mohammed C. Cultivation of the edible and medicinal mushroom *Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) S.F. Gray (Maitake) — relevance of literature to production in Australia (Review) // Int. J. Med. Mushr. — 2003. — 5. — P. 199—216.
24. Suzuki I., Hashimoto K., Oikawa S. et al. Antitumor and immunomodulating activities of beta-glucan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa* // Chem. and Pharm. Bull. — 1989. — 37, N 2. — P. 410—413.
25. Szczepka M.Z., Sokol S. *Grifola frondosa* (Dicks.: Fr.) S.F. Gray nowe dane // Acta biologica silesiana. Katowice. — 1998. — 33, N 50. — P. 165—184.
26. Takeyama T., Suzuki I., Ohno N. et al. Host-mediated antitumor effect of Grifolan NMF-5N, a polysaccharide obtained from *Grifola frondosa* // J. Pharmacobiodynamics. — 1987. — 10, N 11. — P. 644—651.
27. Wasser S.P., Sytnik K.M., Buchalo A.S., Solomko E.F. Medicinal Mushrooms: Past, Present and Future // Ukr. Botan. J. — 2002. — 59, N 5. — P. 499—524.

28. *Wasser S.P., Weis A.L.* Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (Review) // *Int. J. Med. Mushr.* — 1999. — 1. — P. 31–62.
29. *Yamada Y.H., Nanba H., Kuroda H.* Antitumor effect of orally administered extracts from fruitbody of *Grifola frondosa* (Maitake) // *Chemotherapy (Tokyo)*. — 1990. — 38, N 8. — P. 790–796.

Рекомендує до друку  
І.О. Дудка

Надійшло 25.11.2003

*В.М. Линовицькая, А.С. Бухало*

Национальный технический университет Украины  
«Киевский политехнический институт»  
Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН України, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЕ КУЛЬТУР ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА *GRIFOLA FRONDOSA* (DICKS: FR.) S.F. GRAY (*BASIDIOMYCETES, POLYPORACEAE*) НА АГАРИЗОВАННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Представлены результаты исследования 8 штаммов *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray на четырёх агаризованных средах при разных температурах, а также изучения наличия ряда гидролитических ферментов. По величине ростового коэффициента на сусло-агаре штаммы 332 и 1794 можно отнести к группе грибов со средней скоростью роста, остальные — к медленно растущим грибам. Морфология мицелиальных колоний определяется составом питательной среды. Оптимальной для роста мицелия штаммов 976, 1705 и 1707 является температура +20 °C, для 332, 923, 962, 1790 и 1794 — +28 °C. При +4 °C рост всех штаммов замедлялся, а при +38 °C культуры теряли жизнеспособность. Все исследованные штаммы проявляли положительную реакцию на наличие ферментов протеазы, амилазы, целлюлазы (глюкозидазы, КМЦ-активность), ксиланазы и липазы. У штаммов 332, 923, 1707, 1790 и 1794 выявлена активность лакказы, а у штаммов 1707 и 1790 также и тирозиназы. Для дальнейших биотехнологических исследований отобраны штаммы 332 и 1794 *G. frondosa*. В качестве питательной среды для их культивирования в лаборатории и хранения в коллекции рекомендовано использовать агаризованное пивное сусло (4 % сахаров) и температуру инкубирования +28 °C.

*V.M. Linovytska, A.S. Buchalo*

NTUU «KPI»  
M.G. Kholodny Institute of Botany,  
National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

INVESTIGATION OF CULTURES MEDICINAL MUSHROOM *GRIFOLA FRONDOSA* (DICKS: FR.) S.F. GRAY (*BASIDIOMYCETES, POLYPORACEAE*) ON AGAR MEDIA

The growth rate, morphology and enzymatic activities on four agar media at different temperatures were studied in eight *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray strains obtained from the Culture Collection of Mushrooms M.G. Kholodny Institute of Botany National Academy of Science of Ukraine (acronym IBK). By the value of the Growth Coefficient (50 and 90) strains 332 and 1794 can be considered as fungi with the average growth rate, the rest of investigated strains can be considered as slow growing. The morphology of mycelial colony depended on the composition of nutritious medium. Optimal temperature for mycelial growth of strains 976, 1705 and 1707 was +20 °C, and for strains 332, 923, 962, 1790 and 1794 it was +28 °C. At +4 °C the growth all strains was more slow and at +38 °C cultures lost their viability. In all strains the enzyme positive reactions on proteinase, amylase, cellulase (glukosydase, КМЦ-activity), xylanase and lipase were observed. In strains 332, 923, 1707, 1790 and 1794 the positive enzyme reaction on lakkase, and in strains 1707 and 1790 on tyrosinase were recorded. Strains 332 and 1794 were selected for the future biotechnological studies. For their laboratory cultivation and storage in the Collection beer wort agar (4 % of sugars) can be recommend.