

С. М. БАДАЛЯН

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ
ПРИЗНАКОВ ВИДА
NEMATOLOMA FASCICULARE (HUDS.:FR.) KARST.

Исследования шляпочного гриба *N. fasciculare* в условиях *in vivo* и *in vitro* выявили ряд признаков, имеющих таксономическое значение: размеры и форма спор; способ прикрепления спор к стеригмам; три морфологических типа колоний; размеры клеток гиф; наличие пряжек разной формы; изменение окраски агара; наличие конидиального спороношения типа артро-, бласто- и хламидоспор; скорость линейного роста гиф, наличие и форма кристаллов оксалата кальция и образование мощных мицелиальных тяжей в культуре.

Для построения естественных систем одной из задач таксономистов является наиболее полное описание видов. Для их характеристики на нынешнем этапе развития агарикологии нельзя ограничиваться только микро- и макроморфологией плодового тела, необходимо вести изучение биологии, физиологии и биохимии видов в чистой культуре.

В таксономии базидиальных шляпочных грибов пользуются целым комплексом критериев, часть которых при идентификации таксонов разного ранга имеет первостепенное, а часть—второстепенное значение. Такими критериями являются: размеры спор; форма, размеры шляпки и ножки; характер и окраска покровной ткани; наличие или отсутствие частного, общего покрывала, их строение; цвет, структура пластинок; наличие или отсутствие хейло- и плеуроцистид; запах плодового тела; ряд экологических признаков и т. д.

Однако в последнее десятилетие систематики не ограничиваются вышеперечисленными критериями и пользуются комплексом как морфолого-культуральных, так и физиолого-биохимических признаков [1—6 и др.].

Изучение мицелия—вегетативной стадии агариковых грибов в культуре дает ценный материал, дополняющий общую характеристику таксонов, т. к. многие культуральные признаки имеют систематическое значение. При идентификации видов нередко учитываются наличие или отсутствие внеклеточных оксидаз; аминокислотный состав; тип клеточных перегородок; пигментация агара; скорость роста мицелия; образование специальных дифференциаций гиф (тяжи, ризоморфы) в культуре; размеры клеток гиф; наличие конидиального спороношения типа артро-, бласто-, хламидоспор и т. д.

В данной работе приведены результаты исследований *N. fasciculare* в культуре и в естественных условиях с целью таксономической оценки ряда признаков, выявленных у штаммов этого вида.

Известно, что размеры и форма спор агариковых грибов нередко были рекомендованы как основной признак при описании вида [7]. Од-

нако дальнейшие исследования показали, что данный признак на уровне рода можно использовать лишь как дополнительный. При этом необходимо измерить не менее 100 спор с последующей статистической обработкой с целью надежности результатов и выявления диапазона их изменчивости [8, 9].

Споры *N. fasciculare* из сухих и свежих плодовых тел измерялись с помощью окуляр-микрометра и фотографировались под люминесцентным микроскопом. Плодовые тела *N. fasciculare* были собраны в разных географических точках Армянской ССР, а также на территории Звенигородской биостанции МГУ им. М. В. Ломоносова (Московская область). Проведено более 500 измерений с последующей статистической обработкой. Вычислена форма спор-К (отношение длины к ее ширине). Полученные данные сравнивали с литературными.

Результаты показали, что географическая распространенность существенного значения не имеет (табл. 1). Более вариабельны показатели длины спор, тогда как ширина—величина постоянная и может иметь таксономическое значение. Это подтверждает заключения Гарпбовой и Мокеевой (1974) о видах рода *Agaricus* Fr. emend Karst. [9].

Таблица 1

Размеры базидиоспор *N. fasciculare* (в мкм)

Место сбора плодовых тел	Время сбора	Длина (M±m)	Ширина (M±m)	К—форма спор
Кировакан	1981	6,6—0,1	3,4—0,1	1,9
Дилижан	1980	6,2—0,38	3,4—0,17	1,9
→	→	5,9—0,33	3,3	1,8
Степанаван	1981	5,6—0,35	3,4—0,18	1,8
→	1983	7,1—0,64	4,5—0,47	1,6
Московская область (ЗБС)	1983	8,1—0,46	4,1—0,3	2

M—среднее арифметическое из 50 измерений; m—среднее квадратичное отклонение.

Споры плодовых тел, собранных в Армянской ССР, отличаются по длине; ширина их почти одинакова. Исключение составляют размеры спор плодовых тел из Степанавана: они крупнее и ближе к размерам спор плодовых тел из Московской области.

Эти данные показывают пределы видовой изменчивости и дают возможность высчитать форму спор (К)—более стабильного показателя (табл. 1). Форма спор является также признаком эволюционной продвинутости вида. Исследования рода *Agaricus* показали, что виды, имеющие малый показатель К ($K < 1,5$), с округлыми спорами. Они эволюционно более старые, нежели виды с большим показателем К ($K > 1,5$). Эти данные подтверждаются и другими признаками. Большому показателю К соответствуют широта ареала, многочисленность вида, его большая изменчивость, редкость во встречаемости пражек и т. д. [9].

У *N. fasciculare* во всех вариантах $K > 1,5$ ($K = 1,6—2$), что соответствует удлинненно-эллипсоидальной форме и является эволюционно более молодым признаком. Кроме того, надо отметить большой ареал распространения и многочисленность особей этого вида.

Эволюционно прогрессивными признаками у агариковых грибов являются также темная окраска спорового порошка, характерной для *N. fasciculare*, и амилоидность спор [10].

Сравнение полученных результатов с известными в литературе данными о размерах спор *N. fasciculare* показывает их совпадение с небольшими отклонениями.

Ценный материал для систематики дают также исследования спор с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). Они поз-

воляют выяснить ультраструктуру спор, инкрустацию внешней оболочки, место прикрепления спор к стеригмам (аппарат отбрасывания базидиоспор) и т. д. [11—14 и др.]. Таким исследованиям придается все большее значение, т. к. базидиоспоры как генеративные клетки меньше подвержены влиянию факторов внешней среды и менее изменчивы. Делаются попытки классификации видов на основании строения спор [15].

СЭМ (Hitachi S—405A) исследования, проведенные в межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ им. М. В. Ломоносова, показали, что внешняя оболочка спор *N. fasciculare* гладкая, форма—удлиненно-эллипсоидальная. Широкая часть споры находится у основания, а апикальная—сужается. Инкрустация не обнаружена (см. рис.). Были изучены также строение гиллярного апендикса, принцип прикрепления спор к стеригмам и выдвинута гипотетическая схема отбрасывания базидиоспор у *N. fasciculare* [16].

Для спор из сухих плодовых тел *N. fasciculare* характерна ладьевидная форма—вдавленность в субгайллярной части. Такое явление было отмечено у *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach [17] и у спор гербарных образцов других видов семейства *Boletaceae* Chev., *Tricholomataceae* Roze ex Oliv. и др. [18—20]. Это, вероятно, результат неравномерного высыхания спор вследствие различной толщины споровой оболочки.

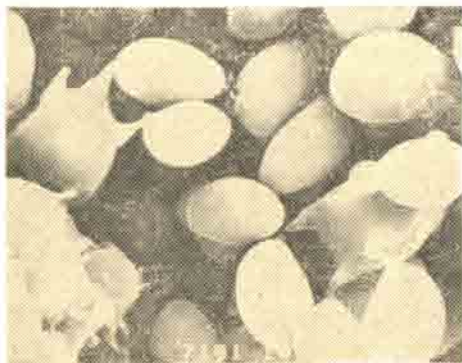
Большое значение в систематике гименомицетов придается изучению морфолого-культуральных и физиолого-биохимических признаков вегетативной части—мицелия.

Исследования культур *N. fasciculare* показали, что у 60 штаммов гриба на различных агаризованных средах достаточно стабильно проявляются 3 морфологических типа колоний. Эти типы колоний характеризуют *N. fasciculare* в культуре, его физиологию, экологию и указывают на диапазон видовой изменчивости [21].

Вышесказанное свидетельствует о том, что этот признак также имеет таксономическое значение, и его нельзя не учитывать при идентификации вида.

Из специфических видовых признаков чистых культур *N. fasciculare*, кроме типа колоний, можно отметить также наличие и форму кристаллов оксалата кальция, наличие или отсутствие пряжек (одно-, двусторонние, пряжкоподобные выросты и утолщения) [21].

Наличие пряжек рассматривается как примитивный признак [10]. В настоящее время нет таких исследований, где говорилось бы об определяющем значении пряжек в систематике грибов на уровне вида, рода. Исследования пряжек мицелия видов *Agaricales* и *Aphyllphorales* с помощью СЭМ [22] показали, что наличие и форме пряжек пока нельзя придавать решающее значение в таксономии видов. У гименомицетов наличие в культуре, а тем более в природных условиях конидиального спороношения—явление очень интересное и достойно внимания. Оно имеет существенное диагностическое значение на уровне вида. У штаммов *N. fasciculare* как в культуре, так и в природных условиях (на ризоморфах и в мицелии, отпрепарированном из древесины) было обнаружено конидиальное спороношение типа артро-, бласто- и хламидоспор [23]. Исследования проводились с помощью световой микроскопии



Базидиоспоры и базидии в гимениальном слое *N. fasciculare*. Сканирующий электронный микроскоп Hitachi S-405A (×7500).

(МБИ-3) и СЭМ (Hitachi S—405A). Обнаружение этого явления почти у всех изученных штаммов в разные сроки роста, независимо от питательной среды, *in vivo* и *in vitro* позволило считать данный признак не культуральным, штаммовоспецифичным, а видоспецифичным и рекомендовать его как систематический критерий на уровне вида для *N. fasciculare*.

Цель метаболических реакций у биологических организмов, в т. ч. и у грибов сугубо индивидуальна и строго ограничена в рамках одного вида.

Согласно нашим наблюдениям, систематическое значение можно придавать также и изменению окраски агара, имеющей место в результате выделения грибом соответствующих пигментов в процессе метаболизма. Все изученные штаммы *N. fasciculare* окрашивали агар в светло-желтый цвет. Однако при антагонистических взаимоотношениях в совместной культуре с другими микроорганизмами агар краснеет. Наблюдается корреляция: чем сильнее сопротивляется *N. fasciculare*, тем интенсивнее окрашивается среда (до кирпично-коричневого цвета). В зависимости от состава питательной среды наблюдается также пигментация мицелия—от светло-желтого (лимонного) до кирпично-коричневого.

Такое явление отмечено было более чем у 80 штаммов на пяти изученных твердых средах (сусло, картофельно-глюкозная, сусло с экстрактом древесины, суспензия древесины, экстракт древесины).

Следует отметить еще одну особенность мицелия *N. fasciculare*—образование в культуре мощных тяжей, в частности при антагонистических взаимоотношениях [24], характерных колониям I морфологического типа.

Скорость линейного роста гиф при определенной температуре также может послужить таксономическим критерием для видов. Так, у 58 штаммов *N. fasciculare* из различных географических точек СССР на трех агаризованных средах (сусло, картофельно-глюкозная, сусло с экстрактом древесины) на 10-й день роста были выделены две группы: быстрорастущие (со средней скоростью роста 0,2 мм/ч) и медленнорастущие (0,1 мм/ч). Такое разделение соответствовало морфологическим типам колоний и стабильно проявлялось в пределах вида (табл. 2). Различие в скорости и характере роста штаммов указывает на наличие экологических форм внутри данного вида.

Таблица 2

Скорость роста штаммов *N. fasciculare* на различных агаризованных средах

Группа штаммов	Среды					
	сусло		картофельно-глюкозная		сусло с экстрактом древесины	
	к-во	в %	к-во	в %	к-во	в %
медленнорастущие (0,1 мм/ч)	4	17	8	57	12	67
быстрорастущие (0,2 мм/ч)	20	83	6	43	6	33
всего:	24	100	14	100	18	100

Скорость роста штаммов зависит от состава питательной среды. Чем богаче и доступнее питательная среда, тем быстрее растет мицелий. Из табл. 2 явствует, что штаммы *N. fasciculare* с большей скоростью растут на агаризованном сусле, затем на картофельно-глюкозной

среде и среде с экстрактом древесины—более близкой к естественным условиям обитания данного вида.

Подытоживая вышеизложенное, можно убедиться, насколько связаны друг с другом морфология и биология грибного организма. Нельзя рассматривать их в отдельности и нельзя ограничиваться только первым. Изучение биологии вида необходимо в любых систематических работах, т. к. этим только возможно выявить полный комплекс таксономических признаков, характеризующих вид.

Кафедры экологии и охраны природы

Поступила 13.03.1985

ЛИТЕРАТУРА

1. Nobles M. K. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes.—Can. J. Bot., 1965, v. 43, № 9, p. 1097—1139.
2. Semerdžieva M. Agaricaceae in vitro.—Česká mykol., 1965, v. 19, № 4, p. 230—239.
3. Stalpers J. A. Studies in Mycology. 1978. 248 p.
4. Бухало А. С., Вассер С. П. Значение культурально-морфологических признаков высших базидиомицетов для таксономических и эволюционных построений.—Укр. бот. журн., 1981, т. 38, № 1, с. 93—99.
5. Гарибова Л. В. Морфология, биология и систематика рода *Agaricus* Fr. emend. Karst.—Дисс... докт. биол. наук. М.: 1983, 35 с.
6. Poppe J., Weivaert N. Identification of Hymenomycetes in pure culture by characterization of their mycelia and trials for artificial fructification.—Meded. Fac. Jan. Rij. Gent., 1983, v. 48, № 3, p. 901—901.
7. Lange J. E. Flora Agaricina Danica. Copenhagen: 1930.
8. Гарибова Л. В., Сафрай А. И. Оценка некоторых таксономических признаков видов рода *Agaricus* Fr. emend. Karst.—Микол. и фитопатол., 1972, т. 6, № 5, с. 440—443.
9. Гарибова Л. В., Мокеева В. Л. О различных методах и последовательности их применения в систематике (на примере рода *Agaricus*).—Микол. и фитопатол., 1974, т. 8, № 6, с. 533—536.
10. Singer R. Keys for the determination of the Agaricales.—Nova Hedwigia, 1962, v. 5.
11. Pegler D. N., Young T. W. K. Basidiospore morphology in the Agaricales. Cramer: 1971, 210 p.
12. Olivier M. Micromorphologie des spores et capitilliums des Gasteromycetes des station xértiques de la region de Genève étudiée au microscope électronique a balayage (SEM).—Candollea, 1982, v. 37, № 1, p. 63—99.
13. Ingold C. T. A. view of the basidium.—Bull. Br. Mycol. Soc., 1983, v. 17, № 2, p. 82—94.
14. Liu B., Liu Y-H. Scanning electron microscopy of basidiospores of *Battarraea stevenii*.—Mycologia, 1983, v. 75, № 5, p. 904—905.
15. Varga E., Farkas Z. Eszakt-Bakony néhány nagyomba fajanak elektron mikroszkópos spórávizsgálata.—Mykol. Közl., 1981, № 3, p. 113—131.
16. Гарибова Л. В., Бадалян С. М., Дараков О. Б. Изучение плодовых тел *Nematoloma fasciculare* (Huds.: Fr.) Karst. с помощью растрового электронного микроскопа.—Микол. и фитопатол. 1986 (в печати).
17. Дараков О. Б. Плодообразование культивируемого шампиньона, *Agaricus bisporus* (Lange)Imbach.—Дисс... канд. биол. наук. М.: 1984, 24 с.
18. Grand L. F., Moore R. T. Ultracytotaxonomy of Basidiomycetes. I. Scanning electron microscopy of spores.—J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 1970, v. 86, p. 106—117.
19. Pegler D. N. Young K. W. T. A natural arrangement of the Boletales, with reference to spore morphology.—Trans. Brit. Mycol. Soc., 1981, v. 76, № 1, p. 103—146.

20. Howard B. E. Spore ornamentation in the Tricholomataceae.—Mycologia, 1981, v. 73, № 1, p. 128—140.
21. Гарибова Л. В., Бадалян С. М. Морфологокультуральные признаки мицелия чистых культур штаммов вида *Nematoloma fasciculare* (Huds.: Fr.) Karst.—Биологические науки (в печати).
22. Бухало А. С. Тез. докл. VII Всесоюзн. конф. по споров. растениям Средней Азии и Казахстана. Алма-Ата: 1984, с. 154.
23. Гарибова Л. В., Мелик-Хачатрян Дж. Г., Бадалян С. М., Дараков О. Б. Анаморфа в цикле развития агарикального гриба *Nematoloma fasciculare* (Huds.: Fr.) Karst.—Микол. и фитопатол., 1986 (в печати).
24. Бадалян С. М. Антифунгиальная активность мицелия некоторых штаммов. *Nematoloma fasciculare* (Huds.: Fr.) Karst. по отношению к микромицетам.—Биол. журн. Армении. 1986, т. 39, № 4.

Ս. Մ. ԲԱԴԱԼՅԱՆ

NEMATOLOMA FASCICULARE (HUDS.: FR.) KARST. ՏԵՍԱԿԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՏԱՔՍՈՆՈՄԻԿ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո մ

Գլխարկավոր սնկի՝ *N. fasciculare*-ի, in vivo և in vitro ուսումնասիրությունները թույլ տվեցին հայտնաբերել տարսոնոմիկ նշանակություն ունեցող հետևյալ շափանիչները. սպորների շափերը և ձևը, ստերիգմաներին սպորների ամրացման եղանակը, միցելիումի երեք մորֆոլոգիական տիպերը, հիֆերի բջիջների շափերը, անսեռ բազմացման առկայությունը արտրո-, բլաստո- և խլամիդոսպորների օգնությամբ, ազարի պիգմենտացիան, կուլտուրայում հիֆերի աճման գծային արագությունը և հզոր միցելիալ պարանների առաջացումը: