М И К О Л О Г И Я И Ф И Т О П А Т О Л О Г И Я

Том 43 2009 Вып. 6

УДК 582.24.5:581 42

© *Е. Л. Постнова, Е. С. Сколотнева*

КОМПЛЕКСНЫЙ ВИД *GANODERMA LUCIDUM*: ВНУТРИВИДОВЫЕ ГРУППЫ ШТАММОВ С ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

POSTNOVA E. L., SKOLOTNEVA E. S. THE COMPLEX SPECIES *GANODERMA LUCIDUM*: INTRASPECIES GROUPS OF STRAINS WITH INDIVIDUAL CHARACTERISTICS

Комплексный вид *Ganoderma lucidum* (Curtis : Fr.) P. Karst. объединяет внутривидовые группы, филогенетическая концепция которых до сих пор не разработана (Moncalvo, 2000; Zmitrovich et al., 2006).

Значительные трудности при описании штаммов гриба по морфологии и культуральным свойствам вызваны их высокой степенью вариабельности в зависимости от условий культивирования (Seo, Kirk, 2000). Характеристика штаммов, ограниченная данными признаками, не может являться удовлетворительной и не позволяет сравнивать результаты разных исследований.

Генетическая эволюция многих видов грибов, приводящая к частичной или полной репродуктивной изоляции (интерстерильности), опережает морфологическую эволюцию, и зачастую морфологические виды представляют собой ассоциации видов-двойников. Вместо концепции высокополиморфных видов возникло представление о виде как о совокупности в разной степени изолированных, самостоятельно эволюционирующих «биологических» особей (Дьяков, 1993). Чтобы внести ясность и избежать недоразумений при разделении видов и внутривидовых группировок базидиальных грибов, был проведен анализ генетической (репродуктивной) изоляции между особями. Так, был выделен самостоятельный вид *G. tsugae* (Murrill) Overh. на основе половой несовместимости с полиморфным видом *G. lucidum* (Adaskaveg, Gilbertson, 1986).

В последнее время широко применяются в систематике грибов молекулярные методы. В частности, с их помощью была показана высокая гетерогенность комплексного вида *G. lucidum* (Moncalvo, 1995; Hseu et al., 1996; Buchanan, 2001). Молекулярно-филогенетический анализ американских, азиатских и европейских коллекций *G. lucidum* с использованием маркеров рДНК позволил выделить несколько внутривидовых групп: *G. lucidum* sensu stricto, *G. resinaceum* complex sensu lato, *G. curtisii* complex, *G. tropicum* complex sensu lato (Moncalvo, 2000). Отсутствие корреляции между филогенией по рДНК и морфологическим разделением комплекса *G. lucidum* стимулирует поиск новых молекулярных маркеров, способных стать исчерпывающим инструментом при описании штаммов.

Использованные в данной работе штаммы *G. lucidum* обладают противоопухолевой и антибактериальной активностью (Краснопольская и др., 2003; Автономова, 2006). Поэтому выяснение их внутривидового статуса не только обеспечит до-

ступность сравнения с другими известными штаммами, но и позволит описать новые источники биологически активных веществ.

С целью уточнения внутривидового статуса исследуемых штаммов *G. lucidum* был проведен анализ изоферментного и RAPD-полиморфизма наряду с оценкой вегетативной и репродуктивной изоляции, а также некоторых морфологических признаков, исследованных ранее (Завьялова и др., 2005).

Материалы и методы

Дикариотические штаммы *Ganoderma* spp. были получены из коллекции культур кафедры микологии и альгологии МГУ им. М. В. Ломоносова, Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков и Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Символы штаммов приведены в статье, опубликованной ранее (Постнова и др., 2009). Два штамма *G. applanatum* (Pers.) Pat. были использованы в качестве контроля.

Культуры хранили при 4 °С на пшеничном агаре, содержащем опилки лиственных пород. Пересев на свежеприготовленную среду осуществляли 1 раз в год.

Изучение характера роста штаммов в совместной культуре проводили в чашках Петри на сусло-агаре (4° по Баллингу) в термостате при температуре 25 °С путем сращивания дикариотических штаммов между собой во всех возможных комбинациях.

Вегетативную несовместимость определяли визуально в зоне контакта штаммов по характеру антагонистического ответа: нейтральная, срастание, отталкивание, нарастание (Гарибова, Мокеева, 1976; Дьяков, Долгова, 1995). В качестве контроля использовали культуры, полученные при внутриштаммовых скрещиваниях.

Для проведения анализа половой несовместимости использовали монокариотические культуры, полученные путем последовательных серийных разведений споровых суспензий. Споры трех штаммов (G. L 4, G. L 8 и G. L 9) брали с отпечатков, полученных по методике, предложенной Стеметсом (Stamets, 1993). При отсутствии на мицелии пряжек колонии отсеивали в пробирки и маркировали индексом «m» (monokaryon).

Монокариотические тестеры выделяли по методу Эггера (Egger, 1978). В результате для трех штаммов *G. lucidum* были получены 4 группы монокариотических тестерных культур, различающихся между собой аллелями локусов спаривания: A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1, A_2B_2.

Определение типов спаривания и выявление общих факторов половой совместимости проводили путем мон-мон-скрещиваний (монокарион на монокарион) между моноспоровыми изолятами и полученными тестерами. Анализ факторов половой совместимости осуществляли по стандартным методикам (Egger, 1978).

Скрещивание между дикариотическими природными штаммами и монокариотическими тестерами, т. е. ди-мон-скрещивание (дикарион на монокарион), является более быстрым, но менее точным способом определения видовой принадлежности базидиомицетов, чем мон-мон-скрещивание. На чашку Петри с сусло-агаром попарно высаживали дикарион и тестер. Спустя 2 недели инкубации в термостате при температуре 25 °С у мицелия моноспорового тестера исследовали наличие пряжек с противоположной от дикариона стороны. Образование пряжек означало половую совместимость штамма с данным тестером и принадлежность к данной интерстерильной группе.

Для проведения RAPD-PCR анализа выделяли ДНК из мицелия, полученного при культивировании на жидком 1.5%-м сусле на 10-е сутки роста по методике Diatom TM DNA Prep 100 (Биоком), разработанной для выделения ДНК из свежего биологического материала.

Реакцию амплификации геномной ДНК проводили на программируемом термоциклере марки «Терцик» первой модели. Для проведения реакций амплификации использовали готовые наборы для амплификации «PCR-core», Биоком (ингибированная Taq-DNA-pol, dNTP — по 200 мкМ каждого, $MgCl_2$ — 2.5 мМ). Реакции проводили

в общем объеме реакционной смеси 25 мкл с добавлением следующих компонентов: 5 мкл смеси «PCR-core», 5 мкл исследуемой ДНК, 5 мкл праймера (0.5 мкМ), 10 мкл ПЦР-растворителя. Чтобы предотвратить испарение, на смесь наносили минеральное масло.

Для RAPD-PCR анализа образцов были использованы пять олигонуклеотидных праймеров Синтол: R1 (5′-TGCCGAGCTG-3′), R2 (5′-AGTCAGCCAC-3′), R3 (5′-AATCGGGCTG-3′), R4 (5′-GAAACGGGTG-3′), R5 (5′-GCGATCCCCA-3′) (Hseu et al., 1996). Реакцию амплификации для каждого праймера проводили в трех повторностях. Условия реакции амплификации были следующими: первый шаг (1 цикл): 98 °C — 2, 36° — 1, 72° — 2 мин; второй шаг (45 циклов): 95° — 1, 36° — 1, 72° — 2 мин; третий шаг (1 цикл): 72° — 5, 72° — 3, 72° — 2 мин (Hseu et al., 1996).

Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли в 2%-м агарозном геле при напряжении 80 В. Гели окрашивали в растворе бромистого этидия (1 мкг/мл) и визуализировали полученные фрагменты на УФ-трансиллюминаторе. PCR-продукты регистрировали с помощью цифровой фотокамеры Canon Digital IXUS 800 IS. В качестве маркера длины ДНК фрагментов использовали GeneRuler TM 1kb DNA Ladder, Fermentas.

Сравнение изоферментных спектров мицелиальных культур одиннадцати штаммов *Ganoderma* spp. проводили методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле по методике Дэвиса с некоторыми модификациями (Davis, 1964; Завьялова и др., 2005) в камере фирмы Хеликон. Наличие активности у пяти ферментов (неспецифическая эстераза (КФ: 3.1.1.2), кислая фосфатаза (КФ: 3.1.3.2), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (КФ: 1.1.1.49), полифенолоксидаза (КФ: 1.10.3.2), малатдегидрогеназа (КФ: 1.1.1.37)) определяли окрашиванием по методикам, приведенным в ряде публикаций (Салменкова, Малинина, 1976; Корочкин и др., 1977).

Для оценки достоверности топологии дендрограмм, полученных с помощью анализа изоферментных и RAPD-спектров, использовали алгоритм бутстрепа (bootstrap), выражая уровень достоверности в процентах. Степень различия образцов оценивали по результатам кластерного анализа UPGMA бинарных матриц, описывающих паттерны (изоферментные и молекулярные фенотипы). Для кластерного анализа с последующей оценкой достоверности использовали программу Treecon for Windows (version 3.1).

Результаты и обсуждение

При попарном сращивании на агаризованной питательной среде всех дикариотических штаммов коллекции в зоне контакта формировался мицелиальный валик (барраж), который является фенотипическим проявлением реакции вегетативной несовместимости. Это позволило заключить, что исследуемые штаммы не являются клонами, а представляют собой генетически изолированные индивидуумы.

Все штаммы *G. lucidum* проявили наиболее сильную антагонистическую реакцию при сращивании со штаммами *G. applanatum*, взятыми для оценки некоторых результатов на уровне вида.

В зоне контакта генетически идентичных штаммов активно образовывались анастомозы, с последующим слиянием.

Для трех дикариотических природных изолятов (G. L 4, G. L 8 и G. L 9) были выделены монокариотические штаммы-тестеры — по четыре моноспоровых штамма, различающихся аллелями локусов половой совместимости.

В результате мон-мон-скрещивания (монокарион на монокарион) природные изоляты G. L 8 и G. L 9 (Кавказский регион и Крым соответственно) оказались совместимыми между собой и продемонстрировали половую несовместимость с штаммом G. L 4 из Франции (табл. 1). На основе полученных данных штаммы G. L 8 и G. L 9 были отнесены к интерстерильной группе I, а штамм G. L 4 — к интерстерильной группе II.

Таблица 1

Мон-мон-скрещивания штаммов *G. lucidum*

Штамм	Монокариотические культуры	G. L 4				G. L 8				G. L 9			
		4м1	4м2	4м6	4м7	8м1	8м3	8м5	8м9	9м1	9м2	9м4	9м7
G. L 4	4м1	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4м2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4м6	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	4м7	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 8	8м1	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	8м3	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+
	8м5	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+
	8м9	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+
G. L 9	9м1	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	+	—
	9м2	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	+
	9м4	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
	9м7	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—

Примечание. G. L — *G. lucidum*; 4м1, 4м2 и т. д. — монокариотические культуры. То же для табл. 2.

Штаммы G. L 8 и G. L 9 имели сходные морфолого-культуральные признаки и при культивировании образовывались типичные по форме и размерам «лакированные» базидиомы. При культивировании штамма G. L 4 образовывались матовые консолевидные плодовые тела (рис. 1).

Уточнение совместимости остальных штаммов коллекции проводили с помощью ди-мон-скрещивания (дикарион на монокарион). По сравнению с мон-мон-скрещиванием данный метод значительно менее трудоемкий и требует меньше времени, что особенно актуально при культивировании природных штаммов *Ganoderma*.

Половую совместимость между дикариотическими изолятами и монокариотическими тестерами определяли по наличию пряжек на мицелии тестера (табл. 2).

Монокариотические тестеры штаммов G. L 8 и G. L 9 оказались совместимыми только со штаммом G. L 2 с Кавказа. У штамма G. L 927 из Австрии отмечена совместимость с тестерами штамма G. L 4 из Франции.

RAPD-анализ коллекции штаммов *Ganoderma* spp. был проведен с использованием набора праймеров, уже применявшихся для характеристики этого вида (Hseu et al.,

Рис. 1. Консолевидные матовые базидиомы штамма G. L 4 (*а*) и лакированные веерообразные базидиомы штамма G. L 8 (*б*) соответственно.

Таблица 2

Ди-мон-скрещивания штаммов *G. lucidum*

Штамм	G. L 4				G. L 8				G. L 9			
	4м1	4м2	4м6	4м7	8м1	8м3	8м5	8м9	9м1	9м2	9м4	9м7
G. L 2	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
G. L 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. L 8	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
G. L 9	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
G. L 927	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

1996). Обнаружена высокая степень молекулярного полиморфизма данной выборки. Наибольшее количество вариабельных признаков (продуктов амплификации) было получено с праймерами R1, R3 и R5 (88 % — 8 вариабельных полос из 9 в электрофоретическом спектре, 85 % — 11 из 13, 87 % — 7 из 8 соответственно).

При сравнении молекулярных профилей (паттернов амплификации), полученных с помощью праймера R1, обнаружен фрагмент размером 620 пар нуклеотидов (п. н.), амплифицирующийся только у штаммов *G. lucidum.* В составе RAPD-спектров штаммов *G. applanatum* данный фрагмент не присутствует, что позволяет предположить его видоспецифичность (рис. 2, 3).

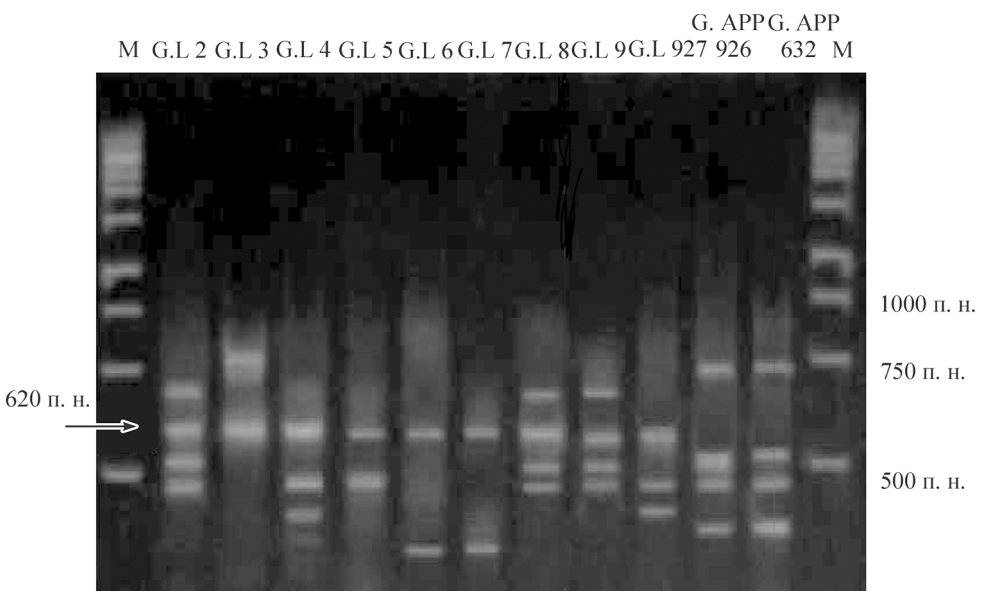

Рис. 2. Электрофореграмма RAPD-полиморфизма штаммов рода *Ganoderma*, полученная при использовании праймера R1.

Стрелкой обозначен фрагмент, видоспецифичный для штаммов *G. lucidum*; M — маркер GeneRuler TM 1 kb DNA Ladder, Fermentas. Размеры маркерных фрагментов (п. н.) указаны справа от фотографии. G. L — *G. lucidum*, G. APP — *G. applanatum.*

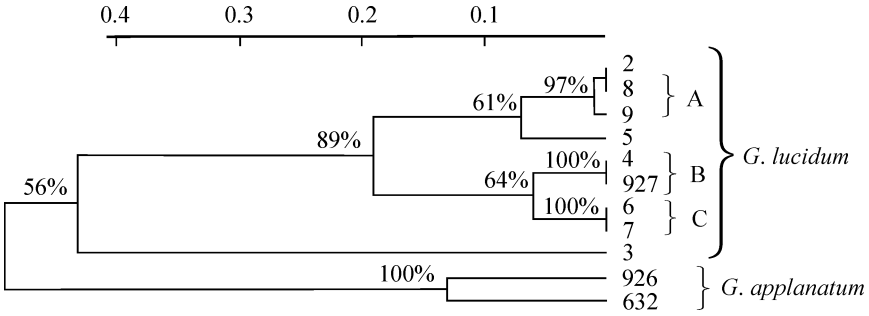

Рис. 3. UPGMA-дендрограмма генетического сходства RAPD-профилей штаммов *Ganoderma* spp.

Данные RAPD-полиморфизма были обработаны с помощью метода кластерного анализа. Все дендрограммы обладали сходной топологией; наиболее устойчивой оказалась дендрограмма, полученная на основе анализа суммарной матрицы по всем паттернам амплификации; среднее значение индекса бутстрепа — 82 % (рис. 3).

Основной кластер дендрограммы включал все штаммы *G. lucidum.* Штаммы, принадлежащие к виду *G. applanatum*, образовывали отдельную внешнюю группу, монофилия которой поддерживалась высокими значениями индекса бутстрепа (до 100 %).

По данным кластерного анализа RAPD-маркеров, вид *G. lucidum* оказался высокогетерогенным, объединяя штаммы на протяжении широкого интервала условных единиц генетической дистанции (от 0.1 до 0.42).

Внутри вида *G. lucidum* на всех дендрограммах можно видеть три стабильные группы изолятов: A — штаммы G. L 2, G. L 8 с Кавказа и G. L 9 из Крыма, B — штаммы G. L 4 и G. L 927 из Франции и Австрии соответственно и C — штаммы G. L 6 и G. L 7 из Московской обл. (рис. 3).

Полученные группы штаммов характеризовались высокой степенью гомогенности RAPD-маркеров (индекс бутстрепа для группы A — до 97 %, для групп B и C — до 100 %). Представленные в данной выборке штаммы G. L 6 и G. L 7 из Московской обл. (C), не являясь клонами по результатам тестов на вегетативную несовместимость, обладали идентичными молекулярными RAPD-профилями. Высокое сходство отмечено у штаммов G. L 4 и G. L 927 (B), объединяемых в отдельную группу с вероятностью 100 %. Изоляты G. L 2, G. L 8 с Кавказа и G. L 9 из Крыма (A) объединились в 97 % случаев на уровне 0.01 усл. ед. генетической дистанции. Таким образом, RAPD-полиморфизм вида *G. lucidum* позволил выделить несколько групп.

Географически удаленный штамм G. L 3 из Кореи занял обособленное место на расстоянии 0.42 усл. ед. генетической дистанции, демонстрируя наибольшее отличие

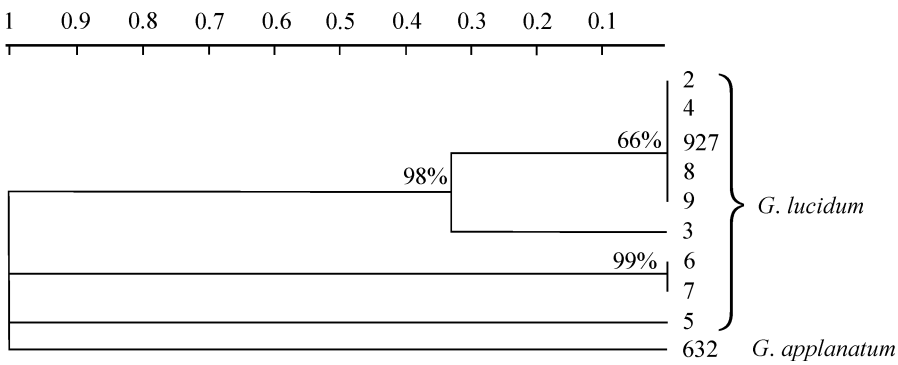

Рис. 4. Дендрограмма сходства штаммов *G. lucidum* и *G. applanatum* по спектру изоферментов МДГ.

Таблица 3

Сравнение результатов анализа полиморфизма штаммов *G. lucidum*

Характеристика штаммов	Критерии анализа					
	степень гомологии RAPD-маркеров, %	степень гомологии изоферментных МДГ-спектров, %	результаты мон-мон-скрещивания	результаты ди-мон-скрещивания	наличие хламидоспор (Завьялова и др., 2005)	плодовые тела
G.L 2, G.L 8 (Кавказ), G.L 9 (Крым)	97	66	Интерстерильная группа I	Совместимы только внутри группы	Есть	Веерообразные матовые сидячие
G.L 4 (Франция), G. L 927 (Австрия)	100	66	Интерстерильная группа II	То же	»	Веерообразные «лакированные» с ножкой
G.L 6, G.L 7 (Московская обл.)	100	99	Не проводились	Несовместимость	Нет	Не получены

внутри кластера *G. lucidum* по всем RAPD-маркерам. Что касается штамма из США (G. L 5), то его степень объединения с группой из южных регионов была относительно невысокой, до 61 % индекса бутстрепа.

Из пяти использованных изоферментных систем наиболее репрезентативной оказалась малатдегидрогеназа (МДГ), что согласуется с данными для *G. lucidum*, приведенными в литературе (Abdullah, 1996). Метод белкового электрофореза с использованием МДГ подтвердил выявленные ранее различия штаммов разного географического происхождения.

На дендрограмме сравнения МДГ-спектров наибольшее отличие отмечено у штаммов *G. applanatum* и G. L 5 из США, которые объединялись с остальными географическими изолятами *G. lucidum* только на уровне 10 усл. ед. генетической дистанции (рис. 4).

Штаммы G. L 6 и G. L 7 из Московской обл. объединялись в одну группу, что соответствовало 99 % индекса бутстрепа. У остальных штаммов (G. L 2, G. L 4, G. L 8, G. L 9 и G. L 927) обнаружен 66 % гомологии МДГ-спектров. Штамм из Кореи вновь занял обособленную позицию на уровне 0.34 усл. ед. генетической дистанции.

Исследование изменчивости штаммов *G. lucidum* с помощью разных методов позволило сопоставить результаты анализа (табл. 3). Так, штаммы из южных регионов страны и ближнего зарубежья, объединенные по данным RAPD-анализа в группу A, имели сходные спектры малатдегидрогеназы и составили интерстерильную группу I. У них была отмечена способность образовывать в чистой культуре хламидоспоры (Завьялова и др., 2005), а также были получены веерообразные «лакированные» плодовые тела с ножкой.

У европейских штаммов, объединенных в RAPD-группу B, были обнаружены высокая степень гомогенности по изоферментам, принадлежность к интерстерильной группе II, наличие хламидоспор и матовые консолевидные плодовые тела. Что касается штаммов из Московской обл. (RAPD-группы C), то у них отмечена наибольшая степень сходства по МДГ-спектрам, отсутствуют хламидоспоры в чистой культуре, а также они не способны развивать нормальные базидиомы в искусственных условиях.

Штаммы из Кореи (G. L 3) и США (G. L 5) не только имели по всем RAPD-маркерам и изоферментам наибольшее отличие внутри кластера *G. lucidum*, но и при проведении фертильных скрещиваний оказались репродуктивно изолированными.

Таким образом, для каждой RAPD-группы была получена индивидуальная характеристика, отличавшаяся высокой степенью гомогенности (однородности) по выбранным маркерам и географическому происхождению.

Путем сравнения молекулярных профилей штаммов коллекции выявлена возможность создания на базе RAPD-маркеров специфических зондов для идентификации вида *G. lucidum.*

Благодаря использованному набору RAPD-праймеров, уже применявшихся для анализа *G. lucidum*, появилась возможность в будущем сравнить молекулярные фенотипы штаммов нашей выборки и мировой коллекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Автономова А. В. Ganoderma lucidum (Curt. : Fr.) P. Karst., трутовик лакированный: штаммовое разнообразие, антибиотические свойства и противоопухолевое действие: Дис. ... к. б. н. М., 2006. 120 с.

Дьяков Ю. Т. Критерии биологического вида у грибов (с обзором таксономической структуры ризоктониеподобных грибов) // Микология и фитопатология. 1993. Т. 27, вып. 6. С. 68—82.

Дьяков Ю. Т., Долгова А. В. Вегетативная несовместимость у фитопатогенных грибов. М.: МГУ, 1995. 161 с.

Гарибова Л. В., Мокеева В. Л. Использование метода межвидовых скрещиваний для установления филогенетических связей внутри рода (на примере рода Agaricus) // Микология и фитопатология. 1976. Т. 10, вып. 1. С. 53—54.

Завьялова Л. А., Чистякова Е. Л., Инсарова И. Д., Антимонова А. В. Штаммовое разнообразие трутовика лакированного Ganoderma lucidum // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39, вып. 1. С. 27—34.

Краснопольская Л. М., Антимонова А. В., Белицкий И. В., Бухман В. М., Исакова Е. Б., Либензон А. В., Завьялова Л. А., Гарибова Л. В. Лекарственный базидиальный гриб трутовик лакированный Ganoderma lucidum (Curt. : Fr.) P. Karst.: погруженное культивирование и противоопухолевые свойства // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. М., 2003. Вып. 9. С. 46—55.

Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1997. 278 с.

Салменкова Е. А., Малинина Т. В. Применение электрофоретических методов в популяционно-генетических исследованиях продуктивности видов рыб // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Вильнюс: Моксалас, 1976. С. 82—92.

Постнова Е. Л., Завьялова Л. А., Инсарова И. Д. Формирование атипичных плодовых тел и примордиев Ganoderma lucidum in vitro и влияние на этот процесс абиотических факторов // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43, вып. 4. С. 299—306.

Abdullah F. Taxonomic and electrophoretic studies of selected species of Ganoderma Karst.: Dissertation. Thesis. Universiti Putra Malaysia, 1996.

Adaskaveg J. E., Gilbertson R. L. Cultural studies and genetics of sexuality of Ganoderma lucidum and G. tsugae in relation to the taxonomy of the G. lucidum complex // Mycologia. 1986. Vol. 78(5). P. 694—705.

Buchanan P. K. A taxonomic overview of the genus Ganoderma with special reference to species of medicinal and neutriceutical importance // Proc. Int. Symposium Ganoderma SCI. Auckland, 2001. P. 27—29.

Davis Y. V. Disk electrophoresis. Method and application to human serum problems // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1964. Vol. 121. P. 404—427.

Egger G. Biology and breeding of pleurotus / Eds S. T. Chang, W. A. Hayes // In the Biology and Cultivation of Edible Mashrooms. 1978. P. 497—519.

Hseu R. S., Wang H. H., Wang H. F., Moncalvo J. M. Differentiation and grouping of Isolates of the Ganoderma lucidum Complex by Random Amplified Polymorphic DNA-PCR Compa-

red with Grouping on the Basis of Internal Transcribed Spaser Sequences // Appl. Environm. Microbiol. 1996. P. 1354—1363.

Moncalvo J. M., Wang H. F., Hseu R. S. Gene phylogeny of the Ganoderma lucidum complex based on ribosomal DNA sequences // Mycol. Res. 1995. Vol. 99. P. 1489—1499.

Moncalvo J. M. Systematics of Ganoderma // Ganoderma Disease of Perennial Crops. CABI Publishing, 2000. P. 23—52.

Seo G. S., Kirk P. M. Systematics of Ganoderma // Ganoderma Disease of Perennial Crops. CABI Publishing, 2000. P. 3—22.

Stamets P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. 1993. P. 335—337.

Zmitrovich I. V., Wasser S. P., Didukh M. Ya., Spirin W. A., Malysheva V. F. Morphological Traits of Ganoderma lucidum Complex. Ruggell, 2006. P. 188—120.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
3210j@mail.ru

Поступила 19 V 2009

РЕЗЮМЕ

Проведен детальный сравнительный анализ внутривидового разнообразия штаммов *Ganoderma lucidum* различного географического происхождения на основе морфологических, генетических, биохимических и молекулярных признаков. Полученные в настоящем исследовании результаты важны для понимания внутривидовой структуры комплексного вида *G. lucidum.*

Ключевые слова: половая несовместимость, РАПД-анализ, изоферментный анализ, *G. lucidum*.

SUMMARY

Mating incompatibility, RAPD-polymorphism, isozyme polymorphism and some morphological characteristics of geographical isolates of *Ganoderma lucidum* were analysed to determine their phylogeny. By different methods, there were three stable groups found within this complex species.

Key words: mating incompatibility, RAPD-polymorphism, isozyme polymorphism, *G. lucidum.*