

УДК 582.284.3

А.С. Бухало, Л.П. Дзигун, В.М. Ліновицька

ВИДІЛЕННЯ ВИЩИХ БАЗИДИОМІЦЕТІВ, ПЕРСПЕКТИВНИХ ПРОДУЦЕНТІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН, У ЧИСТУ КУЛЬТУРУ І ЇХ ДОВГОТРИВАЛЕ ЗБЕРІГАННЯ

In this paper, we select methods and conditions for isolation of pure culture and long-term storage of three basidiomycetes species *Schizophyllum commune* Fr., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill and *Polyporus squamosus* Huds.: Fr., which are promising producers of biologically active substances nowadays. We establish that the most effective methods of transferring strains in pure culture for *S. commune* was selection from spore material, and for *L. sulphureus* and *P. squamosus* – from basidiomes. 13 strains *S. commune*, 13 strains of *L. sulphureus* and 7 strains of *P. squamosus* are isolated from environmental conditions by using selected effective methods. We propose conditions for long-term safe strains keeping. Agar wort and temperature +4 °C are the best conditions for cultures of investigated species for 12 months and more. For 6 months of storage it is possible to use potato-glucose agar medium. The proposed methods allow keeping strains under industrial conditions without the loss of biological and technical specificity.

Вступ

Вищі базидіальні гриби – це група організмів, відомих як широко використовуваними їстівними плодовими тілами, так і здатністю до біосинтезу різноманітних біологічно активних речовин (БАР) харчового, лікувально-профілактичного та промислового призначення. Зокрема, на основі базидіомицетів створено унікальні протипухлинні препарати: шизофілан, грифолан, лентинан, коріолан тощо. Також відомо про отримання саме з вищих базидіальних грибів лектинів, ферментів, каротиноїдів, полісахаридів та інших органічних сполук з різноманітними властивостями. Тому дослідження, які стосуються розширення галузі використання різних видів базидіомицетів, не припиняються.

Одним із основоположних етапів на шляху створення сучасних біотехнологій є отримання, ідентифікація та збереження в лабораторних умовах нових і вже відомих штамів-продуцентів. Нині існують різні методи виділення базидіомицетів з природних умов із застосуванням різноманітних поживних середовищ. Їх склад, а також температура та вологість є важливими з точки зору зберігання штамів у лабораторії за умови збереження грибами їх біосинтетичних властивостей та підтримки чистоти культур. Вибір ефективного методу виділення та умов зберігання ґрунтується насамперед на морфолого-фізіологічних особливостях різних видів базидіомицетів.

Перспективними об'єктами досліджень, спрямованих на створення сучасних вітчизняних біотехнологій, що можуть бути впроваджені не тільки в Україні, є дереворуйнівні базидіо-

мицети, в т.ч. *Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus* і *Polyporus squamosus*.

У наш час на основі *S. commune* за кордоном вже налагоджений випуск лікарських препаратів (Sonifilan, Schizofyllan, SPG тощо), які мають протипухлинну, протизапальну, антибактерійну, протівірусну, імуномодулюючу та гепатопротекторну дію [1–3].

Для *L. sulphureus* також встановлено ряд фармакологічних активностей, а саме антиоксидантну, радіопротекторну, гіпоглікемічну, тромболітичну, імуномодулюючу, протипухлинну та протівірусну [4–10]. Такі властивості дали можливість розробити й отримувати біологічно активну домішку "Летипорин" (Білорусь) із загальнозміцнювальними властивостями [11].

У гриба *P. squamosus* виявлено протипухлинну та загальнозміцнювальну дію на організм людини та тварин, що робить його потенційним об'єктом біотехнологій отримання харчових і кормових домішок [12–14].

Інформації щодо особливостей виділення цих базидіомицетів у чисту культуру та найсприятливіших умов зберігання штамів тривалий час у літературі практично немає. В основному як середовища для виділення та/або зберігання пропонуються агаризоване пивне сушло з додаванням антибіотиків на етапі отримання чистої культури, декстрозний агар Сабуро та середовище Чапека з додаванням хлорамфеніколу та циклогексиміду (0,5 мг/мл) або беномілу (10 мкг/мл) і картопляно-глюкозний агар [15–20]. Крім того, існують різноманітні методи виділення чистої культури: із шматочків різних частин плодових тіл, із субстрату з міцелієм або із спор. Але наведені авторами відомості є загальними і не враховують особливос-

тей того чи іншого виду гриба. Тому існує необхідність підбору методів і способів виділення та зберігання чистих культур наведених вище видів грибів як у напрямі розширення теоретичних знань стосовно біології цих базидіоміцетів, так і з точки зору створення нових вітчизняних біотехнологій отримання різноманітних БАР, насамперед лікувально-профілактичного призначення.

Постановка задачі

Мета роботи: оцінювання ефективності різних методів виділення вищих дереворуйнівних базидіоміцетів (*Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus* і *Polyporus squamosus*) у чисту культуру, а також підбір умов тривалого зберігання штамів зі збереженням грибами їх біосинтетичних властивостей з метою створення та впровадження біотехнологій виробництва ряду БАР.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом досліджень були штами трьох видів вищих дереворуйнівних базидіоміцетів: *Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus* і *Polyporus squamosus*, одна частина з яких отримана з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК), а інша виділялася авторами з природного середовища з підбором і застосуванням різних методик.

Ріст і морфологію культур при довготривалому зберіганні досліджували в чашках Петрі на чотирьох поживних середовищах різного складу: агаризованому пивному суслі (СА) з 4 % цукру, картопляно-глюкозному агарі (КГА), середовищі Норкранс (СН) [15], а також на оригінальному синтетичному середовищі (СС) такого складу, г/л: NH_4NO_3 – 3, KH_2PO_4 – 1, K_2HPO_4 – 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 0,6, агар – 15, глюкоза – 10. Інокуляцію проводили міцеліальним диском діаметром 4 мм на поживне середовище у центр чашки Петрі або на скошений агар у цукрову пробірку та інкубували протягом 5–10 діб при +20 або +28 °С до повного заростання поверхні середовища міцелієм.

Довготривале культивування на усіх середовищах проводили за температури +4 °С.

Результати і їх обговорення

Базидіоміцет *Schizophyllum commune* Fr. (схизофіл) – сапротрофний вид, поширений на

усіх континентах і в різних кліматичних зонах, у т.ч. по всій території України, крім Арктики. Він є ксилотрофом, який росте на відмираючих і мертвих гілках, стовбурах та пеньках листяних і хвойних порід дерев та кущів, часто трапляється на парканах і стінах дерев'яних будівель. Для *S. commune* характерні в'ялоподібні, від половинчастих до майже округлих, базидіоми 1–5 см у найбільшому діаметрі, що часто зростаються боками, рідше розміщені по одній, тонкі, сухі, м'якошкірясті.

Чисту культуру *S. commune* виділяють як з плодівих тіл, зібраних із різних природних субстратів, так і зі спорового матеріалу. Так, у праці [21] чисті культури з олійних пальм отримували з базидіом, порізаних шматочками розміром 0,5–1,5 см і викладених на фільтрувальний папір у чашки Петрі, або з інфікованого насіння, викладеного на агаризоване картопляно-декстрозне середовище. Іншими дослідниками [22] дикаріотичні чисті культури *S. commune* виділялися із сухих базидіом, які обробляли етанолом, пропалювали в полум'ї, витримували годину на 2 %-ному агарі, після чого негіменіальні шматочки викладали на поживне середовище [22]. Але з точки зору отримання чистих культур саме *S. commune*, особливістю якого є маленькі, жорсткі, сухі плодові тіла, кращим є метод, за якого не відбувається контакту субстрату і базидіом з поживними середовищами. Тому авторами був застосований більш ефективний спосіб отримання чистих культур схизофіла зі спорового матеріалу за наведеною далі методикою. Попередньо зібрані в природних умовах і висушені за температури +20–25 °С плодові тіла спочатку витримували в стерильній чашці Петрі на вологому паперовому фільтрі 2–3 год для того, щоб розкрилися пластинки, які в суху погоду розщеплюються та з'єднуються боками з сусідніми, прикриваючи спори, а у вологу – випрямляються, змикаються і відкривають спори, які можуть осипатися. Плодове тіло гриба з відкритими пластинками закріплювали голкою на ватно-марлевому корку, яким закривали вертикально розміщену пробірку таким чином, щоб спори висипалися на стерильне агаризоване поживне середовище. Як середовище використовували пивне сусло (СА) з додаванням стрептоміцину в концентрації 45 тис. од./л середовища [16]. Через 1-2 доби, після висипання спорового порошку на агаризоване середовище, плодове тіло стерильно видаляли, а пробірку зі спорами

інкубували в термостаті при +28 °С до повного заростання міцелієм, тобто до утворення багатоспорової дикаріотичної культури. Далі проводили 2-3 пасажі на СА з антибіотиком, після чого культуру переносили на середовище без антибіотика (СА або інше) для зберігання. Чистоту культури та її видову приналежність (відсутність сторонньої мікрофлори, морфологічні особливості колонії та міцелію, зокрема наявність пражок) контролювали візуально і мікроскопіюванням.

На відміну від *S. commune*, *L. sulphureus* і *P. Squamosus* формують великі м'ясисті плодові тіла, що робить більш простим і доцільним для отримання чистої культури використання тканевих ізолятів, ніж виділення зі спорового матеріалу.

Афілофороїдний гриб *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill (літіпор, трутовик сірчано-жовтий) є ксилотрофом, факультативним сапротрофом, що викликає багаторічні хвороби дерев, за ареалом поширення – космополіт. Літіпор формує на стовбурі черепичасті скупчення з віялоподібних базидієм яскраво-жовтогарячого кольору, об'єднаних спільною основою, які можуть розростатись стовбуром до 70 см вгору. Маса таких утворень може досягати 20 кг.

Для виділення *L. sulphureus* в культуру краще використовувати м'які, м'ясисті плодові тіла будь-якого віку, не пошкоджені комахами, які можуть зберігатися в холодильнику від 1-2 днів до 1 місяця без втрати якості. Придатними при цьому є будь-які частини базидіюми.

Polyporus squamosus Huds.: Fr. належить до екологічної групи факультативних паразитів, здатних як розвиватися у відмерлій тканині, так і паразитувати на живих органах дерев. Вважається ксилотрофом або лігнофілом. Цей гриб поширений у помірному поясі. Базидіюми *P. squamosus* з'являються на пнях і стовбурах живих, рідше мертвих, дерев листяних порід, мають ниркоподібну форму. Розмір базидіюми коливається в межах від 5 до 50 см.

Для виділення *P. squamosus* у чисту культуру використовували молоді м'які плодові тіла з несформованими шапинками або з шапинками, на яких ще повністю не утворився гіменіальний шар, не пошкоджені комахами. З часу збирання до моменту виділення базидіюми зберігалися не більше тижня або до появи відчутного запаху аміаку. Для отримання чистих культур *P. squamosus* краще використовувати ніжку зачатків базидіюми або її не повністю сформовану шапинку.

Безпосередня методика підготовки базидіюм *L. sulphureus* і *P. squamosus* для виділення в культуру була однією і тою ж. Перед виділенням базидіюми обох видів очищували від бруду, послідовно промивали у проточній водопровідній, дистильованій і стерильній дистильованій воді. Далі базидіюми обробляли розчином 70 %-ного етилового спирту і розламували на окремі частини. З частин, що містилися всередині плодового тіла, скальпелем, простерилізованим у полум'ї газового пальника, вирізали невеликі шматочки. Наступні маніпуляції з *L. sulphureus* і *P. squamosus* дещо різнилися.

Шматочки базидіюм *L. sulphureus* поміщали безпосередньо в чашки Петрі на агаризоване пивне сусло 4° за Балінгом з додаванням антибіотиків пеніциліну і стрептоміцину в кількості 100–200 од./мл [15, 16], після чого чашки переносили в термостат, де інкубували за температури +28 °С.

Шматочки базидіюм *P. squamosus* поміщали у вологу камеру (чашка Петрі, в якій містився змочений стерильною водопровідною водою паперовий фільтр) [15, 16]. Вологі камери ставили в холодильник і витримували там до появи на шматочках плодового тіла повітряного міцелію. Після його появи шматочки гриба переносили у чашки Петрі на таке саме середовище з антибіотиками, як для *L. sulphureus*. Інокульовані чашки поміщали в термостат за температури +28 °С.

Чашки з грибами обох видів витримували в термостаті до появи міцелію на поживному середовищі навколо шматочка базидіюми. Міцелій, що утворився в чашках Петрі, перевіряли під мікроскопом на відповідність його ознак основним характеристикам базидіюміцетів, здійснювали контроль мікробіологічної чистоти і пересівали в пробірки з СА для подальшого зберігання.

Таким чином, із застосуванням описаних вище методик авторами було ізольовано 13 штамів *S. commune*, 13 штамів *L. sulphureus* і 7 штамів *P. Squamosus*, зібраних у різних регіонах України на стовбурах, гілках і деревині різних порід дерев протягом 2001–2003 рр. (таблиця). Ізольовані штами передано до колекції ІВК і наведено в статті під її номерами.

Однією з проблем, що виникають як на різних етапах виділення грибів у чисту культуру, так і при зберіганні й наступних дослідженнях, є можливе контамінування бактерійною мікрофлорою. Бактерійне забруднення у деяких випадках видалається посівом контамі-

Таблиця. Штами базидіальних грибів, виділені авторами в чисту культуру і введені в колекцію культур шапинкових грибів ІВК

Номер штаму в колекції ІВК	Субстрат	Рік виділення культури з природного матеріалу	Регіон
<i>Schizophyllum commune</i>			
1759	<i>Populus sp.</i>	2001	м. Київ
1760	Мертва деревина	2001	м. Київ
1761	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1762	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1763	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1764	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1765	Мертва деревина	2001	м. Київ
1766	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1767	<i>Fagus sp.</i>	2001	Закарпатська обл.
1768	<i>Pinus sp.</i>	2001	м. Київ
1769	<i>Pinus sp.</i>	2001	м. Київ
1770	<i>Pinus sp.</i>	2001	м. Київ
1806	Мертва деревина	2002	м. Київ
<i>Laetiporus sulphureus</i>			
1772	<i>Populus sp.</i>	2001	м. Київ
1773	<i>Cerasus vulgaris</i>	2001	м. Київ
1774	На ґрунті	2001	м. Київ
1775	Із пня, можливо <i>Populus sp.</i>	2001	Київська обл.
1776	Із пня, можливо <i>Aesculus hippocastanum</i>	2001	м. Київ
1811	Із пня без кори листяного дерева, невизначеного	2002	м. Київ
1812	Із пня <i>Populus sp.</i>	2002	м. Київ
1813	<i>Robinia pseudoacacia</i>	2002	м. Київ
1814	Із пня, можливо <i>Aesculus hippocastanum</i>	2002	м. Київ
1815	<i>Cerasus vulgaris</i>	2002	Житомирська обл.
1816	<i>Aesculus hippocastanum</i>	2002	м. Київ
1817	<i>Quercus sp.</i>	2002	Житомирська обл.
1818	<i>Quercus sp.</i>	2002	Житомирська обл.
<i>Polyporus squamosus</i>			
1825	На залишках пня <i>Populus sp.</i> без кори	2003	м. Київ
1826	<i>Aesculus hippocastanum</i>	2003	м. Київ
1827	<i>Acer sp.</i>	2003	м. Київ
1828	<i>Populus sp.</i>	2003	м. Київ
1829	<i>Acer sp.</i>	2003	м. Київ
1830	<i>Acer sp.</i>	2003	м. Київ
1842	На залишках пня без кори	2002	м. Київ

нованого базидіоміцета на агаризоване пивне сусло 4° за Балінгом з додаванням антибіотиків пеніциліну і стрептоміцину в кількості 100–200 од./мл. При цьому бажано зробити 2–3 послідовні пересіви культур. Але оскільки швидкість росту бактерій більша, ніж у макроміцетів, і концентрація антибіотиків не завжди здатна повністю пригнічувати всі види бактерій, то

для очищення виділеного міцелію від сторонньої бактеріальної мікрофлори, крім додавання до середовища антибіотиків, використовували метод міцеліального містка. Для цього в чашки Петрі розливали приблизно по 20 мл агаризованого середовища та після його застигання по діаметру чашки стерильним скальпелем вирізали смужку агару шириною 5–7 мм і глибиною

до дна чашки. На одну половину живильного середовища вміщували агаровий блок з культурою міцелію, що містила сторонню мікрофлору. Чашки інкубували за температури +28 °С, доки грибна культура не утворювала "місток" з повітряного міцелію через ділянку з видаленим середовищем [23]. Далі обережно переносили невеличкі шматочки такого неконтамінованого міцелію на свіже середовище та інкубували в сприятливих для кожного виду гриба умовах. Чистоту культури та її видову приналежність контролювали візуально і мікроскопіюванням.

Оскільки довготривале збереження чистих культур вищих базидіальних грибів є важливим як в лабораторних, так і в промислових умовах, то також було досліджено вплив середовищ різного складу на ріст різних штамів *S. commune*, *L. sulphureus* і *P. squamosus*.

Тривале зберігання грибів досліджуваних трьох видів протягом 6 і 12 місяців здійснювалося при +4 °С із застосуванням різних середовищ. У цих умовах ріст міцелію був практично відсутній із збереженням його життєздатності, про що свідчить поновлення росту культур у разі перенесення їх в умови з температурою +20–28 °С.

Для штамів *S. commune* температура, що сприяла швидшому заростанню поверхні середовищ СА, КГА, СН і СС до перенесення на +4 °С, була переважно +28 °С. Сприятливими для росту культур та зберігання протягом 6 місяців були середовища СА і КГА. При тривалішому зберіганні штами *S. commune*, що інкубувалися на КГА, на відміну від СА, зменшували швидкість росту при подальших пересівах на 10–20 %.

Кращим для зберігання штамів *L. sulphureus* також виявилось агаризоване пивне сусло. Тривале зберігання *L. sulphureus* на КГА призводило до втрати типового жовтогарячого кольору та появи коричневого забарвлення, зу-

мовленого синтезом меланоїдів, що є свідченням відмирання міцелію. Крім того, картопляно-глюкозне середовище менш підходяще для культур внаслідок пришвидшеного висихання та виснажування.

Для тривалого зберігання штамів *P. Squamosus* також більш сприятливими виявилися такі умови: середовище СА і температура +4 °С.

Висновки

Проведено оцінювання ефективності різних методів виділення вищих дереворуйнуючих базидіоміцетів (*Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus* і *Polyporus squamosus*) у чисту культуру та вибрано найбільш ефективні з них для різних видів.

З використанням вибраних методик і поживних середовищ у чисту культуру було виділено 13 штамів *S. commune*, 13 штамів *L. sulphureus* і 7 штамів *P. squamosus*.

Запропоновано умови тривалого зберігання штамів. Для культур досліджуваних видів найкращими для зберігання протягом 12 місяців і більше є агаризоване пивне сусло і температура +4 °С. За необхідності зберігання строком до 6 місяців також можливе використання картопляно-глюкозного агаризованого середовища.

Таким чином, запропоновані методи виділення *Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus* і *Polyporus squamosus* у чисту культуру рекомендовано в подальшому застосовувати для отримання, дослідження, вибору перспективних штамів-продуцентів та створення сучасних біотехнологій отримання БАР різного призначення. Визначені умови тривалого зберігання штамів вказаних вище видів також необхідні як на етапі наукових досліджень, так і для зберігання штамів у промислових умовах без втрати біологічних і технологічних властивостей.

1. Ch. Hobbs, Medicinal Mushrooms: An exploration of Tradition, Healing and Culture. Santa Cruz: Botanica Press, 1995, 251 p.
2. K. Lorenzen and T. Anke, "Basidiomycetes as a Source for New Bioactive Natural Products", Cur. Organic Chemistry, vol. 2, pp. 329–364, 1998.
3. S.P. Wasser et al., "Medicinal Mushrooms: Past, Present and Future", Ukr. Bot. J., vol. 5, pp. 499–524, 2002.
4. Эффективность антиоксидантного действия различных концентраций спиртового экстракта из мицелия каротинсинтезирующего гриба *Laetiporus sulphureus* / Т.С. Гвоздкова, О.Н. Сорока, Т.В. Черноок, М.В. Залашко // Микробиология и биотехнология XXI столетия: Матер. Междунар. конф., посвященной 100-летию со дня рождения С.А. Самцевича, 22–24 мая 2002 г., Минск. – Минск, 2002. – С. 24–25.
5. H.S. Hwang and J. W. Yun, "Hypoglycemic effect of polysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Laetiporus sulphureus* on streptozotocin-induced diabetic rats", Biotech. Bioprocess Eng., vol. 15, pp. 173–181, 2010.

6. *U. Lindequist et al.*, “The Pharmacological Potential of Mushrooms”, *CAM.*, vol. 2, no. 3, pp. 285–299, 2005.
7. *Q. Shen et al.*, “Potential pharmaceutical resours of the Qinling Mountain in central China: medicinal fungi”, *Front. Biol. China*, vol. 4, no. 1, pp. 89–93, 2009.
8. *M.J. Lear et al.*, “Laetirobin from the Parasitic Growth of *Laetiporus sulphureus* on *Robinia pseudoacacia*”, *J. Nat. Prod.*, vol. 72, no. 11, pp. 1980–1987, 2009.
9. *A. Mlinarič et al.*, “Screening of selected wood-damaging fungi for the HIV-1 reverse transcriptase ingibitors”, *Acta Pharm.*, vol. 55, pp. 69–79, 2005.
10. *T. Okamura et al.*, “Cultural characteristics of *Laetiporus sulphureus*, producing an anti-thrombin substance”, *Bull. Mukogawa Women’s Univ. Nat. Sci.*, vol. 48, pp. 65–68, 2000.
11. *Бабицкая В.Г., Шерба В.В., Гвоздкова Т.С.* Новые биологически активные добавки на основе глубинного мицелия базидиальных грибов // *Успехи медицинской микологии*. – М.: Нац. академия микологии, 2006. – 6. – С. 178–181.
12. *Состав и биологическая ценность мицелиальной биомассы гриба *Polyporus squamosus* A-42 / В.Ф. Бекер, М.С. Уртане, С.В. Васильева и др. // Транспортные и обменные процессы в кишечнике животных / Отв. ред. А.Р. Вальдман. – Рига: Зинатне, 1984. – С. 183–194.*
13. *S.V. Reshetnikov et al.*, “Higher Basidiomycota as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides”, *Int. J. Med. Mushrooms*, vol. 3, pp. 361–394, 2001.
14. *M. Yassin et al.*, “Submerged cultured mycelium extracts of higher basidiomycetes mushrooms selectively inhibit proliferation and induce differentiation of K562 human chronic myelogenous leukemia cells”, *Ibid*, vol. 5, pp. 261–276, 2003.
15. *Бухало А.С.* Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – К.: Наук. думка, 1988. – 144 с.
16. *Методы экспериментальной микологии: Справочник / И.А. Дудка, С.П. Вассер, И.А. Элланская и др. – К.: Наук. думка, 1982. – 561 с.*
17. *L. Sigler et al.*, “Diagnostic difficulties caused by a non-clamped *Schizophyllum commune* isolate in a case of fungus ball of the lung”, *J. Clin. Microbiol.*, vol. 33, pp. 1979–1983, 1995.
18. *J. D.Rihs et al.*, “Brain abscess caused by *Schizophyllum commune*: an emerging Basidiomycete pathogen”, *J. Clinical Microbiol.*, no. 34, pp. 1628–1632, 1996.
19. *Сатон Д., Фотергилл А., Ринальди М.* Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Пер. с англ. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
20. *R. Kano et al.*, “First Report on *Schizophyllum commune* from a Dog”, *J. Clinical Microbiol.*, vol. 40, no. 9, pp. 3535–3537, 2002.
21. *A. Dikin et al.*, “Biological Control of Seedborne Pathogen of Oil Palm, *Schizophyllum commune* Fr. with Antagonistic Bacteria”, *Int. J. Agri. Biol.*, vol. 5., no. 4., pp. 507–512, 2003.
22. *T. Schaap and G. Simchen*, “Genetic control of recombination affecting mating factors in a population of *Schizophyllum* and it’s relation to inbreeding”, *Genetics*, vol. 68, pp. 67–75, 1971.
23. *Методы очистки мицелиальных грибных культур от бактериального загрязнения // Микология и фитопатология. – 2003. – 37, № 4. – С. 92–95.*