

6. Матвеева Р.Н., Буторова О.Ф. Использование отселектированных семян при создании быстрорастущих лесных культур // Современные проблемы создания молодых лесов в Среднем Поволжье. – Йошкар-Ола, 1999. – С. 107–109.
7. Матвеева Р.Н. Генетика, селекция, семеноводство кедра сибирского. – Красноярск: Изд-во СибГТУ, 2000. – 243 с.
8. Молчанов А.А., Смирнов В.В. Методика определения прироста древесных растений. – М.: Наука, 1967. – 27 с.
9. Некрасова Т.П. К методике изучения динамики плодоношения хвойных // Известия Вост. филиала АН СССР. – 1957. – № 6. – С. 138–145.
10. Попов П.П. Изменчивость и отбор деревьев кедра сибирского по семенной продуктивности // Лесн. хоз-во. – 1999. – № 6. – С. 27–28.
11. Попивций И.И., Яскин В.В. Опыт создания плантационных культур ели на генетико-селекционной основе в подзоне южной тайги // Современные методы выращивания древесных насаждений на селекционно-генетической основе. – М.: Изд-во МЛТИ, 1989. – С.31–35.
12. Самосудов А.Е., Ятманова Н.М., Малюта О.В. Влияние морфологических характеристик семян сосны на их приживаемость и рост в культурах // Экологические основы рационального лесопользования в Среднем Поволжье. – Йошкар-Ола, 2002. – С. 136–138.
13. Титов Е.В. Отбор многосемянных и крупносемянных форм кедра сибирского // Отбор и его использование в улучшении лесных пород. – Воронеж: Изд-во НИИЛГиС, 1994. – С.33–41.



УДК 579.67

Е.А. Мельникова, Ю.А. Литовка, П.В. Миронов

#### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *PLEUROTUS PULMONARIUS* В ПОВЕРХНОСТНОЙ И ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЕ

В статье представлены результаты изучения биологических особенностей *Pleurotus pulmonarius* и оценки перспективы его глубинного культивирования в биотехнологических целях.

**Ключевые слова:** базидиомицеты, глубинное культивирование, мицелий, вешенка легочная.

E.A. Melnikova, Yu.A. Litovka, P.V. Mironov

#### MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE BASIDIOMYCETE FUNGI *PLEUROTUS PULMONARIUS* IN SURFACE AND SUBSURFACE CULTURE

The research results of the *Pleurotus pulmonarius* biological peculiarities and the prospect assessment of its subsurface cultivation for the biotechnological purposes are presented in the article.

**Key words:** basidiomycetes, subsurface cultivation, mycelium, oyster mushroom pulmonary (*Pleurotus pulmonarius*).

---

**Введение.** В настоящее время вопрос о возможности искусственного выращивания высших съедобных грибов становится все более актуальным. Исследования, проводимые в данной области, свидетельствуют, что многие виды макромицетов являются перспективными продуцентами пищевого белка и биологически активных веществ. Культивирование базидиомицетов, как правило, осуществляется твердофазным способом на грибоводческих фабриках, однако данный метод является не только энерго- и трудоемким, но и продолжительным по времени. Альтернативой, позволяющей решить проблемы твердофазного культивирования базидиальных грибов для получения качественного и безопасного грибного продукта, а также сырья для фармакологической промышленности, является глубинное культивирование продуцентов.

Среди множества групп базидиомицетов наиболее перспективными для глубинного культивирования считаются дереворазрушающие грибы, которые характеризуются быстрым накоплением биомассы и не требуют сложных питательных сред. Представителем этой группы грибов является лигнотрофный сапрофит *Pleurotus pulmonarius* (вешенка легочная), глубинная биомасса и плодовые тела которого обладают не только ценными пищевыми качествами, но и лечебными свойствами [1, 5, 7].

Для успешного проведения глубинного и поверхностного культивирования необходим строгий контроль морфологических признаков продуцента [6] и состава получаемого продукта на всех технологических стадиях. В связи с чем **целью данной работы** являлось комплексное изучение макро- и микроморфологических особенностей штамма *Pleurotus pulmonarius* *in vitro* на поверхностном и глубинном культивировании.

**Объекты и методы исследования.** Объектом настоящего исследования являлся штамм PP-3.2 базидиального гриба *Pleurotus pulmonarius*, чистая культура которого была выделена из коммерческих плодовых тел. Систематическое положение: класс *Basidiomycetes*; подкласс *Holobasidiomycetidae*; порядок *Agaricales*; семейство *Tricholomataceae*; род *Pleurotus*; вид *Pleurotus pulmonarius* [2].

Для изучения особенностей роста в различных биотехнологических системах и определения макро- и микроморфологических признаков *Pleurotus pulmonarius* проводили культивирование штамма в поверхностных и глубинных условиях. Поверхностное культивирование осуществляли на суловом агаре в чашке Петри при температуре 26±1°C в течение 7 суток. С целью стандартизации посевов в качестве посевного материала для поверхностного культивирования использовали агаровые блоки воздушного мицелия, вырезанные пробойным сверлом диаметром 8 мм из краевой зоны роста семисуточной культуры, выращенной на чашке Петри.

Глубинное культивирование проводили в стационарном лабораторном биореакторе CeCa (Gallenkamp controlled environment culture apparatus Cx650, made in England BY) в течение 96 часов при температуре 26±1°C, значении pH 5,0 и непрерывном перемешивании путем барботирования стерильным воздухом (расход воздуха 100 л/ч на 1л среды). Среду предварительно стерилизовали в автоклаве в течение 30 мин при 0,5 кгс/см<sup>2</sup>. В качестве питательной среды для глубинного культивирования использовали крахмало-аммонийную среду с содержанием крахмала 2% [4].

Посевным материалом служила глубинная культура *Pleurotus pulmonarius*, выращенная на лабораторном шейкере в колбах объемом 250 мл; количество вносимого инокулята составило 5 % от расчетного выхода абсолютно сухой биомассы. Выход биомассы определяли гравиметрическим методом. Полученный мицелий использовали для определения химического состава и содержания в нем биологически активных веществ.

Глубинную мицелиальную массу применяли также в качестве посевного инокулюма для твердофазного культивирования с целью получения плодовых тел *Pleurotus pulmonarius*. Ростовым субстратом служила солома, предварительно измельченная и простерилизованная в автоклаве в течение 1 ч при 0,5 кгс/см<sup>2</sup>. Засев подготовленных субстратных блоков проводили в стерильных условиях, после чего осуществляли инкубирование при постоянной температуре 25±1°C и влажности воздуха 60–65% до полного обрастания субстрата мицелием. Продолжительность инкубации зависела от нормы внесения посевного материала. После полной колонизации субстрата «белые блоки» помещали в помещение с температурой 18–20 °C для формирования плодовых тел.

Выделение чистой культуры, получение спорового отпечатка и спор проводили с использованием общепринятых микологических методов [4, 6, 8]. Микроморфологические особенности изучали с помощью светового микроскопа Olympus SZX 41, а также с помощью электронно-растровой микроскопии (РЭМ-100У). Компьютерные изображения, полученные в процессе исследования, фиксировали с помощью цифровых камер Nikon PIX 4500 и Canon Power Shot A650IS.

**Результаты и их обсуждение.** Для точного определения систематической принадлежности исследуемого штамма базидиомицета необходимо совпадение морфологических признаков, присущих изучаемому плодovому телу или глубинному мицелию, с аналогичными признаками, описанными в литературе [2–5].

Плодовое тело *Pleurotus pulmonarius* состоит из шляпки и ножки. Шляпка неправильной полукруглой формы, у зрелого гриба приобретает ухообразную форму. Поверхность шляпки сухая, гладкая, окраска – белокремовая (рис.1, а). На нижней стороне шляпки находится гименофор пластинчатого строения. Пластинки редкие, толстые, белого цвета, нисходящие на ножку гриба. Тип пластинок: по строению края гименофора – гладкий; по

взаиморасположению на гименофоре – разветвленный, с различной длиной пластинок (рис. 1,б). Ножка боковая, эксцентрическая, цилиндрическая, сужающаяся к низу, короткая, белая, плотная (см. рис. 1, а).



СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*

а

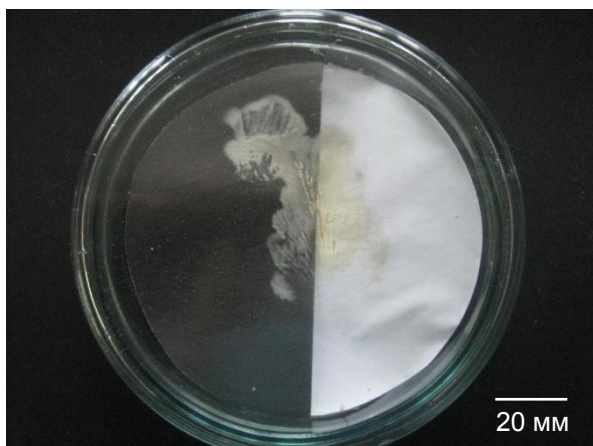


СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*

б

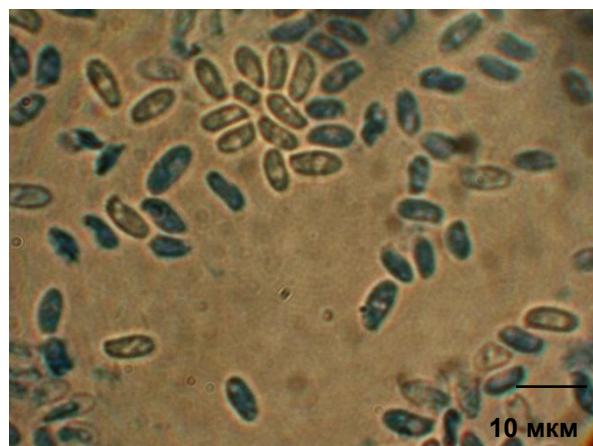
Рис. 1. Плодовое тело *Pleurotus pulmonarius*, полученное путем твердофазного культивирования на растительном субстрате в лабораторных условиях

Кроме строения плодового тела, служащего абсолютно надежным критерием для видовой идентификации гриба, важными диагностическими признаками являются строение, окраска и размер базидиоспор. С этой целью из сформировавшегося и высушенного плодового тела вешенки легочной в чашке Петри на контрастном черно-белом фоне был получен споровый отпечаток беловатого цвета (рис. 2, а). При дальнейшем микроскопическом исследовании было установлено, что поверхность спор гладкая, форма удлинено-яйцевидная, цвет белый, размер  $7(9) \times (3)4$  мкм, что сопоставимо с литературными данными [5] (рис. 2, б).



СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*

а



СибГТУ\*OlimpusCX41\*

б

Рис. 2. Макро- и микроморфологические особенности спорового материала *Pleurotus pulmonarius*: а – споровый отпечаток; б – споры

Для изучения макроморфологических особенностей чистую культуру *Pleurotus pulmonarius*, выделенную из плодового тела, выращивали на агаризованной среде в чашке Петри (рис. 3). В ходе радиального роста штамм сформировал колонию, характеризующуюся следующими признаками: форма округлая, цвет мато-

во-белый, край ворсинчатый, профиль плоский, структура волокнистая, мицелий пушистый, с трудом отделяемый от субстрата, на поверхности колонии четко выражены радиальные кольца. Воздушный мицелий изучаемого штамма представляет собой систему разветвленных септированных гиф, на которых присутствуют одиночные пряжки, что является одним из отличительных признаков базидиальных грибов (рис. 4).



СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*

Рис. 3. Морфология штамма *Pleurotus pulmonarius* при культивировании на сушлом агаре

На рисунке 4 приведены фотографии, отражающие микроморфологические особенности воздушного мицелия изучаемого штамма *Pleurotus pulmonarius*.

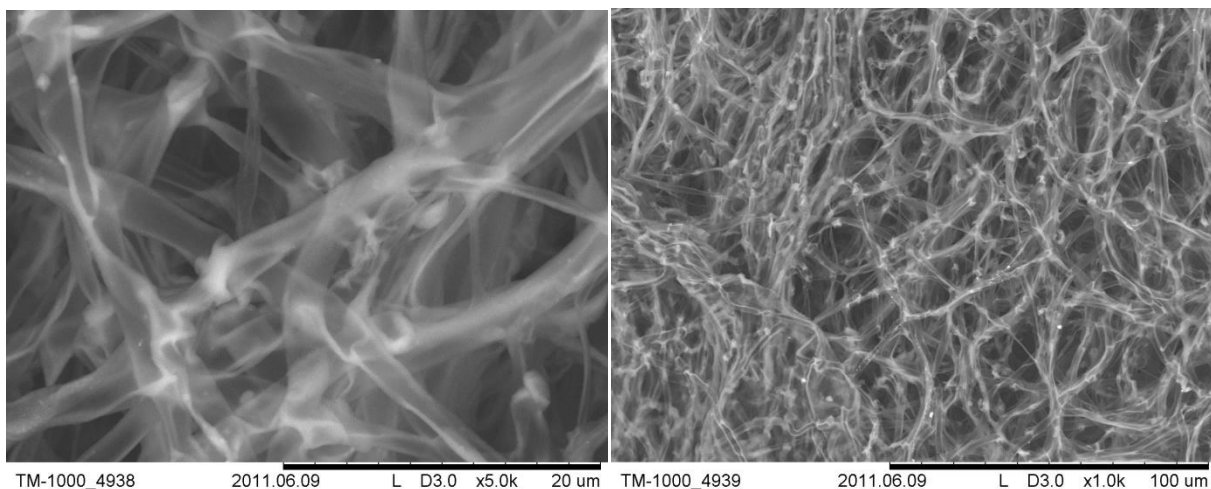
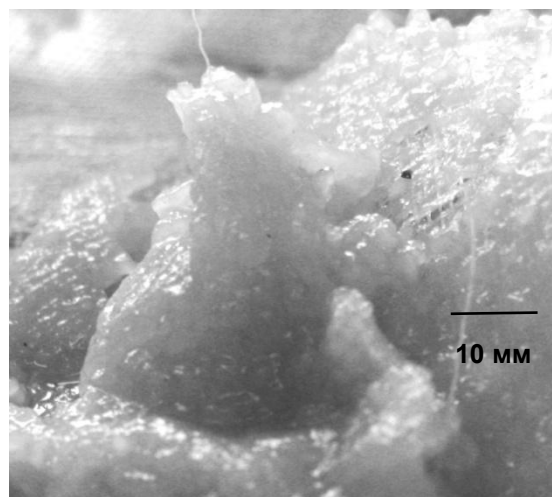


Рис. 4. Микроморфологические особенности воздушного мицелия штамма *Pleurotus pulmonarius*

Культуру, выращенную поверхностным способом, в дальнейшем использовали в качестве посевного материала для глубинного культивирования с предварительной стадией получения инокулята в колбах объемом 250 мл. В результате культивирования была получена биомасса молочно-белого цвета, состоящая из скопления многочисленных структур округлой формы, формирование которых зависело от степени и интенсивности перемешивания. Так, при мягком перемешивании путем барботирования образовывались сферические элементы с бахромчатым краем и плотным центром (рис. 5, а); при дополнительном механическом перемешивании отфильтрованная биомасса состояла из сферических элементов с гладкой поверхностью и плотным центром (рис. 5, б).



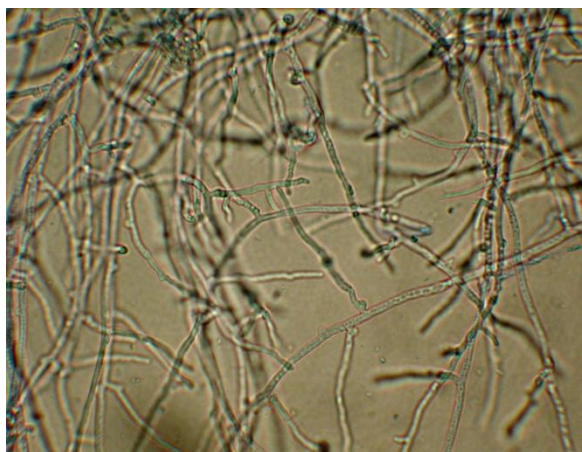
СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*  
а



СибГТУ\*Canon Power Shot A650IS\*  
б

Рис. 5. Морфологические особенности *Pleurotus pulmonarius* при глубинном культивировании: а – с использованием барботирования; б – с использованием дополнительного механического перемешивания

Мицелий *Pleurotus pulmonarius*, полученный методом глубинного культивирования, характеризуется следующими микроморфологическими особенностями: гифы толщиной 3,0–5,0 мкм, бесцветные, разветвленные, септированные, с многочисленными одиночными пряжками (рис. 6).



100 мкм

СибГТУ\*OlimpusCX41\*

Рис.6. Микроморфологические особенности мицелия *Pleurotus pulmonarius* при глубинном культивировании

Биомассу, полученную методом глубинного культивирования, далее применяли в качестве посевного материала для получения плодовых тел на растительном субстрате. Сформировавшиеся плодовые тела, характерные для *Pleurotus pulmonarius* (см. рис.1), подтверждают систематическую принадлежность исследуемого базидиомицета.

Таким образом, были исследованы макро- и микроморфологические особенности плодовых тел, спор и мицелия штамма *Pleurotus pulmonarius* в различных биотехнологических системах. Показано, что воздушный и глубинный мицелий имеют разветвленное гифальное строение; гифы септированы с одиночными пряжками. Мицелий, полученный методом глубинного культивирования, может быть использован как посевной материал для получения плодовых тел *Pleurotus pulmonarius* путем твердофазной ферментации растительных субстратов.

## Литература

1. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие./ Н.А. Заикина, А.Е. Коваленко, В.А. Галынкин [и др.]. – СПб.: Проспект науки, 2007. – 336 с.
2. Жизнь растений: в 6 т. Т.2. Грибы / под. ред. проф. М.В. Горленко. – М.: Просвещение, 1976. – 479 с.
3. Кутафьева Н.П. Морфология грибов: учеб. пособие. – 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2003. – 215 с.
4. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук [и др.]. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
5. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубоководной культуре/ Н.А. Бисько, А.С. Бухало, С.П. Вассер [и др.]; под общ. ред. И.А. Дудки. – Киев: Наук. думка, 1983. – 312 с.
6. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наук. думка, 1973. – 545 с.
7. Экспертиза грибов: учеб.-справ. пособие / И.Э. Цапалова, В.И. Бакайтис, Н.П. Кутафьева [и др.]. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2002. – 256 с.
8. Методы экспериментальной микологии: справ. / отв. ред. В.И. Билай; Академия наук Украинской ССР, Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного. – Киев: Наук. думка, 1982. – 550 с.



УДК 581.34:582.475.2

Н.Е. Носкова, Л.И. Романова

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МУЖСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ  
У ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ И СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ  
КЛИМАТА В СИБИРИ**

*В статье рассмотрено влияние температуры воздуха на состояние мужских генеративных органов лиственницы сибирской и сосны обыкновенной в осенне-зимний период. В ходе исследований установлено смещение сроков развития мужских генеративных органов у данных видов хвойных в аномальные годы с продолжительной и теплой осенью в г. Красноярске и его окрестностях, что ведет к формированию стерильной пыльцы и снижению продуктивности шишек и семян.*

**Ключевые слова:** лиственница сибирская, сосна обыкновенная, климатические изменения, микро-спорогенез, микро-спороциты, мейотические деления, генеративные органы.

N.E. Noskova, L.I. Romanova

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF THE MALE GENERATIVE ORGANS OF SIBERIAN  
LARCH AND SCOTCH PINE IN THE CONDITIONS OF CLIMATE CHANGE IN SIBERIA**

*The influence of air temperature on the male generative organ state of Siberian larch and Scotch pine in the autumn-winter period is considered in the article. In the course of these studies the time offset of the male generative organ development of these conifer types in abnormal years with long and warm autumn in Krasnoyarsk city and its surroundings that leads to the sterile pollen formation and cone and seed productivity decrease is determined.*

**Key words:** Siberian larch, Scotch pine, climate change, micro-sporogenesis, micro-sporocytes, meiotic division, generative organs.

**Введение.** Глобальное потепление сопровождается постепенным изменением климата в разных регионах Земли [6]. Установлено, что климат территории России наиболее чувствителен к глобальному потеплению, чем климат других регионов земного шара [3]. При этом в Сибири часто наблюдается раннее наступление весны, на протяжении ряда лет стабильно прослеживается задержка наступления зимы на 1–2 недели, а в отдельные годы и на более продолжительный период [2].