

М. О. Зикова, член-кореспондент НАН України І. О. Дудка

Морфологія спор представників оперкулятних дискосміцетів із Західного Полісся (Україна)

Аскоспори 9 видів оперкулятних дискосміцетів з родів *Gyromitra*, *Hudnotrya* (родина *Discinaceae*), *Peziza*, *Plicaria* (родина *Pezizaceae*), *Aleuria*, *Otidea*, *Anthracobia*, *Neottiella* (родина *Pyronemataceae*) були досліджені під сканувальним електронним мікроскопом. Поверхнева орнаментация аскоспор досліджених видів була визначена як хвилясті рівномірно розділені випинання або видовжені, нерівномірно розташовані гребені (родина *Discinaceae*), зрізано-шипувата або розсіяно-бородавчаста (родина *Pezizaceae*), гребенеподібна сітчаста, злегка зім'ята або бородавчаста (родина *Pyronemataceae*). Показано, що структура поверхні аскоспор може бути використана для розмежування видів оперкулятних дискосміцетів, приналежних до одного роду і подібних між собою за макроморфологічними ознаками (*Peziza echinospora* і *P. violacea*, *Neottiella vivida* і *N. rutilans*).

Традиційна таксономія і класифікація грибів базуються на морфологічних ознаках різних структур, серед яких важливе значення має будова спор. Не є винятком і дискосміцети — сумчасті гриби (відділ *Ascomycota*), для яких характерне ендогенне закладання спор у сумках. Дискосміцети нараховують близько 5000 видів у світовій мікобіоті і близько 2000 видів у мікобіоті Європи [1]. В Україні зараз відомо близько 150 видів оперкулятних дискосміцетів [2, 3]. Згідно із сучасними даними, дискосміцети не є окремим таксоном: під цією назвою об'єднані декілька еволюційно незалежних груп, яким властиве утворення дископодібних, блюдцеподібних або чащоподібних плодових тіл (аском) [4, 5]. Аскоми складаються з кількох шарів: гіменія — де розміщені аски (сумки), в яких утворюються спори, а також стерильні елементи — парфізи; субгіменія — шару клітин, що дають початок сумкам та парафізам; ексципула — м'ясистого шару аскоми. Через специфічну форму плодових тіл, аскоми дискосміцетів, вони мають назву апотеціїв. Плодові тіла деяких видів дискосміцетів розділені на шапинку і ніжку. Відповідно до способу відкривання сумки дискосміцети поділяються на дві групи: іноперкулятні, у яких звільнення спор відбувається при розриві (розтріскуванні) стінок сумки в будь-якому місці, та оперкулятні, у яких сумка відкривається кришечкою на верхівці з утворенням отвору для виходу спор [1, 6–8].

Представники оперкулятних дискосміцетів характеризуються значною мінливістю макрота і мікроморфологічних структур, що ускладнює вирішення проблем систематики та філогенії групи і потребує пошуку додаткових діагностичних ознак. Однією з таких ознак є тонка морфологія спор окремих видів оперкулятних дискосміцетів.

Відомості про морфологічні особливості оперкулятних дискосміцетів численні [6, 7, 9], проте узагальнені характеристики спор окремих представників цієї групи грибів ґрунтуються здебільшого на результатах їх світлової мікроскопії [10, 11]. Використання методів світлової мікроскопії в переважній більшості випадків унеможливило виявлення тонкої орнаментации спор дискосміцетів, що є важливою діагностичною ознакою на рівні видових, а інколи і родових таксонів. Особливості морфології цих мікроструктур допомагає виявити метод сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ). Спеціальному вивченню морфології

спор оперкулятних дискоміцетів з використанням СЕМ присвячені роботи різних дослідників [12–14].

Метою нашого дослідження було вивчення тонкої морфології поверхні спор деяких видів оперкулятних дискоміцетів для з'ясування таксономічної значущості будови оболонки спор цих грибів.

Для дослідження вибрані представники трьох родин оперкулятних дискоміцетів — Discinaceae, Pezizaceae, Pyrenomataceae — порядку Pezizales класу Pezizomycetes відділу Ascomycota, зразки яких були зібрані в різних екотопах лісових фітоценозів Західного Полісся України.

Як об'єкти дослідження були визначені: типовий гумусовий сапротроф *Gyromitra infula* (Schaeff.) Quél. та гіпогейний з підземними аскомами сапротроф *Hydnотrya tulasnei* (Berk.) Berk. & Broome (родина Discinaceae); пірофільні (такі, що розвиваються на місці вогнищ) сапротрофи *Peziza echinospora* P. Karst., *Peziza violacea* Pers. та *Plicaria endocarpoides* (Berk.) Rifai (родина Pezizaceae) та *Anthracobia maurilabra* (Cooke) Boud. (родина Pyrenomataceae); ґрунтові сапротрофи *Aleuria aurantia* (Pers.: Fr.) Fuckel та *Otidea mirabilis* Bolognini & Jamoni та бріюфільний сапротроф *Neottiella vivida* (Nyl.) Dennis (родина Pyrenomataceae).

Дослідження тонкої морфології спор зазначених видів оперкулятних дискоміцетів проводились під сканувальним електронним мікроскопом Jeol JSM-35C (Японія) в лабораторії електронної мікроскопії Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України. Препарати готували таким чином: на металічні столики циліндричної форми ($d = 1$ см, $h = 1$ см) з гладенькою поверхнею наносили клейку речовину (двосторонній скотч), на яку вміщували тонкий зріз апотеція, розправляючи його препарувальною голкою для забезпечення виходу спор з асків. Після цього препарати напилювали тонким шаром золота у вакуумі. В процесі вивчення препаратів робили цифрові фотографії їх спор. Описи поверхневої структури спор здійснювали з використанням загальноприйнятої термінології.

Досліджені зразки за мікроморфологією поверхневої оболонки спор умовно розділили на дві групи: ті, поверхнева структура яких під сканувальним мікроскопом не відрізняється від їх структури під світловим мікроскопом, і ті, що мають чіткі відміни. До першої групи ввійшов лише один представник *Anthracobia maurilabra* (Pyrenomataceae), що має гладенькі спори (рис. 1, а).

У представників родини Discinaceae методом СЕМ виявлені деякі особливості скульптури спор, що недостатньо виразні при світловій мікроскопії. Орнаментация спор *Gyromitra infula* в діагнозах, які базуються на даних світлової мікроскопії, взагалі не спостерігається. Результати СЕМ показали, що оболонка спор цього виду має хвилеподібні нерівності, які розташовані рівномірно по всій поверхні витягнуто-еліпсоїдальної спори (рис. 2, а). У *Hydnотrya tulasnei*, згідно з даними світлової мікроскопії, спори неправильно округлої форми з нерівними краями. Електроннограма виявила характер нерівностей, що мають вигляд видовжених, помітно виступаючих гребенів, хаотично розміщених по всій поверхні спори (див. рис. 2, б).

Серед досліджених представників родини Pezizaceae (*Peziza echinospora*, *P. violacea* та *Plicaria endocarpoides*) найбільш характерна архітектура поверхні спор виявлена методом СЕМ у *Plicaria endocarpoides*. Кулясті спори цього виду вкриті великими, чітко виокремленими один від одного шипиками, з пласкою вершиною (рис. 3, а). Електроннограми оболонок спор двох інших представників родини Pezizaceae також показали їх специфічну орнаментацию. Еліпсоїдальні спори *P. echinospora* вкриті численними бородавчастими виростами, що розташовані хаотично, недозрілі спори мають орнаментацию у вигляді широ-

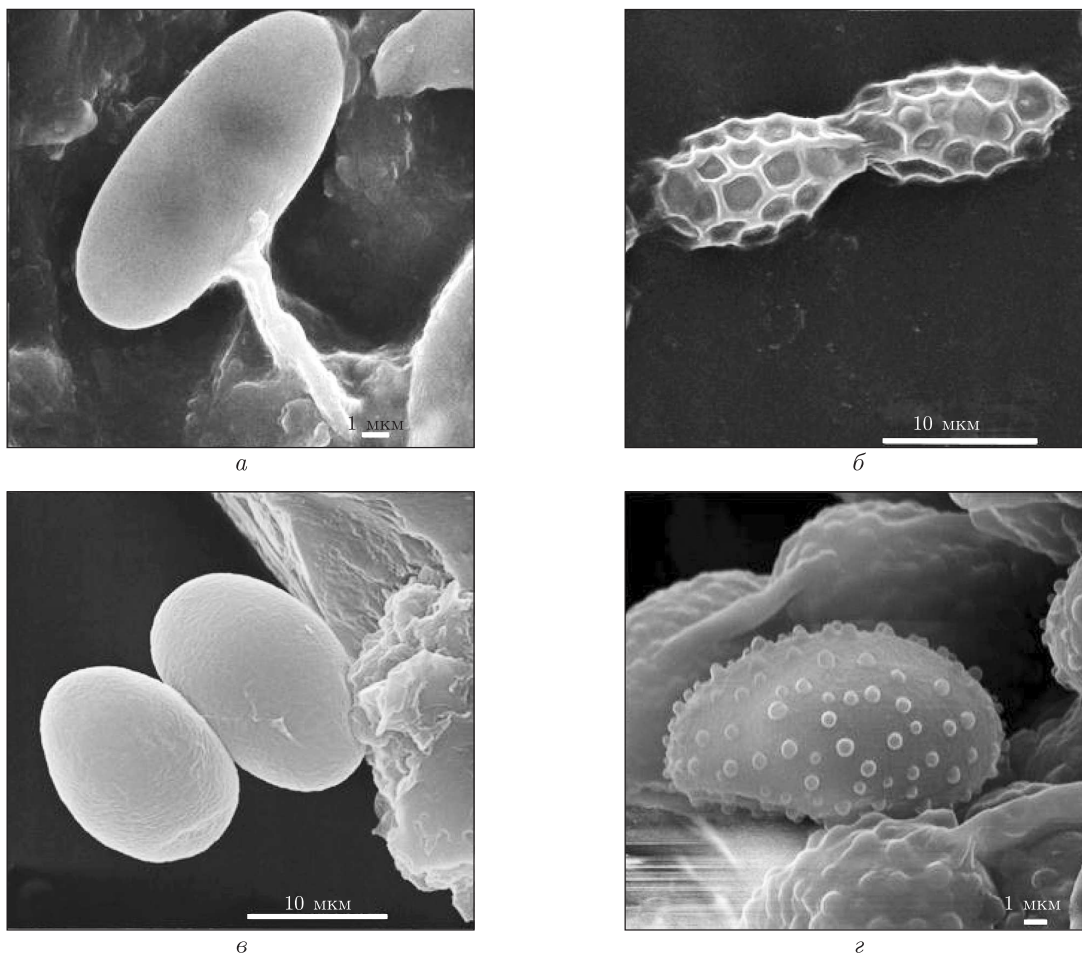


Рис. 1. Поверхнева структура та форма спор представників родини Ругонематацеає: *Anthracobia maurilabra* (а), *Aleuria aurantia* (б), *Otidea mirabilis* (в) та *Neottiella vivida* (г)

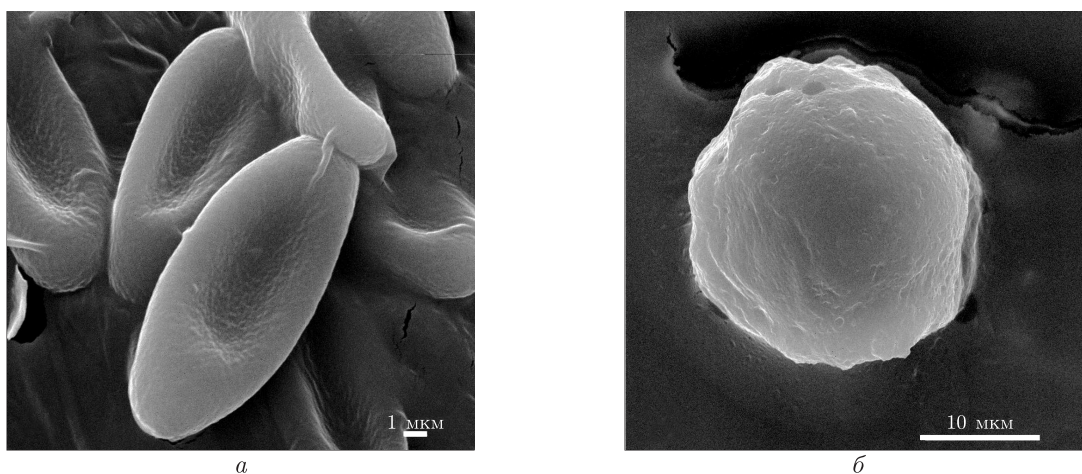


Рис. 2. Поверхнева структура та форма спор представників родини Дісцинатеає: *Gyromitra infula* (а) та *Hydnotrya tulasnei* (б)

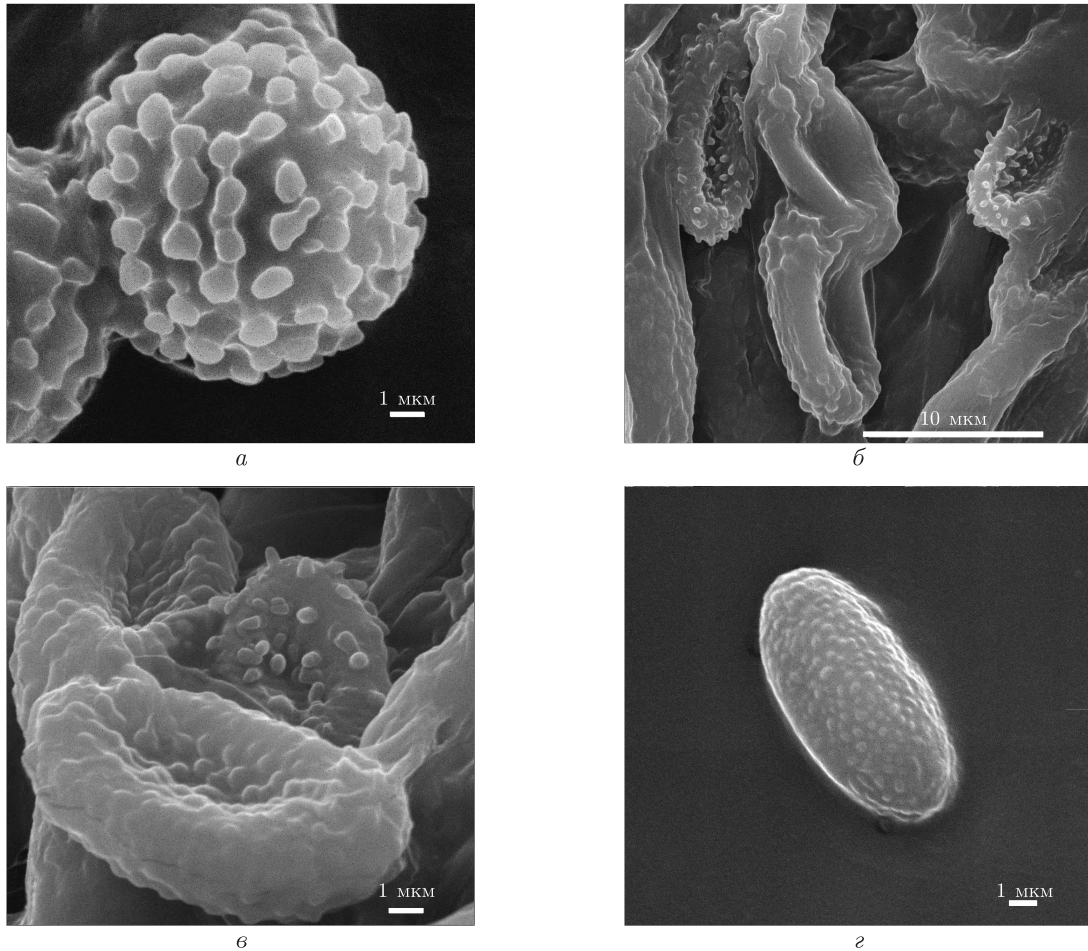


Рис. 3. Поверхнева структура та форма спор представників родини Pezizaceae: *Plicaria endocarpoides* (а), *Peziza echinospora* (б, в) та *Peziza violacea* (г)

ких округлих бородавочок на оболонці (див. рис. 3, б). При виготовленні препарату для СЕМ, а також при подальшій роботі з ним спори дискосміцетів зазнають змін у своїй будові, зокрема часто утворюється велика западина в середині спори, що пов'язано з меншою щільністю оболонок у цих місцях (див. рис. 3, в). Особливо помітний такий однобічний колапс спор при використанні сухого гербарного матеріалу [15]. Такі зміни в будові оболонки *P. echinospora* спостерігаються також при дослідженні зразків під світловим мікроскопом. Оболонка витягнуто-еліпсоїдальних спор *P. violacea* хаотично вкрита численними дрібними округлими виростами, що за формою нагадують невисокі, але широкі бородавочки (див. рис. 3, г).

Найбільш оригінальною орнаментациєю спор на електроннограмах характеризуються деякі представники родини Ругонематацеае. Спори *Aleuria aurantia* мають чітко виражену гребінчасто-сітчасту структуру, утворену багатокутними комірками, що оточені масивним валиком (гребенем) (див. рис. 1, б). Під світловим мікроскопом орнаментация спор даного виду простежується, але має вигляд ледь помітної сітки на оболонці. Широкоеліпсоїдальні спори *Otidea mirabilis* мають злегка складчасту структуру (див. рис. 1, в). Новий для України вид бріофільного дискосміцета *Neottiella vivida* за макроморфологічними ознака-

ми подібний до *N. rutilans* (Fr.) Dennis, який неодноразово знаходили в різних регіонах України. Суттєва відмінність між цими видами, яка полягає в тому, що у *N. vivida* спори бородавчасті, у *N. rutilans* — сітчасті, виявляється за допомогою СЕМ. На електроннограмах добре помітно, що бородавочки на поверхні спор *N. vivida* розташовані більш або менш рівномірно, на певній відстані одна від одної (див. рис. 1, з). За даними літератури, для спор *N. rutilans* характерна сітчаста орнаментация [5, 9].

Отримані дані свідчать про велику різноманітність тонкої структури поверхні спор не тільки в межах однієї родини, а навіть в межах одного роду. Дослідження методом СЕМ виявили істотні відміни скульптури оболонки спор у *Peziza echinospora* і *P. violacea*, *Neotitiella vivida* і *N. rutilans*, що дає підстави вважати орнаментацию поверхні спор важливою діагностичною ознакою, яка дозволяє диференціювати таксони оперкулятних дискоміцетів на рівні виду і є особливо цінною у випадку дискусійних видів, близьких за іншими морфологічними ознаками. Вивчення особливостей зовнішньої архітектури спор дискоміцетів методом СЕМ дає змогу визначити характеристики додаткових ознак видового рівня, які неможливо виявити за допомогою світлової мікроскопії.

1. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. – 10th ed. / Ed. P. M. Kirk et al. – Wallingford (UK): CAB International, 2008. – 485 p.
2. *Смицкая М. Ф.* Флора грибов Украины. Оперкулятные дискомицеты. – Киев: Наук. думка, 1980. – 222 с.
3. *Fungi of Ukraine: A preliminary Checklist* / Ed. by D. W. Minter, I. O. Dudka. – Egham: CAB International; Kiev: M. G. Kholodny Institute of Botany, 1996. – 361 p.
4. *Hibbet D. S., Binder M., Bischoff J. F. et al.* A higher-level phylogenetic classification of the Fungi // *Mycol. Res.* – 2007. – **111**. – P. 509–547.
5. *Hansen K., Læssøe T., Pfister D. H.* Phylogenetic diversity in the core group of *Peziza* inferred from ITS sequences and morphology // *Mycol. Res.* – 2002. – **106**. – P. 879–902.
6. *Dennis R. W. G.* *British Ascomycetes*. – 2nd edition. – Vaduz: J. Cramer, 1978. – 485 p.
7. *Nordic Macromycetes. Vol. 1. Ascomycetes* / Ed. L. Hansen, H. Knudsen. – Copenhagen: Nordsvamp, 2000. – 308 p.
8. *Korf R. P.* Synoptic key to the genera of the Pezizales // *Mycologia*. – 1972. – **64**. – P. 937–994.
9. *Fungi of Switzerland. Vol. 1. Ascomycetes* / Ed. J. Breitenbach, F. Kranzlin. – Luzern: Mycologia, 1984. – 310 p.
10. *Le Gal M.* Recherches sur les ornements sporales des Discomycètes operculés // *Ann. Sci. nat. (Bot.)* XI. – 1947. – **8**. – P. 73–297.
11. *Seaver F. J.* Photographs and descriptions of cup-fungi – XXVII. *Pezicula* on *Cornus* // *Mycologia*. – 1937. – **29**. – P. 334–337.
12. *Berthet P.* Les ornements sporales meconnues de cinq especes de Discomycetes opercules // *Bull. mens. Soc. linn. Lyon*. – 1970. – **39**. – P. 203–205.
13. *Harmaja H.* Amendments of the limits of the genera *Gyromitra* and *Pseudorhizina*, with the description of a new species, *Gyromitra Montana* // *Karstenia*. – 1973. – **13**. – P. 48–58.
14. *Schumacher T.* The genus *Scutellinia* (*Pyronemataceae*) // *Opera Bot.* – 1990. – **101**. – P. 5–105.
15. *Baral H. O.* Vital versus herbarium taxonomy: morphological differences between living and dead cells of Ascomycetes, and their taxonomic implications // *Mycotaxon*. – 1992. – **44**. – P. 333–390.

М. А. Зыкова, член-корреспондент НАН Украины И. А. Дудка

Морфология спор представителей оперкулятных дискомицетов из Западного Полесья (Украина)

Аскоспоры 9 видов оперкулятных дискомицетов из родов *Gyromitra*, *Hydnotrya* (семейство *Discinaceae*), *Peziza*, *Plicaria* (семейство *Pezizaceae*), *Aleuria*, *Otidea*, *Anthracobia*, *Neottiella* (семейство *Pyronemataceae*) были исследованы под сканирующим электронным микроскопом. Поверхностная орнаментация аскоспор исследованных видов была идентифицирована как волнистые равномерно распределенные выпячивания или удлиненные неравномерно расположенные гребни (семейство *Discinaceae*), усеченно-шиповатая или рассеянно-бородавчатая (семейство *Pezizaceae*), гребневидно-сетчатая, слегка смятая или бородавчатая (семейство *Pyronemataceae*). Показано, что структура поверхности оболочки аскоспор может быть использована для дифференциации видов оперкулятных дискомицетов, принадлежащих к одному роду и сходных между собой на основе макроморфологических признаков (*Peziza echinospora* и *P. violacea*, *Neottiella vivida* и *N. rutilans*).

М. О. Zykova, Corresponding Member of the NAS of Ukraine I. O. Dudka

Spore morphology of operculate discomycetes from the Western Polissya (Ukraine)

Ascospores of 9 operculate discomycetous species from the genera *Gyromitra*, *Hydnotrya* (family *Discinaceae*); *Peziza*, *Plicaria* (family *Pezizaceae*), *Aleuria*, *Otidea*, *Anthracobia*, *Neottiella* (family *Pyronemataceae*) are studied using a scanning electron microscope (SEM). The undulating evenly distributed projections or elongated unequally distributed ridges (family *Discinaceae*), truncately spinulate or dispersly warted (family *Pezizaceae*), cristulo-reticulate, slightly folded or warted (family *Pyronemataceae*) superficial ornamentation are identified for operculate discomycetous ascospores investigated under SEM. It is shown that the surface structure of an ascospore wall may be used for the differentiation of operculate discomycetous species belonging to the same genus and similar to each other on the base of macromorphological characters (*Peziza echinospora* and *P. violacea*, *Neottiella vivida* and *N. rutilans*).