

УДК 579.61; 582.284.

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *GANODERMA* ПО ОТНОШЕНИЮ К ШИРОКОМУ СПЕКТРУ МИКРООРГАНИЗМОВ****Д.В. Маслак, И.Н. Феклистова, И.А. Гринева, Ю.М. Кулешова,  
Т.Л. Скакун, Л.Е. Садовская, Л.З. Хай\****Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь**\*Институт сельскохозяйственной генетики, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам  
e-mail: diana-maslak@yandex.ru***Введение**

Представители рода *Ganoderma* относятся к обширной группе грибов, которые используются в восточной медицине для профилактики и лечения многих тяжелых заболеваний. Их предлагают применять при бактериальных и вирусных инфекциях, вич, диабете, сердечно-сосудистых патологиях и онкологических заболеваниях.

В настоящее время из плодовых тел или культивируемого мицелия грибов этой группы выделены и охарактеризованы биологически активные вещества, обеспечивающие их эффективность. В современной медицинской практике широко используются статины, полисахариды и  $\beta$ -глюканы. Кроме того, охарактеризованы специфические для представителей рода *Ganoderma* химические соединения – ганодеровые кислоты, относимые к тритерпеноидам. Эти соединения оказывают антиаллергическое и гепатопротекторное действие, улучшают усвоение кислорода тканями, регулируют жировой обмен и синтез холестерина, тормозят высвобождение гистамина и сдерживают развитие опухолевых клеток [1–3].

Кроме выраженного иммуностимулирующего действия у представителей рода *Ganoderma* отмечают наличие антимикробных свойств, исследованию которых в последние годы уделяется пристальное внимание. В частности, в работе L. N. Ofofile и соавт. (2005 г.) продемонстрирована активность четырех представителей рода *Ganoderma*, произрастающих в Нигерии, в отношении *Pseudomonas syringae* и *Bacillus subtilis*; при этом они не подавляли рост *Cladosporium herbarum* [4]. В традиционной медицине Намибии для лечения заболеваний кожи и раневых инфекций традиционно используется *Ganoderma lucidum*, характерная для данной местности. В исследованиях 2013 года продемонстрирована антибактериальная активность этого гриба в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий – *Escherichia coli*, *Alcaligenes faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Neisseria meningitidis*, *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus* [5].

В работах Sadaf Quereshi (2010 г.) и Anita Kamra (2011г.) продемонстрирована антимикробная активность различных органических и водных экстрактов из мицелия *Ganoderma lucidum* в отношении *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* [6, 7].

В настоящее время действующим веществом запатентованных иностранных лекарственных средств на основе грибов рода *Ganoderma* являются полисахариды, выделенные из плодовых тел. Получение плодовых тел грибов *Ganoderma* имеет ряд особенностей: длительный период культивирования – плодовые тела начинают образовываться на двадцатый день культивирования; необходимость поддержания стабильной температуры 20–30°C и влажности 75–80% делают процесс круглогодичного культивирования плодовых тел в умеренном климате излишне энергозатратным. Кроме того, использование различных субстратов приводит к невозможности прогнозирования биохимического состава плодовых тел гриба.

В связи с вышеизложенным, для получения препаратов медицинского назначения на основе грибов рода *Ganoderma* в условиях Республики Беларусь целесообразнее

использовать биотехнологический процесс глубинного культивирования мицелия гриба, направленный на максимальный выход целевых метаболитов.

Целью настоящей работы стал поиск продуцента рода *Ganoderma*, перспективного для получения на его основе биотехнологического сырья с антимикробными свойствами.

Для этого необходимо было решить ряд задач – создать коллекцию грибов рода *Ganoderma*, оптимизировать условия их культивирования и оценить антимикробную активность штаммов по отношению к условным патогенам человека и животных.

#### Методы исследования

В работе использованы грибы рода *Ganoderma*, депонированные в коллекцию КМБУ Белорусского государственного университета, представленные в таблице 1. В качестве тест-культур использованы бактериальные и грибные штаммы, условные патогены человека и животных – *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* В, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus* ОНУ 645 УКМАс 645Т, *Planococcus citreus* ОНУ 265, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* ОНУ 92 УКМВ 905, *Pseudomonas aeruginosa* В-27, *Salmonella enteritidis* ОНУ 262, *Sarcina lutea* ОНУ 467, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus saprophyticus*, *Trichophyton* sp.

Для культивирования грибов использовали полноценную питательную среду следующего состава (г/л): картофель – 200, фасолевые проростки – 200, свежие грибы – 50, кукурузная мука – 25, рисовые отруби – 25, глюкоза – 15, агар-агар – 15. Компоненты среды заливали водой, варили после закипания 20 мин, процеживали, доводили объем жидкости до 1000 мл, затем добавляли глюкозу и агар. Стерилизацию осуществляли автоклавированием при 1,1 бар в течение 0,5 ч.

Температурный оптимум для роста мицелия грибов определяли по скорости увеличения диаметра мицелия гриба при культивировании на агаризованной питательной среде в диапазоне температур 22–35°C.

При определении антибактериальной активности штаммов, культуру изучаемых грибов засеивали на 1,5%-ную агаризованную полноценную среду и инкубировали при температурном оптимуме в течение 14 суток. Затем из агаризованной среды с выросшей исследуемой культурой вырезали блоки диаметром 17 мм и помещали на чашки Петри с двуслойным мясо-пептонным агаром (в верхний 0,7%-ный агаризованный слой была внесена суточная индикаторная культура). Учет результатов проводили через 24–48 часов.

О наличии антибактериальной активности судили по появлению зоны задержки роста индикаторной культуры (патогена) вокруг блока агара с культурой исследуемого гриба.

Для определения антифунгальной активности мицелий исследуемых штаммов грибов рода *Ganoderma* и фитопатогена засеивали точкой на агаризованную картофельно-глюкозную среду на расстоянии 6 см друг от друга и инкубировали при оптимальной температуре в течение 3–7 дней. Антифунгальную активность оценивали путём измерения радиуса гриба в опыте (в зоне действия метаболитов *Ganoderma*) и контроле (вне зоны действия метаболитов грибов рода *Ganoderma*). Степень антифунгальной активности оценивали по формуле:

$$A = 100\% - \frac{D(\text{опыт})}{D(\text{контроль})} \times 100\%,$$

где А – подавление роста мицелия гриба;

D (опыт) – радиус мицелия в опыте;

D (контроль) – радиус мицелия в контроле.

#### Результаты и обсуждения

Штаммы рода *Ganoderma* для исследований предоставлены кафедрой ботаники Белорусского государственного университета, а также Институтом сельскохозяйственной генетики (AGI), г. Ханой в рамках договора о совместном сотрудничестве. Штаммы

депонированы в коллекцию микроорганизмов биологического факультета БГУ (КМБУ) в 2016 г.

В ходе оптимизации условий поверхностного культивирования грибов рода *Ganoderma* установлено, что оптимальной температурой для культивирования трех штаммов происхождения Вьетнам: *G. lucidum* G 01, *G. lucidum* G 02, *G. lucidum* G 03 и штамма *G. lucidum* G 04 (Корея) является температура 28°C. Для штамма *Ganoderma* sp. G 06 (Вьетнам) оптимумом является температура культивирования, равная 30°C, для штамма *Ganoderma* sp. G 05 (Тайланд) – 32°C, а для штамма *G. lucidum* G 07 (Беларусь) – 26°C. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Температура культивирования штаммов рода *Ganoderma*, депонированных в коллекцию микроорганизмов биологического факультета БГУ (КМБУ)

Штамм	Номер в коллекции КМБУ	Страна происхождения	Оптимальная температура культивирования, °С
<i>Ganoderma lucidum</i> 2013	G 01	Вьетнам	28
<i>Ganoderma lucidum</i> 2015	G 02	Вьетнам	28
<i>Ganoderma lucidum</i> D18	G 03	Вьетнам	28
<i>Ganoderma lucidum</i> Korea	G 04	Корея	28
<i>Ganoderma</i> sp. Thailand	G 05	Тайланд	32
<i>Ganoderma</i> sp. Black reishi	G 06	Вьетнам	30
<i>Ganoderma lucidum</i> Беларусь	G 07	Беларусь	26

На следующем этапе диффузным методом оценена антимикробная активность штаммов рода *Ganoderma* по отношению к широкому спектру условно патогенных для человека и животных бактерий и грибов. Результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Антифунгальная активность штаммов рода *Ganoderma* по отношению к патогенным грибам

Штамм	Подавление патогенов, %	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton</i> sp.
<i>Ganoderma lucidum</i> G 01	32,0	–
<i>Ganoderma lucidum</i> G 02	28,0	–*
<i>Ganoderma lucidum</i> G 03	26,9	–**
<i>Ganoderma lucidum</i> G 04	30,8	–
<i>Ganoderma</i> sp. G 05	32,0	12,5
<i>Ganoderma</i> sp. G 06	23,0	–
<i>Ganoderma lucidum</i> G 07	13,3	13,3

Примечание: (–) - в варианте отсутствовало подавление роста мицелия патогена; \* - отмечена стимуляция роста патогена на 16,6%; \*\* - отмечена стимуляция роста патогена на 42,8%.

Выяснено, что все исследованные штаммы подавляют рост бактерий *Sarcina lutea* ОНУ 467 (зона задержки роста лежит в диапазоне 20,8–24,3 мм) и гриба *Aspergillus niger* (подавление роста на 13,3–32,0%). Большинство исследуемых штаммов подавляют рост *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus* ОНУ 645 УКМАс 645Т, *Planococcus citreus* ОНУ 265, *Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Кроме того, штамм *G. lucidum* G 01 подавляет рост *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *G. lucidum* G 02 – *Pseudomonas aeruginosa* В-27, *G. lucidum* G 03 – *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

А *Ganoderma* sp. G 05 и *G. lucidum* G 07 на 12,5 и 13,5% соответственно угнетают рост мицелия *Trichophyton* sp. – патогена, вызывающего заболевания кожи.

Таблица 3 – Антибактериальная активность штаммов рода *Ganoderma* по отношению к патогенным бактериям

Тест-культура	Зона задержки роста тест-культуры, мм под влиянием метаболитов						
	<i>Ganoderma lucidum</i>					<i>Ganoderma</i> sp.	
	G 01	G 02	G 03	G 04	G 07	G 05	G 06
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–	–	–
<i>Enterobacter aerogenes</i>	–	–	–	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i> B	+–	–	+–	–	–	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	–	–	–
<i>Micrococcus luteus</i> ОНУ 645 УКМАс 645Т	26,0± 0,4	28,5± 0,3	24,8± 0,3	26,8± 0,5	–	30,0± 0,7	–
<i>Planococcus citreus</i> ОНУ 265	24,5± 0,6	23,0± 0,7	30,0± 0,9	–	–	20,8± 0,3	19,3± 0,3
<i>Proteus mirabilis</i>	24,0± 0,9	24,3± 0,3	22,0± 0,4	22,5± 0,3	23,3± 0,8	20,8± 0,3	+–
<i>Proteus vulgaris</i> ОНУ 92 УКМВ 905	–	+–	–	–	–	+–	+–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B-27	–	22,0± 0,4	–	–	–	–	–
<i>Salmonella enteritidis</i> ОНУ 262	–	–	–	–	–	–	–
<i>Sarcina lutea</i> ОНУ 467	22,5± 0,3	27,0± 0,4	30,3± 1,0	20,3± 0,3	20,8± 0,5	24,8± 1,0	30,3± 0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	–	–	35,8± 0,9	–	–	+–	–
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	27,8± 0,5	+–	–	26,8± 0,9	26,8± 0,9	–	–
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	28,0± 0,6	25,5± 0,7	23,5± 0,5	–	23,0± 0,6	24,0± 0,9	–

Примечание: (–) - в варианте отсутствовало подавление роста патогена; (+–) - в варианте отмечено незначительное ослабление роста патогена

Необходимо отметить, что, несмотря на то, что по литературным данным представители рода *Ganoderma* синтезируют метаболиты, проявляющие антимикробную активность в отношении *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* [4–7], условные патогены, относящиеся к этим видам, проверенные в настоящей работе, так же, как и *Candida albicans* были устойчивы по отношению ко всем проверенным грибным культурам. Кроме того, у штаммов *G. lucidum* G02 и *G. lucidum* G03 была выявлена способность стимулировать рост *Trichophyton* sp., что, по-видимому, связано с повышенным синтезом таких биологически активных веществ, как витамины В3, В5, С и D, а также заменимых и незаменимых аминокислот, что характерно для лакированного трутовика.

#### Выводы

Анализируя полученные данные, можно заключить, что наиболее перспективными для дальнейшей работы являются штаммы *Ganoderma lucidum* G 01 и *Ganoderma lucidum* G 07, каждый из которых продемонстрировал антимикробные свойства к максимальному количеству проверенных штаммов условных патогенов (не менее 7), не проявляя при этом способности к их стимуляции.

**Список литературы**

1. Lu, Q.Y. *Ganoderma lucidum* extracts inhibit growth and induce actin polymerization in bladder cancer cells in vitro / Q.Y. Lu, Y.S. Jin, Q. Zhang, Z. Zhang, D. Heber, V.L. Go, F.P. Li, J.Y. Rao // *Cancer Lett.* – 2004. – Vol. 8. – № 216 (1). – P. 9-20.
2. Jiang, J. *Ganoderma lucidum* suppresses growth of breast cancer cells through the inhibition of Akt/NF-kappaB signaling / J. Jiang, V. Slivova, K. Harvey, T. Valachovicova, D. Sliva // *Nutr Cancer.* – 2004. – Vol. 49. – № 2. – P. 209-216.
3. Kimura, Y. Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance / Y. Kimura, M. Taniguchi, K. Baba // *Anticancer Res.* – 2002. – Vol. 22. – № 6A. – P. 3309-3318.
4. Ofodile, L. N. Antimicrobial activity of some *Ganoderma* species from Nigeria/ L. N. Ofodile, N. U. Uma, T. Kokubun, R. J. Grayer, O. T. Ogunipe, M. S. J. Simmonds // *Phytotherapy Res.* – 2005. – Vol. 19, № 4. - P. 310–313.
5. Shikongo, L. T. Antimicrobial screening of crude extracts from the indigenous *Ganoderma lucidum* mushrooms in Namibia /L. T. Shikongo, P. M. Chimwamurombe, H. R. Lotfy, M. Kandawa-Schulz // *African Journal of Microbiology Res.* - 2013 . - Vol. 7, № 40. – P. 4812-4816.
6. Quereshi, S. Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts / S. Quereshi, A.K. Pandey, S.S. Sandhu // *People's Journal of Scientific Res.* – 2010.- Vol. 3, № 1. – P. 9-14.
7. Kamra, A. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* extracts against human pathogenic bacteria/ A. Kamra, A. B. Bhatt// *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* – 2012. - Vol 4, № 2. – P. 359-362.

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME MEMBERS OF THE GENUS *GANODERMA*  
AGAINST A BROAD SPECTRUM OF MICROORGANISMS**

**D.V. Maslak, I.N. Feklistova, I.A. Grineva, Y.M. Kuleshova, T.L. Skakun, L.E. Sadovskaya,  
Le Huy Ham\***

*Belarusian State University, Minsk, The Republic of Belarus*

*\*Agriculture Genetics Institute, Hanoi, The Socialist Republic of Vietnam*

*e-mail: diana-maslak@yandex.ru*

The collection of *Ganoderma* fungi was created in order to find perspective producer of this genus as a base for obtaining biotechnological primary products with antimicrobial properties. Conditions of their cultivation were optimized, and their antimicrobial activity against opportunistic pathogen of human and animal was assessed. It was found that all investigated strains inhibit growth of *Sarcina lutea* ONU 467 (inhibition zone lies in the range of 20.8–24.3 mm) and *Aspergillus niger* (growth suppression by 13.3–32.0%). Most of the strains are active against *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus* ONU 645 UKMAs 645T, *Planococcus citreus* ONU 265, *Staphylococcus saprophyticus* and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. In addition, *G. lucidum* G 01 strain suppresses growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *G. lucidum* G 02 – *Pseudomonas aeruginosa* B-27, *G. lucidum* G 03 - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. And *Ganoderma* sp. 05 G, *G. lucidum* G 07 strains inhibit *Trichophyton* sp. (causing skin diseases) mycelium growth by 12.5 and 13.5%, respectively. Investigated *Ganoderma* strains did not inhibit *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* and *Candida albicans* growth.