

УДК 582.287.284:578.081+0.84

В. В. Пасмурцева, науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);  
В. В. Трухоновец, зав. лабораторией (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);  
О. Ю. Баранов, вед. науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);  
С. В. Пантелеев, мл. науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ, ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЯ РОДА *PHALLUS* В БЕЛАРУСИ

В статье приводятся результаты анализа морфологических и молекулярно-генетических данных по идентификации нового для микофлоры Беларуси вида рода *Phallus* – *Phallus hadriani* Vent. Pers. (веселка Хадриана). Освещены некоторые аспекты и дана сравнительная оценка эколого-биологических особенностей развития *Phallus hadriani* и *Phallus impudicus* в природных условиях.

The paper reports the results of analysis of morphological, molecular and genetic data to identify *Phallus hadriani* Vent. Pers., a new species of the genus *Phallus* in Belarus. The paper covers some aspects and provides a comparison between ecological and biological peculiarities of the development of *Phallus hadriani* and *Phallus impudicus* occurring in open nature.

**Введение.** *Phallus* (веселка) – род базидиальных гастеромицетов, объединяющий около 20 видов. Представители данного рода, как правило, напочвенные сапротрофы, приуроченные к определенным растительным формациям. Ареал распространения широк и охватывает различные климатические зоны – от умеренных до тропических, где видовой состав более богат, а формы плодовых тел и их окраска наиболее разнообразны [1–3].

Согласно литературным данным, в микофлоре Беларуси род *Phallus* представлен единственным видом – *Phallus impudicus* (Pers.) L. (веселка обыкновенная) [4, 5]. Это лесной макромицет, привлекающий внимание своим резким, неприятным запахом. Особую известность веселка обыкновенная получила благодаря широкому использованию в народной медицине.

**Основная часть.** В 2007 г. на территории г. Гомеля нами были обнаружены плодовые тела, визуально напоминающие веселку обыкновенную, однако несколько отличающиеся от нее по ряду морфологических признаков. В связи с этим целью нашей работы явилась идентификация собранных образцов путем анализа морфологических и молекулярно-генетических данных, а также проведение сравнительной оценки эколого-биологических особенностей видов рода *Phallus*.

Микологические исследования проводились с использованием определителей [4, 6]. Оценка флористической новизны находок для микобиоты Беларуси осуществлялась в соответствии с перечнем макромицетов в коллекции Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича [7].

Молекулярно-генетическая диагностика данных видов основывалась на секвенировании регионов рДНК исследуемых образцов с идентификацией нуклеотидных последовательностей в Генном Банке NCBI [8]. Выделение ДНК производилось из фрагментов плодовых тел СТАВ-методом [9]. Для амплификации и последующего секвенирования использовались универсальные

праймеры ITS1 и ITS4 [10]. Секвенирование было выполнено с применением генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems).

Изучение эколого-биологических особенностей роста проводили в природных условиях:

*Phallus impudicus* – территория Корневской экспериментальной лесной базы ГНУ «Институт леса НАНБ» (2006–2009 гг.);

*Phallus hadriani* – территория г. Гомеля (2007–2009 гг.).

В местах естественного произрастания *Ph. impudicus* отбирали образцы лесной подстилки по слоям: ферментативный (A<sub>0</sub>F) и гумусовый (A<sub>0</sub>H), а также верхний слой почвы (0–5 см) [11]. Для изучения агрохимических особенностей условий произрастания *Ph. hadriani*, в силу их специфичности, анализировали только верхний слой почвы (0–5 см).

Содержание основных элементов минерального питания и кислотность почвы определяли по общепринятым методикам [12].

Выделение грибов в чистую культуру проводили тканевым методом из плодового тела на стадии «яйца». В качестве инокулюма использовали фрагменты рецептакула. Вегетативный рост культур проходил на сусло-агаровой питательной среде (6–8% по Баллингу) при температуре 26°C [13–15]. Колонии описывали по Сталперсу [16]. Полученные данные обрабатывали статистическими методами [17].

Морфологический анализ плодовых тел веселки, собранной в г. Гомеле, показал, что грибы принадлежат новому для микофлоры республики виду – *Phallus hadriani* Vent. Pers. (веселка Хадриана), представителю рода *Phallus*.

Идентификация результатов секвенирования в Генном Банке NCBI показала 100% сходство изученных образцов с имеющимися в базе данных изолятами *Phallus impudicus* (AF324171) и *Phallus hadriani* (DQ404385), что также подтвердило выводы, сделанные на основании изучения морфологических признаков.

Таблица 1

Морфологические особенности плодовых тел и спор *Phallus sp.*

Вид гриба	Окраска экзоперидия (по Бондарцеву [18])	Размер плодового тела, мм		Споры	
		в стадии «яйца» (диаметр)	зрелое (высота)	размер, µm	форма, окраска
<i>Ph. impudicus</i>	Белесоватая (д <sub>1</sub> ), белесовато-серая (з <sub>4</sub> )	38–56	170–200	3,5×2,5	Эллипсоидные, гладкие, бесцветные
<i>Ph. hadriani</i>	Розовая (ж <sub>3</sub> ), серо-фиолетовая (н <sub>2</sub> )	19–37	110–130	3,0×2,0	Эллипсоидные, гладкие, бесцветные

Визуально основным отличительным признаком этих двух видов является окраска экзоперидия – внешней кожистой оболочки, окружающей плодовое тело на стадии «яйца» (табл. 1). Однако, несмотря на внешнюю схожесть, принадлежность данных двух видов к разным экологическим группам обуславливают и эколого-биологические особенности.

Наши исследования показали, что *Ph. impudicus* как подстилочный сапротроф предпочитает богатые гумусом листовенные леса с обильным слоем подстилки. Доминирующей древесной породой является дуб (дубрава кисличная, снытевая), в подлеске встречаются клен, лещина, липа, рябина обыкновенная, крушина ломкая. В связи с недостатком освещенности напочвенный покров довольно беден, местами практически отсутствует. Из наиболее распространенных травянистых растений нами отмечены кислица обыкновенная (*Oxalis acetosella* L.), сныть (*Aegopodium podagraria* L.), копытень европейский (*Asarum europaeum* L.), звездчатка (*Stellaria holostea* L.), будра плющевидная (*Glechoma hederacea* L.).

Ферментативный слой подстилки рыхлый, состоит, главным образом, из дубового опада. Гумусовый – мягкий, темного цвета с рыхлой структурой, что способствуют его хорошей прогреваемости и обеспечивает высокую влагоемкость. Агрохимические исследования проб, отобранных в местах естественного произрастания веселки обыкновенной, показали, что гриб предпочитает слабокислые почвы с pH от 4,6 до 5,3 (табл. 2).

Согласно литературным данным, *Ph. impudicus*, являясь активным агентом разложения опада в дубравах, способен почти полностью

минерализовать растительный опад и тем самым содействовать значительному накоплению азота и фосфора в подстилке [19].

Обследования подстилки, а также верхнего слоя почвы (0–5 см) выявили многочисленные мицелиальные тяжи белого цвета с чуть желтоватым оттенком, толщиной от 1 до 5 мм, встречающиеся практически только в верхних двух горизонтах (ферментативный и гумусовый). Также были отмечены тяжи веселки обыкновенной под корой полуразложившегося древесного опада.

Установлено, что период плодоношения *Ph. impudicus* в Гомельской области наступает со второй декады июля и продолжается до заморозков. Так, например, в 2006 г., характеровавшемся продолжительным периодом положительных температур, плодовые тела веселки обыкновенной были отмечены в середине декабря. Это говорит о широком температурном диапазоне, приемлемом для вегетативного роста и плодообразования данного гриба.

Как правило, появлению карпофоров предшествовали обильные осадки и высокая относительная влажность воздуха (80–90%). Формирование плодового тела *Ph. impudicus* началось с закладки на мицелиальных тяжах шаровидных примордий. По мере роста они приобретали сначала округлую, а в дальнейшем слегка яйцевидную форму. Диаметр собранных нами плодовых тел на стадии «яйца» не превышал 60 мм, а масса варьировала в пределах от 30 до 70 г (табл. 3). Окраска экзоперидия – белесовато-серая, поверхность гладкая. Поздней осенью встречались экземпляры с множеством бурых пятен.

Таблица 2

Агрохимическая характеристика подстилочно-почвенного комплекса в местах естественного произрастания *Phallus sp.*

Наименование проб	pH <sub>kcl</sub>	Азот, %	Фосфор, %	Гумус, %	Зольность, %
<i>Ph. impudicus</i>					
Ферментативный слой подстилки (A <sub>0</sub> F)	5,3	1,95	0,14	61,84	18,87
Гумусовый слой подстилки (A <sub>0</sub> H)	4,9	2,04	0,15	25,50	63,17
Почва (0–5)	4,6	1,09	0,06	5,56	91,75
<i>Ph. hadriani</i>					
Почва (0–5)	7,9	0,02	0,09	3,56	95,61

Таблица 3

Биометрические показатели плодовых тел *Phallus sp.* на стадии «яйца»

Определяемые показатели	Среднее значение	Стандартная ошибка	Стандартное отклонение	Min	Max	Коэффициент вариации, %	Показатель точности, %
<i>Ph. impudicus</i>							
Диаметр плодовых тел, мм	45,10	1,87	5,92	38,00	56,00	13,12	4,15
Масса плодовых тел, г	41,70	3,70	11,71	31,70	64,90	28,08	8,88
<i>Ph. hadriani</i>							
Диаметр плодовых тел, мм	29,54	1,82	6,55	19,00	37,00	22,18	6,15
Масса плодовых тел, г	11,69	0,59	2,14	8,30	14,00	18,28	5,07

При продольном разрезе *Ph. impudicus* на стадии «яйца» отчетливо виден толстый студенистый слой эндоперидия, расположенный по периферии и окружающий спороносную часть – глебу (рис. 1, а). К моменту созревания базидиоспор глеба имеет темно-оливковую окраску. Центральную часть занимает рецептакул. На данной стадии он представляет собой толстостенную полую капсулу, состоящую из губчатой белой ткани. Споры эллипсоидные, гладкие, размером  $3,5 \times 2,5 \mu\text{m}$ . Запах невыразительный, при разрезе – слегка редечный. Несмотря на кажущуюся водянистость яйцевидных плодовых тел, содержание воды в них, как и у большинства шляпочных макромицетов [20], составляет 90–91% (табл. 4).

Практически всегда рост и развитие веселки обыкновенной происходит под мощным слоем подстилки, обеспечивающей грибу наиболее оптимальный температурно-влажностный режим. Процесс формирования гриба заканчивается разрывом перидия и быстрым ростом рецептакула (согласно литературным данным, до 5 мм/мин [1]), выносящим спороносную часть. По нашим наблюдениям, его высота не превышала 170–200 мм (табл. 1, рис. 2, а). Шляпка наперстковидная,

полностью покрыта зеленоватой слизью. Запах резкий, неприятный, слышен на довольно большом расстоянии (4–6 м). Это свойство гриба обуславливает привлечение большого количества насекомых. У старых грибов шляпка без слизи, желтоватая, отчетливо видна ее ребристая форма. Процессы деструкции происходят быстро, и уже через несколько дней плодовые тела веселки разлагаются полностью.

При выделении изолятов из плодовых тел *Ph. impudicus* установлено, что в чистой культуре мицелиальные колонии белые, шерстистые, гифы тонкие, радиально-расходящиеся. С возрастом в центральной части колония приобретает слегка кремовый оттенок (Б<sub>6</sub> по шкале Бондарцева) [18]. Растущий край, как правило, ровный, реверзум не окрашен.

*Ph. hadriani* принадлежит к самой многочисленной экологической группе гастеромицетов – почвенным сапротрофам открытых пространств. Данный вид растет на песках в пустынях и полупустынях, песчаных морских побережьях. Распространен в Северной Америке, на Кавказе, Средней Азии, в Европе встречается на побережьях Балтийского, Северного и Средиземного морей [1].



а



б

Рис. 1. Поперечный разрез яйцевидных плодовых тел:  
а – *Ph. impudicus*, б – *Ph. hadriani*

Таблица 4

Содержание воды в плодовых телах *Phallus sp.* на стадии «яйца»

Наименование	Среднее значение, %	Стандартная ошибка	Стандартное отклонение	Min	Max	Коэффициент вариации, %	Показатель точности, %
<i>Ph. impudicus</i>							
Вода	90,81	0,32	1,11	88,18	92,30	1,25	0,39
Сухое вещество	9,19	0,30	1,12	7,75	11,92	11,56	3,22
<i>Ph. hadriani</i>							
Вода	81,82	0,68	2,44	76,00	85,50	2,98	0,83
Сухое вещество	18,18	0,58	2,09	16,40	24,00	10,15	2,82

Обнаруженная нами веселка Хадриана росла на обочине дороги. Почва песчаная со слабощелочной реакцией – 7,9 (табл. 2). Напочвенный покров скудный, представлен одним видом – горец птичий (*Polygonum aviculare* L.).

В результате микологических исследований установлено, что, как и у веселки обыкновенной, формирование примордий *Ph. hadriani* происходит на мицелиальных тяжах. Скрытые в верхнем слое почвы молодые плодовые тела белые. По мере их роста и появления на поверхности почвы окраска экзоперидия приобретает розоватый оттенок, который в дальнейшем становится более насыщенным и переходит в серо-фиолетовый (рис. 1, б).

Как показали исследования, первые плодовые тела на поверхности появляются в конце июня. Средний диаметр грибов, собранных на стадии «яйца», не превышал 40 мм, а масса – 14 г (табл. 3), т. е. плодовые тела у *Ph. hadriani* несколько мельче, чем у *Ph. impudicus*. Результаты микроскопических исследований выявили значительную схожесть спор двух видов веселки по форме, различия отмечены лишь по раз-

меру (табл. 1). Сравнивая поперечные разрезы яйцевидных плодовых тел веселок обыкновенной и Хадриана, при полной идентичности строения обращает на себя тот факт, что размеры эндоперидия (внутренний студенистый слой) у *Ph. hadriani* гораздо меньше, чем у *Ph. impudicus* (рис. 1). Данная особенность – следствие определенных условий произрастания. В результате процентное соотношение воды и сухого вещества в плодовых телах составляет 9 : 2, т. е. содержание влаги на 10% меньше, чем у *Ph. impudicus* (табл. 4).

Однако несмотря на устойчивость вида к засухе, при длительном отсутствии осадков процессы формирования гриба могут приостанавливаться. После увлажнения даже подсохшие яйцевидные плодовые тела легко восстанавливаются и дальнейшее развитие проходит без нарушений. После созревания плодового тела перидий разрывается и остается при основании, а рецептакул выносит на поверхность зеленовато-оливковую спороносную глебу в виде конической шапочки с неправильным рельефом.



а



б

Рис. 2. Сформировавшиеся плодовые тела веселки:  
а – *Ph. impudicus*, б – *Ph. hadriani*

По нашим наблюдениям, размеры рецептакула у *Ph. hadriani* меньше, чем у *Ph. impudicus* и не превышают 130 мм (табл. 1, рис. 2, б). На вершине глебы, как правило, имеется небольшой диск с остатком перидия. Края глебы соединены с рецептакулом тонкой перепонкой.

Запах, как характерная особенность всех представителей порядка *Phallales*, неприятный.

**Заключение.** Таким образом, проведенные исследования позволили идентифицировать новый для микофлоры Беларуси вид рода *Phallus* – *Phallus hadriani* Vent. Pers. (веселка Хадриана). Несмотря на внешнее сходство, *Ph. impudicus* и *Ph. hadriani* существенно различаются между собой на генетическом уровне, по морфологии плодовых тел и эколого-биологическим требованиям к среде обитания.

### Литература

1. Жизнь растений: в 6 т. / под ред. А. А. Федотов. – М.: Просвещение, 1976. – Т. 2. – 479 с.

2. Клани, Я. Грибы / Я. Клани. – Прага: Артия, 1984. – С. 198–199.

3. Дудка, И. А. Грибы. Справочник миколога и грибника / И. А. Дудка, С. П. Вассер. – Киев: Наукова думка, 1987. – 535 с.

4. Сержанина, Г. И. Грибы / Г. И. Сержанина, И. Я. Яшкин. – Минск: Наука и техника, 1986. – 232 с.

5. Угланов, Н. Д. Грибы лесов Белоруссии / Н. Д. Угланов, Л. С. Коткин. – Минск: Ураджай, 1988. – 143 с.

6. Сосин, П. Е. Определитель гастеромицетов СССР / П. Е. Сосин. – Л.: Наука, 1973. – 164 с.

7. Макромицеты, микромицеты и лишенизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L) / О. С. Гапиенко [и др.]. – Минск: ИВЦ Минфина, 2006 – 501 с.

8. Генный банк NCBI [Электронный ресурс]. – 2010. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Gen-bank>.

9. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.

10. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T. J. White [et al.] // PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications / Academic Press, Inc. – New York, 1990. – P. 315–322.

11. Почва. Отбор проб: ГОСТ-28168-89. – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1989. – 12 с.

12. Агрохимические методы исследования почв. – М.: Колос, 1975. – 656 с.

13. Бухало, А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А. С. Бухало. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.

14. Семенов, С. М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов / С. М. Семенов. – М., 1990. – 239 с.

15. Методы экспериментальной микологии / И. А. Дудка [и др.]. – Киев: Наукова думка, 1982. – С. 42–75.

16. Stalpers, I.H. Identification of Wood-Inhabiting Aphylophoales in pure culture / I. H. Stalpers // Stud. Mycol. – 1978. – № 16. – P. 1–248.

17. Зайцев, Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г. Н. Зайцев. – М.: Наука, 1984. – 424 с.

18. Бондарцев, А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа / А. С. Бондарцев. – М.: Л.: Изд-во АН СССР. – 1953. – 1106 с.

19. Частухин, В. Я. Биологический распад и ресинтез органического вещества в природе / В. Я. Частухин, М. А. Николаевская. – Л.: Наука, 1969. – 325 с.

20. Беккер, З. Э. Физиология и биохимия грибов / З. Э. Беккер. – М.: Издательство Московского университета, 1988. – 229 с.

Поступила 14.04.2010