

Г.В. Ильина, Д.Ю. Ильин

КСИЛОТРОФНЫЕ БАЗИДИОМИЦЕТЫ В ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЕ

Монография



Пенза 2013

Дмитрий Ильин

**Ксилотрофные базидиомицеты
в чистой культуре**

«БИБКОМ»

2013

УДК 582.929.4:504.73
ББК 28.5:28.588

Ильин Д. Ю.

Ксилотрофные базидиомицеты в чистой культуре /
Д. Ю. Ильин — «БИБКОМ», 2013

ISBN 978-5-94338-638-1

Монография содержит сведения об особенностях развития в условиях чистой культуры видов базидиальных макромицетов – ксилотрофов. Обобщена имеющаяся информация относительно статуса чистой культуры, дан обзор коллекций, существующих в России и за рубежом.

УДК 582.929.4:504.73

ББК 28.5:28.588

ISBN 978-5-94338-638-1

© Ильин Д. Ю., 2013

© БИБКОМ, 2013

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1 СТАТУС ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ В ЭКОЛОГО- МИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	7
1.1 Ксилотрофные базидиомицеты в коллекциях мицелиальных культур	7
1.2 Трофические потребности ксилотрофных базидиомицетов в условиях чистой культуры	15
Конец ознакомительного фрагмента.	17

Ильин Д. Ю., Ильина Г. В. Ксилотрофные базидиомицеты в чистой культуре

ВВЕДЕНИЕ

Ксилотрофные базидиальные макромицеты представляют собой уникальную как с теоретических, так и с прикладных позиций, группу организмов. Исключительно велика роль дереворазрушающих грибов в природных экосистемах. Широко известным фактом является то, что основные запасы углерода аккумулированы континентальной растительностью, и, прежде всего, лесами. Существуют данные, что только в лесном покрове России аккумулировано около 34 млрд. т углерода, поэтому леса следует рассматривать как естественный резервуар, регулирующий глобальный цикл органического углерода (Орлов, 1992; Замолотчиков и др., 2005). Естественная мобилизация депонированного в древесине углерода возможна путем ее биологического разложения. Последнее протекает при участии обширного комплекса организмов, образующих в природе ксилофильные сообщества. Несомненно, ведущая роль в этих процессах принадлежит дереворазрушающим базидиальным грибам, которые являются единственной группой организмов, способной к полной деструкции лигноцеллюлоз (Мухин, 1993).

В последние десятилетия ксилотрофные базидиомицеты уверенно заняли одно из ведущих мест в качестве объектов биотехнологии. Работы, проведенные в этом плане, касаются вопросов культивирования грибов-продуцентов пищевых белков, ферментов, других соединений с ценными свойствами. Выделение этих веществ стало основой для разработки лекарственных препаратов, биологически активных профилактических добавок. Фармакологическое действие макромицетов отличается большим многообразием (Краснопольская и др., 2002). Они обладают антимикробными, адаптогенными, иммуностимулирующими, седативными и прочими ценными свойствами, используются в качестве гипотензивных, капилляроукрепляющих, противоязвенных, противораковых и других средств. Исследовательские работы, проведенные в этом ключе в последние десятилетия, свидетельствуют о существовании значимых культуральноморфологических и метаболических штаммовых отличий у представителей различных видов базидиомицетов (Соболева и др., 2007). Поиск новых штаммов в природе, ведение селекционной работы с культурами являются перспективными приемами для максимального раскрытия потенциала организмов этой группы.

Вышесказанное свидетельствует об актуальности исследований биологии ксилотрофных базидиомицетов, целесообразности создания коллекций их чистых культур, располагающих достаточным объемом экспериментального материала и работы с природными изолятами, потенциально перспективными в биотехнологии.

Авторами создана коллекция мицелиальных культур базидиомицетов – представителей ксилотрофной микобиоты лесостепи Правобережного Поволжья. Коллекция включает 44 вида и 215 штаммов грибов, принадлежащих к разным систематическим и экологическим группам, в том числе в ней представлены редкие и занесенные в Красные Книги РФ и Пензенской области виды. Показаны возможности культивирования видов, независимо от их субстратной специфичности в природе, на субстратах, содержащих экстрагированные метоксилированные лигноцеллюлозные компоненты. С помощью разработанного метода скрининга отобраны штаммы ксилотрофных базидиомицетов, перспективные в качестве продуцентов стерина. Получены положительные решения по заявкам на патентование оригинальной рецептуры субстратов и способа получения плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов, перспективных в биотехно-

логии. Разработана биологически активная добавка к рациону сельскохозяйственных птиц на основе мицелия *Ganoderma lucidum*, которая апробирована в условиях крупнейшего птицеводческого комплекса Пензенской области (ООО ПТФ «Васильевская») и запатентована. Запатентован также способ хранения мицелиальных культур, обеспечивающий сохранение продуктивных свойств штаммов и генофонда редких видов, в том числе, занесенных в Красные Книги РФ и Пензенской области. Полученные данные относительно особенностей развития ксилотрофных базидиомицетов в культуре используются в процессе преподавания курсов «Экология» в ФГБОУ ВПО «Пензенская ГСХА».

Глава 1 СТАТУС ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ В ЭКОЛОГО-МИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

1.1 Ксилотрофные базидиомицеты в коллекциях мицелиальных культур

Уникальные свойства грибов, такие их специфические особенности, как значительная питательная ценность, лечебные свойства многих видов, возможности получения ценных веществ и материалов на их основе, интересовали человечество с момента возникновения цивилизации. Другой стороной деятельности грибов, исследование которой представляло и представляет не меньший интерес для человека, является вред, наносимый грибами фито- и зоопатогенами, домовыми грибами и т.п. В связи с этим, изучение грибов началось с глубокой древности. Первое упоминание о грибах имеется уже у Теофраста (III век до н.э.). История культивирования съедобных и лекарственных грибов с целью получения плодовых тел насчитывает тысячи лет (Stamets, 1993; Chang, Miles, 2004; Wasser et al., 2002). Наиболее ярким примером в этом контексте служит трутовик лакированный, традиционно культивируемый в странах Востока.

Бесспорно, одним из крупнейших исследователей является немецкий миколог Антон Де Бари (1831–1888), автор многих фундаментальных работ, основоположник онтогенетического метода в микологии. Именно ему принадлежит первый цикл работ, посвященных вопросам биологии, строения, циклов развития, причин и механизмов старения многих видов грибов. Он работал с чистыми культурами грибов. При этом, в контексте исследований, связанных с чистой культурой, следует упомянуть имя немецкого ученого О. Брефельда (1839–1925), который занимался вопросами филогении грибов и может считаться основоположником метода чистых культур. О. Брефельд обосновал метод стерилизации питательных сред, разработал искусственные питательные среды, на которых проращивал споры головни. Он применил метод односпоровых культур раньше, чем это было сделано в бактериологии (Мирчинк, 1976). Этот момент в развитии науки о грибах Л.И. Курсанов в предисловии к русскому изданию книги Лилли и Барнетта «Физиология грибов» назвал переломным, причем перелом связан с внедрением метода онтогенеза, пришедшего на смену господствовавшего ранее описательноморфологического направления (Лилли, Барнетт, 1975). Этот новый подход потребовал искусственного выращивания изучаемых организмов, поскольку только таким образом можно проследить онтогенетические изменения грибов «от споры до споры». Однако вопросы физиологии освещались довольно слабо, ограничиваясь обсуждением потребностей грибов, растущих в культуре. Причем особенно пристально изучались паразитические, фитопатогенные грибы, что было связано с запросами практиков. На тот момент уже довольно активно исследовались вопросы физиологии процессов брожения, и, как считают, именно по этой причине дрожжи были изъяты из сферы микологии и отнесены к бактериологии, в которой физиологическое направление было развито более значительно (Курсанов, 1953).

При этом можно с полным правом отметить, что выделение и поддержание чистых культур, как прием работы с грибами, стало формироваться примерно к 80-м годам XIX века.

XX век ознаменовался бурным развитием физиологического направления в микологических исследованиях. Практические разработки были невозможны без теоретических, научных основ, в основе которых лежала работа, прежде всего, с чистой культурой. Эра антибиотиков, безусловно, стимулировала развитие данного направления: ближе к 50-м годам возник конкретный вопрос о практическом использовании чистой культуры в связи с общим прогрес-

сом промышленного культивирования мицелиальных грибов для производства антибиотиков. К отечественным основоположникам физиологии грибов и работы с чистой культурой следует отнести З.Э. Беккер, в монографиях которой приводятся актуальнейшие и ценнейшие сведения о трофике, онтогенезе, особенностях метаболизма грибов в искусственных условиях (Беккер, 1988). Широкое хождение приобретает термин «штамм», который Большая Советская энциклопедия трактует как «...чистая культура определённого вида микроорганизма, у которого изучены морфологические и физиологические особенности» (БСЭ, 1969). Причем под «чистой культурой» понимали потомство одной единственной клетки, то есть клон (Malek, Fencel, 1966).

Теоретические исследования высших базидиомицетов также активизировались в этот период и были связаны с разработкой систематики, экологии, биологии грибов этой группы. Практические работы были направлены на получение мицелиальной биомассы для пищевых и кормовых целей, ценных биологически активных веществ, на использование мицелия для получения плодовых тел. В этот период внедрение и распространение в микологии получает метод глубинной культуры, использовавшийся до этого лишь в микробиологической промышленности. В результате появляются возможности глубинного культивирования не только гифомицетов-продуцентов антибиотиков, но и высших базидиомицетов (Eddy, 1958).

Исследователи приходят к пониманию принципиального значения установления сходства между химическим составом природных плодовых тел и культуральным мицелием, выращенным на селективных питательных средах. Делаются результативные попытки воздействием на условия культивирования добиться улучшения таких важных показателей культивируемого мицелия, как содержание белка, отдельных аминокислот и т.д. (Высшие съедобные базидиомицеты... 1983; Dijkstra, 1976). Многими исследователями отмечалась явная недооценка важности микологических аспектов проблемы глубинного культивирования высших базидиальных грибов, и, в частности, получения чистой культуры. По сведениям А.С. Бухало, вышеуказанная проблема привела к тому, что практически все штаммы базидиальных грибов (гименомицетов), отобранные в 50-70-е годы для промышленного культивирования, оказались несовершенными гифомицетами (Бухало, 1988). Это привело к некоторому пессимизму в оценке возможного использования высших съедобных базидиомицетов в качестве продуцентов биомассы и затормозило исследования в этой области. Более того, на тот момент возникла ложная концепция, утверждающая, что в культуре образуются физиологические мутанты с несвойственными высшим базидиомицетам спороношениями. Таким образом, возникла насущная необходимость разработки культуральных приемов идентификации (Nobles, 1948, 1965).

Именно в чистой культуре возможно и необходимо проведение описания культурально-морфологических признаков штаммов. Первая большая работа в этом направлении проведена чешским микологом М. Семерджиевой (Semerdgieva, 1965; Семерджиева, 1977, 1984). Работы этого автора, посвященные изучению культурально-морфологических признаков гименомицетов в условиях чистой культуры, вышли в свет значительно раньше, чем широко известная и рекордное количество раз цитируемая специалистами этого направления работа Дж. Сталперса (Stalpers, 1978). Работы Дж. Сталперса содержат примеры описания колоний высших базидиомицетов. Классификация типов мицелиальных колоний в соответствии с подходами этого автора активно используется при характеристике культурально-морфологических свойств различных штаммов.

Несомненно, огромный вклад в развитие приемов лабораторного и промышленного культивирования высших базидиомицетов внесли А.С. Бухало, И.А. Дудка, Н.А. Бисько, В.И. Билай. В их многочисленных монографиях содержится вся необходимая практическим микологам информация о работе с чистой культурой (Билай и др., 1983; Высшие съедобные базидиомицеты...1983; Бисько и др., 1986; Бухало, 1988; Дудка и др., 1992; Бисько и др., 2001, 2010). Для более полного описания культурально-морфологических особенностей штаммов

А.С. Бухало предложено использовать расчетный показатель РК (ростовой коэффициент), который, кроме скорости роста учитывает и такие важные показатели, как интенсивность формирования воздушного мицелия. Сборники под редакцией В.И. Билай содержат описания методов изучения морфологии, физиологии, биохимии грибов, в том числе данные о жизнедеятельности культур грибов в экстремальных условиях (Методы экспериментальной микологии, 1973, 1982). Общим контекстом, объединяющим работы, выступает утверждение о том, что экспериментальное изучение высших базидиальных грибов стало возможным только благодаря разработке доступных методов получения чистых культур этих грибов. Этот момент в развитии экспериментальной микологии можно считать периодом окончательного осознания исключительного статуса чистой культуры.

Интенсификация микологических исследований в условиях чистой культуры в последней четверти XX века связана с развитием и распространением любительского и промышленного грибоводства. В этом контексте несколько иное понимание получает термин «штамм», который подразумевает в практическом грибоводстве чистую генетическую линию, которая может быть получена путем вегетативного иссечения изолята из плодового тела. Таким образом, возникает синонимика между понятиями штамм и изолят. Именно в этом направлении практической микологии возникают такие термины, как маточная, посевная культура. Так, в ряде рекомендаций по выращиванию посевного мицелия с целью использования в практическом грибоводстве, отмечается: «Штамм – чистая культура грибов, отличающаяся особыми признаками и ценными свойствами. Штамм размножают не спорами, а с помощью "чистой культуры" (она же стволовая, она же маточная культура), и здесь уже имеется в виду именно чистота в смысле генетической чистоты линии штамма» (Рекомендации... 1983).

В наших исследованиях мы придерживаемся следующей трактовки определения «штамм»: чистая культура определенного вида, выделенная из базидиомы (или базидиом, растущих совместно), тканевым или спорным способом, для которой изучены культурально-морфологические свойства и особенности микроморфологии. В зависимости от способа выделения и прочих особенностей могут различаться ди- и монокариотические штаммы, тканевые и споровые изоляты.

Ведение научных исследований, в том числе, селекционная работа, для обеспечения генетической чистоты материала, часто предполагает выделение не изолята, а именно моноспоровой культуры – культуры гриба, полученной из одной споры, что обеспечивает работу с генетически чистым материалом. К использованию таких культур прибегают при изучении физиологической разнородности особей гомоталлических видов в пределах вида, штамма или расы, при изучении изменчивости, установления цикла развития, скрещивании и т.д. Моноспоровую культуру получают методом серийного разведения или с помощью микроманипулятора (Камзолкина, 1996). Для выделения моноспоровых культур методом серийного разведения вначале получают споровые отпечатки из спорулирующих плодовых тел.

Определенный вклад в развитие отечественного грибоводства внесла монография Дворниной А. А. «Базидиальные грибы в искусственной культуре», вышедшая в 1991 году. Особое место в исследованиях базидиальных грибов было отведено возможности получения грибной биомассы на жидких питательных средах при глубинном культивировании (Дворнина, 1990; Кожемякина и др., 2008).

В современный период все большую актуальность приобретают исследования, связанные с изучением *in vitro* базидиальных макромицетов – продуцентов биологически активных веществ, используемых для профилактики и лечения заболеваний человека. Это вещества различной химической природы, в основной своей массе являющиеся вторичными метаболитами грибов названной группы. Различные стороны биохимии и физиологии видов – продуцентов изучаются, в основном, в условиях чистой культуры (Гарибова и др., 1999; Феофилова и др., 1994, 1996, 1998, 2000; Феофилова и др., 1994, 1998; Гарибова и др., 2003; Краснопольская и

др., 2003; Бабицкая и др., 2007; Соболева и др., 2007; Соболева, 2010; Wasser, Weis, 1999; Smith et al., 2002; Wasser, 2002; Roberts, 2006). В частности, скрининг перспективных штаммов, анализ разных сторон вторичного метаболизма проводится с использованием именно лабораторного культивирования мицелия (Завьялова и др., 2005; Ильина и др., 2009; Постнова, 2009). Результаты экспериментов, полученных при работах с чистыми культурами, имеют большое научно-практическое значение. Признано, что использование именно быстро наращиваемого мицелия (например, глубинного) для получения ценных метаболитов в большинстве случаев выгоднее и удобнее, чем использование плодовых тел (Краснопольская и др., 2005; Автономова и др., 2006; Автономова, Краснопольская, 2007; Краснопольская и др., 2008)). Многие активные начала идентифицированы в культуральной жидкости, то есть они в принципе не могли быть получены «в обход» чистой культуры.

Таким образом, следует признать исключительность статуса чистой культуры в микологических исследованиях, связанных с изучением самых разных сторон жизнедеятельности грибов.

Одним из первостепенных приемов, предвещающих любые лабораторные исследования, связанные с микроорганизмами, является выделение и поддержание чистых культур, что подразумевает создание коллекции. Коллекции микроорганизмов создаются в разных целях: для более глубокого познания разнообразия микробного мира, населяющего разные природные субстраты, изучения биологических особенностей разных видов, их функциональных различий, а также извлечения из каждого вида той пользы, которая в закодированном виде содержится в геноме (Лугаускас, Репечкене, 2002). Поэтому объем и специфика коллекций определяются, безусловно, целями исследований и направлениями научных изысканий. Практика создания коллекций культур микроорганизмов имеет давнюю историю. Естественно, что поддержание чистых культур в составе коллекций стало возможным лишь с появлением специальных средств (холодильные установки, стерилизаторы и т.п.). XX век был ознаменован бурным развитием коллекций культур микроорганизмов во всем мире, в связи с чем скоро возникла необходимость их общей систематизации. Наиболее существенные итоги работы коллекций культур в Европе и в мире были подведены в 1981 году, в г. Брно (ЧССР), где с 20 по 24 июля проходила IV Международная конференция по коллекциям культур. Конференция была организованная Всемирной федерацией по коллекциям культур (WFCC), Чехословацкой коллекцией микроорганизмов (ССМ) при Университете Пуркине, Брно и Чехословацким микробиологическим обществом. Доклады, сделанные 250 представителями из 42 стран мира касались роли культур в науке, образовании, медицине и промышленности; хранения культур; биобезопасности в коллекциях и их контроля; методов выделения и очистки культур. Подробный анализ деятельности конференции сделан Л.А. Беляковой и В.М. Благодатской (Белякова, Благодатская, 1983). В работе дан обзор состояния и деятельности существующих на тот момент европейских коллекций культур микроорганизмов: основанной в 1963 году Чехословацкой коллекции микроорганизмов (ССМ) при Университете Пуркине, г. Брно; созданной в 1964-1965 годах коллекции культур грибов (CCF) Карлова Университета в г. Праге; Чехословацкой коллекции культур грибов, разрушающих древесину, организованной еще в 1948 году в г. Братиславе профессором Рипачеком; богатой штаммами базидиомицетов коллекции культур (CBS) в г. Баарне, Нидерланды; коллекции Микологического института (СМИ), г. Кью, Англия, основанной в 1947 году; коллекции культур высших грибов в г. Веймаре, Германия; наконец, коллекции культур базидиальных грибов Норвежского лесного исследовательского института, основанной в 1937 году. Большой объем информации имеется по коллекциям дрожжей.

За период, прошедший с момента опубликования этих данных, в связи с интенсификацией этого направления науки, а также с грандиозным расширением информационных возможностей, в мире было создано множество коллекций самой разной направленности, а также единая справочная система: Всемирный справочник коллекций культур (World Data

Center of microorganism, WDCM). В настоящий момент в справочнике содержится информация о 568 коллекциях культур в 68 зарегистрированных в WDCM странах. По данным статистики, среди 1534400 единиц культур, содержащихся в них, на первом месте бактериальные (684202 единиц), а на втором – грибные (488860 единиц). Микологические коллекции содержат в целом 25186 видов и подвидов грибов (<http://wdcm.nig.ac.jp/CCINFO.xml31>). Для микологов и биотехнологов, работающих с культурами грибов, наибольший интерес представляют именно микологические специализированные коллекции. Среди таких коллекций, зарегистрированных в WDCM, можно отметить (приводятся акроним и название коллекции): ПВ-INTECH, Collection of Fungal cultures (Аргентина); RCDM, Republican Centre for Deposition of Microorganisms of the National Academy of Sciences and Ministry of Education and Science of Armenia (Армения); АСН, Mycology Culture Collection (Австралия); АСВР, Austrian Center of Biological Resources and Applied Mycology (Австрия); ССВ, Colecao de Culturas de Basidiomicetos (Бразилия); ССFC, Canadian Collection of Fungal Cultures (Канада); ССВАС, Culture Collection of Basidiomycetes (Греция); ИВТ, ИВТ Culture Collection of Fungi (Дания); ТFC, Tartu Fungal Culture Collection (Эстония); LCP, Fungal Strain Collection, Laboratory of Cryptogamy (Франция); FSU PRZ, Pilz-Referenz-Zentrum (Fungal Reference Centre) Jena (Германия); РРНАС, Mycology Collection (Венгрия); NFCCI, National Fungal Culture Collection of India и VPCI, Fungal Culture Collection (Индия); ИРАН, Iranian Fungal Culture Collection (Иран); ТАУФСС, Fungal Culture Collection (Израиль); ТИММ, Institute of Medical Mycology и TSY Laboratory of Mycology, Division of Microbiology (Япония); ССАРМ, Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microorganisms и ССВМ, Culture Collection of Wild Mushroom (Корея); ВМФМ-UNAM, Culture Collection of Fungal Pathogens Strains from the Basic Mycology Laboratory of the Department of Microbiology and Parasitology Faculty of Medicine (Мексика); СВС, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal and Yeast Collection (Нидерланды); FCBP, First fungal culture bank of Pakistan и NFCCP, National Fungal Culture Collection of Pakistan (Пакистан); РРРИ, National Collection of Fungi: Culture Collection (ЮАР); FCUG, Fungal Cultures University of Goteborg (Швеция); NCWRF, National Collection of Wood Rotting Fungi (Англия); FGSC Fungal Genetics Stock Center (США).

В настоящее время большинство коллекций в Европе являются членами ЕССО (Европейской организации коллекций культур), часть из них выступает в качестве международных депозитариев (International Depositari Authorities, IDA). К их числу относится наиболее крупная коллекция Российской Федерации – Всероссийская коллекция микроорганизмов ВКМ (VKM) (Кочкина, 1996). География ВКМ охватывает практически всю территорию России, коллекции, представленные в разных городах, имеют самую разнообразную направленность: коллекции клеточных и тканевых культур, зоо- и фитопатогенных организмов, вирусов, бактерий, грибов самых разных таксономических групп (рис. 1). Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМИБФМ РАН) в течение ряда лет является ведущей организацией по Федеральной научной программе «Биоразнообразие» (основное направление – «Коллекции живых культур») (Озерская и др., 2002). По итогам выполнения программы создан сводный каталог культур микроорганизмов российских коллекций, включающий и мицелиальные грибы. В настоящее время в России действуют 14 грибных коллекций, 10 из которых участвовали в данной программе. Совокупный фонд поддерживаемых в коллекциях России грибных культур составляет в настоящее время около 8000 штаммов, большая часть которых помещена в сводный каталог. Видовое разнообразие грибов, поддерживаемых в коллекциях России, сейчас насчитывает примерно 1700 видов, относящихся к 489 родам.



Рисунок 1 – Города на территории Российской Федерации, в которых поддерживаются коллекции культур, входящие в ВКМ: Архангельск, Санкт-Петербург, Благовещенск, Владивосток, Хабаровск, Якутск, Ростовна-Дону, Краснодар, Иркутск, Улан-Удэ, Новосибирск, Томск, Красноярск, Омск, Смоленск, Курск, Москва, Саратов, Волгоград, Гатчина, Тверь, Екатеринбург, Пермь, Уфа, Казань, Сыктывкар, Пущино, Оболенск, Нижний Новгород, Борок, Углич, Торжок, Покров, Юрьевец (по данным сайта <http://www.sevin.ru/collections/microcoll/reg.28.html>).

При этом отмечено увеличение совокупного фонда грибов на 3000 штаммов по сравнению с ВКМ, а разнообразие его – почти на 500 видов. Большая часть этого разнообразия представлена в коллекциях институтов Академии наук РФ, что объясняется, в первую очередь, стремлением исследователей к сохранению искусственных условий максимально возможного разнообразия выделяемых культур. Для коллекций прикладных институтов (таких как ВКПМ, ВНИИА, ВНИИПАКК) более характерно сохранение и поддержание продуцентов известных метаболитов, что приводит к ограничению разнообразия фондов несколькими десятками известными своими потенциальными возможностями родов грибов.

Среди коллекций чистых культур, ориентированных именно на высшие базидиальные грибы, в первую очередь надо отметить коллекцию культур высших базидиальных грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (ЛЕ БИН, LE BIN), существующую с 1955 года. В первом каталоге коллекции, опубликованном в 1992 году, насчитывалось 470 штаммов базидиальных грибов, представленных 126 родами и 300 видами (Каталог... 1992). При описании штаммов даны латинское название, автор, впервые описавший вид, синонимы, номер штамма в коллекции, место сбора исходного материала, год выделения в культуру. Для штаммов из других учреждений указаны отправитель, исходный номер, год поступления. Во втором издании каталога (Каталог... 2007) представлена информация уже о 1463 штаммах макромицетов, относящихся к 530 видам, 200 родам, 55 семействам и 24 порядкам агарикоидных, афиллофороидных, гастероидных, а также сумчатых грибов. Объем таксонов при систематизации каталога соответствует системе, принятой в 9 издании Словаря грибов Айнсворта и Бисби (2001). Таким образом, в коллекции LE BIN сохраняется примерно десятая часть природного видового разнообразия базидиомицетов России. Штаммы грибов из коллекции активно используются для исследовательских работ по физиологии, биохимии, генетике грибов (Псурцева и др,

1994, 2010). В коллекции депонируются штаммы продуцентов биологически активных соединений.

Среди значительных коллекций высших базидиальных грибов в странах ближнего зарубежья следует, прежде всего, отметить созданную в 1970-х годах коллекцию Института ботаники им. М.Г. Холодного НАН Украины; Она отнесена к категории объектов национального достояния Украины и имеет государственную финансовую поддержку. Большое внимание уделяется созданию в Коллекции таксономического и штаммового разнообразия преимущественно съедобных и лекарственных макромицетов. К концу 2001 г. в Коллекции поддерживалось более 750 штаммов, которые относятся к 200 видам 98 родов. Важным направлением работы Коллекции является интродукция в культуру и сохранение генофонда редких видов шляпочных грибов и таких, которые исчезают вследствие чрезмерного сбора населением. За последние годы большое внимание уделялось созданию биоразнообразия лекарственных грибов, которые в Коллекции представлены свыше 100 видами. Виды, относящиеся к родам: *Pleurotus*, *Agaricus*, *Lentinus*, *Oudemansiella*, *Flammulina*, *Hericius*, *Piptoporus*, *Omphalotus*, *Schizophyllum*, *Ganoderma*, *Laetiporus*, *Lycoperdon*, *Coprinus*, *Macrolepota* и пр. представлены в Коллекции значительным штаммовым разнообразием (Каталог колекції...2001).

Основу коллекции культур высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова составляют культуры рода *Agaricus*, а также представлены культуры многих видов дереворазрушающих базидиомицетов (Гарибова и др., 2007).

В последнее время активно обсуждается необходимость издания и своевременного пополнения каталогов культур. Каталоги коллекций культур являются ключевым звеном во взаимодействии коллекций культур с профессиональным сообществом с одной стороны, сообществом потенциальных пользователей культурами и информацией о них – с другой. Позиция профессионального сообщества кратко выражена в тезисе комитета Всемирной Федерации коллекций культур (WFCC) по коллекциям, находящимся под угрозой исчезновения: “нет каталога – нет и вопроса о существовании коллекции” (<http://www.sevin.ru/collections/microcoll/reg.28.html>). С точки зрения пользователей, все большее значение приобретают сводные каталоги, позволяющие в ходе одного “электронного визита” оценить весь спектр доступных культур и информации о них – в том числе по странам, регионам и т.д. Участие в составлении сводных каталогов позволяет сотрудникам коллекций автоматически отслеживать и устранять случаи дублирования культур в поддерживаемых фондах, реагировать на те быстрые изменения, которые непрерывно происходят в таксономии и номенклатуре поддерживаемых микроорганизмов. В последние годы с целью облегчения поиска необходимых для исследования культур грибов, была разработана специализированная база данных, получившая название FungalDC–Fungal Diversity in Culture Collection (разнообразие грибов в коллекциях культур). База данных содержит информацию о 24563-х видах и 16843 родах грибов, представленных в 10-м издании микологического словаря (<http://www.indexfungorum.org/Names/Fundic.asp>). Особенность новой базы, размещенной на сайте Всероссийской коллекции микроорганизмов (www.vkm.ru/fungalDC.htm) в том, что она содержит списки видов грибов, поддерживаемых в фондах 260 коллекций мира, что позволяет пользователям сразу получать информацию о наличии нужных культур и выбрать коллекцию, наиболее удобную для получения штаммов (Озерская и др., 2010).

В предисловии ко второму изданию каталога коллекции культур базидиомицетов LE (BIN) Ботанического Института им. В.Л. Комарова, говорится: «Коллекции живых культур грибов – уникальный фонд грибных организмов, выделенных из природных экосистем. В коллекциях поддерживаются в живом состоянии представители различных таксонов в их фено- и генотипическом разнообразии. Сохраняемые культуры – важнейший источник для морфологических, физиологических, биохимических и генетических исследований, которые

являются основой для развития фундаментальной и прикладной науки... а также открывают возможности для реинтродукции редких и исчезающих видов грибов в естественные сообщества» (Psurtseva et al., 2007). Прикладное и общетеоретическое значение коллекций мицелиальных культур грибов разных систематических групп сложно переоценить. Базидиальные макромицеты – одна из самых уязвимых групп по отношению к антропогенному воздействию. Исследователи, работающие с этими организмами, отмечают, что высшие базидиомицеты – это группа мицелиальных, слабо спорулирующих или совсем не спорулирующих (отсутствие анаморф) грибов и поэтому для их выделения, поддержания в коллекциях требуются особые подходы и методы (Гарибова и др., 2007). О важной роли коллекций чистых культур для решения проблемы сохранения биоразнообразия свидетельствуют тематический сборник «Биоразнообразие микроорганизмов: роль центров микробных ресурсов (ed. Kirsop, 1994), выпущенный Всемирной федерацией коллекций культур (WFCC), (цит. по Озерской, 1996) и справочник «Европейские коллекции культур: микробное разнообразие в надежных руках» (ed. M.L. Suchko, 1995), опубликованный Европейской организацией коллекций культур (ЕССО), (цит. по Кочкиной, 1996). Таким образом, коллекция – это и способ сохранения генофонда редких и исчезающих видов, скрининга штаммов с ценными свойствами и материал для проведения селекционной работы. В этой связи, особую роль способны сыграть региональные коллекции, представительство культур в которых формируется в основном из характерных для региона видов. Региональные особенности формируют параметры экосистем, что определяет спектр видов микобиоты, их характерные трофические связи (Гарибова, Ильина, 2009). На этом основании можно предполагать нахождение штаммов с уникальными свойствами, отличающими региональные образцы от таковых иного происхождения. Кроме того, нередко возникают ситуации, когда при составлении региональных Красных книг в статус редких попадают виды, для которых территория данного региона представляет собой либо границу ареала (что определяет пессимальные условия), либо их представительство носит экстразональный характер. Включение таких видов в состав коллекции для изучения их экологических особенностей не только в природных, но и в лабораторных условиях, позволит выяснить их истинный статус.

1.2 Трофические потребности ксилотрофных базидиомицетов в условиях чистой культуры

Культуры базидиомицетов, выделенные из естественных мест обитания и культивируемые затем в лабораториях, попадают при этом, как правило, в несвойственные для них условия существования. В лабораториях большинство микроорганизмов поддерживается и изучается в виде чистых культур, то есть в таком состоянии, в котором эти организмы природе никогда не встречаются. Развитие грибов в природном субстрате происходит зонами, микроколониями, в окружении организмов других видов. Многие клетки, споры вегетативного, бесполого и полового спороношения адсорбируются механическими частицами, находятся в иммобилизованном состоянии, обладая при этом свойствами, отличными от свободно живущих клеток. Отличие состоит также и в том, что при культивировании организмов в виде чистых культур исключается возможность влияния на них других организмов, не проявляется благоприятное или, наоборот, вредное действие продуктов жизнедеятельности других организмов, продуктов распада отмерших клеток других видов. В условиях лабораторного культивирования микроорганизмы нередко попадают в исключительно благоприятные условия питания; для них подбираются оптимальная температура развития, благоприятная для роста влажность, кислотность среды и другие факторы, которых организм обычно не имеет в естественных местах обитания.

Организмы, выделенные из природы и перенесенные в лабораторные условия, – это, по выражению Виноградского, «одомашненные, тепличные организмы» (Егоров, Самуилов, 1997; Егоров, 1988).

При культивировании грибов в лабораториях обычно имеет место развитие их в ограниченном пространстве. Все это способствует тому, что физиологическая деятельность микроорганизмов, находящихся в условиях лабораторного культивирования, значительно отличается от их деятельности при развитии, например, на древесном субстрате.

Таким образом, при лабораторном культивировании микроорганизмов на проявление их физиолого-биохимического потенциала могут влиять совершенно иные факторы, другие закономерности по сравнению с теми, которые имеют место в природе. Условия, искусственно создаваемые для развития организмов, можно легко контролировать, что позволяет определять роль и влияние отдельных факторов на рост, развитие изучаемого микроба и проявление им различных биохимических, в том числе и продукционных свойств.

К числу наиболее существенных факторов, оказывающих влияние на проявление ценных свойств микроорганизмов, реализацию их природного потенциала относятся состав среды, концентрация протонов водорода, редокс-потенциал, температура культивирования, методы совместного выращивания двух или большего числа видов микроорганизмов и другие факторы, иными словами, весь сложный комплекс условий культивирования микроорганизмов. При этом к важнейшим факторам, определяющим активность гетеротрофных организмов, следует отнести, прежде всего, наличие в среде элементов питания. Оптимальный состав питательной среды для каждого продуцента (биомассы или вторичных метаболитов) или коллекционной культуры может быть определен двумя способами: эмпирический и построение математической модели с использованием пакетов компьютерных программ. Последний способ, как наиболее объективный и статистически точный является более предпочтительным (Егоров, 1988). Основной принцип составления рецептур питательных сред – удовлетворение физиологических потребностей микроорганизмов. В каталогах культур и в определителях указаны эти потребности, а также оптимальные значения рН и температуры. Задача специалиста, оптимизирующего состав среды для конкретного штамма – продуцента целевого продукта, – выбрать из перечня источников углерода, азота, фосфора и других веществ наиболее оправданные в экономическом и экологическом отношении компоненты. С этой целью

проводят лабораторные опыты, желательно с использованием методов математического планирования эксперимента. Отдельным, не менее важным вопросом является разработка питательных сред для коллекционных культур. Здесь требуется, с учетом индивидуальных особенностей сохраняемых культур, не только создать соответствующие условия температуры и влажности, способствующие замедлению процессов метаболизма, но подобрать «продолженные» источники питательных веществ, компоненты которых должны обеспечивать защиту от окислительного стресса и обеспечивать существование живой культуры в течение длительного времени (Ильин, Ильина, 2003).

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.