



О.Б. МИХАЙЛОВА, А.С. БУХАЛО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01001, Україна  
abuch@botany.kiev.ua

**МІКРОСТРУКТУРИ МІЦЕЛІЮ У  
ПРЕДСТАВНИКІВ *MORCHELLACEAE*  
(ASCOMYCOTA) В ЧИСТІЙ КУЛЬТУРІ**

*Ключові слова:* *Morchella*, *Disciotis*, *Vepra*, конідіальні спораношення, мікросклероції, тяжі, анастомози, інкрустація гіф

Для одержання плодових тіл, біомаси або метаболітів їстівних та лікарських макроміцетів на певних етапах технологічного процесу використовують чисті культури грибів-продуцентів. При культивуванні грибів у вегетативній стадії росту потрібно постійно контролювати таксономічний статус, чистоту і фізіологічний стан культур, що значною мірою здійснюється з використанням мікроморфологічних характеристик міцелію. У видів родини *Morchellaceae* (Sacc.) Eckbl. (Pezizales, Ascomycota) залишаються дуже слабодослідженими структури вегетативного міцелію, зокрема наявність та морфологічні особливості конідіальних спораношень, склероціїв, гіф та інших структур, що відіграють важливу роль у життєвому циклі цих грибів. За даними літератури [9, 11, 15], представники порядку Pezizales, до якого належить родина *Morchellaceae*, характеризуються наявністю та різноманітністю конідіальних спораношень. Недостатня дослідженість біологічних властивостей морелевих грибів у культурі стає на перешкоді

практичного використання цієї групи грибів, у складі якої є найбільш цінні їстівні та лікарські види [4, 13, 18].

Дані про мікроструктури вегетативної стадії, зокрема конідіальні спороншення, можуть бути використані в таксономічних дослідженнях.

Гриби родини *Morchellaceae* поширені на території України [5] і становлять інтерес для вітчизняного грибівництва, оскільки окремі види введені в культуру [3].

Метою нашої роботи було дослідження мікоморфологічних особливостей чистих культур восьми видів родини *Morchellaceae* з родів *Morchella*, *Disciotis* та *Verpa* із застосуванням скануючої електронної мікроскопії.

### Матеріали і методи досліджень

Ми досліджували чисті культури дев'яти видів родини *Morchellaceae*, які підтримуються в Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК) [2], а саме: *Disciotis venosa* Boud., шт. 1741; *Morchella angusticeps* Peck., шт. 1833; *M. conica* Pers., шт. 1737; *M. crassipes* (Vent.) Pers., шт. 1833; *M. esculenta* (L.) Pers., шт. 1755; *M. semilibera* D.C. (= *Mitrospora semilibera* (DC) Lév.), шт. 1740; *M. spongiola* Fr., шт. 1837; *M. steppicola* Zerova, шт. 1849; *Verpa conica* (Müll.) Swartz, шт. 1839.

Для дослідження культур грибів у скануючому електронному мікроскопі (СЕМ) їх вирощували на сусло-агарі (8° за Балінгом). Чисту культуру гриба інокулювали в центр чашки Петрі, в якій на поверхні середовища попередньо розміщували невеликі (0,5 × 0,5 см) покривні скельця. Коли культура наростала на скельце, його вирізали з агару разом з міцелієм і переносили у бюкс, де фіксували у парах 1%-го осмію протягом 92 годин. Зафіксовані зразки висушували протягом 72 годин при кімнатній температурі, напилювали золотом і досліджували у скануючому електронному мікроскопі JSM-200 [1].

### Результати досліджень та їх обговорення

Проведені нами методом СЕМ дослідження мікоморфологічних структур вегетативного міцелію виявили раніше не описані специфічні конідіальні та інші мікроструктури в чистих культурах представників родини *Morchellaceae* (таблиця). Ми показали, що *M. esculenta*, *M. conica*, *M. angusticeps* та *M. steppicola* на агаризованому середовищі утворюють конідіальні спороншення (рис. 1, а, б), відомі з літератури [10] як *Costantinella terrestris* (Link.: Gray) Hughes. Конідієносці жовтувато-коричневі, септовані, біля основи 9—18 μ завтовшки та звужуються до 4—15 μ. Гілочки конідієносців прості, нерозгалужені або розгалужені. Конідієносці та гіфи, на яких вони утворюються, інкрустовані. Конідії поодинокі, безколірні, не в ланцюжках або голівках. Конідіальні спороншення *M. angusticeps* (рис. 2), хоч загалом і збігаються з описом спороншень *Costantinella terrestris*, за товщиною та галуженням конідієносців дещо відрізняються від *M. esculenta* та *M. conica*. Одержані дані спростовують твердження про те, що конідіальні спороншення у видів *Morchella* можна спостерігати лише у природі, а не на стерильних субстратах [17].

Мікроструктури в культурах досліджених видів родини *Morchellaceae*

№	Вид	Мікроструктури
1	<i>Disciotis venosa</i>	конідиальні спороношення, міцеліальні тяжі
2	<i>Morchella angusticeps</i>	конідиальні спороношення <i>Costantinella terrestris</i> , лакунозні гіфи, анастомози
3	<i>M. conica</i>	конідиальні спороношення <i>Costantinella terrestris</i> , розгалужені ланцюжки конідій з клітинами, що брунькуються
4	<i>M. crassipes</i>	розростання та деформація гіф при формуванні склероціїв, анастомози, розгалужені ланцюжки конідій з клітинами, що брунькуються
5	<i>M. esculenta</i>	конідиальні спороношення <i>Costantinella terrestris</i> , плівкоподібні структури, міцеліальні тяжі, інкрустація гіф кристалами
6	<i>M. semilibera</i>	розростання та деформація гіф при формуванні склероціїв, розгалужені ланцюжки конідій з клітинами, що брунькуються, лакунозні гіфи
7	<i>M. spongiosa</i>	анастомози, клітини, що брунькуються
8	<i>M. steppicola</i>	конідиальні спороношення <i>Costantinella terrestris</i> , анастомози, лакунозні гіфи, клітини, що брунькуються
9	<i>Verpa conica</i>	лакунозні гіфи, розростання гіф, інкрустація гіф кристалами

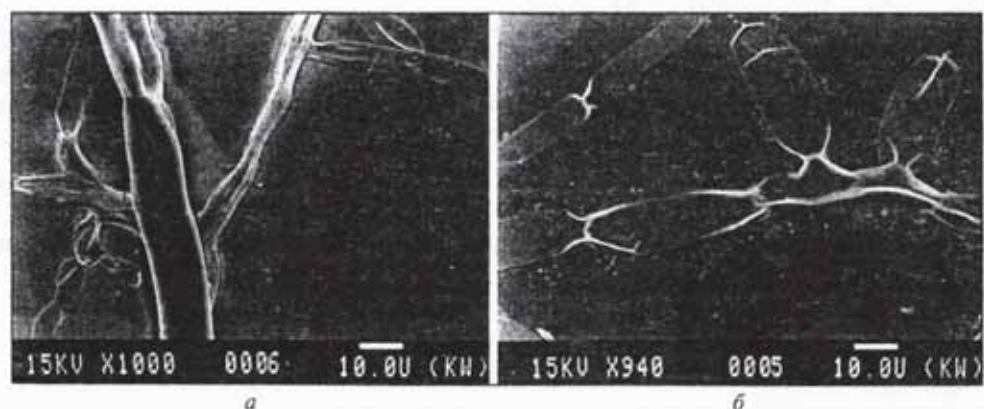


Рис. 1. *Morchella conica* Pers. (а), *M. esculenta* (L.) Pers. (б): конідиальне спороношення. СЕМ (×1000)  
 Fig. 1. *Morchella conica* Pers. (а), *M. esculenta* (L.) Pers. (б): conidial sporulation. SEM (×1000)

У *V. conica* утворювалися поодинокі округлі клітини, розташовані на коротких бічних гілочках, які можна трактувати як конідії (рис. 3). За морфологією вони нагадують бластоконідії, описані нами раніше в чистих культурах видів базидіальних макроміцетів з родів *Pleurotus* та *Schizophyllum* [1, 7, 8]. Деякі автори [6, 12] розглядають такі клітини як псевдоконідії або ескреторні клітини. При культивуванні морелевих грибів на агаризованих середовищах у багатьох видів утворюються мікросклероції, які деякі дослідники [16] вважають аномальними структурами — рудиментами плодових тіл. Ці утворення нагадують щільний диск, забарвлений у кольори, притаманні аскокарпам. У *M. conica*, *M. crassipes* та *M. angusticeps* при формуванні мікроск-

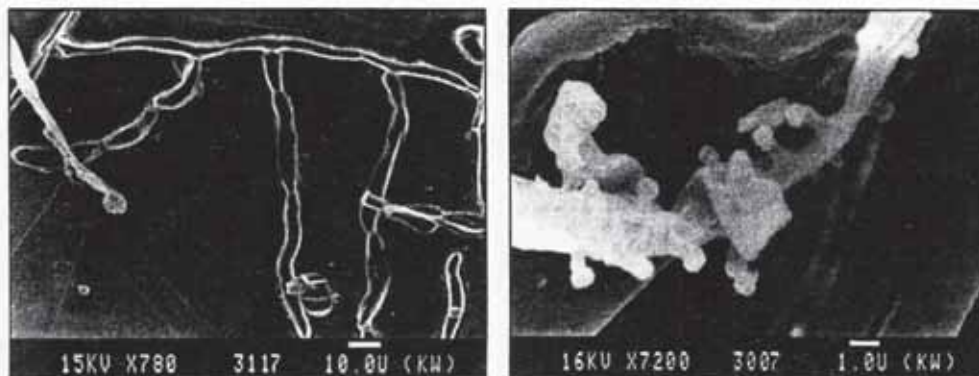


Рис. 2. *Morchella angusticeps* Pers.: конідиальне спороношення. СЕМ (× 780)  
 Fig. 2. *Morchella angusticeps* Pers.: conidial sporulation. SEM (× 780)

Рис. 3. *Verpa conica* (Müll.) Swartz.: конідиальне спороношення. СЕМ (× 7200)  
 Fig. 3. *Verpa conica* (Müll.) Swartz.: conidial sporulation. SEM (× 7200)

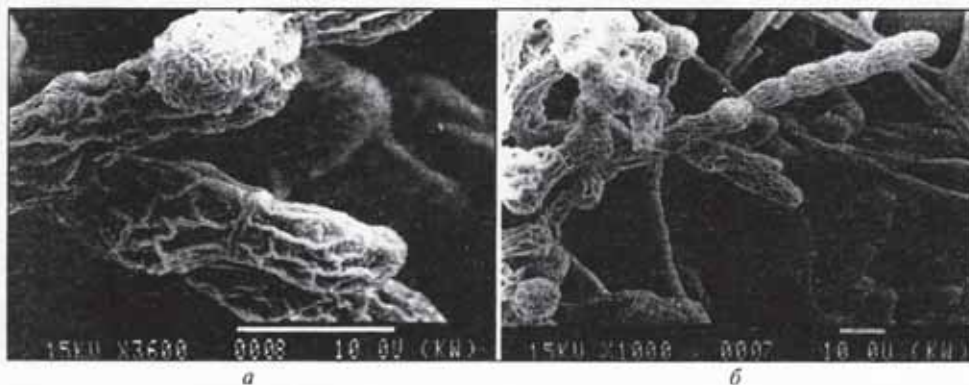


Рис. 4. *Morchella conica* Pers.: конідиальне спороношення (а, б). СЕМ (Ч 3600)  
 Fig. 4. *Morchella conica* Pers.: conidial sporulation (a, b). SEM (Ч 3600)

лероціїв спостерігається анаморфна стадія у вигляді специфічних конідиальних спороношень — більш-менш розгалужених ланцюжків світлозбарвлених конідій, що розпадаються на окремі клітини та часто брунькуються (рис. 4, а, б). Утворення спороношень такого типу, які називають також клітинами, що брунькуються, були раніше описані у *M. crassipes*, *M. semilibera*, та *V. conica* [5] і віднесені автором до роду *Oidium* Link. Проте з цим не можна погодитись, оскільки до роду *Oidium* належать виключно конідиальні спороношення борошнисторосяних грибів (Erysiphales) [14].

У *M. esculenta*, *M. semilibera*, *M. crassipes* та *V. conica* в місцях формування мікросклероціїв ми спостерігали розвиток аномальних гіф з глибокими борознами або складками, які нагадують будову шапинки аскокарпів, різноманітної форми розростання клітинних стінок гіф з утворенням плівкоподібних структур (рисунки 5, 6, 7).



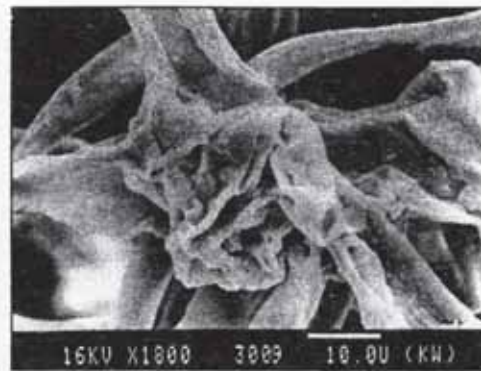
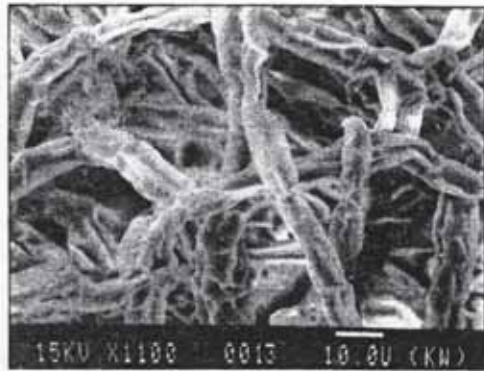


Рис. 5. *Morchella semilibera* D.C.: лакунозні гіфи. СЕМ (× 1100)  
 Fig. 5. *Morchella semilibera* D.C.: lacunose hypha. SEM (× 1100)

Рис. 6. *Verpa conica* (Müll.) Swartz.: аномальна гіфа. СЕМ (× 1800)  
 Fig. 6. *Verpa conica* (Müll.) Swartz.: anomalous hypha. SEM (× 1800)

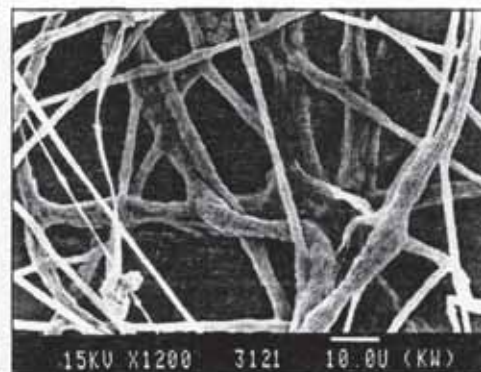
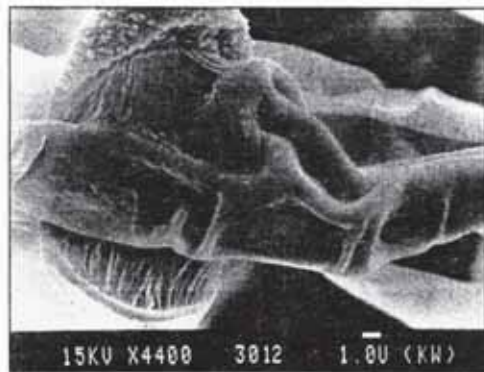


Рис. 7. *Morchella crassipes* (Vent.) Pers.: аномальна гіфа. СЕМ (× 4400)  
 Fig. 7. *Morchella crassipes* (Vent.) Pers.: anomalous hypha. SEM (× 4400)

Рис. 8. *Disciotis venosa* Boud.: міцеліальні тяжі. СЕМ (× 1200)  
 Fig. 8. *Disciotis venosa* Boud.: mycelial cords. SEM (× 1200)

У чистій культурі *D. venosa*, *V. conica* та *M. esculenta* на агаризованих середовищах спостерігали міцеліальні тяжі (рис. 8). У *M. esculenta* та *V. conica* має місце інкрустація гіф кристалами. Між гіфами у ряду видів виникають анастомози, а в місцях утворення міжклітинних перетинок часто з'являються перетяжки.

Таким чином, проведене нами із застосуванням СЕМ вивчення вегетативного міцелію чистих культур восьми видів *Morchellaceae* з родів *Disciotis*, *Morchella* та *Verpa* виявило у них конідіальні та вегетативні структури, раніше не описані в літературі. Одержані нами нові відомості про мікроструктури вегетативного міцелію в культурах досліджених видів узгоджуються з даними літератури про наявність та різноманітність конідіальних стадій у грибів порядку Pezizales [15].

## Висновки

Уперше із застосуванням СЕМ досліджували мікроструктури чистих культур восьми видів родини *Morchellaceae* (Ascomycota) з родів *Morchella* (6 видів), *Disciotis* та *Verpa* (по 1 виду). Одержано нові відомості про наявність і різноманітність конідіальних та інших мікроструктур (анастомозів, міцеліальних тяжів, інкрустації гіф) на їхньому вегетативному міцелії.

При культивуванні на агаризованих живильних середовищах конідіальні спороношення вперше виявлено у *Morchella conica*, *M. esculenta*, *M. angusticeps* та *V. conica*. Конідіальні спороношення, що спостерігаються при утворенні мікросклероціїв у культурах *Morchella conica* та *M. angusticeps* у вигляді розгалужених ланцюжків світлозабарвлених конідій, які відокремлюються та можуть брунькуватися, не належать до роду *Oidium*.

Автори висловлюють щирю подяку д-ру біол. наук М.М. Сухомлін, проф. Buscot та Kellner за надані культури грибів.

1. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / Отв. ред. И.А. Дудка. — Киев: Наук. думка, 1988. — 144 с.
2. Бухало А.С., Митропольская Н.Ю. Каталог культур (Basidiomycotina) / АН Украины. Ин-т ботаники. — Препр. — Киев, 2001. — 60 с.
3. Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Е.Ф. и др. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Практические рекомендации / Под общ. ред. А.С. Бухало. — Киев, 2004. — 127 с.
4. Денисова Н.П. Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк. — С.-Пб.: Изд-во С.-Пб. ГМУ, 1998. — 59 с.
5. Смицкая М.Ф. Флора грибов Украины. Оперкулятные дикомицеты. — Киев: Наук. думка, 1980. — 220 с.
6. Решетников С.В. Эволюция бесполого размножения высших базидиомицетов. — Киев: Наук. думка, 1991. — 188 с.
7. Линовицька В.М., Бухало А.С. Культуральні та морфологічні особливості лікарського гриба *Schizophyllum commune* Fr. (Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах // Укр. ботан. журн. — 2005. — 62, № 1. — С. 78–86.
8. Buchalo A.S., Didukh M.Ya. Micromorphological characteristics of culinary-medicinal mushroom and fungi cultures // Int. J. Med. Mushr. — 2005. — 7. — P. 249–261.
9. Buscot F. Mycelial differentiation of *Morchella esculenta* in pure culture // Mycol. Res. — 1993. — 97, N 2. — P. 136–140.
10. Ellis M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth mycological Institute. — Kew, Surrey, England, 1971. — 608 p.
11. Hennebert G.L., Bellemere A. Les formes conidiennes des Discomycetes essai taxonomique // Revue de Mycologie. — 1979. — 43. — P. 259–313.
12. Hilber O. The genus *Pleurotus* (Fr.) Kummer. — Germany: Publ. Priv., 1997. — 64 S.
13. Hobbs Ch. Medicinal mushrooms: An exploration of tradition, healing and culture. — Santa Cruz: Botanica Press, 1996. — 251 p.
14. Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C., Stalpers J.A. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi / 9<sup>th</sup> ed. — Wallingford: CAB International, 2001.
15. Korf R.P. Discomycetes and Tuberale in Ainsworth G.C., Sparrow F.K. et Sussman A.S. The Fungi, IV. — New York; London: Acad. Press, 1973. — 897 p.
16. Novak. <http://nov55/com/mr/anom/html>

17. *Stamets P.* Growing gourmet and medicinal mushrooms. — Hong Kong: Ten Speed Press, 2000. — 574 p.
18. *Ying J., Mao X., Ma Q., Zong Y., Wen H.* Icones of medicinal fungi from China / Translated by X. Yuehan. — Beijing: Science Press, 1987. — 575 p.

Рекомендує до друку  
І.О. Дудка

Надійшла 27.09.2005

*О.Б. Михайлова, А.С. Бухало*

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

#### МИКРОСТРУКТУРЫ МИЦЕЛИЯ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *MORCHELLACEAE* (ASCOMYCOTA) В ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЕ

Методом сканирующей электронной микроскопии исследованы микроструктуры вегетативного мицелия чистых культур девяти видов семейства *Morchellaceae* (Ascomycota) из родов *Morchella* (6 видов), *Disciotis* и *Verpa* (по 1 виду). Получены новые данные о наличии и особенностях строения их конидиальных спороношений, лакунозных и инкрустированных гиф, анастомозов, мицелиальных тяжей и других микроструктур. У *Morchella conica* Pers., *M. esculenta* (L.) Pers., *M. angusticeps* Peck. и *M. steppicola* Zerova наблюдалось конидиальное спороношение *Costantinella terrestris* (Link.: Gray) Hughes. У *M. conica*, *M. angusticeps* и *M. crassipes* (Vent.) Pers. выявлены разветвленные распадающиеся на отдельные клетки цепочки светлоокрашенных почкующихся конидий, у *V. conica* (Müll.) Swartz мы описали бластоконидии, у *D. venosa* Boud. — мицелиальные тяжи.

*О.В. Mykchaylova, A.S. Buchalo*

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

#### MYCELIAL MICROSTRUCTURES IN PURE CULTURES OF THE REPRESENTATIVES OF *MORCHELLACEAE* (ASCOMYCOTA)

Investigations of the mycelial microstructures in pure cultures of 9 species of *Morchellaceae* (Ascomycota) from the genera *Morchella* (6 sp.), *Disciotis* (1 sp.) and *Verpa* (1 sp.) were made using scanning electron microscopy. New data were obtained on the presence and fine structure of conidial sporulation, lacunose and incrustated hyphae, anastomoses, mycelial cords etc. in investigated species. In *Morchella conica* Pers. *M. esculenta* (L.) Pers., *M. angusticeps* Peck., the conidial sporulation *Costantinella terrestris* (Link.: Gray) Hughes. was studied. In *M. conica*, *M. angusticeps* and *M. crassipes* (Vent.) Pers. conidial sporulation of oidium type and budding cells were discovered. We registered blastoconidia in *Verpa conica* (Müll.) Swartz and mycelial cords in *Disciotis venosa* Boud.