

Н. В. Псурцева, А. А. Кияшко, С. В. Сенник

Базидиальные грибы Ботанического сада Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН в чистой культуре

N. V. Psurtseva, A. A. Kiyashko, S. V. Senik

Basidiomycetes of the Botanical Garden of the Komarov Botanical Institute in pure culture

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
cultures@mail.ru, nadyapsu@mail.ru, russula.sp@gmail.com

В работе представлен аннотированный список видов и штаммов базидиальных грибов, собранных в разные годы на территории Ботанического сада БИН РАН и сохраняемых в Коллекции культур базидиомицетов LE-BIN. Показана возможность их использования для биотехнологии и медицины.

Ключевые слова: базидиомицеты, коллекция культур, штаммы грибов, биологическая активность, лекарственные свойства.

Коллекции живых организмов, в том числе культур базидиальных грибов, являются весьма перспективными, хотя и недостаточно оцененными в нашей стране, научными центрами, выполняющими двойную задачу. С одной стороны, эти коллекции нацелены на сохранение генетического разнообразия, с другой — сохраняемые в них объекты являются ресурсной базой для проведения экспериментальных исследований в областях биохимии и физиологии, а также для решения ряда биотехнологических задач. Возможность разнопланового использования сохраняемых живых культур определяет стратегию формирования и развития коллекционного фонда Коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В. Л. Комарова (БИН) РАН. Помимо редких и охраняемых, а также используемых в биотехнологии видов и штаммов базидиальных макромицетов, в культуру вводятся изоляты из разных частей ареала широко распространенных видов, а также видов, обитающих в различных, в том числе экстремальных биотопах. Ботанические сады с их обширным видовым составом интродуцированных растений, привезенных из разных регионов и акклиматизированных в нетипичных для них условиях, высаженных в комбинациях, не встречающихся в природе, создают необычную среду обитания для базидиальных макромицетов. Длительное существование Ботанического сада на одной территории обусловило присутствие здесь крупных экземпляров дубов и некоторых других деревьев, что обеспечивает возможность выживания ряда редких видов грибов, связанных со зрелыми и перестойными деревьями. Примером тому является обнаружение и выделение в культуру охраняемого вида *Grifola frondosa* (Dicks. : Fr.) Gray. Базидиальные грибы никогда не интродуцировались в Ботаническом саду преднамеренно, их видовой состав

в известной степени случаен и зависит в том числе от физиологических особенностей штаммов, их способности к освоению новых субстратов и конкурентного потенциала. Эти аспекты биологии грибных организмов в настоящее время являются предметом интенсивных экспериментальных исследований, проводимых как сотрудниками института, так и учеными сторонних организаций.

Следует отметить, что современная стратегия развития коллекции культур оформилась не сразу. Коллекция была основана в конце 1950-х гг. на базе лаборатории биохимии грибов в связи с практическими потребностями. В это время в процессе изучения биологической активности *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát впервые возникла необходимость длительного поддержания этого дереворазрушающего гриба в чистой культуре. К периоду основания коллекции относится и наиболее старый из существующих сегодня штаммов, полученных с территории Ботанического сада БИН, — 0383 *Flammulina velutipes*, изолированный в 1957 г. Таким образом, этот штамм поддерживается в физиологически активном состоянии уже 57 лет.

В первые годы существования коллекции на ее материале проводили изучение биосинтетической активности макромицетов, продуцирующих главным образом низкомолекулярные соединения, но также полисахариды и некоторые ферменты. Гидролитические ферменты, обладающие тромболитическим и молокосвертывающим действием, оксидоредуктазы с полифенолоксидазной и тирозиназной активностью, полисахариды с противоопухолевым эффектом и галлюциногенные вещества являлись основным объектом поиска и исследований в 1970–90-е годы. В 1992 г. был опубликован первый выпуск каталога коллекции (Сивочуб, 1992). В нем представлена краткая информация о 470 коллекционных штаммах 300 видов базидиальных макромицетов. С середины 1990-х и до настоящего времени основная тенденция развития коллекции LE-BIN связана с сохранением видового разнообразия грибов *ex situ*, т. е. предпринята попытка сохранения репрезентативности природной микобиоты в условиях чистой культуры. В настоящее время коллекция LE-BIN является уникальной специализированной коллекцией базидиальных макромицетов в России. В ней сохраняется примерно десятая часть природ-

ного видового разнообразия базидиомицетов России — свыше 1900 штаммов 600 видов из 196 родов, 50 семейств и 14 порядков агарикоидных, афиллофоридных, гастероидных грибов, а также незначительное количество сумчатых макромицетов из многих регионов России (европейская часть, Кавказ, Урал, Сибирь, Дальний Восток), а также стран ближнего и дальнего зарубежья. С 2012 года коллекция зарегистрирована в базе данных (WDCM) Всемирной федерации коллекций культур (WFCC) под номером LE-BIN 1015.

В настоящее время в коллекции поддерживается 24 штамма 20 видов базидиальных грибов, собранных в разные годы на территории Ботанического сада БИН РАН, представленных ниже в аннотированном списке. Таксоны расположены в соответствии с системой, принятой в международной базе данных Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) на июль 2014 г. Аннотация включает номер штамма в коллекции (выделен жирным шрифтом), способ получения изолята, субстрат, фамилию лица, выделившего штамм, дату получения культуры и способ ее хранения (S — субкультивирование; W — мицелиальные диски в дистиллированной воде; C — криоконсервация).

**Аннотированный список видов и штаммов
из Коллекции культур базидиомицетов LE-BIN,
выделенных на территории Ботанического сада
БИН РАН**

Порядок AGARICALES

Сем. Agaricaceae

Coprinus comatus (O. F. Müll.) Pers. — **2638** — ex basidiome. На газоне. Н. В. Псурцева, 15.09.2010 [S, W, C].

Crucibulum laeve (Huds.) Kambly — **1594** — ex peridiola. На веточках под лиственницей. Н. В. Псурцева, 03.10.2002 [S, W].

Lycoperdon pyriforme Schaeff. : Pers. — **1595** — ex basidiome. На почве в основании ствола лиственного дерева. Н. В. Псурцева, 03.10.2002 [S, W].

Lycoperdon sp. — **1592** — ex basidiome. На почве. Н. В. Псурцева, 03.10.2002 [S, W].

Сем. Lyophyllaceae

Hypsizygus ulmarius (Bull. : Fr.) Redhead — **2240** — ex basidiome. В дупле ивы. Н. В. Псурцева, 28.09.2007 [S, W].

Lyophyllum connatum (Schumach. : Fr.) Singer — **0416** — ex basidiome. О. П. Низковская, 09.1971 [S, W].

Сем. Mycenaceae

Panellus serotinus (Pers. : Fr.) Kühner [= *Sarcomyxa serotina* (Pers.) P. Karst.] — **0802** — ex basidiome. На пне лиственного дерева. О. А. Сивочуб, 08.1986 [S, W].

Сем. Physalacriaceae

Flammulina velutipes (Curtis : Fr.) Singer s. l. — **0383** — ex basidiome. Н. М. Милова, 09.1957 [S, W].

F. rossica Redhead et R. H. Petersen — **0535** — Изолирован как *F. velutipes* (Curtis : Fr.) Singer — ex basidiome (ножка). На иве (*Salix caprea*). О. П. Низковская, 10.1978 [S, W].

Сем. Psathyrellaceae

Coprinopsis atramentaria (Bull. : Fr.) Redhead, Vilgalys et Moncalvo [= *Coprinus atramentarius* (Bull. : Fr.) Fr.] — **0366** — Изолирован как *Coprinus atramentarius* (Bull. : Fr.) Fr. — ex basidiome (шляпка). О. П. Низковская, 09.1970 [S]. — **0556** — Изолирован как *C. atramentarius* (Bull. : Fr.) Fr. — ex basidiome (шляпка). О. П. Низковская, 09.1979 [S, W]. — Изолирован как *C. atramentarius* (Bull. : Fr.) Fr. — **0725** — ex basidiome. О. А. Сивочуб, 09.1981 [S, W].

Сем. Strophariaceae

Gymnopilus sapineus (Fr.) Maire — **0390** — Получен как *G. hybridus* (Fr.) Maire — ex basidiome. Милова Н. М., 10.1963 [S, W].

Hypholoma fasciculare (Huds. : Fr.) P. Kumm. — **0394** — ex basidiome. На пне лиственного дерева. О. П. Низковская, 06.1965 [S, W].

Pholiota aurivella (Batsch : Fr.) P. Kumm. — **0438** — ex basidiome. На стволе березы (*Betula* sp.). О. П. Низковская, 09.1973 [S, W]. — **0530** — ex basidiome (ножка). На клене (*Acer* sp.). О. П. Низковская, 10.1978 [S, W].

P. squarrosa (Vahl : Fr.) P. Kumm. — **0441** — ex basidiome. О. Г. Трембач, 10.1969 [S, W].

Порядок BOLETALES

Сем. Serpulaceae

Serpula lacrymans (Wulfen : Fr.) J. Schröt. — **1192** — ex basidiome. На обработанной древесине в здании. Н. В. Псурцева, 16.06.2000 [S, W].

Порядок POLYPORALES

Сем. Fomitopsidaceae

Phaeolus schweinitzii (Fr.) Pat. — **0729** — ex basidiome. На корнях лиственницы (*Larix* sp.). О. А. Сивочуб, 09.1981 [S] — **1227** — ex basidiome. У основания ствола живой лиственницы (*Larix* sp.). О. С. Николаева, 29.08.2000 [S, W].

Сем. Meripilaceae

Grifola frondosa (Dicks. : Fr.) Gray — **2639** — ex basidiome. В основании ствола живого старого дуба. Н. В. Псурцева, 28.09.2010 [S, W, C].

Сем. Meruliaceae

Bjerkandera adusta (Willd. : Fr.) P. Karst. — **1191** — ex basidiome. На пне лиственного дерева (липа или клен). Н. В. Псурцева, 02.06.2000 [S, W].

Сем. Phanerochaetaceae

Climacodon septentrionalis (Fr. : Fr.) P. Karst. — **1265** — ex basidiospores. На живом клене (*Acer* sp.). Н. В. Псурцева, 20.09.2000 [S, W].

Incertae sedis

Oxyporus populinus (Schumach. : Fr.) Donk — **0297** — ex basidiome. На тополе (*Populus* sp.). О. П. Низковская, 11.1978 [S, W].

Большинство штаммов были изолированы тканевым методом, лишь один штамм — 1265 *Climacodon septentrionalis* — был получен путем высева базидиоспор. Большинство культур поддерживается двумя из трех принятых в настоящий момент способов хранения: методом субкультуры и мицелиальными дисками в дистиллированной воде. Криоконсервации были подвергнуты 2 штамма: 2638 *Coprinus comatus* и 2639 *Grifola frondosa*. Субкультивирование на скошенном сусло-агаре (Šašek, 1978) является традиционным способом и подразумевает хранение культур в пробирках при температуре 4 °С с регулярными пересевами раз в 3–5 лет. Дискосый метод (Burdall, Dorworth, 1994) предполагает хранение дисков агаризованной среды с мицелием гриба (5 дисков 7 мм в диам.) в стерильных флаконах под дистиллированной водой при комнатной температуре или при 4–6 °С. Этот метод наиболее подходит для ксилотрофных грибов, сохраняющих жизнеспособность после 10 лет хранения. Метод криоконсервации начал применяться в коллекции с 2011 г. Для этого диски агаризованной среды с мицелием грибов помещаются в криофлаконы с криопротектором (10%-ный водный раствор глицерина) и после предварительного замораживания до –20 °С (0.4–1 град./мин) переносятся в холодильник с –80 °С (Иванушкина и др., 2010).

В настоящее время в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН наряду с поддержанием и морфолого-физиологической характеристикой штаммов проводится экспериментальное изучение различных аспектов физиологии и биохимии грибов, в том числе образующих эктотрофную микоризу, а также поиск биотехнологически значимых и представляющих интерес для медицины продуцентов. Часть этих исследований была выполнена с использованием штаммов, изолированных в Ботаническом саду. Так, в серии экспериментов с участием штамма 2639 *G. frondosa* было показано, что при росте на средах с дефицитом фосфора культуры этого штамма начинают синтезировать особый эволюционно древний класс липидов — бетаиновые липиды диацилглицерилтриметилгомосерины, тогда как собранные *in situ* плодовые тела этого вида не содержат данное вещество. Таким образом, в зависимости от условий культивирования на искусственных средах биосинтетическая активность культур базидиомицетов может в значительной степени изменяться в сравнении с природными образцами их плодовых тел.

Как известно, базидиальные грибы обладают широким спектром биологически активных веществ, а их лечебные свойства использовались с глубокой древности (Денисова, 1998). В настоящее время известно свыше 700 видов базидиомицетов, обладающих лечеб-

ным действием, но лишь немногие из них полноценно применяются в фармакологии (Wasser, 2002). Поэтому изучение лекарственных свойств высших грибов вызывает неослабевающий интерес среди ученых-фармакологов. Исследования коллекционных штаммов рода *Flammulina*, включая штаммы с территории Ботанического сада БИН РАН (0535 *F. rossica* и 0383 *F. velutipes*) показали их способность синтезировать ферменты тромбо- и фибринолитического действия (Псурцева, 1983). Наиболее перспективными с точки зрения дальнейшего изучения лекарственных свойств являются штаммы таких видов, как *F. velutipes* и *G. frondosa*, обладающие противоопухолевой и противовирусной активностями (Wasser, 2002; Lindequist et al., 2005), *Bjerkandera adusta* и *Hypholoma fasciculare*, также проявляющие противоопухолевую активность (Zaidman et al., 2007), *Crucibulum laeve*, продуцирующий салфуредин-подобные метаболиты, применяемые при лечении катаракты (Neumann et al., 1999), *Lycoperdon pyriforme*, обладающий антикоагулянтными свойствами (Mitchell, Perfect, 1995), *Lyophyllum connatum* и *Panellus serotinus*, синтезирующие церамиды (Liu, 2005), *Pholiota aurivella*, продуцирующая лектины (Kawagashi et al., 1991).

Таким образом, сохраняемые *ex situ* культуры базидиальных грибов Ботанического сада БИН РАН могут быть использованы для различных фундаментальных и прикладных исследований.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России».

Список литературы

- Денисова Н. П. Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк. СПб., 1998. 59 с.
- Иванушкина Н. Е., Кочкина Г. А., Еремичева С. С., Озерская С. М. Опыт использования современных методов длительного хранения во Всероссийской коллекции микроорганизмов // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44, вып. 1. С. 19–30.
- Псурцева Н. В. Характеристика роста и развития некоторых штаммов *Flammulina velutipes* (Fr.) Karst. // Микология и фитопатология. 1983. Т. 17, вып. 2. С. 131–134.
- Сивочуб О. А. Каталог культур базидиомицетов коллекции Ботанического института им. В. Л. Комарова Российской академии наук. СПб., 1992. 24 с.
- Burdall H. H., Dorworth E. B. Preserving cultures of wood decaying *Basidiomycotina* using sterile distilled water in cryovials // Mycologia. 1994. Vol. 86. P. 275–280.
- Kawagashi H., Abe Y., Nagata T., Kimura A., Chiba S. A lectin from the mushroom *Pholiota aurivella* // Agric. Biol. Chem. 1991. Vol. 55, № 10. P. 2485–2489.
- Lindequist U., Niedermeyer T. H. J., Julich W.-D. The pharmacological potential of mushrooms // Evid. Based Complem. Altern. Med. 2005. Vol. 2. P. 263–265.
- Liu J. K. N-containing compounds of macromycetes // Chem. Rev. 2005. Vol. 105, № 7. P. 2723–2744.
- Mitchell T. G., Perfect J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS — 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans* // J. Clin. Microbiol. Rev. 1995. Vol. 8. P. 515–548.

Neumann T., Schlegel B., Hoffmann P., Heinze S., Gräfe U. Isolation and structure elucidation of new salfredin-type metabolites from *Crucibulum laeve* DSM 1653 and DSM 8519 // J. Basic Microbiol. 1999. Vol. 39, № 5–6. P. 357–363.

Wasser S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. Vol. 60. P. 258–274.

Zaidman B.-Z., Lutin A., Mahajna J. A. Adverse effects of mycelia and culture broth extracts from *Bjerkandera adusta* (Willd. : Fr.) P. Karst. and *Hypholoma fasciculare* (Huds. : Fr.) P. Kumm. on breast and prostate cancer cells // Int. J. Med. Mushr. 2007. Vol. 9, № 1. P. 39–46.