

О.Б. МИХАЙЛОВА, А.С. БУХАЛО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
Вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна  
buchalo\_acja@ukr.net

## ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ *MORCHELLACEAE* (ASCOMYCETES) У ЧИСТІЙ КУЛЬТУРІ

---

*Ключові слова:* *Morchella*, *Disciotis*, Верпа, чисті культури, ріст колоній, температура інкубації, ензиматичні тести, джерела вуглецевого та азотного живлення, кислотність середовища

Вирощування у штучних умовах макроміцетів, зокрема представників родини *Morchellaceae*, потребує вивчення таких фізіологічних особливостей цих грибів, як відношення до факторів зовнішнього середовища, котрі регулюють ріст і утворення продуктів метаболізму. Дослідження живильних потреб культур грибів та вимог до кислотності середовища дає змогу з'ясувати фізіологічні особливості окремих видів та штамів, а також використовувати отримані результати для підбору та оптимізації живильних середовищ з метою промислового культивування грибів [1, 3, 7].

Сумчасті шапінкові макроміцети, до яких належать представники *Morchellaceae*, суттєво відрізняються від вищих базидіальних грибів, котрі переважно є об'єктами сучасних біотехнологій, — за специфікою життєвого циклу, екологічними потребами, морфологією плодових тіл, міцелію, фізіологічними властивостями [6, 8, 14]. Види роду *Morchella* культивували на рідких середовищах з метою одержання міцелію як джерела білка. Ці спроби підтвердили можливість використання сухого порошку міцелію *Morchellaceae* як харчового делікатесного додатку до м'ясних страв. У США міцелій грибів роду *Morchella* одержують на живильних середовищах з використанням різних відходів харчової та паперової промисловостей [9, 10]. Проте і досі залишаються недостатньо дослідженими важливі аспекти фізіології представників родини, що перешкоджає створенню ефективних технологій їх культивування як для одержання плодових тіл, так і міцелію [13].

Метою наших досліджень, результати яких викладено в цій статті, було встановлення впливу температури, компонентів рідкого живильного середовища (джерел вуглецевого та азотного живлення) та рН середовища на ріст і морфологію культур 10 видів *Morchellaceae*, визначення за допомогою якісних кольорових тестів наявності ензимів різних класів. Ми також мали відібрати штамми, перспективні для подальших біотехнологічних досліджень.

© О.Б. МИХАЙЛОВА, А.С. БУХАЛО, 2006

## Матеріали і методи досліджень

Ми дослідили культури 10 видів (26 штамів) *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, 1738, 1739; *M. crassipes* (Vent.) Pers., шт. 1834; 1851; *M. Esculenta* (L.) Pers., шт. 1744, 1746, 1747, 1749, 1750, 1753, 1755, 1805, 1820, 1843; 1844; *M. semilibera* D.C. (= *Mitrospora semilibera* (DC) Lév.), шт. 1740; 1846; *M. spongiosa* Fr., шт. 1837, 1838; 1850; *M. steppicola* Zerova, шт. 1849; *Verpa bohemica* 1846; *Verpa conica* (Müll.) Swartz, шт. 1839.

Вплив температури на ріст міцеліальних колоній досліджували на сусло-агаровому середовищі з вмістом цукру 4 % (СА) за температури  $4\pm 1$ ,  $18\pm 1$ ,  $26\pm 1$ ,  $34\pm 1$  °C протягом 30 діб. Інокуляцію проводили агаровим диском ( $d = 5$  мм) з міцелієм гриба, попередньо вирощеним за температури  $26\pm 1$  °C на СА. Культуру гриба інокулювали на середовище у центр чашки Петрі. Радіус колонії вимірювали щодобово і за даними обліку розраховували швидкість радіального росту культур [4].

Якісні кольорові тести проводили на глюкозо-пептонно-дріжджовому агаризованому середовищі (ГПДА) за модифікованою методикою Моліторіса [12]. Визначали наявність 10 ензимів: монофенол-оксигенази (характеризують окисно-відновні процеси); амілази, целюлази, ксиланази,  $\beta$ -глюкозидази (метаболізм вуглецевих сполук); протеази, казеїнази, нітрат-редуктази, уреази (азотних сполук); ліпази (ліпідів). Тести проводили на чашках Петрі та у пробірках у трикратній повторності. Наявність ферментів визначали після 7 або 14 діб росту колонії за проявом реакції через 30 хв., 1, 12, 24 год.

Наявність оксидаз (лакази, тирозинази, пероксидази) на поверхні міцеліальної колонії встановлювали за допомогою якісних кольорових реакцій — шляхом нанесення краплі реактиву на край та середину колонії. Зміну забарвлення спостерігали через 30 хв. та 24 години. Лаказу виявляли за реакцією з  $\alpha$ -нафтолом, тирозиназу — з *p*-крезолом, пероксидазу — з пірогалолом і перекисом водню [1]. У разі позитивної реакції на лаказу з'являлося фіолетове забарвлення, на тирозиназу — жовтогаряче, на пероксидазу — морквяно-червоне.

Для визначення впливу рН на ріст міцеліальних колоній використовували синтетичне середовище А такого складу (г/л): глюкоза — 20,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  — 4,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,5;  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,005;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  — 0,005;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  — 0,003;  $\text{ZnCl}_2$  — 0,005. Значення рН середовища змінювали в інтервалі від 2 до 7,8 з кроком 1.

Для встановлення залежності культур від джерел вуглецю використовували те саме синтетичне середовище А. Джерелами вуглецю були моносахариди (глюкоза, ксилоза), ди- (сахароза, лактоза) і трисахариди (рафіноза), полісахариди (крохмаль), які додавали у середовища в кількостях, еквівалентних 20 г глюкози за вуглицем, рН 6,5.

З метою визначення сприятливого для росту культур джерела азоту використовували живильне середовище А. Джерело азоту — нітрат натрію, нітрат амонію, аспарагін та пептон — вносили у середовища у кількостях, еквівалентних 4 г  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  за азотом, рН 6,5. Залежність росту культур досліджуваних штамів від різних джерел вуглецю, азоту та рН середовища вивчали у колбах Ерленмейера ємністю 100 мл, які містили 30 мл живильного середовища. Інокулюмом слугували 7-добові культури грибів, попередньо вирощені на СА за температури  $26 \pm 1$  °С. У кожному колбу з рідким середовищем вносили по 3 міцеліальні диски ( $d = 5$  мм). Посіви культивували у стаціонарних умовах за  $26 \pm 1$  °С. Біомасу міцелію визначали на момент, коли в одному з варіантів міцелій цілковито покривав поверхню середовища. Біомасу фільтрували та висушували за температури  $105 \pm 1$  °С до постійної ваги, визначали кінцеве рН культуральної рідини.

### Результати досліджень та їх обговорення

Як показали наші дослідження, ріст міцелію відбувався за температури  $4 \pm 1$ ,  $18 \pm 1$ ,  $26 \pm 1$  °С. Швидкість радіального росту всіх досліджених штамів була максимальна за температури  $26 \pm 1$  °С (табл. 1). Найшвидше росли штами *M. esculenta* 1746, 1749, 1755; *M. conica* 1737; *M. steppicola* 1849 (від  $12,7 \pm 0,1$  до  $16,4 \pm 0,1$  мм/добу). Дуже повільно (до  $3,9 \pm 0,2$  мм/добу) росли *M. angusticeps*, *M. semilibera*, *Disciotis venosa*, *Verpa bohemica*, *V. conica*. За температури 4 °С, що, як правило, є нижньою межею розвитку міцелію більшості грибів, ріст колоній дуже уповільнювався і не перевищував  $3,8 \pm 0,3$  мм/добу, навіть у швидкорослих штамів.

За температури  $34 \pm 1$  °С у *Morchella angusticeps*, *M. semilibera*, *Disciotis venosa*, *Verpa bohemica*, *V. conica* протягом перших 2—3 діб спостерігали лише слабкий ріст міцелію на інокулюмі, після чого культури втрачали життєздатність. У *M. esculenta*, *M. conica*, *M. crassipes*, *M. steppicola* хоча і розвивалися міцеліальні колонії, але їхні розміри коливались у межах від 15 до 25 мм у діаметрі, відтак ріст припинявся. Після перенесення культур за умов оптимальної температури тільки штами *M. conica* 1737, 1738, 1739; *M. steppicola* 1849; *M. spongiola* 1837, 1838; *M. crassipes* 1834, *M. esculenta* 1805, 1746, 1755, 1844 поновлювали ріст, інші ж втрачали життєздатність.

Температурний фактор впливав на швидкість радіального росту, але не на морфологію міцеліальних колоній та формування склероціїв. Культури зберігали характерні культурально-морфологічні ознаки за умов інкубування у межах 4—26 °С.

Одним із найважливіших факторів, які регулюють ріст і метаболізм грибів у культурі, є рН живильного середовища. Відомо, що більшість видів здатні рости за значних коливань показника кислотності, хоча для багатьох оптимальними є рівні рН у межах рН 5—6 [5]. Визначаючи оптимальний для росту культур представників *Morchellaceae* рН середовища в діапазоні від 2 до 7,8, ми підтвердили, що кислотність середовища є фактором, який регулює ріст

Таблиця 1. Швидкість радіального росту представників родини *Morchellaceae* за різних температур

Вид, штам	Швидкість радіального росту, мм/добу		
	4±1°C	18±1°C	26±1°C
<i>Disclotia venosa</i> 1741	0,8±0,3	1,9±0,2	2,2±0,3
<i>Morchella angusticeps</i> 1833	1,2±0,2	2,3±0,3	3,3±0,2
<i>M. conica</i>			
1737*	2,7±0,3	9,5±0,2	12,7±0,1
1738*	2,9±0,4	7,1±0,1	8,9±0,2
1739*	2,2±0,3	6,5±0,1	9,1±0,1
<i>M. crassipes</i>			
1834	2,2±0,2	5,1±0,2	7,7±0,3
1851	1,9±0,3	4,5±0,2	6,5±0,2
<i>M. esculenta</i>			
1744	3,1±0,4	5,6±0,3	14,1±0,2
1746*	3,8±0,3	7,1±0,2	16,2±0,1
1747	3,5±0,3	7,5±0,1	13,5±0,2
1748*	3,1±0,2	5,0±0,1	14,6±0,3
1749	3,3±0,4	6,0±0,2	15,1±0,1
1750	2,7±0,5	5,4±0,3	12,2±0,1
1753*	2,2±0,2	6,1±0,2	15,2±0,2
1755	2,8±0,3	5,7±0,1	16,4±0,1
1805	1,4±0,2	4,4±0,3	14,8±0,1
1820	1,9±0,4	5,6±0,3	14,3±0,3
1843	3,3±0,2	6,0±0,2	11,1±0,2
1844	3,2±0,3	4,3±0,1	12,7±0,1
<i>M. semilibera</i>			
1740	0,7±0,5	1,4±0,4	3,9±0,2
1846	0,9±0,3	1,0±0,6	3,5±0,3
<i>M. spongiosa</i>			
1837	1,5±0,4	3,1±0,2	7,4±0,2
1838	2,1±0,2	3,6±0,4	7,1±0,3
1850	1,8±0,6	3,4±0,5	6,6±0,2
<i>M. steppicola</i>			
1849	2,2±0,4	9,5±0,2	12,3±0,1
<i>Verpa bohemica</i>			
1845	0,9±0,4	1,8±0,4	2,2±0,2
<i>V. conica</i>			
1839	0,8±0,3	2,5±0,2	2,8±0,1

Примітка: зірочкою (\*) позначено колонії, які формували склероції.

Таблиця 2. Ріст культур родини *Morchellaceae* за різних значень рН середовища

Вид, штам	Діапазон рН для росту культур	Максимальний ріст		
		Вихідне значення рН	Суха біомаса, г/л	Кінцеве значення рН
<i>Disciotis venosa</i> 1741	4,0—7,2	6,0	1,7±0,4	4,2
<i>Morchella angusticeps</i> 1833	4,0—7,2	6,0	2,3±0,3	4,6
<i>M. conica</i> 1737	4,0—7,2	6,5	4,7±0,4	3,8
1738	4,0—7,2	6,5	3,3±0,3	3,9
1739	4,0—7,2	6,5	2,6±0,2	3,8
<i>M. crassipes</i> 1834	4,0—7,2	6,5	3,4±0,4	3,9
1851	4,0—7,2	6,5	3,2±0,3	3,8
<i>M. esculenta</i> 1744	4,0—7,2	6,5	4,2±0,1	3,8
1746	4,0—7,2	6,5	5,6±0,2	3,8
1747	4,0—7,2	6,0	3,5±0,3	3,9
1748	4,0—7,2	6,0	3,7±0,2	3,7
1749	4,0—7,2	5,5	3,4±0,3	4,0
1750	4,0—7,2	6,5	5,6±0,1	4,2
1753	4,0—7,2	6,0	4,1±0,4	3,6
1755	4,0—7,2	6,5	5,5±0,1	3,8
1805	4,0—7,2	6,5	3,5±0,3	4,4
1820	4,0—7,2	6,5	3,9±0,3	3,7
1843	4,0—7,2	5,5	5,2±0,1	3,9
1844	4,0—7,2	5,5	4,8±0,2	3,7
<i>M. semilibera</i> 1740	4,5—7,2	6,0	1,1±0,2	4,4
1846	4,5—7,2	6,0	1,7±0,2	4,6
<i>M. spongiola</i> 1837	4,0—7,2	5,5	2,9±0,4	3,8
1838	4,0—7,2	6,0	2,6±0,2	3,9
1850	4,0—7,2	6,0	3,4±0,2	4,1
<i>M. steppicola</i> 1849	4,0—7,2	5,5	4,5±0,4	3,8
<i>Verpa bohemica</i> 1845	4,5—7,2	5,5	1,3±0,2	4,4
<i>V. conica</i> 1839	4,5—7,2	6,0	2,1±0,3	4,8

міцеліальної колонії. Усі досліджені види грибів починали рости за рН середовища не нижче 4, зокрема *M. semilibera*, *Verpa bohemica*, *V. conica* — за рН 4,5. Як було встановлено, рН середовища у процесі росту культур знижувався до значень 3,6—3,9, а у штамів *M. esculenta* 1750, 1805, *M. semilibera*, *V. bohemica*, *V. conica* — 4,0—4,5 (табл. 2). Найсприятливішим для активного росту всіх досліджених видів є рН у межах 5,5—6,5. За цих значень рН у *M. conica* та *M. esculenta* вихід біомаси становив понад 5 г/л на 14-ту добу культивування. Культури *M. angusticeps*, *M. semilibera*, *Disciotis venosa*, *V. bohemica*, *V. conica* характеризувалися дуже повільним ростом і накопичували незначну кількість біомаси (не більше  $2,3 \pm 0,3$  г/л). За рН середовища вище 7,2 культури цих видів практично не росли.

Результати дослідження ферментів, які характеризують метаболізм вуглецевих та азотних сполук (табл. 3), засвідчують, що представники *Morchellaceae* містять увесь їхній спектр. За допомогою ензиматичних тестів ми вивчали целюлазу, амілазу, ксиланазу та  $\beta$ -глюкозидазу, які здатні розкладати у природі субстрати, що містять різноманітні вуглеводи. Ми виявили: всі досліджені штами дають чітку позитивну реакцію на целюлазу та  $\beta$ -глюкозидазу. У молодому міцелії відзначено високий рівень активності амілаз, зі старінням колонії активність цього ферменту знижується. Найактивнішими виявилися штами *M. conica* 1737, 1738, 1739. Реакція представників родини *Morchellaceae* на ксиланазу, характерну для дереворуйнівних грибів, була слабопозитивною. У *M. angusticeps*, *M. semilibera*, *V. bohemica* не відзначено активності цього ферменту.

Метаболізм азотних сполук характеризували визначенням протеази, казеїнази, нітрат-редуктази, уреаз. Всі досліджені штами мали позитивну реакцію на протеазу, найінтенсивнішу реакцію на казеїназу — штами *M. conica*

Таблиця 3. Кольорові тести на наявність ферментів різних класів у культурах представників родини *Morchellaceae*

Вид	Фермент						
	амілаза	целюлаза	$\beta$ -глюкозидаза	протеаза	казеїназа	нітрат-редуктаза	уреаза
<i>Disciotis venosa</i>	+	+	++	+	—	+++	++
<i>Morchella angusticeps</i>	+	+	++	+	—	++	+
<i>M. conica</i>	+++	++	+++	++	+++	+++	++
<i>M. crassipes</i>	+	+	+	++	++	++	+
<i>M. esculenta</i>	++	++	+++	++	++	++	+++
<i>M. semilibera</i>	+	+	+	+	—	+	+
<i>M. spongicola</i>	+	+	+	++	+	++	+
<i>M. steppicola</i>	+	++	++	++	++	++	++
<i>Verpa bohemica</i>	+	+	+	+	—	+	+
<i>V. conica</i>	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: «—» — реакція відсутня; «+» — слабка; «++» — помірна; «+++» — сильна.

1737, 1738, 1739, *M. esculenta* 1749, 1746. *M. angusticeps*, *M. semilibera*, *D. venosa*, *V. bohemica* навіть після 20 діб культивування не виявили позитивної реакції на цей фермент. Усі досліджені штами відзначалися чіткою, позитивною реакцією на нітрат-редуктазу, котра, як відомо, відсутня у вищих базидіальних грибів [11]. Найактивнішими були види *M. conica* та *D. venosa*. У штамів *M. esculenta* інколи спостерігалася різниця у швидкості забарвлення колонії або його інтенсивності, але характер реакції за всіх умов не змінювався.

Усі досліджені культури показали чітку позитивну реакцію на ліпазу. Реакція (білий осад) починала виявлятися на 14—15 добу після інокуляції, а за тривалого культивування її інтенсивність зростала.

Для встановлення наявності екзоклітинних окисних ферментів ми використовували декілька методів, які базуються на тестових кольорових реакціях. Показано, що всі досліджені штами мають позитивну реакцію на лаказу. *M. conica*, *M. semilibera*, *D. venosa* реагували на цей ензим уже на першу добу після інокуляції. Реакція на тирозиназу чітко реєструвалася після десяти діб культивування. Найактивнішими виявилися штами *M. conica* 1739 та *M. esculenta* 1749, реакція інших була менш інтенсивною. У нашому дослідженні жоден штам не виявив чіткої позитивної реакції на пероксидазу, яка є характерною для лігнотрофів.

Враховуючи результати проведених ензиматичних тестів, ми вивчали вплив різних джерел вуглецевого та азотного живлення на ріст культур представників *Morchellaceae*. Досліди проводили на рідкому живильному середовищі вищезазначеного складу. Показано, що досліджена група видів та штамів відзначалася достатньо високим ступенем фізіологічної однорідності щодо вживання вуглеводів. Інтенсивність росту досліджених культур відрізнялася на живильних середовищах з різними джерелами вуглецю. З'ясовано, що для всіх видів кращими джерелами вуглецю є глюкоза та крохмаль. Більшість штамів надавала перевагу глюкозі, а *M. conica* 1738, 1739 та *M. esculenta* 1746, 1820, 1843 накопичували найбільшу біомасу (до  $4,8 \pm 0,2$  г/л) на середовищах з крохмалем. Лактоза була хорошим джерелом вуглецю тільки для *M. crassipes* та *M. conica*, але обсяг біомаси (до  $4,2 \pm 0,3$  г/л) не перевищував такий на середовищах з крохмалем і глюкозою. Досліджені штами *Verpa bohemica*, *V. conica*, *M. semilibera* не засвоювали лактозу. Всі досліджені культури гірше засвоювали сахарозу та рафінозу порівняно з глюкозою і крохмалем. Ксилозу як єдине джерело вуглецю всі досліджені штами споживали дуже слабо, а такі види, як *Verpa bohemica*, *V. conica*, *M. semilibera*, взагалі не сприймали цей вуглевод, що підтверджено результатами наших досліджень з ензиматичної активності. У разі росту на всіх вуглеводах реакція середовища змінювалась у кислий бік.

Джерела азоту важливі для досягнення хорошого росту міцелію у культурі. Гриби можуть використовувати як органічні, так і неорганічні форми азоту. Як джерело азоту на синтетичному середовищі з глюкозою ми досліджували нітратні та амонійні солі ( $\text{NaNO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) й органічні сполуки азоту —

аспарагін і пептон. Вивчення процесу росту представників *Morchellaceae* на мінеральному середовищі з різними джерелами азоту показало, що найкраще всі досліджені види росли на середовищах з органічними джерелами азоту (аспарагіном та пептоном), де накопичували майже 5,5 г/л біомаси на 14-ту добу культивування. Найбільші обсяги біомаси продукували штами *M. esculenta* 1750, 1746, 1755, 1844 та *M. conica* 1737, 1738. Встановлено, що хоча всі досліджені культури засвоювали як нітратний, так і амонійний азот, але більшою біомаса була на середовищах з амонійним азотом.

## Висновки

Дослідження росту і морфології культур (26 штамів) десяти видів *Morchellaceae* у температурному інтервалі  $4\pm 1$ – $34\pm 1$  °C засвідчили, що найсприятливішою температурою для культивування всіх видів є  $26\pm 1$  °C. За температури  $34\pm 1$  °C усі досліджені культури, крім видів *M. conica* 1737, 1738, 1739; *M. crassipes* 1834, 1835; *M. spongiola* 1837, 1838; *M. steppicola* 1849; *M. esculenta* 1805, 1746, 1755, 1844, втрачали життєздатність.

Показано, що представники *Morchellaceae* у чистій культурі містять ензими вуглецевого (амілаза, целюлаза, ксиланаза, глюкозидаза), азотного (протеаза, казеїназа, нітрат-редуктаза, уреаза) та ліпідного (ліпаза) метаболізму і окисно-відновних процесів (лаказа, тирозиназа), внаслідок чого здатні використовувати різні джерела вуглецю та азоту, проте ензиматична активність досліджених видів щодо казеїнази і ксиланази була низькою, а *M. angusticeps*, *M. semilibera*, *D. venosa*, *V. bohémica* не виявили позитивної реакції на ці ензими.

Найкращими джерелами вуглецю для росту міцелію всіх досліджених культур виявилися глюкоза і крохмаль, а ксилозу та лактозу вони засвоювали слабо. З азотних сполук види роду *Morchellaceae* найактивніше асимілювали органічний азот — пептон, аспарагін та амонійний азот. Показано, що оптимальні значення рН середовища для всіх досліджених штамів лежать у межах 5,5–6,5.

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., Митропольська Н.Ю., Михайлова О.Б. Каталог колекції культур шапинкових грибів ІВК / НАН України. Ін-т ботаніки. — Препр. — К., 2006. — 36 с.
3. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре // Бисько Н.А., Бухало А.С., Ваасер С.П. и др. / Под общ. ред. И.А. Дудки — Киев: Наук. думка, 1983. — 312 с.
4. Соломко Е.Ф., Ломберг М.Л., Митропольська Н.Ю., Чоловська О.В. Ріст окремих видів лікарських макроміцетів на живильних середовищах різного складу // Укр. ботан. журн. — 2000. — 57, № 2. — С. 119–126.
5. Соломко Е.Ф., Федоров О.А. Влияние рН среды на кинетику роста *Pleurotus ostreatus* в глубинной культуре // Микол. и фитопатол. — 1988. — 22, № 6. — С. 537–542.
6. Buscot F. Mycelial differentiation of *Morchella esculenta* in pure culture // Mycol. Res. — 1993. — 97, № 2. — P. 136–140.
7. Chang S., Miles P.G. Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. — London; New York; Washington: CRC Press, 2004. — 450 p.



8. Kuo M. Morels. — University of Michigan Press, 2005. — 205 p.
9. Litchfield J.H. Submerged culture of mushroom mycelium // Microbial technology. — 1967. — 26, № 3. — P. 107—144.
10. Litchfield J.H., Overbeck R.C., Davidson. Factors affecting the growth of *Morchella* mushroom mycelium in submerged culture // J. Agr. Food Chem. — 1963. — 11, № 2. — P. 158—162.
11. Molitoris H.P., Schaumann K. Physiology of marine fungi. A screening program for marine fungi // The biology of marine fungi / Eds. Moss S.T. — Cambridge: Cambridge University Press, 1986. — P. 35—47.
12. Molitoris H.P. Methods for determination of enzymatic activities of marine fungi // Czech mycology. — 2000. — 52, № 2. — P. 97—124.
13. Stott K., Mohammed C. Specialty mushroom production systems: Maitake and Morels. — RIRDC publication, 2004. — 96 p.
14. Volk T.J., Leonard T. Cytology of the life cycle of *Morchella* // Mycol. Res. — 1990. — 96. — P. 399—406.

Рекомендує до друку  
С.П. Вассер

Надійшла 12.07.2006

О.Б. Михайлова, А.С. Бухало

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

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ  
СЕМЕЙСТВА MORCHELLACEAE (ASCOMYCETES)  
В ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЕ**

На агаризованных и жидких питательных средах исследованы физиологические свойства чистых культур 26 штаммов 10 видов *Morchellaceae* (*Disciotis venosa* Boud. (1 штамм) *Morchella angusticeps* Peck. (1 шт.); *M. conica* Pers. (3 шт.); *M. crassipes* (Vent.) Pers. (2 шт.); *M. esculenta* (L.) Pers. (12 шт.); *M. semilibera* D.C. (= *Mitrospora semilibera* (DC) Lév.) (2 шт.); *M. spongiosa* Fr. (3 шт.); *M. steppicola* Zerova (1 шт.); *Verpa bohemica* (1 шт.); *Verpa conica* (Müll.) Swartz (1 шт.)). Лучший радиальный рост мицелия отмечен при температуре 26 °C. При 4 °C рост замедлялся, но колонии сохраняли морфологические особенности. При 34 °C жизнеспособность сохраняли только отдельные штаммы видов *Morchella conica*, *M. crassipes*, *M. spongiosa*, *M. steppicola*, *M. esculenta*. У исследованных видов установлены 10 энзиматических реакций, характеризующих углеводный, азотный, липидный и окислительно-восстановительные процессы. Все культуры выявили четкую позитивную реакцию на все испытанные тесты. Слабой или нечеткой была реакция на казеиназу, ксиланазу и пероксидазу. Лучшим источником углерода на синтетической жидкой среде оказались глюкоза и крахмал, худшими — лактоза и ксилоза. Лучший рост мицелия отмечен на органических источниках азота (лептон, аспарагин) и аммонийных солях. Показано, что наиболее благоприятной для роста исследованных культур является кислотность среды в пределах pH 5,5—6,5.

**Ключевые слова:** *Morchella*, *Disciotis*, *Verpa*, чистые культуры, рост колонии, температура инкубации, энзиматические тесты, источники углеродного и азотного питания, кислотность среды

O.B. Mychaylova, A.S. Buchalo

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

PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF MUSHROOMS  
FROM THE FAMILY *MORCHELLACEAE* (ASCOMYCETES)  
IN PURE CULTURE

Physiological characteristic of ten species (26 strains) from the family *Morchellaceae* were investigated in pure culture on agar and liquid media: (*Disciotis venosa* Boud. (1 str.) *Morchella angusticeps* Peck. (1 str.); *M. conica* Pers. (3 str.); *M. crassipes* (Vent.) Pers. (2 str.); *M. esculenta* (L.) Pers. (12 str.); *M. semilibera* D.C. (= *Mitrospora semilibera* (DC) Lév.) (2 str.); *M. spongiola* Fr. (3 str.); *M. steppicola* Zerova (1 str.); *Verpa bohemica* (1 str.); *Verpa conica* (Müll.) Swartz (1 str.). The best radial growth of mycelium was registered at 26 °C in incubation; at 4 °C growth was slower, but morphology of mycelial colony was the same as at 26 °C. At 34 °C only some strains of *Morchella conica*, *M. crassipes*, *M. esculenta*, *M. spongiola*, *M. steppicola* did not lose their viability. In investigated species ten specific enzymatic reactions were shown, which characterize carbon, nitrogen, lipid metabolism and oxidase-reductase processes. Weak reaction if at all were registered on caseinase, xylanase and peroxidase. The data is obtained that glucose and starch are the best sources of carbon. Poor assimilation of carbon was in liquid media with lactose and xylose. The best mycelial growth was found in liquid media with organic sources of nitrogen (peptone, asparagine) and ammonium salts. It was shown that the most favorable for mycelial growth of investigated cultures was pH 5.5–6.6.

*Key words:* *Morchella*, *Disciotis*, *Verpa*, pure cultures, cultural growth temperature of incubation, enzymatic tests, sources of C and N nutrition, medium pH