

ПРИЛОЖЕНИЕ 11.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**



УТВЕРЖДАЮ
Директор БИН РАН,

Д.В. Гельтман

"29" августа 2017 г.

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ПОЛУЧЕНИЮ
МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ
КОЛЛЕКЦИИ БИН РАН.**

(Разработано Н.В. Псурцевой)

Санкт-Петербург 2017

11. Стандартная операционная процедура по получению морфологических характеристик культур базидиомицетов коллекции БИН РАН включает ряд последовательных действий по макро- и микроморфологическому описанию культуры и учитывает требования следующих стандартных операционных процедур:

— Стандартная операционная процедура по приготовлению питательных сред и стерильной посуды (Приложение 2);

— Стандартная операционная процедура по пересеву культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 4);

— Стандартная операционная процедура по контролю жизнеспособности культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 5);

— Стандартная операционная процедура по контролю чистоты (аутентичности) культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 6);

11.1. Для получения базовой макроморфологической характеристики культуры выращивают на чашках Петри диаметром 60 или 90 мм со средой сусло-агар.

11.2. Для получения полной макроморфологической характеристики используют 90 мм чашки Петри со стандартными коммерческими средами мальц-экстракт агар (MEA) и картофеле-декстрозный агар (PDA).

11.3. Инокуляцию чашек Петри проводят мицелиальными дисками в центр или с краю чашки (в зависимости от скорости роста колоний); чашки помещают в термостат на 25 °С.

11.4. Макроморфологическая характеристика колоний складывается из следующих описаний.

11.4.1. Край колонии (м.б. погруженный, прижатый, поднимающийся) и внешняя линия (м.б. гладкая, бахромчатая, с выступами). Описание проводят до зарастания мицелием всей поверхности чашки.

11.4.2. Текстура колонии – описание воздушного мицелия. Описание проводится после 2 недель роста колоний.

Выделяют 15 основных типов колоний или их сочетаний:

— воздушный мицелий отсутствует, есть только погруженный;

— пушистая, гифы воздушного мицелия хорошо развиты, прямые, короткие;

— мучнистая, порошковидная;

— гранулированная, зернистая;

— шелковистая, распростертая, гифы или гифальные тяжи длинные, радиально упорядочены, часто язычками;

— ватная, воздушный мицелий высокий, гифы переплетены во всех направлениях;

— шерстистая, длинные спутанные гифы;

— хлопьевидная, небольшие гифальные пучки поднимаются от агара или мицелия;

— перистая, мицелиальные пучки гиф радиально отходят от центральной оси, часто веерообразно;

— кожистая, пленчатая с тонким низким сцепленным мицелием;

— войлочная, воздушный мицелий ватообразный или шерстистый, свалывшийся, без поднимающихся гиф;

— бархатистая, плотный слой прямых коротких гиф;

— корковая, твердая крепкая корка, чаще темно-коричневая, иногда кремовая или белая;

— лакунозная, поверхность колонии с углублениями, зазубренная, выдолбленная;

— зональная, с концентрическими кругами или сегментами разной фактуры.

Иногда колонию достаточно легко отнести к тому или иному типу, когда характерные

признаки отчетливо видны, но часто описание колонии возможно только с использованием совокупности признаков, а иногда вообще трудно отнести ее к какому-то из перечисленных типов.

11.4.3. Цвет колонии часто бывает трудно охарактеризовать однозначно, но различают группы:

- бесцветная;
- белая;
- кремовая;
- желтоватая или охряная;
- коричневатая;
- оранжевая или красноватая;
- розовая, бледно-лиловая, синяя, фиолетовая.

11.4.4. Запах колонии. Часто трудноразличим, но для съедобных грибов отмечается наличие грибного аромата.

11.4.5. Реверзум (обратная сторона колонии) – подразумевается изменение цвета агара, индуцированное растущим мицелием.

11.5. Микроморфологическая характеристика культур. Для получения микроморфологической характеристики в инокулированные чашки Петри со средой сусло-агар (MEA и PDA для получения полной микроморфологической характеристики) помещают стерильное покровное стекло и инкубируют при температуре 25 °С. Изучение микроморфологии проводят после нарастания мицелия на покровное стекло, но не ранее 2 недель с момента инокуляции.

11.6. Микроморфологическая характеристика складывается из совокупности микроскопических признаков:

11.6.1. Наличие пряжек или псевдопряжек. Считается, что этот признак для базидиомицетов имеет наибольшее значение.

11.6.2. Ширина гиф (i – < 1.5 мкм, ii – 1.5-3 мкм, iii – 3-5 мкм, vi – 5-7.5 мкм, v - > 7.5 мкм), в большинстве случаев гифы базидиальных грибов попадают в группу ii и iii.

11.6.3. Типы гиф. По традиционной классификации Сталперса – генеративные, скелетные и связывающие, или по современной классификации Клеменсона – вегетативные, состоящие из ведущих, связывающих и тонких “exploiting”, дейтероплазматические, фибро и др.

11.6.4. Наличие анастомозов.

11.6.5. Наличие различных структур, образующихся при дифференциации гиф в культуре: гифальных колец, гифальных тяжей и ризоморф, цистид и глеоцистид, инкрустированных гиф, кристаллов на гифах, гифальных узлов, различных вздутий.

11.6.6. Наличие структур бесполого размножения: артроконидий, конидий, хламидоспор, бластоконидий, склероциев; в ряде случаев эти структуры имеют таксономическое значение.

Морфологическая характеристика культур осуществляется с использованием следующего лабораторного оборудования: ламинарные шкафы ВЛ-12, паровой стерилизатор (автоклав) ГК-100, термостаты ТС-1/80 и хладотермостаты ТСО-1/80, микроскопическая техника (световой микроскоп AxioScope A1, Carl Zeiss, стереомикроскопы МБС-10 и МС-2), холодильники, центрифуги, вытяжные шкафы и т.д.; оргтехники (PC с ОС Windows, принтеры, сканеры и пр.), фототехники (цифровые фотокамеры Canon, Olympus и пр.) и

расходных материалов: комплекты инструментов для работы в ламинаре, наборы микропипеток, стерильные пластиковые чашки Петри, реактивы для приготовления сред, спирт, предметные и покровные стекла и т.д.

Зав. лабораторией биохимии грибов БИН РАН,
Куратор Коллекции LE-BIN



Н.В. Псурцева