



## Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma* (*Ganodermataceae*) в культурі

Данило О. БОРОМЕНСЬКИЙ, Ніна А. БІСЬКО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська 2, Київ 01004, Україна  
[danylo.boromenskyi@gmail.com](mailto:danylo.boromenskyi@gmail.com)

Boromenskyi D.O., Bisko N.A. 2019. **Micromorphological features of species of *Ganoderma* (*Ganodermataceae*) in pure culture.** *Ukrainian Botanical Journal*, 76(6): 486–492.

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine  
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01004, Ukraine

**Abstract.** Mycelial microstructures of taxa of the genus *Ganoderma* from the IBK Culture Collection of Mushrooms at the M.G. Kholodny Institute of Botany NASU were investigated by light microscopy and scanning electron microscopy. In total, seven strains of the following five species were studied: *G. carnosum*, *G. resinaceum*, *G. sinense*, *G. tsugae*, and *G. oregonense*. Mycelium of all these species consists of thin-walled septate hyphae of different size. Characteristic microstructures for vegetative mycelia were observed: clamp connections, swollen hyphae, mycelial pellicle, mycelial cords, staghorn (coralloid) hyphae, and chlamydospores. For *G. carnosum* the following mycelial microstructures were found: single clamp connections with or without anastomoses, double clamp connections with anastomoses and rarely swollen hyphae; for *G. resinaceum* and *G. sinense* – single clamp connections, large number of staghorn hyphae, sometimes with perforations; in addition, for *G. resinaceum* ellipsoid chlamydospores with smooth surface were observed. Mycelium of *G. tsugae* was found to have two kinds of clamp connections, single clamps with or without anastomoses while in mycelium of *G. oregonense* single clamp connections and occasionally swollen hyphae were seen. Double clamp connections and those with anastomoses were noticed for the first time in vegetative mycelium of *G. carnosum*, as well as staghorn hyphae – in the mycelia of *G. sinense* and *G. carnosum*.

**Keywords:** *Ganoderma*, mycelium, microstructures, macromycetes, scanning electron microscopy, pure culture

Submitted 06 March 2019. Published 29 December 2019

Бороменський Д.О. Бісько Н.А. 2019. **Мікроморфологічні особливості грибів роду *Ganoderma* (*Ganodermataceae*) в культурі.** *Український ботанічний журнал*, 76(6): 486–492.

**Реферат.** Досліджено мікроструктури вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІБК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за допомогою світлової та електронної сканувальної мікроскопії. Для дослідження було відібрано 7 штамів 5 видів: *G. carnosum*, *G. resinaceum*, *G. sinense*, *G. tsugae*, і *G. oregonense*. Міцелій всіх зразків складався з тонкостінних, септованих, розгалужених гіф різних розмірів. Описані основні типи будови та мікроструктури вегетативного міцелію цих грибів, а саме: пряжки, потовщення гіф, міцеліальна плівка, міцеліальні тяжі, коралоподібні гіфи, хламідоспори. Встановлено, що для міцелію *G. carnosum* характерні поодинокі пряжки з анастомозами або без них, подвійні пряжки з анастомозами, деколи потовщення гіф; для міцелію *G. resinaceum* та *G. sinense* – поодинокі пряжки, велика кількість коралоподібних гіф, інколи з перфораціями; також для *G. resinaceum* характерні еліпсоїдні хламідоспори з гладенькою поверхнею; для міцелію *G. tsugae* – два види прямих: поодинокі з анастомозами та без них; для міцелію *G. oregonense* – поодинокі пряжки та потовщення гіф (траплялись досить рідко). Для вегетативного міцелію *G. carnosum* подвійні пряжки з анастомозами описані вперше. Також нами вперше виявлено коралоподібні гіфи міцелію *G. sinense* та *G. carnosum*.

**Ключові слова:** *Ganoderma*, макроміцети, мікроструктури, міцелій, сканувальна електронна мікроскопія, чиста культура

## Вступ

Лікарські властивості грибів роду *Ganoderma* P.Karst. відомі в Китаї та інших країнах Південно-Східної Азії тисячі років (Wasser, 2010). Відкриття антибіотиків у другій половині ХХ століття та розробка методів культивування мікроорганізмів дали чималий поштовх для інтенсивного та детального вивчення біологічно активних сполук грибів, а також створення лікарських препаратів на їхній основі. Основним матеріалом для досліджень були гриби, які використовуються в народній медицині, в т. ч. види роду *Ganoderma* (Buchalo et al., 2011). Встановлено, що вони містять численні біологічно активні сполуки – полісахариди різного складу, стероїдні компоненти, тритерпени, ганодерові кислоти тощо (Wasser, 2010; Buchalo et al., 2011). Ці речовини проявляють протипухлинні, імуномодельючі, цитотоксичні, антидіабетичні, гепатопротекторні, антибактеріальні, антиоксидантні та інші властивості (Boh et al., 2007; Buchalo et al., 2011; Bisko et al., 2012; Li-Ying et al., 2014; Belova, 2016).

Відомо, що біологічно активні сполуки накопичуються не тільки в плодових тілах макроміцетів, а також у міцелії та культуральній рідині (Wasser, 2011). Глибинне культивування міцелію грибів дозволяє скоротити термін отримання цільового продукту та завдяки оптимізації умов вирощування проводити направлений синтез біологічно активних речовин (Bisko et al., 2012).

Однак, використання міцелію макроміцетів потребує визначення таксономічно значущих критеріїв для ідентифікації грибів у чистій культурі (Buchalo, Diduch, 2005). Використання сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ) дає більше можливостей для вивчення мікроструктур, ніж класичний метод світлової мікроскопії (СМ). Хоча сучасні таксономічні дослідження проводяться переважно за допомогою молекулярних методів (Jargalmaa et al., 2017, Tchotet Tchoumi et al., 2019), досі існують проблеми – за влучним висловом Х. Ріхтера рід *Ganoderma* перебуває у стані "таксономічного хаосу" (Richter et al., 2014). Тому подальші дослідження, направлені на виявлення нових морфологічних ознак для їхнього використання у якості таксономічних критеріїв, є актуальними.

## Матеріали та методи

Для дослідження було обрано штами з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Bisko et al., 2016). Культури вирощували на глюкозо-пептон-дріжджовому агарі (ГПДА), г/л: глюкоза – 25; пептон – 3; дріжджовий екстракт – 3;  $MgSO_4$  – 0,25;  $KH_2PO_4$  – 1;  $K_2HPO_4$  – 1; агар-агар – 22; рН 6,0 у чашках Петрі.

Мікроструктури міцелію досліджували за допомогою методів СМ та СЕМ. Зразки вегетативного міцелію для СМ готували у 3%-му розчині NaOH та досліджували за допомогою мікроскопу ІБМ 68. Зразки вегетативного міцелію для СЕМ були підготовлені за модифікованою методикою Квательбаума та Карнера (Quattelbaum, Carner, 1980). Під час інокуляції міцелію на чашки Петрі з середовищем ГПДА на різній відстані від інокулюму викладались декілька стерильних покривних скелець розміром  $4 \times 4$  мм. Міцелій інкубували за температури  $26 \pm 1$  °С. Після того, як шматочки покривних скелець повністю заросли міцелієм, вони були вирізані з поверхні живильного агаризованого середовища та перенесені на предметне скло. Далі скельце поміщали у закриту скляну чашку Петрі з парами тетраоксиду осмію на 6 год. Після закінчення терміну фіксації препарати висушували протягом 72 год у відкритій посудині. Зразки міцелію напиляли золотом та досліджували за допомогою СЕМ JSM-35С та Jeol JSM-6060 LA (Японія) за описаною методикою (Buchalo, Diduch, 2005). Вегетативні структури описані за класифікацією Сталперса (Stalpers, 1978).

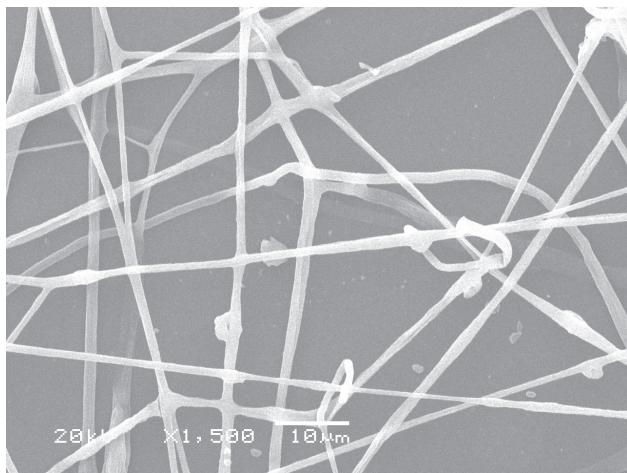
## Результати та обговорення

Наводимо результати вивчення вегетативного міцелію в чистій культурі.

### *Ganoderma carnosum* Pat.

**СЕМ.** Міцелій складається зі септованих, тонкостінних, розгалужених гіф діаметром 1–5 мкм (рис. 1, А). Зрідка трапляються потовщення гіф. Спостерігаються пряжки трьох типів: поодинокі медальйонного типу; поодинокі з анастомозом між пряжкою та гіфою; подвійні з анастомозами між пряжками та гіфами та між собою (рис. 1, С).

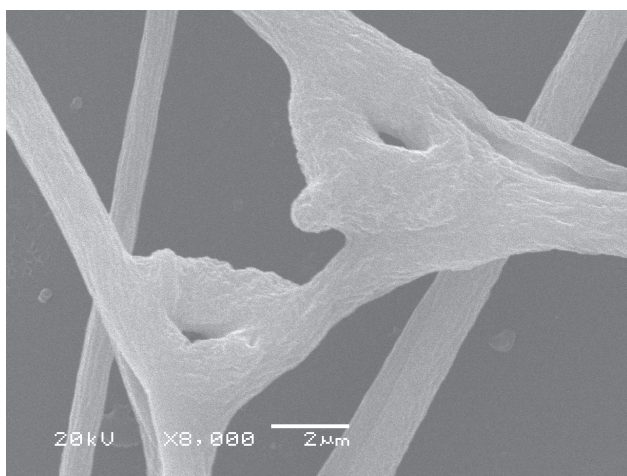
**СМ.** На міцелії при довготривалому культивуванні (60 діб) виявлені коралоподібні гіфи (рис. 1, В).



A



B



C

Рис. 1. *Ganoderma carnosum* 2502.

A: вегетативні гіфи з пружками, СЕМ (×1500); B: корало-подібні гіфи, СМ (×40); C: подвійні пружки, СЕМ (×8000)

Fig. 1. *Ganoderma carnosum* 2502.

A: vegetative hyphae with clamp connections, SEM (×1500); B: staghorn hyphae, LM (×40); C: double clamp connections, SEM (×8000)

**Досліджений зразок.** Штам 2502, отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

**Примітка.** Зазначимо, що поодинокі пружки з анастомозом між пружкою та гіфою для *G. tsugae* Murrill описувала раніше А.С. Бухало зі співавторами (Buchalo et al., 2009). Наявність коралоподібних гіф та подвійні пружки з анастомозами для *G. carnosum* описані нами вперше.

#### *Ganoderma resinaceum* Boud.

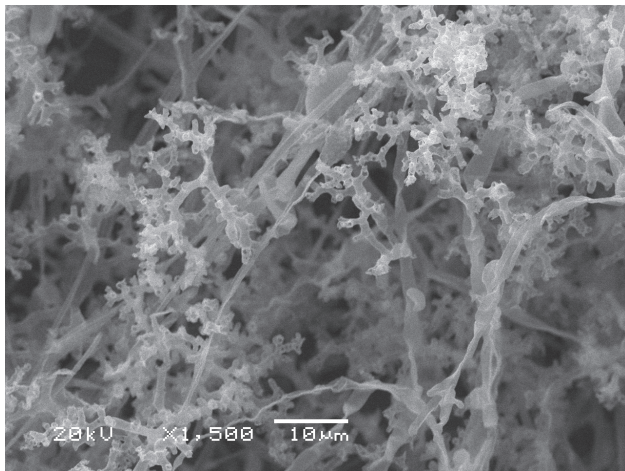
**СЕМ.** Міцелій зі септованих, тонкостінних гіф, діаметром 1–3 мкм, також наявні коралоподібні гіфи у великій кількості (рис. 2, А). При більш детальному вивченні виявлено, що деякі з них містять перфорації. Характерні поодинокі пружки медальйонного типу. Міцелій утворює еліпсоїдні хламідоспори (органи нестатевого розмноження)

з гладенькою поверхнею, які мають розміри 8–11×10–18 мкм (рис. 2, В).

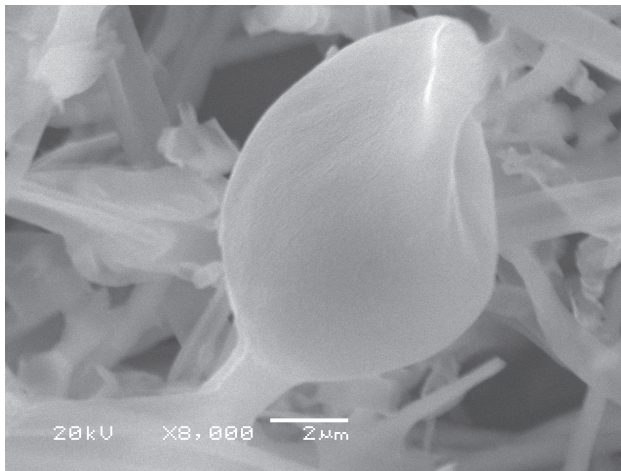
**Досліджені зразки.** Штам 2477 виділено з плодового тіла, Україна, 2016 р.; штам 2503 отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

**Примітка.** З літератури відомо, що утворення хламідоспор, окрім *G. resinaceum*, характерне ще для декількох видів роду *Ganoderma*, а саме: для *G. adspersum* (Schulzer) Donk (Balaes, Tanase, 2012), *G. applanatum* (Pers.) Pat. (Balaes, Tanase 2012; Tsivileva et al., 2016), *G. carocalcareus* Douanla-Meli (Douanla-Meli, Langer, 2009), *G. colossum* (Fr.) C.F. Baker (Adaskaveg, Gilbertson, 1986), *G. lucidum* (Curtis) P.Karst. (Adaskaveg, Gilbertson, 1986; Buchalo et al., 2009) та *G. cattienensis* (Tomophagus cattienensis X.T.Le & Moncalvo) (Tsivileva et al., 2016).





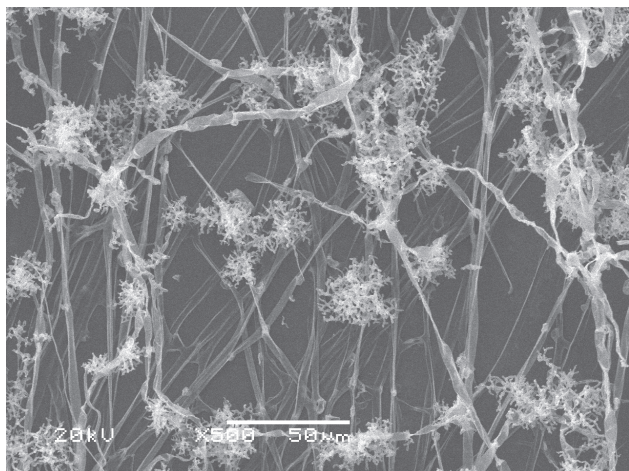
**A**



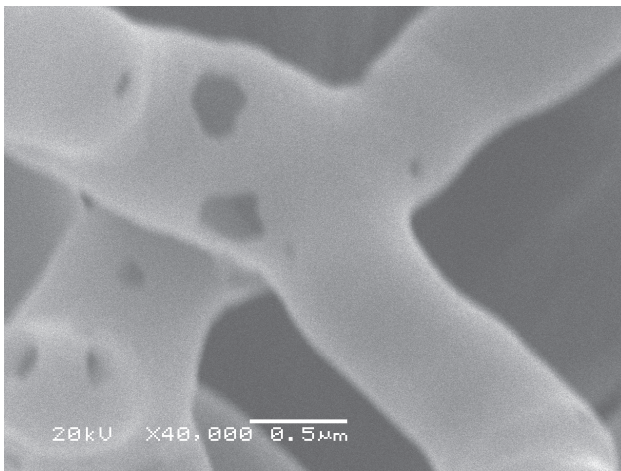
**B**

Рис. 2. *Ganoderma resinaceum* 2477. А: коралоподібні гіфи, СЕМ (×1500); В: хламідоспора, СЕМ (×8000)

Fig. 2. *Ganoderma resinaceum* 2477. A: staghorn hyphae, SEM (×1500); B: chlamidospore, SEM (×8000)



**A**



**B**

Рис. 3. *Ganoderma sinense* 2516. А: коралоподібні гіфи, СЕМ (×500); В: перфорації в коралоподібних гіфах, СЕМ (×40000)

Fig. 3. *Ganoderma sinense* 2516. A: staghorn hyphae, SEM (×500); B: perforations in staghorn hyphae, SEM (×40000)

***Ganoderma sinense* J.D.Zhao, L.W.Hsu & X.Q.Zhang.**

**СЕМ.** Міцелій складається з тонкостінних септованих гіф, діаметром 1–5 мкм, наявні коралоподібні гіфи у великій кількості (рис. 3, А), деякі з них містять перфорації (рис. 3, В). З літератури відомо, що аналогічні структури утворюються на міцелії *G. lucidum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1986; Buchalo et al., 2009), *G. resinaceum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1986), *G. meredithiae* Adask. & Gilb., *G. oregonense*, *G. neojaponicum* Imazeki (Tsvileva et al.,

2016) та *G. zonatum* Murrill (Adaskaveg, Gilbertson, 1989). Для даного виду характерні поодинокі пряжки медальйонного типу.

**Досліджений зразок.** Штам 2516 отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

**Примітка.** Наявність коралоподібних гіф для вегетативного міцелію *G. sinense* описана нами вперше.

***Ganoderma tsugae* Murrill**

Міцелій складається зі септованих, тонкостінних септованих гіф, діаметром 1–5 мкм. Для виду

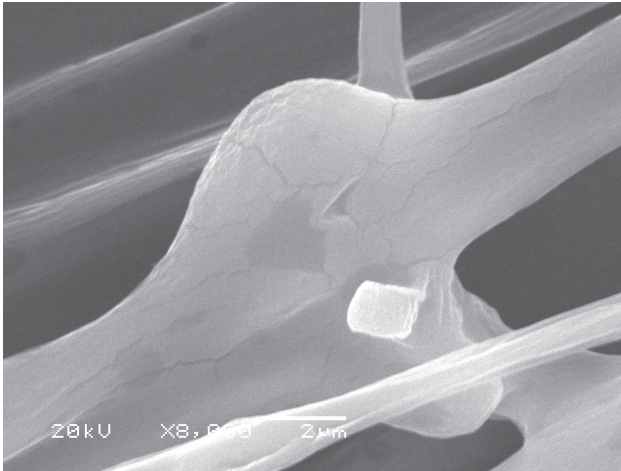


Рис. 4. *Ganoderma tsugae* 2566. Пряжка, СЕМ (×8000)  
 Fig. 4. *Ganoderma tsugae* 2566. Clamp connection, SEM (×8000)

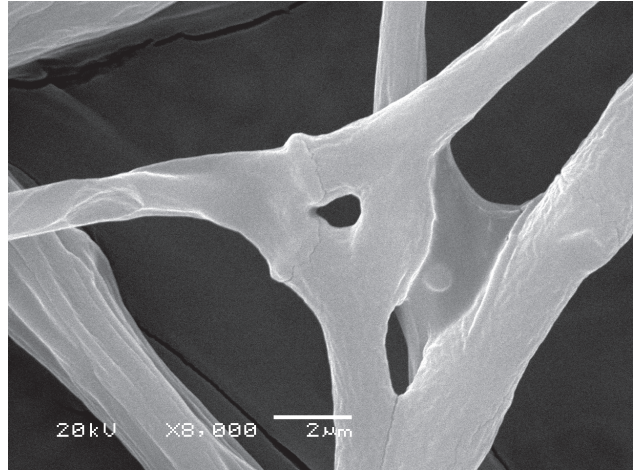
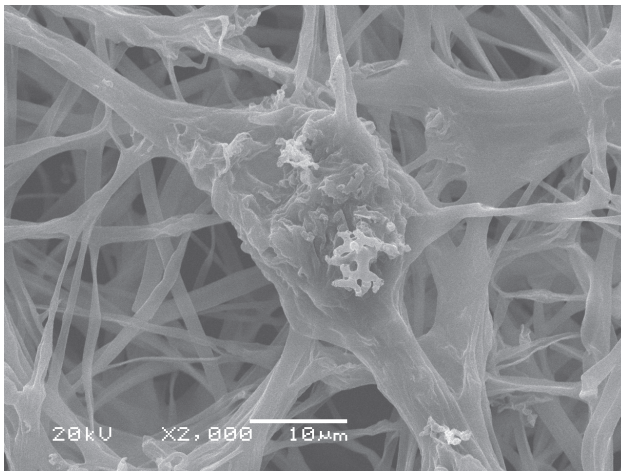
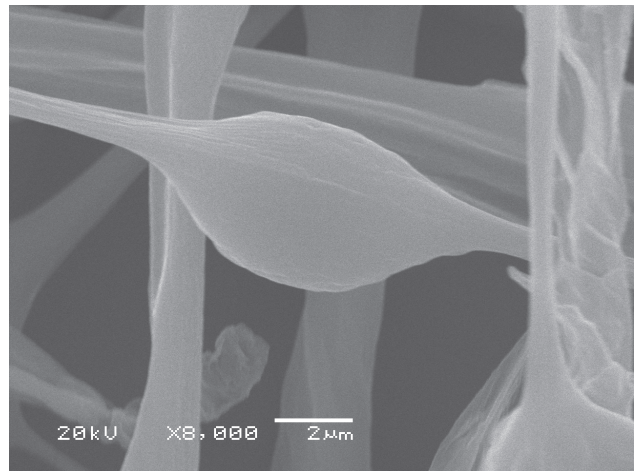


Рис. 5. *Ganoderma tsugae* 2024. Пряжка з анастомозами, СЕМ (×8000)  
 Fig. 5. *Ganoderma tsugae* 2024. Clamp connection with anastomosis, SEM (×8000)



**А**



**В**

Рис. 6. *Ganoderma oregonense* 2560. А: коралоподібні структури, СЕМ (×2000); В: потовщення гіфи, СЕМ (×8000)  
 Fig. 6. *Ganoderma oregonense* 2560. А: staghorn-like hyphae, SEM (×2000); В: hyphal thickening, SEM (×8000)

характерні пряжки двох типів: поодинокі пряжки медальйонного типу (рис. 4) та поодинокі з анастомозом між пряжкою та гіфою (рис. 5).

**Досліджені зразки.** Штам 2024 отримано з колекції Таврійського державного агротехнологічного університету, 2014 р.; штам 2566 отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

#### *Ganoderma oregonense* Murrill.

**СЕМ.** Міцелій складається зі септованих, тонкостінних септованих гіф, діаметром

1–3 мкм. Для виду характерні поодинокі пряжки медальйонного типу та коралоподібні структури (рис. 6, А). Були виявлені потовщення певних ділянок гіф (пухирці на гіфах) (рис. 6, В).

**Досліджений зразок.** Штам 2560 отримано з "Mycoforest type culture collection", Словаччина, 2016 р.

**Примітка.** Потовщення ділянок гіф вказувались раніше авторами для різних видів роду *Ganoderma*: *G. zonatum*, *G. meredithiae*, *G. oregonense*, *G. lucidum*, *G. tsugae* (Adaskaveg, Gilbertson, 1989) та *G. valesiacum* sensu Pegler (*G. carnosum*) (Tsvileva et al., 2016).



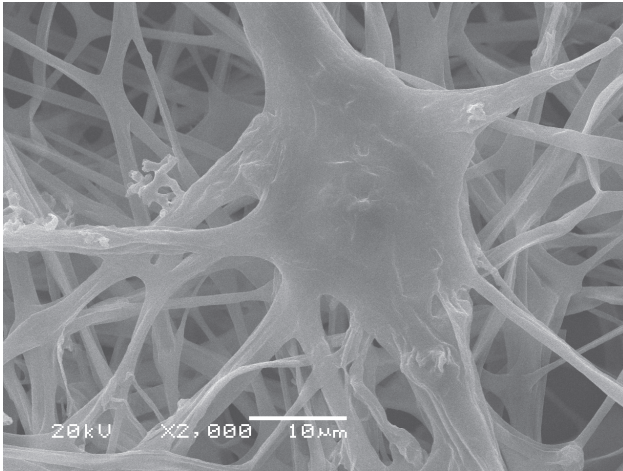


Рис. 7. *Ganoderma oregonense* 2560. Міцеліальна плівка, СЕМ (×2000)

Fig. 7. *Ganoderma oregonense* 2560. Mycelial pellicle, SEM (×2000)

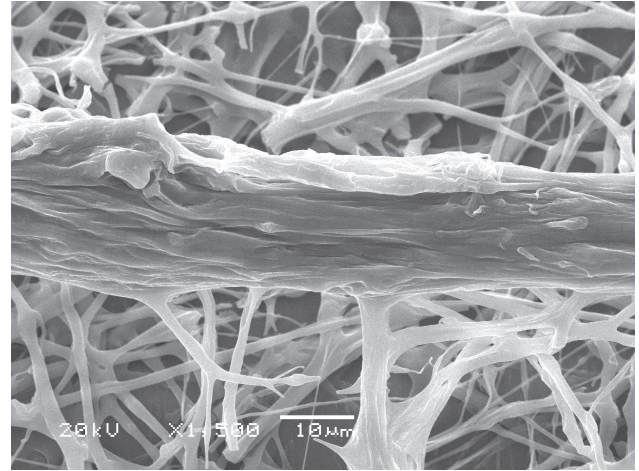


Рис. 8. *Ganoderma tsugae* 2566. Міцеліальні тяжі, СЕМ (×1500)

Fig. 8. *Ganoderma tsugae* 2566. Mycelial cords, SEM (×1500)

На міцелії всіх досліджених видів роду *Ganoderma* виявлені структури, характерні для різних видів макроміцетів – міцеліальна плівка (рис. 7) та міцеліальні тяжі (група максимально зближених між собою гіф) (рис. 8), що утворюються, за даними літератури, при високій концентрації поживних речовин у живильному середовищі (Zmitrovich, 2012).

Дані про виявлені нами структури вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma* підсумовані у табл. 1.

## Висновки

За результатами СЕМ описані мікроструктури семи штамів п'яти видів роду *Ganoderma* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Була встановлена низка нових морфологічних ознак, придатних до використання в якості таксономічних критеріїв для визначення в чистій культурі видів грибів з роду *Ganoderma*. Вперше виявлено наявність подвійних прямих та прямих з анастомозами на вегетативному міцелії *G. carnosum*, а також коралоподібних гіф на міцелії *G. sinense* та *G. carnosum*.

Таблиця 1. Мікроструктури вегетативного міцелію грибів роду *Ganoderma*

Table 1. Microstructures of vegetative mycelium of the *Ganoderma* species

Вид, штам	Мікроструктури						
	поодинокі пряжки	пряжки з анастомозами	подвійні пряжки з анастомозами	коралоподібні гіфи	хламідостори	потовщення на гіфах	міцеліальна плівка та міцеліальні тяжі
<i>Ganoderma carnosum</i> 2502	+	+	++	++	–	+	+
<i>G. resinaceum</i> 2477, 2503	+	–	–	+	+	–	+
<i>G. sinense</i> 2516	+	–	–	++	–	–	+
<i>G. tsugae</i> 2024, 2566	+	+	–	–	–	–	+
<i>G. oregonense</i> 2560	+	–	–	–	–	+	+

\* структури, виявлені авторами вперше

## СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Adaskaveg J.E., Gilbertson R.L. 1986. Cultural studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae* in relation to the taxonomy of the *G. lucidum* Complex. *Mycologia*, 78(5): 694–705.
- Adaskaveg J.E., Gilbertson R.L. 1989. Cultural studies of four North American species in the *Ganoderma lucidum* complex with comparisons to *G. lucidum* and *G. tsugae*. *Mycological Research*, 92(2): 182–191.
- Balaeas T., Tanase C. 2012. Description of in vitro cultures for some spontaneous lignicolous basidiomycetes species. *Biologie vegetata*, 58(2): 19–29.
- Belova N.V. 2016. *Advances in Biology & Earth Sciences*, 1(1): 111–120. [Н.В. Белова. Ланостановые тритерпеноиды и стероиды высших грибов. *Advances in Biology & Earth Sciences*, 1(1): 111–120].
- Bisko N.A., Babitskaya V.G., Buchalo A.S., Krupodorova T.A., Lomberg M.L., Mychaylova O.B., Puchkova T.A., Solomko E.F., Shcherba V.V. 2011. *Vyolohycheskye svoystva lekarstvennykh makromysetov v culture* Ed. S.P. Wasser. Kiev: Alterpress, vol. 2, 459 pp. [Бисько Н.А., Бабицкая В.Г., Бухало А.С., Круподорова Т.А., Ломберг М.Л., Михайлова О.Б., Пучкова Т.А., Соломко Э.Ф., Щерба В.В. 2011. *Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре*. Под ред. С.П. Вассера. Киев: Альтерпрес, 2012, т. 2, 459 с.].
- Bisko N.A., Lomberg M.L., Mytropolska N.Yu., Mychaylova O.B. 2016. *The IBK Mushroom Culture Collection*. Kyiv: Alterpress, 120 pp. [Бисько Н.А., Ломберг М.Л., Митропольська Н.Ю., Михайлова О.Б. 2016. *Колекція культур шапінкових грибів (IBK)*. Київ: Альтерпрес, 120 с.].
- Boh V., Berovic M., Zhang J., Zhi-Bin L. 2007. *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Review*, 13: 265–301. [https://doi.org/10.1016/s1387-2656\(07\)13010-6](https://doi.org/10.1016/s1387-2656(07)13010-6)
- Buchalo A.S., Didukh M.Ya. 2005. Micromorphological characteristics of culinary-medicinal mushroom and fungi cultures. *International Journal on Medicinal Mushrooms*, 7(1): 249–261.
- Buchalo A.S., Mykchaylova O.B., Lomberg M.L., Wasser S.P. 2009. *Microstructures of vegetative mycelia of macromycetes in pure cultures*. Kyiv: Alterpress, 214 pp.
- Buchalo A.S., Babitskaya V.G., Bisko N.A., Wasser S.P., Dudka I.A. Mitropolskaya N.Yu., Mykchaylova O.B., Negreyko A.M., Poyedinok N.L., Solomko E.F. 2011. *Vyolohycheskye svoystva lekarstvennykh makromysetov v culture*. Ed. S.P. Wasser. Kiev: Alterpress, vol. 1, 212 pp. [Бухало А.С., Бабицкая В.Г., Бисько Н.А., Вассер С.П., Дудка И.А., Митропольская Н.Ю., Михайлова О.Б., Негрейко А.М., Поединок Н.Л., Соломко Э.Ф. 2011. *Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре*. Под ред. С.П. Вассера. Киев: Альтерпрес, т. 1, 212 с.].
- Douanla-Meli C., Langer E. 2009. *Ganoderma carocalcareus* sp. nov., with crumbly-friable context parasite to saprobe on *Anthocleista nobilis* and its phylogenetic relationship in *G. resinaceum* group. *Mycological Progress*, 8(2): 145–155. <https://doi.org/10.1007/s11557-009-0586-4>
- Jargalmaa S., Eimes J.A., Park M.S., Park J.Y., Oh S.-Y., Lim Y. W. 2017. Taxonomic evaluation of selected *Ganoderma* species and database sequence validation. *PeerJ*, 5: 1–16. doi:10.7717/peerj.3596
- Li-Ying L., Hui C., Chao L., Hong-Qing W., Jie K., Yan L., Ruo-Yun C. 2014. Triterpenoids of *Ganoderma theaeocolum* and their hepatoprotective activities. *Fitoterapia*, 98: 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.08.004>
- Richter C., Wittstein K., Kirk P.M., Stadler M. 2014. An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. *Fungal Diversity*, 71(1): 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0313-6>
- Tchoumi J.M.T., Coetzee M.P.A., Rajchenberg M., Roux J. 2019. Taxonomy and species diversity of *Ganoderma* species in the Garden Route National Park of South Africa inferred from morphology and multilocus phylogenies. *Mycologia*, 18(1): 730–747. doi:10.1080/00275514.2019.1635387
- Tsvileva O., Nguyen T., Vu L., Yurasov N., Chernyshova M., Petrov A., Galushka V., Markin A., Koftin O. 2016. Vietnamese *Ganoderma*: growth, peculiarities, and low-molecular composition compared to European and Siberian strains. *Turkish Journal of Botany*, 40(3): 269–286. <https://doi.org/10.3906/bot-1410-15>
- Quattelbaum D., Carner G.-R. 1980. A technique for preparing *Beaveria* spp. for scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany*, 58: 1700–1703. <https://doi.org/10.1139/b80-198>
- Stalpers J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting *Aphyllophorales* in pure culture. *Studies in Mycology*, 16(1): 1–248.
- Wasser S.P. 2010. Medicinal mushrooms Science: History, Current status, Future Trends and Unsolved Problems, *International Journal on Medicinal Mushrooms*, 12(1): 1–16.
- Wasser S.P. 2014. Medicinal Mushroom Science: Current Perspectives, Advances, Evidences, and Challenges. *Biomedical Journal*, 37(6): 345–35. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.138318>
- Zmitrovich I.V. 2012. In: *Mytselyalniy obraz zhyzny y ekolo-ho-trofycheskye hruppy hrybov: Materialy VI Vserossyiskoy mykolohycheskoy shkoly-konferentsyi s mezhdunarodnym uchastyem*. Moscow, pp. 1–34. [Змитрович И.В. 2012. Феноменология мицелия. В сб.: *Материалы VI Всероссийской микологической школы-конференции с международным участием "Мицелиальный образ жизни и эколого-трофические группы грибов"*. Москва, с. 1–34].

Рекомендує до друку М.М. Сухомлин