



УДК 579.8:582.284

Н.Ю. МИТРОПОЛЬСЬКА, А.С. БУХАЛО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного АН України
252601 Київ, МСП-1, вул. Терещенківська, 2

КОЛЕКЦІЯ КУЛЬТУР ВИЩИХ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ ІНСТИТУТУ БОТАНІКИ ім. М.Г. ХОЛОДНОГО АН УКРАЇНИ (м. КИЇВ)

колекції культур, вищі їстівні базидіоміцети, виділення, збереження, каталоги культур, рідкісні та зникаючі види, біотехнологія

Людство завжди намагалося зберегти корисні та рідкісні види рослин і тварин. Так виникли ботанічні сади, зоопарки, а згодом, із розвитком науки і технічних засобів, з'явилися перші колекції культур живих мікроорганізмів та грибів. Наприкінці XIX сторіччя, коли О. Брефільд розробив техніку стерильного посіву вищих базидіальних грибів на поживних середовищах [16], виникла можливість вирощувати їх у чистій культурі. В процесі експериментальних досліджень все більшу кількість видів грибів, у тому числі макроміцетів, виділяли з природних умов у чисті культури, які накопичувались у наукових лабораторіях. Це й поклало початок створенню колекцій культур.

У 1903 р. в м. Лейдені (Голандія) на засіданні Міжнародного товариства ботаніків було визнано доцільним зберігати культури грибів у спеціальних колекціях, що не обов'язково мають бути підпорядкованими безпосередньо дослідницьким установам. Такі колекції були створені спочатку в Голандії, потім у США, Англії, Франції, Японії та інших країнах [23].

У 1963 р. в межах Міжнародної асоціації мікробіологічних товариств виникла Секція культур мікроорганізмів, яка в 1970 р. була реорганізована у Всесвітню федерацію колекцій культур. Сьогодні, за даними Д. Хауксворса, у 200 колекціях світу підтримується понад 170 тис. штамів, що представляють близько 7 тис. видів [21]. Але це становить тільки 11,4 % описаних видів грибів. Фізіологія та біохімія більшості з цих штамів ще не досліджені. Вони є невичерпним, досі майже невикористаним джерелом для поповнення скарбниці людства новими мікроорганізмами з корисними властивостями. На базі колекцій культур ведеться робота по збереженню генофонду світової мікобіоти, вивченню біологічних властивостей видів грибів та надійних засобів їх збереження в штучних умовах, розвиваються фундаментальні дослідження з систематики, філогенетики та інших теоретичних галузей мікології. Багато колекцій спеціалізовані в різних галузях, зокрема сільському та лісовому господарствах, медицині, промисловості, служать для потреб дослідницьких установ та навчальних цілей. У кількох великих, здебільшого державних, колекціях, наприклад, Центральному бюро плісневих культур (Centraalbureau voor Schimmelcultures — CBS) в м. Барні (Голандія), Американській колекції типових культур (American Type Culture Collection — ATCC) підтримується значна кількість штамів. Такі колекції функціонують як державні «service collection», тобто здійснюють сервісне обслуговування. Вони є провідними установами, де за відповідну ціну можна одержати типові культури і активні штами, а також різні довідки і рекомендації [21, 23].

© Н.Ю. Митропольська, А.С. Бухало, 1994

Найстарішою в світі сервісною колекцією грибів, що була заснована у 1904 р., є CBS. За каталогом цієї колекції 1990 р. загальна кількість її штамів становить близько 30 тис., з них 4,5 тис. — це дріжджі, 1 тис. — актиноміцети, а решта — міцеліальні гриби [22]. Прикладом вузькоспеціалізованої колекції є Грибний Генетичний Центр збереження культур (FGSC), що підтримує генетичний фонд тільки класичного об'єкта генетичних досліджень — штамів видів роду *Neurospora* [23].

У колишньому Радянському Союзі вищі базидіальні гриби підтримувались головним чином у трьох спеціалізованих колекціях — Ботанічному інституті ім. В.Л. Комарова РАН (БІН, м. С.-Петербург), у м. Києві — в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного АН України (ІБК), і в м. Тарту — в Інституті ботаніки і зоології АН Естонії (ТАА).

Колекція БІН була заснована в 1960 р. для вивчення біологічно активних метаболітів та інших корисних властивостей вищих базидіальних грибів. Це найбільша в Росії за кількістю штамів і видовій різноманітності колекція (800 штамів, 292 види грибів з класу *Basidiomycotina*) [1, 14]. Колекція м. Тарту має на меті збереження видового різноманіття та проведення таксономічних досліджень здебільшого афілофоральних грибів [13].

Прогрес сучасного грибівництва в значній мірі залежить від наявності стабільних високопродуктивних штамів їстівних грибів, які можна одержувати в спеціалізованих колекціях культур. Ці штами мають бути адаптованими до відповідних субстратів і екологічних факторів. В Україні, крім окремих робочих колекцій в регіональних центрах грибівництва (Донецьк, Львів, Харків та ін.), існує єдина офіційна спеціалізована колекція культур їстівних макроміцетів — ІБК. Вона була заснована в 1966 р. як спеціалізована колекція вищих базидіальних грибів для проведення досліджень по глибинному культивуванню їстівних макроміцетів. Це була єдина колекція в колишньому СРСР, де відбувалося депонування їстівних макроміцетів — продуцентів біомаси міцелію і (або) плодових тіл [13]. Колекція розвивалася в напрямку накопичення видової і штамової різноманітності культур переважно їстівних видів *Basidiomycotina*. На кінець 1992 р. вона налічувала понад 350 штамів, що відносяться до порядків *Agaricales*, *Gasteromicetales*, *Aphyllphorales* і *Boletales* [5]. Родовий склад вищих базидіальних грибів, що підтримуються в колекції Інституту ботаніки, наведено в таблиці. Найповніше представлені види родів *Pleurotus* (65 штамів), *Agaricus* (32), *Flammulina* (14) і *Macrolepiota* (вісім штамів).

Фонд культур вищих базидіоміцетів колекції Інституту ботаніки АН України

Рід	Кількість	
	Видів	Штамів
Порядок <i>Aphyllphorales</i>		
<i>Cantharellus</i> Adans.: Fr.	1	2
<i>Cerrena</i> Mich.: S.F. Gray	1	1
<i>Coriolus</i> Quel.	5	6
<i>Creolophus</i> P. Karst.	1	1
<i>Fistulina</i> Bull.	1	2
<i>Ganoderma</i> P. Karst.	1	1
<i>Gloeophyllum</i> P. Karst.	1	2
<i>Grifola</i> S.F. Gray	1	1
<i>Hydnum</i> L.: Fr.	1	1
<i>Laetiporus</i> Murr.	1	4
<i>Peniophora</i> Cooke	1	2
<i>Phanerochaete</i> P. Karst.	1	1
<i>Piptoporus</i> P. Karst.	1	3
<i>Polyporus</i> Mich.: Adams	1	1
<i>Schizophyllum</i> Fr.	1	3
<i>Sparassis</i> Fr.	1	3
Порядок <i>Boletales</i>		
<i>Boletus</i> Fr.	5	6
<i>Paxillus</i> Fr.	2	2

Рід	Кількість	
	Видів	Штамів
<i>Suillus</i> S.F. Gray	6	16
<i>Xerocomus</i> Quéf.	1	1
Порядок <i>Agaricales</i> s.l.		
<i>Agaricus</i> L.: Fr.	17	32
<i>Agrocybe</i> Fayod	1	6
<i>Amanita</i> Pers.	3	3
<i>Amanitopsis</i> Roze	1	1
<i>Armillaria</i> (P. Karst.) P. Karst.	1	6
<i>Asterophora</i> Ditm.	2	2
<i>Calocybe</i> Kuhn.: Donk	1	1
<i>Clitocybe</i> (Fr.) Quéf.	5	10
<i>Collybia</i> (Fr.) Quéf.	2	2
<i>Coprinus</i> Pers.	3	7
<i>Crinipellis</i> Pat.	1	1
<i>Flammulina</i> P. Karst.	1	14
<i>Gymnopilus</i> P. Karst.	3	3
<i>Hygrophorus</i> Fr.	1	1
<i>Hypholoma</i> (Fr.) Kumm.	2	2
<i>Kuehneromyces</i> Sing. & A.H. Sm.	1	4
<i>Laccaria</i> Berk. & Broome	2	3
<i>Lacrymaria</i> Pat.	1	1
<i>Lentinus</i> Fr.	2	5
<i>Lepista</i> (Fr.) W.G. Sm.	2	5
<i>Leucocoprinus</i> Pat.	1	1
<i>Leucopaxillus</i> Bours.	2	2
<i>Lyophyllum</i> P. Karst.	2	3
<i>Macrolepiota</i> Sing.	4	24
<i>Marasmius</i> Fr.	4	8
<i>Nyctalis</i> Fr.	1	1
<i>Oudemansiella</i> Speg.	3	9
<i>Panus</i> Fr.	2	6
<i>Panellus</i> P. Karst.	2	2
<i>Pholiota</i> (Fr.) Kumm. *	3	7
<i>Pleurotus</i> (Fr.) Kumm.	10	65
<i>Pluteus</i> Fr.	1	1
<i>Psathyrella</i> (Fr.) Quéf.	2	6
<i>Psilocybe</i> (Fr.) Kumm.	3	3
<i>Stropharia</i> (Fr.) Quéf.	1	5
<i>Tricholoma</i> (Fr.) Quéf.	3	4
<i>Tricholomopsis</i> Sing.	2	2
Порядок <i>Russulales</i>		
<i>Lactarius</i> Pers.: S.F. Gray	3	4
<i>Russula</i> Pers.	3	3
Порядок <i>Lycoperdales</i>		
<i>Calvatia</i> Fr.	2	2
<i>Lycoperdon</i> Tourn.: Pers.	2	13
Порядок <i>Phallales</i>		
<i>Mutinus</i> Fr.	1	1
<i>Phallus</i> Pers.	1	2
<i>Pseudocolus</i>	1	1
Порядок <i>Sclerodermatales</i>		
<i>Scleroderma</i> Pers.	1	1
Порядок <i>Nidulariales</i>		
<i>Cyathus</i> Pers.	2	3

Приблизно 70 % штамів виділено з природних джерел (в основному в різних районах України), 30 % одержано шляхом обміну з іншими колекціями (БІН, ВКМ, ССВАС, FIE та деякими іншими). Найінтенсивніше обмін культурами відбувається з чехословацькою колекцією ССВАС (м. Прага) та колекцією БІНу.

У колекції Інституту ботаніки АН України представлені найважливіші промислово культивовані і перспективні як продуценти плодових тіл та біомаси види родів *Agaricus*, *Pleurotus*, *Flammulina*, *Lentinus*, *Stropharia*, *Lepista*, *Clitocybe*, *Ganoderma*, *Tricholoma*, *Collybia*, *Coprinus*, *Agrocybe*. В останній час кількість штамів, що зберігаються в колекції, значно збільшилась, при цьому велику увагу приділено інтродукції в культуру рідкісних та зникаючих внаслідок інтенсивного збирання видів макроміцетів мікобіоти України. Особлива увага приділяється культурам, занесеним до Червоної книги України, зокрема *Anturus archeri* (Berk.) R. Fischer, *Macrolepiota puellaris* (Fr.) Mos., *Sparassis crispa* (Fr.) Fr., *Pleurotus calyptratus* (Lindbl. apud Fr.) Sacc., *Grifola frondosa* (Fr.) S.F. Gray, *Tricholoma focale* (Fr.) Ricken, *Leucocoprinus bresadolae* (Schulz) S. Wasser, *Mutinus caninus* Fr. та деяким іншим [9].

Колекція регулярно поповнюється за рахунок нових надходжень. В останні роки проводились експедиції та екскурсії для виділення культур у Закарпатті, Карпатах, Криму, Херсонській, Полтавській, Львівській, Чернігівській, Черкаській та Київській областях України.

Методи отримання чистих культур вищих *Basidiomycetes* та їх зберігання визначаються особливостями морфології та еколого-біологічних властивостей цих грибів, котрі в культурі розвиваються переважно у вигляді неспороносного вегетативного міцелію. Вищі базидіоміцети досить важко виділяються в чисту культуру. Ріст багатьох видів на агарових середовищах дуже повільний і при виділенні культур часто відбувається їх забруднення сторонніми мікроорганізмами, що у великій кількості трапляються на поверхні плодових тіл, з яких одержують інокулят. Успіх виділення в чисту культуру в значній мірі обумовлюється належністю виду до певної екологічної групи. Так, ксилотрофи легко виділити в чисту культуру, вони ростуть на звичайних поживних середовищах, тимчасом як мікоризоутворювачі виявляють підвищені вимоги до поживного середовища, а іноді ростуть тільки в присутності живих рослин. Це обумовлює необхідність постійного вдосконалення і модифікації методів ізоляції культур вищих базидіоміцетів з урахуванням специфіки окремих видів, що забезпечує успіх їх інтродукції в культуру.

Співробітники колекції ведуть інтенсивну роботу по вивченню цих питань. Розроблені деякі оригінальні методи, наприклад, метод стерильного одержання спорових відбитків у пробірках, який зручно застосовувати в польових умовах [3].

Вищі базидіальні гриби досить вибагливі до умов зберігання. Звичайно в колекціях культури підтримуються на агаризованих поживних середовищах методом пересівів [3]. Для базидіоміцетів застосовуються також методи збереження культур під вазеліновою олією, водою або в рідкому азоті. Види, що в культурі утворюють товстостінні гіфи, можна зберігати застосовуючи ліофелізацію, але, за даними деяких авторів, процент виживання культур при такому способі зберігання не високий [24]. Цей метод придатніший для збереження базидіоспор.

У нашій колекції культури зберігаються при температурі +4 — +10°C на агарових косяках у великих пробірках. Пересіви на свіже поживне середовище провадяться раз на рік. Як поживне середовище звичайно використовують пивне сусло з 2 %-м вмістом цукру, з рН 5,0 — 7,0. Для деяких видів у середовище як стимулятори додаються відвари певних рослин [3]. За нашими спостереженнями, при такому режимі культури зберігають життєздатність і не втрачають своїх біологічних властивостей, зокрема ферментативної активності, протягом десятків років. Ведуться роботи по вивченню інших методів зберігання, наприклад, методу кріоконсервації [15], пошуку селективних субстратів для окремих видів з підвищеними вимогами щодо поживних речовин.

Світовий рівень використання резервів колекцій мікроорганізмів передба-

чає доступність інформації про наявність, біологічні та біотехнологічні характеристики штамів, що можливо здійснити шляхом створення регіональних баз даних та їх включення до міжнародного банку даних. З 1989 р. в рамках Комплексної програми науково-технічного прогресу стран-членів СЕВ розпочалася робота по створенню комп'ютерного банку даних штамів вищих *Basidiomycetes*, які зберігаються в колекції Інституту ботаніки. Для характеристики штамів використовували карту Всесвітньої Федерації колекцій культур (форма SCC-4), яка розроблена та застосовується світовим центром даних про штамів мікроорганізмів. У картах наводяться такі відомості про штам: назва таксону латинською мовою, синоніміка, субстрат, джерело виділення штаму, місце і час знаходження, зазначається ким був виділений та ідентифікований штам; умови його зберігання; особливості фізіології тощо. Наводяться також всі публікації про штам.

Обов'язковою умовою існування колекцій міжнародного класу є періодична публікація каталогів культур. Так, CBS до 1990 р. опублікувала вже 32 видання каталогу культур [22].

Каталог культур нашої колекції був опублікований в 1990 р. [5]. У ньому наведені: латинська назва та автори таксону, синоніми, номер культури в колекції; її походження, час і місце збору плодового тіла, а також частина плодового тіла, з якого була виділена культура. Для культур, що були одержані з інших колекцій, вказані дата одержання та інші відомі дані. Каталог виданий англійською мовою (вступ написаний англійською та російською мовами). Відомості про наявність штамів, перспективних для біотехнологічного використання, які гарантовано підтримуються в нашій колекції, опубліковані в «Biotechnology» у складі «Указателя про види міцеліальних і дріжджових грибів, що підтримуються в колекціях Болгарії, В'єтнаму, НДР, Монголії, СРСР, Чехословачії» [25].

За час існування колекції вивчено різноманітні властивості культур. Штами колекції досить повно охарактеризовані щодо їх здатності рости в глибинній культурі [2 — 4, 8, 11] і продукування окремих ферментів [7, 10]. Проведені поглиблені дослідження морфогенезу культур із застосуванням скануючої електронної мікроскопії [17 — 20]. На базі колекції культур виконані фундаментальні монографічні дослідження з еволюції нестатевих спороношень та онтогенезу вищих базидіоміцетів [6, 12]. Найповніше результати дослідження морфології, фізіології, біохімії штамів колекції, їх характеристика як можливих об'єктів біотехнології висвітлені в монографії А.С. Бухало [3].

Колекція є джерелом одержання і підтримання штамів їстівних макроміцетів, серед яких — продуценти біомаси харчового призначення, плодових тіл та біологічно активних речовин. Для розширення можливостей колекції щодо забезпечення грибівництва в Україні високопродуктивними штамми доцільно було б надати їй статус національної.

З 1992 р. на базі колекції культур Інституту ботаніки розпочато цілеспрямовані дослідження по збереженню генофонду рідкісних та зникаючих видів макроміцетів мікобіоти України, що фінансуються Державним комітетом України з питань науки і технології за програмою 2.4.1. «Збереження генофонду рідкісних та зникаючих видів флори і фауни України».

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белова Н.В., Сивочуб О.А. // Микол. и фитопатол. — 1992. — 26, N 2. — С. 167-172.
2. Бухало А.С., Бабицкая В.Г., Соломко Э.Ф. и др. А.с. СССР 883177. Штамм *Panus tigrinus* (Fr.) Sing. ИБК-131 — продуцент биомассы. Опул. в Б.И. 1981, N 14.
3. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. — Киев: Наук. думка, 1988. — 144 с.
4. Бухало А.С., Митропольская Н.Ю., Качуровская В.П., Косман Е.Г. // Микол. и фитопатол. — 1988. — 22, N 5. — С. 385-388.
5. Бухало А.С., Митропольская Н.Ю. Каталог культур (*Basidiomycotyna*) / АН Украины. Ин-т ботаники. — Препр. — Киев, 1990. — 60 с.
6. Горовой Л.Ф. Морфогенез пластинчатых грибов. — Киев: Наук. думка, 1990. — 166 с.
7. Даниляк Н.И., Семичаевский В.Д., Дудченко Л.Г., Трутнева И.А. Ферментные системы высших базидиомицетов. — Киев: Наук. думка, 1989. — 279 с.
8. Дудка И.А., Бухало А.С., Соломко Э.Ф. и др. А.с. СССР 727687. Штамм *Flammulina velutipes* ИБКФ-112 — продуцент биомассы. — Опул. в Б.И., 1980, N 14.

9. Заверуха Б.В. // Укр. ботан. журн. — 1992. — 49, N 3. — С. 72-80.
10. Митропольская Н.Ю., Бухало А.С., Маланчук В.М. та ін. // Там же. — 1990. — 47, N 5. — С. 56-59.
11. Підопличко Н.М., Бухало А.С., Пархоменко Л.П., Марченко М.Н. А.с. СССР 427993. Штамм гриба *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer IMBF-1300 — продуцент биомассы. — Оpubл. в Б.И., 1974, N 18.
12. Решетников С.В. Эволюция бесполого размножения высших базидиомицетов. — Киев: Наук. думка, 1991. — 188 с.
13. Рыбальский Н.Г., Вассер С.П., Дудка И.А. Патентоспособность биологических объектов. — Киев: Наук. думка, 1983. — 240 с.
14. Сивочуб О.А. Каталог культур базидиомицетов. — С.-Петербург: Наука, 1992. — 25 с.
15. Соломко Э.Ф., Мануильский В.Д., Даниляк Н.И. А.с. СССР 1386653. Способ консервации мицелия макрогрибов. — Оpubл. в Б.И., 1988, N 13.
16. Brefeld O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. H. 3. *Basidiomyceten*. 1. — Leipzig: Felix, 1977. — 226 S.
17. Buchalo A.S., Zakordonec O.A., Šašek V. // Folia microbiol. — 1983. — 28, N 5. — P. 420-423.
18. Buchalo A.S., Šašek V., Zakordonec O.A. // Ibid. — 1985. — 30, N 6. — P. 506-508.
19. Buchalo A.S., Šašek V., Zakordonec O.A. // Ibid. — 1987. — 32, N 5. — P. 491-492.
20. Buchalo A.S., Šašek V., Zakordonec O.A. // Ibid. — 1989. — 34, N 2. — P. 146-150.
21. Hawksworth D.L. Resource centres // Filamentous Fungi / Ed. by D.L. Hawksworth and B.E. Kirsop. — 1988. — P. 1-30.
22. List of Cultures. Fungi and Yeasts. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn-Delft, (The Netherlands). — 1990. — 32th ed. — 508 p.
23. Shung-Chang Jong, Birmingham Jeannette M. // Fungal Biotechnology. — 1992. — 4. — P. 993-1024.
24. Smith D. Culture and preservation // Filamentous Fungi / Ed. by D.L. Hawksworth and B.E. Kirsop, 1988. — P. 75-99.
25. Species of mycelial and yeast fungi maintained in collections of Bulgaria, Vietnam, Mongolia, USSR, Czechoslovakia 1990 // Biotechnology. — 1990. — N 5/6.

Рекомендує до друку
С.П. Вассер

Надійшла 30.04.93

Н.Ю. Митропольская, А.С. Бухало

КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ИНСТИТУТА БОТАНИКИ им. Н.Г. ХОЛОДНОГО АН УКРАИНЫ

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного АН Украины, г. Киев

Освещена роль коллекций культур грибов в развитии биотехнологии, в частности промышленного грибоводства. Дана характеристика единственной в Украине, уникальной коллекции культур высших базидиальных грибов, созданной в Институте ботаники им. Н.Г. Холодного (г. Киев) в 1966 г. Коллекция содержит более 350 штаммов, относящихся к 150 видам главным образом съедобных грибов (*Agaricales* s.l., *Boletales*, *Aphyllophorales*, *Gasteromycetes*), принадлежащих к различным экологическим группам. Особенно хорошо представлены в коллекции виды родов *Pleurotus*, *Agaricus*, *Flammulina*, *Macrolepiota* и др. На базе коллекции культур ведутся исследовательские работы по изучению биологии, морфогенеза в культуре и глубинного культивирования съедобных грибов, ферментативной активности, эволюции конидиогенеза высших базидиомицетов, усовершенствованию методов хранения и выделения культур.

N.Yu. Mitropolskaya, A.S. Buchalo

HIGHER BASIDIOMYCETES CULTURE COLLECTION AT N.G. KHOLODNY INSTITUTE OF BOTANY OF THE ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE (KIEV)

N.G. Kholodny Institute of Botany, Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

The significance of fungus culture collections for the development of biotechnology, in particular for mushroom industry, is discussed. The characteristic of special culture collection of Higher Basidiomycetes, which is single in Ukraine and was created in 1966 at N.G. Kholodny Institute of Botany (Kiev), is done. The collection retains about 150 species more than 350 strains of mainly edible mushrooms (*Agaricales* s.l., *Boletales*, *Aphyllophorales*, *Gasteromycetes*) belonging to different ecological groups. Genera *Pleurotus*, *Agaricus*, *Flammulina*, *Macrolepiota* etc. are well represented in the collection. Investigations, which were performed using the collection strains are interpreted (biology, morphogenesis in culture and submerged cultivation of edible mushrooms, enzyme activity, evolution of conidiogenesis in Higher Basidiomycetes, improvement of isolation and storage methods etc.).