

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE *NAVISPORUS FLOCCOSUS* Y *GANODERMA* SP. CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS

Jorge R. Palacios Atencio,¹ Carlos R. Romeu Carballo,¹ Rebeca Ramírez Ochoa,¹ Vivian Leliebre Lara² y Jorge L. Ortiz Medina³

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, La Habana, C.P. 11600, jpalacios@inisav.cu

² Facultad de Química, Laboratorio de Productos Naturales, Universidad de La Habana. Calle Zapata s/n e/ Mazón y G, Vedado, Plaza de la Revolución, La Habana, C.P. 10400

³ Instituto de Ecología y Sistemática. Carretera de Varona Km 3½, Capdevila, Boyeros, A.P. 8029, La Habana, C.P. 10800

RESUMEN

Los hongos basidiomicetos son productores de algunos metabolitos que presentan actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, anticancerígena, etc. Su uso en medicina y la agricultura muestra resultados alentadores en las últimas décadas. En este trabajo se evaluó la actividad antifúngica de extractos obtenidos a partir de la fermentación en estado líquido de los hongos basidiomicetos *Navisporus floccosus* (Bres), *Ryvarden* y *Ganoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan y *Curvularia clavata* B. L. Jain. Los basidiomicetos fueron inoculados en medio líquido YMPG y la fermentación se realizó a 100 r.p.m. de agitación por veintidós días a 28 °C. El cultivo se filtró, la biomasa se extrajo con metanol y el filtrado con acetato de etilo. Los extractos se concentraron hasta sequedad, y en los residuos se evaluó la actividad antifúngica. Los crudos obtenidos a partir del filtrado a una concentración de 5 mg × mL⁻¹ inhibieron el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos y la germinación conidial de *C. clavata* con valores similares a los controles positivos tebuconazol y dimetomorf preparados a 0,05 mg × mL⁻¹.

Palabras claves: plaguicidas microbianos, hongos entomopatógenos, extractos

ABSTRACT

Basidiomycete fungi produce some bioactive compounds with antibacterial, antiviral and antifungal activities. This capacity has facilitated their use in agriculture and medicine, recently. Antifungal activity evaluation of *Navisporus floccosus* (Bres), *Ryvarden* and *Ganoderma* sp. extracts against *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan and *Curvularia clavata* B. L. Jain was the purpose of this work. *Basidiomycete fungi* were grown on YMPG liquid media and were shaken to 100 rpm at 28 °C for 21 days. The culture was separated filtration, biomass was extracted with methanol and filtrate was extracted with ethyl acetate. Both extracts were concentrated to dry and the antifungal activity was evaluated in residuals. Filtrated extracts at 5 mg × mL⁻¹ inhibited the mycelial growth of phytopathogenic fungi and conidial germination of *C. clavata* with similar values of positive control tebuconazole and dimethomorph at 0.05 mg × mL⁻¹.

Key words: microbial pesticides, entomogenous fungi, extracts

INTRODUCCIÓN

Debido al aumento demográfico mundial, se ha elevado la demanda de producción de alimentos. El hombre, en su afán de obtener, proteger y asegurar sus producciones agrícolas ha optado por el uso indiscriminado, y muchas veces inconsciente de los plaguicidas químicos. Esto ha provocado consecuencias negativas directas e indirectas sobre los suelos, aguas y los mismos seres humanos. Es por eso que han surgido programas como

el manejo integrado de plagas que promueven el uso y aplicación de alternativas que le permitan al hombre subsanar su necesidad de producción de alimentos y protección de sus cultivos, pero desde un enfoque más amigable con el ambiente [Fuentes, 2011].

Los productos naturales como una alternativa para el control de plagas normalmente son biodegradables, es-

pecíficos en cuanto a su radio de acción, y provocan menos impacto en la salud humana y el ecosistema que los plaguicidas convencionales. Es por eso que pueden incorporarse a programas de manejo integrado de plagas y servir de base para el desarrollo de nuevas clases de plaguicidas [Isman *et al.*, 2011].

Existen hongos cuyos metabolismos son capaces de desarrollar sustancias que pueden usarse en el control de hongos fitopatógenos. Compuestos aromáticos aislados de *Periconia atropurpurea*, hongo endofítico aislado de hojas de *Xylopi aromatica*, han mostrado actividad antifúngica comparada con la nistatina contra *Cladosporium sphaerospermum* y *C. cladosporioides* [Teles *et al.*, 2006]. Sordaricin, un metabolito aislado del hongo *Xylaria* sp. presenta actividad antifúngica moderada contra *Candida albicans* [Liu *et al.*, 2008]. Naftoquinonas espiroquetales aisladas de *Edenia gomezpompae*, hongo aislado de hojas de *Callicarpa acuminata* (Verbenaceae), mostraron actividad significativa contra *Phytophthora capsici*, *Phytophthora nicotianae* y *Fusarium oxysporum* [Macías-Rubalcava *et al.*, 2008]. Estrobirulinas A y B, sustancias extraídas del micelio *Strobirulus tenecellus* (Pers.) Singer ejercen un efecto antifúngico contra hongos *Oomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, anamorfos y levaduras [Anke y Oberwinkler, 1977].

Diversos grupos de aproximadamente cuatrocientos compuestos químicos, tales como triterpenos, polisacáridos, proteínas, aminoácidos, nucleósidos, esteroides, alcaloides, ácidos grasos y enzimas se han aislado de especies de hongos basidiomicetos *Ganoderma* [Wasser y Weis, 1999; Wasser *et al.*, 2002], y se ha demostrado que los constituyentes más importantes desde el punto de vista farmacológico son triterpenos y polisacáridos [Boh *et al.*, 2004].

En cuanto al género *Navisporus*, perteneciente a la familia *Polyporaceae*, no se le conoce efecto antifúngico, aunque Sheenna *et al.* (2003) reportaron la actividad antibacteriana de *N. floccosa* contra *Escherichia coli* (Migula), *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, *Staphylococcus aureus* (Ogston), *Salmonella typhimurium* (Loeffler) y *Bacillus subtilis* (Mendelson).

En el presente trabajo se evaluó la actividad antifúngica de los extractos obtenidos a partir del filtrado líquido y biomasa de *N. floccosus* y *Ganoderma* sp. contra los hongos fitopatógenos *Phytophthora nicotianae* y *Curvularia clavata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

N. floccosus (NavP) fue aislado de tronco seco de jagüey (*Ficus benjamina* L.) y *Ganoderma* sp. (GanP) fue aislado de ocuje (*Calophyllum antillanum* (Britt.)). Ambas colecciones se realizaron en el municipio de Playa, La Habana. Las identificaciones taxonómicas de los hongos se realizaron de acuerdo con la clave descrita por Decock y Herrera (2000). Los hongos se aislaron según lo recomendado por Stamets y Chilton (1983), y se conservaron por el método de Burdsall y Dorworth (1994). Posteriormente los aislados se inocularon en medio agar papa dextrosa (PDA) para los estudios de actividad biológica.

Para tales estudios se prepararon, por cada aislado, cuatro erlenmeyers de 200 mL de capacidad con 50 mL de medio YMPG (extracto de levadura al 0,3 %, extracto de malta al 0,3 %, peptona al 0,5 % y glucosa al 0,1 % con un pH = 5,5). El medio se esterilizó a 121 °C con 1,5 atm de presión.

A los siete días de crecimiento de los basidiomicetos en medio PDA, se tomaron cinco porciones de 5 mm de diámetro del borde del micelio y se inocularon asépticamente en el medio YMPG, para comenzar una fermentación líquida con 28 ± 2 °C de incubación y 100 r.p.m. de agitación por veintiún días.

Concluida la fermentación se separaron las biomásas de los filtrados líquidos. Se procedió según la metodología propuesta por Rosa *et al.* (2003), la biomasa se secó a 40 °C durante 36 h, se maceró en metanol por espacio de 72 h, y la extracción del filtrado líquido se realizó con acetato de etilo. Ambos extractos se concentraron a presión reducida y se redisolviéron en metanol a una concentración de 5 mg × mL⁻¹.

Como fitopatógenos diana se seleccionó una cepa de *C. clavata*, hongo anamorfo asociado a un complejo de hongos fitopatógenos que causan el oscurecimiento y manchado del grano en el arroz [Neninger *et al.*, 2003], y una cepa de *P. nicotianae*, oomiceto causante de la pata prieta en el tabaco, una de las enfermedades de mayor repercusión económica en la producción tabacalera nacional por las cuantiosas pérdidas que puede ocasionar, tanto en semillero como en las plantaciones [Espino, 1996]. Las cepas se sembraron en placas Petri de 9 cm de diámetro con PDA, y se incubaron a 28 ± 2 °C durante siete días.

Para la germinación de conidios de *C. clavata* se colocan de dos a tres porciones del micelio de 5 mm de diámetro sobre hojas de Don Carlos (*Sorghum halepense* L. Pers.) previamente colocadas en agar-agua. Después de 72 h ocurre el crecimiento fúngico sobre las

hojas y se pueden observar los conidios al estereoscopio. Luego se toman las hojas cebo y se transfieren a un elermeyer de 50 mL de medio líquido papa dextrosa que se agita manualmente para liberar las esporas.

La evaluación del efecto sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos por los extractos bioactivos se realizó por el método en pocillos de Hur *et al.* (2003). En placa Petri de 9 cm con PDA se abrió en el centro una cavidad de 8 mm de diámetro, donde se colocó un papel de filtro de iguales dimensiones. Posteriormente los pocillos se llenaron con 200 μL de los extractos a $5 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$, se dejó evaporar el disolvente, luego se sembró una porción de 5 mm de diámetro del hongo fitopatógeno sobre el papel de filtro y se incubó a 28°C durante siete días. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (% IC) según la fórmula de Abbott modificada por Imtiaj y Lee (2007), donde:

$$\% \text{ IC} = \frac{\text{DCC} - \text{DCT}}{\text{DDC}} 100$$

DCC: Diámetro de la colonia control

DCT: Diámetro de la colonia tratada

Se utilizaron cuatro réplicas por tratamiento. Como control positivo se tomaron los fungicidas químicos tebuconazol, del grupo de los triazoles, efectivo contra hongos anamorfos, y dimetomorf, del grupo de las amidas, efectivo contra oomicetos, a una concentración de $0,05 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$ y PDA como control negativo.

A los datos obtenidos de las evaluaciones de la efectividad de los extractos contra cada patógeno de forma individual se les realizó un análisis de varianza de clasificación simple por el programa estadístico Stadgrafics

5.0, con comparación de medias por la prueba de Duncan para $p \leq 0,05$.

Para la evaluación del efecto sobre la germinación de esporas de *C. clavata* se empleó el método de placa delgada descrito por Philip *et al.* (1984) con la variante de la utilización de papa dextrosa como medio de cultivo. En una placa cromatográfica de $25 \times 25 \text{ cm}$, cubierta de gel de sílice ($0,5 \text{ mm}$ de espesor) se aplicaron 10, 20, 40 y $100 \mu\text{L}$ equivalentes a 50, 100, 200 y $500 \mu\text{g}$ de la mezcla de metabolitos extraídos. Después de evaporado el solvente se asperjaron 10 mL de suspensión de esporas del hongo fitopatógeno *C. clavata*. La placa se incubó por espacio de cuatro días a $32 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara húmeda ($\text{Hr} > 95\%$) y oscuridad. En otra placa se utilizó tebuconazol a $0,05 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$ como control positivo. Esto se realizó para evitar interferencias que provoquen falsos positivos del efecto del fungicida químico con los extractos. Se evaluó cualitativamente la inhibición de la germinación de esporas según el halo de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Tabla 1* se listan los resultados del efecto de los extractos fúngicos sobre el crecimiento micelial de los patógenos. Todos los extractos presentaron un notable efecto sobre el desarrollo de los patógenos diana. Los obtenidos a partir de la biomasa inhibieron el crecimiento micelial de los patógenos estudiados, aunque su efectividad con respecto a los otros crudos y los estándares químicos resultó poco significativa, mientras que los extractos del filtrado líquido resultaron ser los más activos, con una significativa actividad fungistática sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos. Las *Figs. 1* y *2* muestran la toxicidad de los extractos de ambos basidiomicetos contra los patógenos en estudio.

Tabla I. Efecto de inhibición de crecimiento micelial de *C. clavata* y *P. nicotianae* por extractos de *N. floccosus* y *Ganoderma* sp. Método en pocillos

Extractos en metanol ($5 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$)	Inhibición (%)	
	<i>C. clavata</i>	<i>P. nicotianae</i>
<i>N. floccosus</i> (biomasa)	27,7 c	32,6 b
<i>Ganoderma</i> sp. (biomasa)	10,9 b	27,4 b
<i>N. floccosus</i> (filtrado líquido)	83,3 e	100 d
<i>Ganoderma</i> sp. (filtrado líquido)	48,8 d	53,3 c
Dimetomorph ($50 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$)	–	100 d
Tebuconazol ($50 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$)	57,4 d	–
PDA	0 a	0 a

– No evaluado.

Letras diferentes indican diferencias significativas para la prueba de Duncan con $p \leq 0,05$.

El extracto obtenido a partir del filtrado de *Ganoderma* sp. registró el 53,3 % de toxicidad sobre el crecimiento de *P. nicotianae*, mientras que con *C. clavata* la inhibición fue del 48,8 %, valor cercano al del estándar positivo tebuconazol con 57,4 %.

El extracto obtenido a partir del filtrado líquido de *N. floccosus* registró un significativo efecto de inhibición de crecimiento micelial de *P. nicotianae* con el 100 %, valor similar al del estándar positivo dimetomorf. Otro de los resultados interesantes de este filtrado para este estudio fue el 83,3 % de toxicidad sobre el crecimiento de *C. clavata*, valor superior al 57,4 % alcanzado por el tebuconazol, fungicida utilizado como control positivo. Los estudios del efecto antifúngico de estos extractos a

partir de esta especie en Cuba constituyen los primeros de su tipo, por lo que sería interesante realizar estudios posteriores sobre los compuestos activos que la conforman para comprobar su toxicidad, no solo sobre estos patógenos, sino también contra otros de importancia en el sector agrícola.

Aunque existe escasa literatura acerca de estudios sobre la efectividad de los extractos de hongos basidiomicetos contra hongos fitopatógenos, sí se han encontrado resultados similares a los obtenidos con *P. nicotianae* por Hur *et al.* (2003) con extractos de líquenes *Heterodermia* sp. con actividad antifúngica, frente a *Oomycetes* como *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *P. graminicola* Subrayan, *P. ultimum* var. *ultimum* Trow y *Pythium* sp.

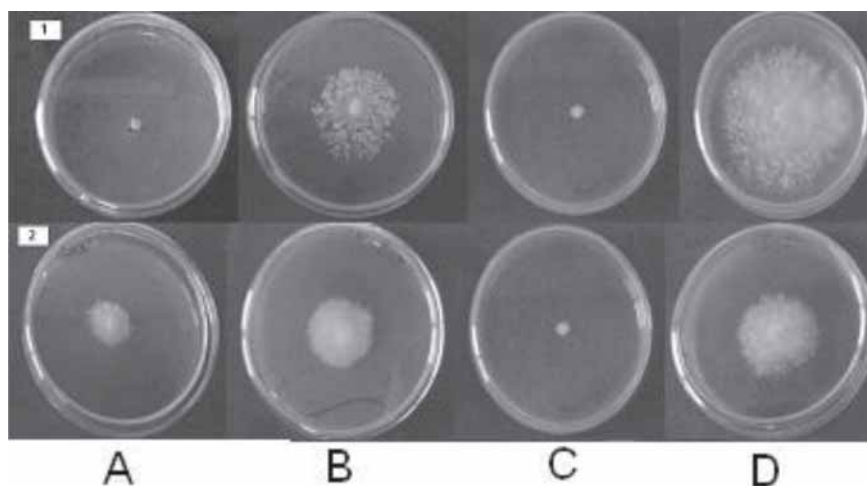


Figura 1. Inhibición de crecimiento micelial de *P. nicotianae* por extractos de *N. floccosus* (1) y *Ganoderma* sp. (2). Método en pocillos. A: filtrado líquido, B: biomasa, C: dimetomorf, D: PDA.

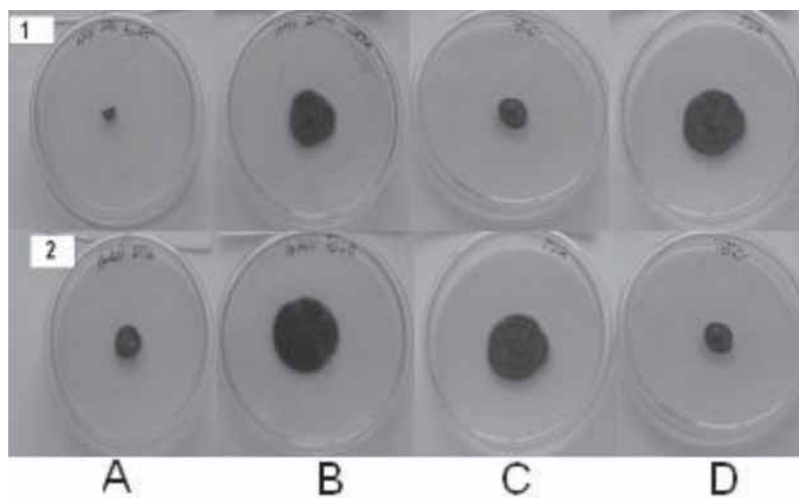


Figura 2. Inhibición de crecimiento micelial de *C. clavata* por extractos de *N. floccosus* (1) y *Ganoderma* sp. (2). Método en pocillos. A: filtrado líquido, B: biomasa, C: tebuconazol, D: PDA.

Los crudos del filtrado líquido de ambos basidiomicetos inhibieron la germinación de *C. clavata* a bajas concentraciones (Tabla 2), mientras que los extractos a partir de las biomasa no ejercieron efecto alguno. El efecto antifúngico de *Ganoderma* sp. se mostró hasta 40 μ L equivalentes a 200 μ g del crudo. Por su parte, *N. floccosus* produjo inhibición en todas las concentraciones utilizadas, resultado interesante si se tiene en cuenta que el

efecto se debe a un crudo que presenta una mezcla de metabolitos y no a un compuesto puro. En este tipo de extracto la actividad biológica puede deberse a uno o a varios de los metabolitos presentes, cuya proporción en el crudo puede variar desde el 10 % hasta valores inferiores al 0,1 % [Itokawa *et al.*, 1993; Mesa *et al.*, 2004]. En la Fig. 3 se muestra el efecto de los extractos de ambos basidiomicetos sobre la germinación conidial de *C. clavata*.

Tabla 2. Inhibición de la germinación de conidios de *C. clavata* por los extractos del filtrado líquido. Método en placa delgada

Volumen aplicado (μ L)	<i>N. floccosus</i> ($5 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$) Filtrado líquido	<i>N. floccosus</i> ($5 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$) Biomasa	<i>Ganoderma</i> sp. ($5 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$) Biomasa	<i>Ganoderma</i> sp. ($5 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$) Filtrado líquido	Metanol ($0,05 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$)	Tebuconazol ($0,05 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$)
100	+	–	–	+	–	x
40	+	–	–	+	–	+
20	+	–	–	–	–	+
10	+	–	–	–	–	+

+: Inhibió germinación. –: No inhibió germinación. x: No evaluado.

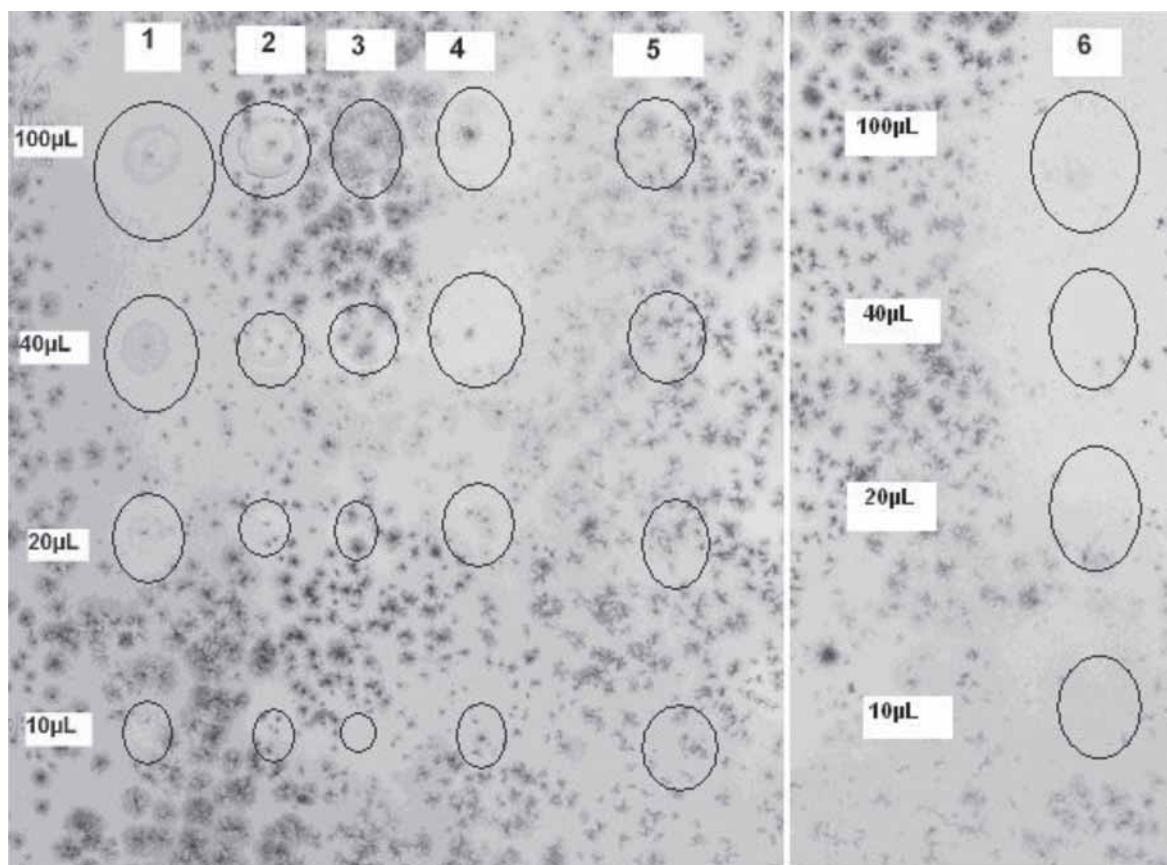


Figura 3. Inhibición de la germinación de conidios de *C. clavata* por los extractos de *N. floccosus* y *Ganoderma* sp. Método en placa delgada. 1 y 4: Extractos del filtrado líquido, 2 y 3: Extractos de la biomasa, 5: Metanol, 6: Tebuconazol.

CONCLUSIONES

- Los extractos a partir del filtrado líquido de *Ganoderma* sp. y *N. floccosus* presentan potencial como agentes antifúngicos al inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos *C. clavata* y *P. nicotianae*.
- *N. floccosus* exhibió una inhibición superior a *Ganoderma* sp. y al control químico.
- Los extractos de biomasa de *Ganoderma* sp. y *N. floccosus* también mostraron efecto inhibitorio, aunque en bajos niveles.

REFERENCIAS

- Anke, T.; F. Oberwinkler: «The Strobirulins New Antifungal Antibiotics from the Basidiomycetes *Strobirulus tenacellus*», *J. Antibiot.* 30: 806-810, EE. UU., 1977.
- Boh, B.; M. Berovic; B. Wraber; D. Hodzar; J. Habijan; F. Pohleven; I. Zore: «*Ganoderma lucidum* and *Ganoderma applanatum* from Slovenian Habitats: Cultivation, Isolation, and Testing of Active Compounds», *Int. J. Med. Mushrooms* 6: 15-32, Ljubljana, Slovenia, 2004.
- Burdsall, H. Jr.; E. B. Dorworth: «Preserving Cultures of Wood-Decaying Basidiomycotina Using Sterile Distilled Water», *Mycologia* 6: 275-280, EE. UU., 1994.
- Decock, C.; S. Herrera: «Studies in *Perenniporia*. *Navisporus ortizii*, a Synonym of *Perenniporia martius*, and a Note on *Navisporus* and *Perrenporia* in Cuba», *Cryptog. Mycol.* 21 (3): 153-162, 2000.
- Espino, M. E.: *Cuban.s Cigar Tobacco*, TFH Publication, EE. UU., 1996.
- Fuentes, J. D.: Propuesta: «Extracto botánico acuoso de *Artemisia vulgaris* L. (Altamisa) ¿alternativa agroecológica para el control de plagas de cultivos?», 27/3/2011, <http://www.yarugyver.blogspot.com/2011/03/alternativa-agroecologica-para-el.html> (consultado: 10/5/2011).
- Hur, J. S.; J. H. Kim; K. M. Lim; Y. J. Koh: «Isolation, Cultivation and Antifungal Activity of a Lichen-Forming Fungus», *Plant Pathol. J.* 19 (2): 75-78 Suncheon National University, Corea, 2003.
- Imtiaj, A.; T. S. Lee: «Screening of Antimicrobial and Antifungal Activity from Korean Wild Mushrooms», *World Journals of Agricultural Sciences* 3 (3): 316-321, Corea, 2007.
- Isman, M. B.; Miresmaili, S.; Machial, C.: «Comercial Opportunities for Pesticides Based on Plants Essential Oils in Agriculture, Industry and Consumer Products», *Phytochemistry Reviews*. 10(2):197-204(8), Canada, 2011.
- Itokawa, H.; O. Shirota; H. Morita; K. Takeya; Y. Litaka: «Isolation, Structural Elucidation and Conformational Analysis of Sesquiterpene Pyridine Alkaloids from *Maytenus ebenifolia* Reiss. X-Ray Molecular Structure of Ebenifoline W-I», *J. Chem. Soc. Perkin Trans* 11: 1247-1254, Japón, 1993.
- Liu, X.; M. Dong; X. Chen; M. Jiang; X. Liv; J. Zhou: «Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp.YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin» *Appl. Microbiol. Biotechnol* 78 (2): 241-7. EE. UU. 2008.
- Macías, M. L.; B. E. Hernández; M. Jiménez; M. C. González; A. E. Glenn; R. T. Hanlin; S. Hernández; A. Saucedo; J. M. Muria; A. L. Anaya: «*Naphthoquinone spiroketal* with Allelochemical Activity from the Newly Discovered Endophytic Fungus *Edenia gomezpompae*», *Phytochemistry* 69 (5): 1185-1196, EE. UU., 2008.
- Mesa, A.; J. G. Bueno; L. A. Betancur: «Productos naturales con actividad antimicótica», *Rev. Esp. Quimioterap.* 17 (4): 325-331, Colombia, 2004.
- Neninger, L. H.; E. I. Hidalgo; L. M. Barrios; M. Pueyo: «Hongos presentes en las semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) en Cuba», *Fitosanidad* 7 (3): 7-11, La Habana, 2003.
- Philip, H. E.; W. S. Bowers; E. J. Funk: «Identification on Fungicidal and Nematicidal Components in the Leaves of *Piper bettle* (Piperaceae)», *J. Agric. Food Chem.* 32: 1254-1256, EE. UU., 1984.
- Rosa, L. H.; K. M. Gomes; C. C. Jacob; M. Capelari; C. A. Rosa; C. L. Zani: «Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity», *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98 (7): 7-19, Brasil, 2003.
- Sheena, N.; T. A. Ajith; T. Mathew; K. K. Janardhanan: «Antibacterial Activity of Three Macrofungi, *Ganoderma lucidum*, *Navesporus floccosa* and *Phellinus rimosus* occurring in South India», *Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)* 41: 564-567, India, 2003.
- Stamets, P.; J. S. Chilton: «The Mushroom Cultivator. A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home», *Agarikon Press*, Olympia, WA, EE. UU., 1983.
- Teles, H. L.; R. Sordi; G. H. Silva; I. Castro-Gamboa; V. S. Bolzani; L. H. Pfennig; L. M. de Abreu; C. M. Costa; M. C. Young; A. R. Araújo: «Aromatic Compounds Produced by *Periconia atropurpurea*, an Endophytic Fungus Associated with *Xylopia aromatica*», *Phytochemistry* 67 (24): 2686-2690, EE. UU., 2006.
- Wasser, S. P.; A. L. Weis: «Therapeutic Effects of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: A Modern Perspective», *Crit. Rev. Immunol.* 19: 65-96, University of Haifa, Israel, 1999.
- Wasser, S. P.; K. M. Sytnik; A. S. Buchalo; E. F. Solomko: «Medicinal Mushrooms: Past, Present and Future», *Ukrains'kii Botanichnii Zhurnal* 59: 499-524, 2002.