

УДК 579.22.582.28

В.Г. Бабицька, Н.А. Бісько, І.Р. Клечак,  
Н.Л. Поєдинок, Т.С. Тодосійчук,  
В.В. Щерба

## ВПЛИВ УМОВ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM* (РЕЙШИ) НА БІОСИНТЕЗ ПОЛІСАХАРИДІВ

### Вступ

В останнє десятиліття *Ganoderma lucidum* (рейши) привертає інтерес дослідників як один з перспективних об'єктів сучасної біотехнології одержання функціональних продуктів, які поєднують у собі поживну і лікувально-оздоровчу цінність [1]. Цей гриб широко використовується в східній медицині як імуномодулятор, засіб для стабілізації кров'яного тиску, лікування захворювань серцево-судинної і нервової систем [2–5].

Як показали дослідження, лікувально-профілактичні властивості *Ganoderma lucidum*, зумовлені наявністю у гриба цілого ряду цінних біологічно активних сполук (полісахаридів, стероїдів, терпеноїдів, мікроелементів). Основним діючим началом цього комплексу є полісахариди ( $\beta$ -глюкани).

На даний час структура та фармакологічна дія полісахаридів гриба активно вивчаються [6–8], проте експериментальні дані щодо впливу різних факторів на їх утворення в глибинній культурі обмежені.

### Постановка завдання

Ця стаття ставить за мету повідомити результати дослідження, у ході якого було вивчено вплив компонентів поживного середовища, умов культивування та світлового фактора на утворення полісахаридів грибом *G. lucidum* при глибинному культивуванні.

У статті наводиться характеристика вуглеводного складу ендо- і екзополісахаридів в залежності від досліджених факторів.

### Матеріали і методи дослідження

У роботі використовували 2 штами лікарського гриба *Ganoderma lucidum* (Kurt.: Fr.) P. Karst. 1621 і 1607, що зберігаються в колекціях культур шапинкових грибів Інституту ботаніки НАН України і мікроорганізмів Інституту мікробіології НАН Білорусі. Міцелій вирощували на глюкозопептонному середовищі (г/л): глюкоза –

10,0, пептон – 3,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0,  $\text{MgSO}_4$  – 0,25, кукурудзяний екстракт – 2,0 у колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл з 150 мл середовища на круговій качалці при 180 об/хв, а також у ферментаційних апаратах АК-10 (Росія) протягом 4–8 діб. Після вирощування гриба міцелій відокремлювали від культуральної рідини фільтруванням через щільну тканину, промивали дистильованою водою і використовували для проведення відповідних аналізів. Концентрацію біомаси визначали ваговим методом. Кількісне визначення залишкового вмісту джерела вуглецю в культуральному фільтраті встановлювали (після виділення полісахариду) за реакцією з фенолом у присутності сірчаної кислоти [9]. Розраховували економічний коефіцієнт (ЕК) синтезу полісахаридів і продуктивність процесу біосинтезу полісахаридів [10].

### Світлова обробка міцелію

Міцелій, який вирощували глибинним способом на глюкозопептонному середовищі на качалці, стерильно розливали тонким шаром у плоскодонні колби й опромінювали за допомогою аргонного і He-Ne-лазера в червоній (632,8 нм), зеленій (514,5 нм) або синій (457,9 нм) частинах спектра. При виборі експозиції ми виходили з припущення, що можливий механізм, відповідальний за біологічну активність світла, ініціюється поглинанням окремого фотона лазерного випромінювання з порушенням молекул біологічної системи. Виходячи з цього, експозиція вибиралася така, щоб число падаючих фотонів було практично однаковим при обробці міцелію світлом різної довжини хвилі. Неопромінений (контроль) і опромінений міцелій використовували для інокуляції ферментаційних середовищ.

### Виділення і визначення полісахаридів

Для одержання внутрішньоклітинних полісахаридів подрібнений міцелій заливали дистильованою водою в співвідношенні 1:5, кип'ятили на водяній бані 12–18 год, центрифугували при 3000g 15 хв. Одержаний супернатант обробляли етиловим спиртом (1:1). Полісахарид, який випав у осад, діалізували, переосаждували етиловим спиртом (1:2), промивали ефіром, ацетоном і сушили при 40 °C [11]. Для кількісного визначення полісахаридів наважку сухого міцелію (100 мг) поміщали в пробірку об'ємом 20 мл, доливали 5 мл 1М NaOH, закривали ватно-марлевою пробкою й екстрагували в термостаті при 60 °C протягом 1 години, періодично перемішуючи [12]. Отриманий екстракт центрифугували 20 хв. при 5000g. Осад відокремлювали та визначали у

супернатанті вміст полісахариду фенол-сірчано-кислотним методом [9].

Для ізоляції екзополісахаридів культуральної рідини випарювали в 2–3 рази, осаджували етиловим спиртом (1:1), залишали при температурі 4°C до повного осадження. Потім полісахариди, які були осаджені, відокремлювали центрифугуванням, діалізували, переосаджували спиртом, відокремлювали центрифугуванням і сушили при температурі 40°C [13].

Вуглеводний склад полісахаридів після попереднього гідролізу їх сірчаною кислотою в концентрації 7% на киплячій водній бані протягом 5 годин визначали методом газорідинної хроматографії у вигляді триметилсилільних (ТМС) похідних сахарів, ТМС-похідні вуглеводів і мітчиків, за які правили ксилоза, маноза, галактоза, глюкоза ("Sigma", США), одержували за методом, описаним у праці [14]. Хроматографію проводили на приладі "Chrom 5" (Чехія) з пламеневіоїнізаційним детектором, використовуючи колонку з нержавіючої сталі 2,8 м заввишки, заповнену хроматоном N-AW-HMDS з 5%-ю рідкою фазою SE-30, при програмуванні температури в межах від 140 до 280°C зі швидкістю 5°C на хвилину. Вміст кожного моносахариду розраховували як відсоток площі його піка від загальної суми площ піків на хроматограмі.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням комп'ютерних програм Excel, Harvard Chart.

### Результати та їх обговорення

Ефективність біотехнологічного процесу, що базується на глибинному культивуванні грибів,

значною мірою залежить від технологічності рідкого поживного середовища, кількості і якості джерел вуглецевого й азотного живлення, які воно містить. Також важливим фактором ефективності ферментаційного процесу поряд з такими параметрами, як швидкість росту, продуктивність, вихід продукту, економічний коефіцієнт та інші, є активність посівного міцелію.

Як джерела вуглецю використовували моно-, ди- і полісахариди, а також поліози. З 13 досліджених джерел (глюкоза, арабіноза, ксилоза, галактоза, маноза, фруктоза, лактоза, мальтоза, сахароза, маніт, сорбіт, крохмаль, целюлоза) кращими для росту й утворення полісахаридів грибом *G. lucidum* виявилися глюкоза, лактоза і крохмаль. Вміст ендopolісахаридів склав 8,5–9,5%, екзopolісахаридів – 4,0–4,8 г/л. Вихід полісахаридів і кількість біомаси збільшувалися з підвищенням вмісту в середовищі джерела вуглецю. Однак максимальне значення ефективності біосинтезу, розраховане як співвідношення маси отриманих полісахаридів до маси внесеного джерела вуглецю, отримано при вирощуванні гриба в середовищах з 30 г/л джерела вуглецю. Збільшення його концентрації з 30 до 50 г/л не призвело до значного підвищення рівня як екзо-, так і ендopolісахаридів.

Для визначення впливу різних джерел азоту використовували переважно органічні добавки, з неорганічних –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . З досліджених джерел азоту оптимальним для утворення полісахаридів *G. lucidum* виявився сульфат амонію. Найбільший вихід ендopolісахаридів отриманий при співвідношенні С:N, близькому до 18, екзopolісахаридів – до 25 (табл. 1).

Таблиця 1. Біосинтез полісахаридів штамами *G. lucidum* при різному співвідношенні С:N

С:N	Біомаса, г/л	Залишковий вміст джерела вуглецю, %	Екзopolісахариди, г/л	Ендopolісахариди, % від біомаси	ЕК синтезу, % від використаного джерела вуглецю	
					екзopolісахариди	ендopolісахариди
<i>G. lucidum</i> 1621						
18,0	11,4	1,0	5,8	10,0	29,00	5,85
25,0	10,8	1,1	6,3	9,2	33,15	5,23
29,0	10,0	0,9	6,0	8,7	28,57	4,14
<i>G. lucidum</i> 1607						
18,0	12,0	0,6	5,5	12,6	22,90	6,30
25,0	11,7	0,8	6,2	9,8	28,18	5,21
29,0	10,0	0,9	5,7	7,2	27,14	3,42

Оптимізація поживних середовищ дозволила підвищити синтез екзополісахаридів на 29,2–57,5%, ендополісахаридів – на 17,6–32,6% (табл. 2).

Найважливішими факторами, що регулюють ріст і метаболізм вищих базидіоміцетів у культурі, є температура, рН поживного середовища, аерація. Ці фактори впливають на роз-

Близькі результати були отримані для грибів цього ж роду іншими дослідниками [17], що також відзначили розходження у впливі вихідного рН середовища на ріст грибів і продукування ними полісахаридів.

На процес глибинного культивування базидіального гриба *G. lucidum* значний вплив здійснювали умови аерації, інтенсивність якої визначали, варіюючи рівень масообміну за рахунок зміни обсягу поживного середовища (від 30 до 250 мл/750 мл). При вирощуванні досліджуваного гриба в колбах з різною кількістю середовища було встановлено, що максимальна кількість біомаси накопичувалася при високій аерації 0,555–0,325 г O<sub>2</sub>/л/год (50–150 мл середовища/750 мл), максималь-

Таблиця 2. Вплив оптимізації поживного середовища на утворення полісахаридів штамами *G. lucidum*

Штам	Екзополісахариди, г/л			Ендополісахариди, % від біомаси		
	до оптимізації	після оптимізації	% збільшення	до оптимізації	після оптимізації	% збільшення
1621	4,0	6,3	57,5	8,5	10,0	17,6
1607	4,8	6,2	29,2	9,5	12,6	32,6

не утворення полісахаридів відзначене при більш низькій (0,325–0,155 г O<sub>2</sub>/л/год. (екзо-) і 0,210–0,155 г O<sub>2</sub>/л/год. (ендополісахариди)). Аналогічна закономірність спостерігалася при вирощуванні гриба у ферментерах, що показано на прикладі штаму 1607. Різний рівень аерації досягався за допомогою зміни подачі повітря від 0,5 до 2,0 л/л·хв. При аерації 0,5 л/л·хв біомаса не перевищувала 8,7 г/л, вміст полісахаридів у біомасі – 11,5%, екзополісахаридів – 9,3 г/л. Підвищення аерації до 1,0 л/л·хв сприяло активізації росту гриба – біомаса склала 9,5 г/л, ендополісахариди – 12,2%, екзополісахариди – 9,7 г/л. При збільшенні аерації до 1,5 л/л·хв накопичення біомаси досягало більшого значення (11,0 г/л), однак вміст полісахаридів у біомасі і культуральному середовищі знижувався (10,6% – ендо- і 8,5 г/л – екзополісахариди). При різних рівнях аерації ріст гриба супроводжувався зниженням рН культурального середовища. Вміст лактози до кін-

чинність солей, іонний стан субстратів, морфологію клітин і їхню структуру, обумовлюють фізіологічну активність культур, у тому числі впливають на властивості клітинних стінок, транспорт поживних речовин, мембранні реакції, швидкість росту і метаболізм, а також здатність засвоювати ті або інші види харчування [15, 16].

Оптимальною для росту й утворення ендоекзополісахаридів грибом *G. lucidum* була температура 25–30° С (рис. 1).

Як показали дослідження, *G. lucidum* міг рости в широкому діапазоні початкових значень рН середовища, від 3,0 до 7,5 і вище. Найбільший вихід біомаси спостерігався при вихідному рН 6,0–7,0. Зниження рН від 6,0 до 4,0 призводило до більш активного утворення як ендоекзополісахаридів. Найбільша продуктивність обох штамів *G. lucidum* за цими показниками відзначена при рН 4,0–6,0 (екзо-) і 5,0–6,5 (ендоекзополісахариди) (табл. 3).

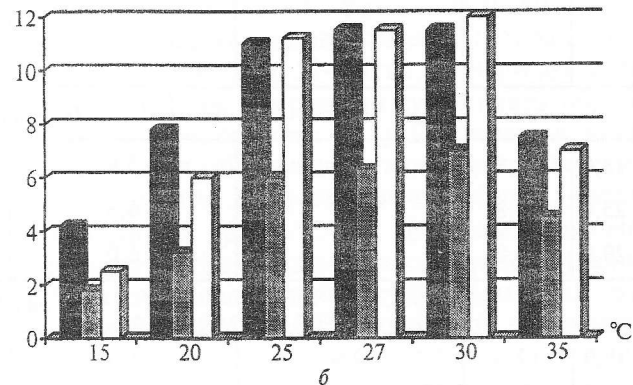
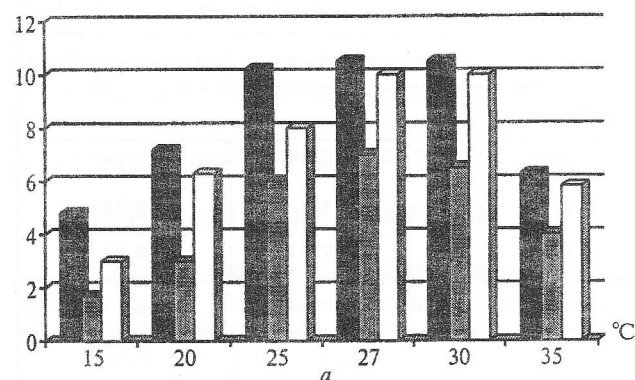


Рис. 1. Вплив температури на ріст і утворення полісахаридів штамом 1621 *G. lucidum* (а) і штамом 1607 *G. lucidum* (б): ■ – біомаса, г/л; ■ – екзополісахарид, г/л; □ – ендополісахарид, %

Таблиця 3. Утворення полісахаридів штамами *G. lucidum* при різних значеннях рН

Вихідний рН	Кінцевий рН	Біомаса, г/л	Екзополісахарид, г/л	Продуктивність біосинтезу екзополісахаридів, мг/л·добу	Ендополісахариди, % від біомаси	Продуктивність біосинтезу ендополісахаридів, мг/л·добу
<i>G. lucidum</i> 1621						
3,0	2,5	6,0	5,4	675,0	10,0	75,0
4,0	2,6	7,5	6,5	812,5	11,7	109,7
5,0	2,8	8,2	6,8	850,0	11,5	117,9
6,0	2,8	11,0	6,3	787,5	9,8	128,3
6,5	2,4	11,5	5,0	625,5	9,0	129,4
7,0	2,5	11,3	4,8	600,0	8,0	113,0
7,5	2,5	9,5	4,0	500,0	7,3	86,7
<i>G. lucidum</i> 1607						
3,0	2,6	5,0	4,3	537,5	10,5	66,3
4,0	2,8	7,2	6,5	812,5	12,8	115,2
5,0	2,8	9,9	6,3	787,5	12,6	156,0
6,0	2,9	12,0	6,2	775,0	11,6	174,0
6,5	2,8	12,7	4,6	575,0	9,5	150,8
7,0	2,9	11,8	4,6	575,0	9,0	132,8
7,5	2,9	9,5	3,8	475,0	8,5	100,9

Примітка: тривалість культивування – 8 діб

ця ферментації склав 10,0–14,0 г/л. Трохи активізувався ріст гриба за тих самих умов аерації при перемішуванні: при швидкості перемішування 100 об/хв біомаса досягала 12,0 г/л (рис. 2).

Вміст полісахаридів у біомасі – 14,0%, у культуральному середовищі – 10,7 г/л. Однак, при проведенні культивування як без перемішування, так і з перемішуванням, зберігалася загальна закономірність: більша кількість біомаси

накопичувалася при збільшенні аерації, більша кількість полісахаридів – при зменшенні.

Підвищення аерації до 2 л/л·хв при швидкості перемішування 100 об/хв і вище супроводжувалося значним піноутворенням, подрібненням гіф гриба, що призвело до поганої фільтрації й ускладнювало процес одержання самого міцелію. При низькому рівні аерації з перемішуванням середовище через велику кількість

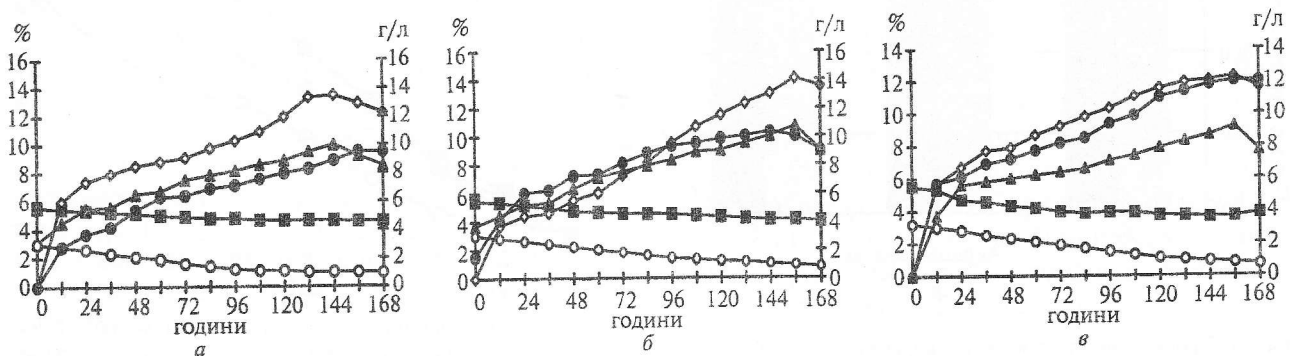


Рис. 2. Ферментація штаму 1607 *G. lucidum* при перемішуванні 100 об/хв і різних режимах аерації (л/л середовища · хв): а – 0,5; б – 1,0; в – 1,5: ■ – кінцевий рН; ▲ – екзополісахарид, г/л; ● – біомаса, г/л; ◆ – ендополісахарид, %; ○ – джерело вуглецю, %



полісахаридів ставало в'язким, що також ускладнювало процес фільтрації. Оптимальне співвідношення між максимальним накопиченням біомаси й утворенням полісахаридів досягалося при аерації 1,0 л/л·хв і перемішуванні 100 об/хв (рис. 3).

Як і слід було очікувати, оптимізація (за співвідношенням С: N) умов глибинного культивування *G. lucidum* для утворення полісахаридів істотно не вплинула на їхній вуглеводний склад. Полісахариди, утворені штамом 1607 *G. lucidum*, були переважно глюкозаними, штамом 1621 *G. lucidum* – гетерогліканами (табл. 4).

Хоча гриби і не є фототрофними організмами, проте вплив світла на їх ріст, розвиток, морфологію і біосинтетичну активність у даний час не викликає сумніву [18]. Раніше нами був встановлений факт стимуляції росту і розвитку *G. lucidum* у поверхневій культурі і на твердих субстратах [19, 20].

Таблиця 4. Вплив оптимізації поживного середовища на вуглеводний склад полісахаридів *G. lucidum* (% у полісахариді)

Вуглевод, %	<i>G. lucidum</i> 1621		<i>G. lucidum</i> 1607	
	до оптимізації	після оптимізації	до оптимізації	після оптимізації
Екзополісахариди				
Маноза	1,75	2,25	сліди	не визначалася
Галактоза	10,05	8,35	6,19	сліди
Глюкоза	88,20	89,40	93,81	100,0
Разом:	100,0	100,0	100,0	100,0
Ендополісахариди				
Маноза	1,50	2,33	сліди	не визначалася
Галактоза	6,02	12,83	сліди	не визначалася
Глюкоза	92,48	84,84	100,0	100,0
Разом:	100,0	100,0	100,0	100,0

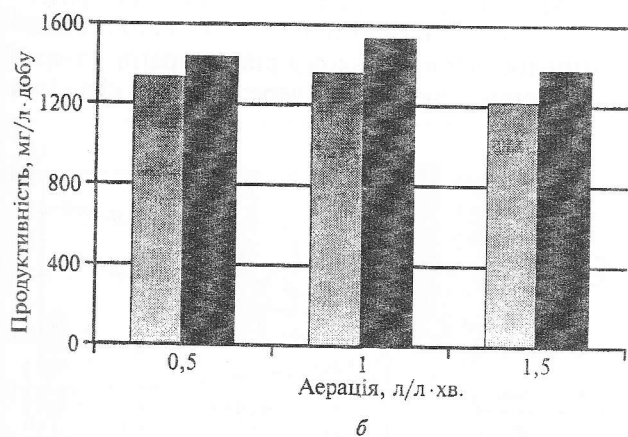
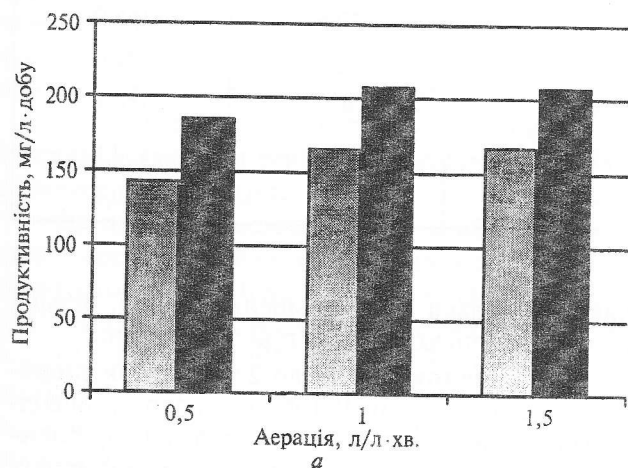


Рис. 3. Продуктивність процесу утворення ендо- (а) і екзополісахаридів (б) штамом 1607 *G. lucidum*: □ – без перемішування; ■ – з перемішуванням

При вивченні факторів, що впливають на ріст цього гриба в глибинній культурі, встановлено, що опромінення посівного міцелію монохроматичним світлом у червоному, зеленому і синьому діапазонах довжин хвиль стимулювало його ріст і накопичення біомаси. Опромінення в усіх варіантах дослідів веде до скорочення лаг-фази і збільшення швидкості росту культур (рис. 4).

Найбільш ефективним виявилось опромінення червоним світлом. Опромінення в цьому режимі сприяло збільшенню виходу біомаси на 43% (табл. 5). Це можна пояснити підвищенням біологічної активності міцелію. У біотех-

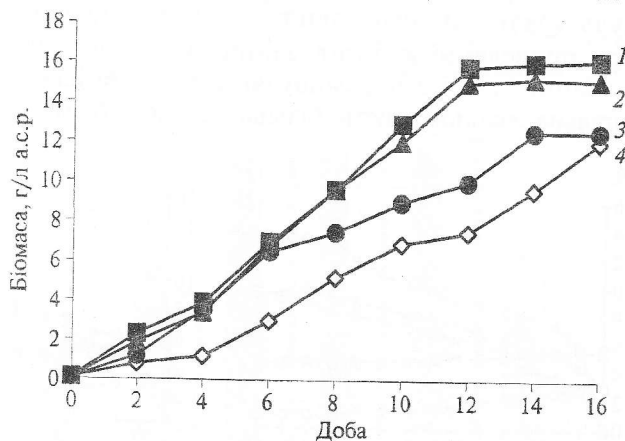


Рис. 4. Динаміка накопичення біомаси штамом 1607 *G. lucidum* після світлових впливів: 1 – довжина хвилі 632,8 нм; 2 – 457,9 нм; 3 – 514,5 нм; 4 – контроль, без опромінення

Таблиця 5. Накопичення біомаси *G. lucidum* (г/л а.с.р.) після світлових обробок при різних дозах посівного міцелію

Доза посівного міцелію, %	Контроль, без опромінення	Довжина хвилі опромінення, нм		
		632,8	514,5	457,9
5	8,9	13,3	11,8	12,3
2,5	6,5	12,6	11,0	11,5
1,2	4,6	9,9	8,4	9,3

Примітка: визначення кількості біомаси проводили через 14 діб інкубації.

нологічних процесах глибинного культивування при одержанні біомаси і біологічно активних речовин активність посівного міцелію є одним з факторів, що визначають процес подальшої ферментації та її результативність.

Одним із важливих моментів, що впливають на економічну ефективність біотехнологічного процесу, є кількість посівного матеріалу, який використовувався при інокуляції ферментаційного середовища. Проведені нами дослідження з впливу різних доз посівного міцелію *G. lucidum* на накопичення біомаси при глибинному культивуванні показали, що обробка міцелію перед посівом світлом дозволяє знизити дозу його внесення в середовище (див. табл. 5). Так, зниження дози опроміненого міцелію при інокуляції поживного середовища у два рази не спричиняє негативного впливу на процеси накопичення біомаси і синтезу полісахаридів. При мінімальній дозі внесення опроміненого міцелію (1,2%) накопичення біомаси вище, ніж у контролі при інокуляції субстрату 5%-ого неопроміненого міцелію. Слід зазначити, що при зменшенні дози внесення посівного міцелію позитивний ефект опромінення зростає – при 2,5%-ому внесенні опроміненого міцелію накопичення біомаси збільшується на 94% порівняно з контролем, при 1,2% – на 115%. Це узгоджується з даними інших дослідників, які вважають, що фоторегуляція в позитивному сенсі (стимуляція) може відбуватися тільки тоді, коли швидкість росту культури не є максимально можливою [21]. Використання світлового фактора в біотехнології глибинного культивування *G. lucidum* дозволило збільшити біосинтез екзополісахаридів на 47% і ендopolісахаридів на 64% (табл. 6).

Таблиця 6. Біосинтез полісахаридів *G. lucidum* після світлових обробок

Довжина хвилі випромінювання, нм	Полісахариди			
	Екзо-, г/л	Збільшення, %	Ендо-, % від біомаси	Збільшення, %
Контроль без опромінення	4,6		7,6	
632,8	6,8	47,9	12,3	61,9
514,5	5,8	26,0	10,1	32,9
457,9	6,3	43,7	12,6	64,0

### Висновки

1. Найбільший вихід ендopolісахаридів у *G. lucidum* спостерігався при співвідношенні C:N, близькому до 18; температурі – 25–30°C; вихідному рН середовища – 4,0–6,0.

2. Зростання біосинтезу біомаси спостерігається при аерації до 0,5 гО<sub>2</sub>/л/год., а біосинтезу полісахаридів – при нижчих значеннях аерації (0,2–0,3 гО<sub>2</sub>/л/год.).

3. Оптимальне співвідношення між ростом гриба і утворенням полісахаридів спостерігається при аерації 1,0–1,5 л/л середовища-хв і перемішуванні 100 об/хв.

4. Завдяки опроміненню гомогенізованого посівного міцелію *G. lucidum* лазерним світлом досягнуто підвищення накопичення біомаси у 1,5–2,0 рази, збільшення синтезу екзо- і ендopolісахаридів при зменшенні кількості використаного посівного міцелію у ферментаційному середовищі.

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу досліджуваних факторів на інші перспективні види грибів з метою розробки біотехнологій отримання продуктів лікувально-профілактичного призначення.

Дослідження проводилося в рамках виконання спільного проекту Державного фонду фундаментальних досліджень Міністерства освіти і науки України та Державного фонду фундаментальних досліджень Білорусі.

В.Г. Бабицкая, Н.А. Бисько, И.Р. Клечак,  
Н.Л. Поедино, Т.С. Тодосийчук, В.В. Щерба

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM* (РЕЙШИ) НА БИОСИНТЕЗ ПОЛИСАХАРИДОВ

Исследование влияния условий культивирования лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* на биосинтез полисахаридов позволило установить оптимальные компоненты питательной среды и условия глубинного культивирования, благоприятные для накопления полисахаридов. Установлено положительное влияние лазерного света на рост, накопление биомассы и биосинтетическую активность этого гриба. Показано, что условия культивирования не влияют на углеводный состав эндо- и экзополисахаридов.

V.G. Babitskaya, N.A. Bisko, I.R. Klechak,  
N.L. Poyedynok, T.S. Todosiychuk, V.V. Shcherba

INFLUENCE OF SUBMERGED CULTIVATION CONDITIONS OF MEDICINAL FUNGUS *GANODERMA LUCIDUM* (REYSHI) ON POLYSACCHARIDES BIOSYNTHESIS

Investigation of the influence of cultivation conditions of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum* on biosynthesis of polysaccharides allowed to establish the optimum components of the culture medium and conditions of submerged cultivation that is favourable for the accumulation of polysaccharides. The positive influence of the lazer light on the growth, biomass accumulation and biosynthetic activity of this fungus was established. It was shown that the cultivation conditions do not cause the influence to carbohydrate composition of endo- and exopolysaccharides.

1. Бабицкая В.Г., Хлюстов С.В., Пленина Л.В., Щерба В.В. и др. Биотехнология культивирования лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* // Биотехнология. – 2003. – № 4. – С. 35–44.
2. Stamets P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms / Ed. P. Stamets. – Berkley, Toronto: Ten Speed Press, 2000. – 574 p.
3. 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 // Микология и фитопатология. – 2003. – 37, № 3. – С. 14–19.
4. Hsu M.J., Lee S.S., Lin W.W. Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* inhibits spontaneous and Fas-mediated apoptosis in human neutrophils through activation of the phosphatidylinositol 3 kinase / Akt signaling pathway // J. Leukocyte Biol. – 2002. – 72, N 2. – P. 207–215.
5. Краснопольская Л.М., Антимонова А.В., Белицкий И.В. и др. Получение биомассы лекарственных грибов трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst и шиитаке *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. в погруженной культуре // Успехи медицинской микологии. Матер. I Всерос. конгр. по медицинской микологии. М.: Нац. академия микологии, 2003. – Т. 1. – С. 281–283.
6. Reshetnikov S.V., Wasser S.P., Tan K.K. Higher Basidiomycota as a Source of Antitumor and Immunostimulating Polysaccharides (Review) // Int. J. Med. Mushrooms. – 2001. – 3, N 4. – P. 361–394.
7. Berovič M., Jožica H., Zore I. et al. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides // J. Biotechnol. – 2003. – 103, N 1. – P. 77–86.
8. Bao X., Liu C., Fang J., Li X. Structural and immunological studies of major polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst // Carbohydrate Research. – 2001. – 33, N 1. – P. 67–74.
9. Грушенко М.М., Аникиенко Т.С., Резников В.М. Лигно-углеводные комплексы древесины / Под ред. В.Н.Сергеевой. – Рига: Зинатне, 1978. – 70 с.
10. Юрлова Н.А., Копылова Г.В. Оптимизация питательной среды для биосинтеза экзополисахарида *Aureobasidium pullulans* (D BY.) arnaud, F-371 // Микология и фитопатология. – 1993. – 27, № 5. – С. 56–62.
11. Chihara G., Hamuro J., Maeda Y.Y. et al. Fractionation and purification of polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom) // Cancer Res. – 1970. – 30, N 11. – P. 2776–2781.
12. Tang Y.J., Zhong J.J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enzyme and Microb. Technol. – 2002. – 31, N 1. – P. 20–28.
13. Babitskaya V.G., Scherba V.V., Miropolskaya N.Y., Bisko N.A. Exopolysaccharides of Some Medicinal Mushrooms: Production and composition // Int. J. Med. Mushrooms. – 2000. – 2, N 1. – P. 51–54.
14. Методы исследования углеводов / Под ред. А.Я. Хорлина. – М.: Мир, 1975. – С. 9–13.
15. Горшина Е.С., Скворцова М.М., Бирюков В.В. Технология получения биологически активной субстанции ле-

- картвенного гриба кориола опушеного // Биотехнология. – 2003. – № 2. – С. 45–53.
16. *Tang Y.J., Zhong J.J.* Role of oxygen supply in submerged fermentation of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid // *Enzyme and Microb. Technol.* – 2003. – 32, N 4. – P. 478–484.
17. *Fang Q.H., Zhong J.J.* Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* // *Process Biochem.* – 2002. – 37, N 7. – P. 769–774.
18. *Горовой Л.Ф.* Влияние света на морфогенез шляпочных грибов. – К.: Институт ботаники ім. М.Г. Холодного, 1989. – 44 с.
19. *Poyedinok N., Negriyko A., Potemkina J.* Prospects of Application Low Intensity Laser Light in Biotechnologies of Cultivation of Edible Mushrooms // *Int. J. Medicinal mushrooms.* – 2005. – 3. – P. 448.
20. *Poyedinok N., Negriyko A., Potemkina J.* Growth and yielding some edible mushrooms after their treatments by argon or helium-neon laser radiation. // *X<sup>th</sup> Intern. Cong. of Mycology, Paris, 27<sup>th</sup> July to 1<sup>st</sup> August 2002.* – P. 373.
21. *Кару Т.Й.* Про молекулярний механізм терапевтичного действия низкоинтенсивного лазерного облучения // *ДАН.* – 1986. – 291, № 5. – С. 1245–1249.

Рекомендована Радою факультету біотехнології і біотехніки НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції  
26 жовтня 2006 року