

УДК 581.1+582.284:582.288

П. А. Сычев, Н. П. Ткаченко

ЯДЕРНЫЙ СТАТУС БАЗИДИОСПОР В СУТОЧНЫХ СПОРОВЫХ ОТПЕЧАТКАХ НЕКОТОРЫХ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ

Количество ядер в клетках базидиоспор в суточных споровых отпечатках съедобных базидиомицетов и их локализация видоспецифичны. Одноядерные базидиоспоры характерны для *Pleurotus ostreatus* Kuum, *Pleurotus cornuconie* Pers, *Pleurotus floridae* Favose. Ядра локализованы в геометрических центрах клеток. Двухядерность свойственна базидиоспорам *Agaricus bisporus* Imbach, *Lentinus edodes* Berk, *Flamulina velutipes* Sing, *Macrolepiota procera* Sing, *Macrolepiota rhacodes* Sing, *Russula decolorans* Sing, *Hericicola auriculare* Jude Gull Sing. В эллипсоидных клетках рода *Macrolepiota* ядра локализованы на одном из полюсов большой оси эллипса.

Ключевые слова: суточные споровые отпечатки, базидиоспоры ядра, расположение (локализация), геометрический центр, один из полюсов, большая ось эллипса, одноядерные и двухядерные базидиоспоры, видовоспецифичность.

Введение. Сведения об общем количестве видов в царстве грибов в литературе весьма противоречивы. Большинство микологов свидетельствует о ста тысячах видов микро- и макромицетов [1–3]. В публикациях последних лет [4] число видов полезных для человека превышает 1,5 млн и сопоставимо с численностью насекомых. Подобной точки зрения придерживается Ю.Т. Дьяков и сотрудники [5].

Belova N. [6] и Chang S.T. [7] существенное значение придают лекарственным базидиомицетам, характерной особенностью обмена веществ у которых являются серосодержащие аминокислоты и другие сульфосоединения.

Труды Pavlic M. [8] и наши публикации, например, [9] посвящены биоразнообразию высших базидиомицетов и интродукции их в промышленную культуру, плантационному и промышленному грибоводству.

Chang S.T. [10], Бухало А.С. [2] и Ю.Т. Дьяков затрагивают проблемы клеточного строения мицелия – вегетативной стадии развития высших базидиомицетов – объектов экстенсивного и интенсивного грибоводства.

Chang S.T. [10], Ю.Т. Дьяков [5] и др. считают, что онтогенез высших съедобных базидиомицетов протекает по гаплоиднодиплоидному типу, причем, диплоидная фаза у них скоротечна. Она начинается с плазмогамии и заканчивается мейозом, охватывая только один из девяти этапов жизненного цикла. В тоже время данные о ядерном статусе базидиоспор в суточных споровых отпечатках пластинчатых базидиомицетов в литературе, по существу отсутствуют. В современных журнальных и монографических научных работах вопросы ядерного статуса съедобных базидиомицетов вовсе не затрагивались.

Целью настоящей работы было изучение количества ядер и их локализация в базидиоспорах, полученных из суточных споровых отпечатков 13 штаммов из 8 родов культивируемых и интродуцированных в промышленную культуру съедобных грибов. В связи с этим можно судить о ядерном статусе высших съедобных грибов, да и то не о всем их многообразии именно в суточных споровых отпечатках.

Объекты и методы исследований. Объектами избраны штаммы культивируемых и дикорастущих съедобных пластинчатых базидиомицетов. Шампиньон двуспоровый *Agaricus bisporus* Imbach представлен штаммами РС-17 и А-15. Вешенка обыкновенная *Pleurotus ostreatus* (Jag:Fr) Kummer представлена штаммами Дон 112 и БП-8. Вешенка обильная *Pleurotus cornuconie* Pers штаммом ИБК, зимний гриб (зимний опенок) *Flamulina velutipes* (Fr.) Karst. Sing собран с деревьев г. Донецка. Сии-таке (шиитаке) *Lentinus edodes* Berk (штамм 453) выращен в лаборатории биотехнологии съедобных грибов Донецкого национального университета. Гриб-зонтик большой пестрый *Macrolepiota procera* S. F. Gray собран на территории Донецкого ботанического сада национальной академии наук Украины. Гриб – зонтик краснеющий *Macrolepiota rhacodes* S. F. Gray – получен из плодовых тел, выросших в весенней оранжерее под кустами растений томата. Из чистой культуры на специально подобранном субстрате в последствии получены плодовые тела, от которых приготовлены отпечатки базидиоспор. Сыроежка сыреющая *Russula decolorans* Sing собрана в парковой зоне г. Донецка. Там же собраны плодовые тела иудина уха *Hericicola auriculare* Jude Sing.

Для получения споровых отпечатков плодовые тела культивируемых и дикорастущих штаммов разных видов помещали в стерильные чашки Петри с чистыми предметными стеклами. Адгезия базидиоспор на предметных стеклах обеспечивала прочное их закрепление и, таким образом, позволяла получить хорошие цитологические препараты. Материал фиксировали по Карнуа (хлороформ, этанол, уксусная кислота ледяная, в соотношении 6:3:1 по нижеследующей схеме:

- 1) фиксация по Карнуа – 10 мин.;
- 2) промывка в 96 % этаноле – 10 мин.;

- 3) выдерживание в 70 % этаноле 30 мин.;
- 4) промывка в дистиллированной воде – 10 мин.;
- 5) выдерживание в холодной 1N HCl – 6 мин.;
- 6) гидролиз в горячей 1N HCl (при 60 °С) – 6 мин.;
- 7) промывка холодной 1N HCl – 5 мин.;
- 8) промывка в дистиллированной воде – 10 мин.;
- 9) проводка через спирты возрастающих концентраций (70–96 %);
- 10) выдерживание в фосфатном буфере 1:1 с pH 6,9 – 15 мин.;
- 11) окрашивание препаратов гематоксилином Делафильда – 30 мин.;
- 12) промывка дистиллированной водой;
- 13) проводка через спирты возрастающей концентрации 70–96 %;
- 14) проводка через 2 смены бутанола – по 10 мин.;
- 15) проводка через 2 смены ортоксилола;
- 16) заключение в канадский бальзам под покровными стёклами 24×24 мм;
- 17) микроскопические исследования при увеличениях×600, 1350 микроскопа «Эргаваль» фирмы Карл-Цейсс (Германия).

Все упомянутые выше процедуры выполняли в соответствии со справочником «Методы экспериментальной микологии» [11]

Результаты экспериментов и их обсуждения. Данные о количестве ядер и их локализации в клетках приведены в таблице.

Таблица

Количество ядер и их локализация в базидиоспорах суточных спорных отпечатков некоторых съедобных базидиомицетов

| № п/п | Наименование видов и штаммов грибов | Количество ядер в базидиоспоре | Локализация ядер в базидиоспоре |
|-------|---|--------------------------------|--|
| 1 | Вешенка обыкновенная Дон-112 | Чаще 1, реже 2 | в центре |
| 2 | Вешенка обыкновенная Дон-103 | Чаще 1, реже 2 | в центре |
| 3 | Вешенка обыкновенная, штамм БП-8 | Чаще 1, реже 2 | в центре |
| 4 | Вешенка обильная, ИБК 458 | 1, реже 2 | в центре |
| 5 | Вешенка флоридская | 1, реже 2 | в центре |
| 6 | Шампиньон двуспоровый штамм РС 17 (коричневой расы) | 1, 2 и более | в центре |
| 7 | Шампиньон двуспоровый А-15 (белая раса) | 1, 2 и более | в центре |
| 8 | Зимний гриб | 2 и более | в центре |
| 9 | Гриб зонтик большой пестрый | 2 и более | на одном из полюсов эллипсоидной споры |
| 10 | Гриб зонтик краснеющий | 2-4 и более | на одном из полюсов эллипсоидной споры |
| 11 | Сии-таке | 2-4 | чаще в центре |
| 12 | Сыроежка сереющая | 2 и более | на одном из полюсов эллипсоидной споры |
| 13 | Иудино ухо | 2 и более | на концах большой оси эллипсоидной споры |

Из таблицы следует идентичность количества ядер и их локализации в клетках у исследованных штаммов вешенки обыкновенной, обильной и флоридской.

Количество ядер у них в подавляющем большинстве случаев равно одному, по два ядра встречаются реже. Наличие двух ядер может говорить о том, что в течение суток у отдельных базидиоспор произошло постмейотическое деление.

Вешенку отличает преимущественная одноядерность в течение суток. Грибы данного рода перспективны для создания гибридов и мутантов с полезными хозяйственно-биологическими признаками. В течение суток спорные отпечатки вешенок можно обрабатывать физическими или химическими мутагенами. Они удобны также для получения монокариотического мицелия, определения генетической структуры дикорастущих штаммов, отбора пар для скрещивания.

У исследованных штаммов шампиньона двуспорового коричневой и белой рас суточные базидиоспоры содержат по 1, 2 и более ядер. В базидиоспорах зимнего гриба содержится по 2 и более ядер, расположенных в центре клеток. Споры зонтика большого и зонтика краснеющего, сыроежки сереющей имеют эллипсоидную форму.

У зонтиков ядра локализованы на одном из полюсов эллипсоидной споры, а в базидиоспорах иудина уха ядра расположены на концах большой оси эллипса-клетки.

Базидиоспоры сии-таке содержат по 2 и более ядер, расположенных в центре клеток.

Таким образом, суточные базидиоспоры штаммов исследованных видов вешенок содержат преимущественно по одному ядру. У шампиньонов, зимнего гриба, сии-таке суточные базидиоспоры содержат 2 и более ядер, локализованных в центре клеток. Ядра в спорах грибов – зонтиков и сыроежки сероющей локализованы на одном из полюсов клетки, у иудина уха на концах большой оси клетки.

В приведенном во введении обзоре литературы лишь подтверждается актуальность. Однако в обзорах Н.А. Бисько и соавторов [1], М.М. Сухомлин [2] и Ю.Т. Дьякова [5] имеются свидетельства общего микологического характера.

Обсуждая результаты кариологических исследований необходимо коснуться гетероталлизма. Это явление заключается в следующем: фертильный дикариотический мицелий возникает только в результате плазмогамии при скрещивании различных гомокариотических мицелиев. Гетероталлические виды характеризуются тем, что каждая возникающая на базидии спора получает после мейоза одно ядро. В числе генетических факторов, которые контролируют процесс скрещивания двух гомокариотических мицелиев, у них преобладает система несовместимости двух типов: первая из них представляет собой двухфакторную систему, при которой возможность скрещивания двух разных мицелиев определяется одним генетическим фактором А с множественными аллелями. Вторая представляет собой двухфакторную систему, которая зависит от двух несвязанных между собой генетических факторов А и В, каждый из которых имеет множественные аллели. Кроме того, принято различать первичный и вторичный гомоталлизм.

Первичный гомоталлизм установлен у немногих видов базидиомицетов. Это явление предполагает отсутствие факторов несовместимости и развитие из каждой прорастающей базидиоспоры самофертильного мицелия, который способен образовывать плодоншения без перекрестных слияний с другими мицелиями. Вторичный гомоталлизм отличается от первичного по ряду признаков и, в первую очередь, по наличию факторов несовместимости и механизма ядерного распределения. Отличительной чертой гомоталлических видов является образование двух базидиоспор на базидии.

У *P. ostreatus* вторичный гомоталлизм изучен путем анализа образования пряжек в больших количествах при перекрестных скрещиваниях. Для *P. ostreatus* характерен тетраполярный механизм взаимодействия пар при скрещиваниях. По нашим данным у *P. florida* и базидиоспоры в суточных отпечатках тоже содержат по одному, реже – по 2 ядра.

A. bisporus – единственный культивируемый базидиомицет, для которого характерен вторичный гомоталлизм. Между мицелиями моноспорового и многоспорового происхождения нет постоянных отличий. Оба типа мицелия образуют плодовые тела. Моноспоровые мицелии являются самофертильными.

Явления двухфакторного гомоталлизма установлено у сии-таке *L. edodes*. Для *F. velutipes* характерен гетероталлизм с двухфакторным контролем совместимости.

Следовательно, *P. ostreatus* и *F. velutipes* относятся к высшим съедобным грибам, для которых характерен двухфакторный гетероталлизм.

Таким образом, впервые цитологическими методами получены постоянные препараты с ярко окрашенными ядрами 13 штаммов, 9 видов, 6 родов высших съедобных базидиомицетов.

Выводы.

- По одному, реже по 2 ядра содержат базидиоспоры *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida* и *A. bisporus*. Ядра расположены в геометрическом центре базидиоспор.
- Двухядерность и большее число ядер свойственна базидиоспорам, *L. edodes*, *F. velutipes*, *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans*, *Hericicola auriculare* Jude.
- В базидиоспорах *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans* ядра локализованы на одном из полюсов большой оси эллипса. Базидиоспоры *H. auriculare* Jude содержат по 2 ядра, локализованных на двух полюсах оси эллипса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Высшие базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре / Н. А. Бисько, А. С. Бухало, С. П. Вассер и др.; под общ. ред. И. А. Дудки. – Киев: Наукова думка, 1983 – 312 с.
2. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А. С. Бухало. – К.: Наукова думка, 1982. – 168 с.
3. Сухомлин М. М. Статеве розмноження вищих базидіомицетів / М. М. Сухомлин. – Донецьк: ДонНУ, 2001 – 175 с.
4. Хаухсворт М. Общее количество грибов и их значение для человека / М. Хаухсворт // Микология и фитопатология. – 2011. – Т. 45, вып. 3. – С. 201–205.
5. Дьяков Ю.Т. Введение в генетику грибов / Ю. Т. Дьяков, А. В. Шнарева, А. В. Сергеев; Под ред. Ю. Т. Дьякова. – М: издательский центр «Академия», 2005. – 304 с.
6. Belova N. Sulphameta bolite and their biological activiti in the Macromycetes / N. Belova // Proc of V intern. Medicinal Muchroom Conference (5-8 September 2009, Nanlung, China). – 2009. – P. 207–211.
7. Chang S. T. Medicinal Muchroomproduct: Nutricepting and Pharmacelang Conference (5-8 September, 2009, Nanlung, China). – 2009. – P. 212–225.
8. Pavlic M. Cyrowing of Pleurotus ostreatus Woods. Acta edible Fungi / M. Pavlic. – Cobit, 2008. – P. 305–312.

9. Сычев П.А. Грибы и грибоводство / П. А. Сычев, Н.П. Ткаченко. – Донецк – Москва «Сталкер», 2003 – 512 с.
10. Chang S. T. Nuclear behavior utilizing light microscopy / S. T. Chang // In the Biology and cultivation of edible mushrooms. – New York: Academic Press, 1978. – P. 35–51
11. Методы экспериментальной микологии. Справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская и др. / Под общей ред. И.А. Дудки. – К.: Наукова думка, 1982 – 550 с.

Поступила в редакцию 28.11.2012 г.

РЕЗЮМЕ

Встановлено що кількість ядер та їх локалізація в клітинах базидіоспор видовоспецифічні. Одноядерні базидіоспори *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida*. Ядра розташовані у геометричному центрі клітин. Двоядерність властива *A. bisporus*, *L. edodes*, *F. velutipes*, *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans*, *Hernicola auriculare* Jude. У базидіоспорах *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans*, *Hernicola auriculare* Jude ядра розташовані на одному з полюсів великої осі еліпсу. У більшості видів ядра локалізовані в геометричному центрі.

Ключові слова: добові спорові відбитки, базидіоспори ядра, розташування (локалізація), геометричний центр, один з полюсів, велика вісь еліпса, одноядерні і двоядерні базидіоспори, видовоспецифічність

SUMMARY

The number of nuclei and their localization in basidiospore cells in daily markings have been specified. *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida* are one-cored basidiospores. Nuclei are situated in the geometrical center of cells. *A. bisporus*, *L. edodes*, *F. velutipes*, *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans*, *Hernicola auriculare* Jude have two spores. Nuclei in *M. procera*, *M. rhacodes*, *R. decolorans*, *Hernicola auriculare* Jude are situated in one of poles of large axis ellipse and cores are localized in geometrical center of cells in larger species.

Keywords: daily spore prints, core basidiospores, location (localization), geometric center, one of the poles, major axis of ellipse, single-core and dual-core basidiospores, species-specific.