

Я.М. СЛОБОДЯН, М.О. СІРКО

Український науково-дослідний інститут гірського лісівництва ім. П.С. Пастернака
вул. Грушевського, 31, Івано-Франківськ, 76000, Україна

ПОШУК АНТАГОНІСТІВ *ARMILLARIELLA MELLEAE* (FR. ex VAHL.) KARST В ЯЛИНОВИХ І БУКОВИХ ЛІСАХ УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ

Ключові слова: гриб-патоген, гриб-антагоніст, біологічний метод, міжштамовий поліморфізм, антагоністична активність, метаболіти

Найнебезпечнішою хворобою хвойних порід вважається коренева гниль, збудником якої є *Armillariella mellea* (Fr. ex Vahl.) Karst — опеньок осінній. Спричинюючи білу заболонну та комлеву гнилі, він призводить до уражень, що за інтенсивністю можуть сягати рівня епіфітотій [5]. Зараз в Європі у межах відомого виду *A. mellea* виділено п'ять інтерстерильних форм з різною агресивністю до рослини-хозяїна [6]. Агресивність посилюється зі збільшенням живильної бази — пнів на місці вирубок. Характерною особливістю гриба-патогена є розмноження базидіоспорами, що проростають на пнях, та зараження за допомогою ризоморф, які, поширюючись під корою уражених дерев і в гумусовому шарі ґрунту, утворюють густу сітку площею понад 100 м² [7].

У боротьбі з опеньком можна виділити два напрямки: знищення пнів, що залишаються після вирубок, як субстрату для інфекції, та нейтралізація гриба-патогена хімічними, біологічними або іншими засобами. Другий напрямок інтегрованої системи лісозахисту — це максимальне використання біологічних препаратів на базі грибів-антагоністів. Тому важливим є пошук грибів-антагоністів у складі мікобіоти ялинових та букових пралісів заповідного фонду Карпат.

Штучне заселення пнів сапротрофними грибами-ксилотрофами може забезпечити конкурентну боротьбу зі збудником інфекції та витіснити гриба-патоген із корневих систем деревостану. Водночас гриби-антагоністи беруть участь у процесах біодеструкції деревини, що інтенсифікує кругообіг речовин та ґрунтоутворення.

Першим апробованим засобом проти збудників корневих гнилей, впровадженим у практику лісозахисту деяких країн Європи, вважається інокуляція свіжозрубаних пнів хвойних порід спорами гриба-базидіоміцета *Peniophora gigantea* (Fr.) Mass. — пеніофори гігантської, яка виявляє виражені антагоністичні властивості до кореневої губки (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.). На основі вказаного гриба створено ряд біопрепаратів: P.G. Suspension у Великій Британії, Rotstop у Фінляндії, PG-IBL, PG-Dux у Польщі [7].

© Я.М. СЛОБОДЯН, М.О. СІРКО, 2007

Зауважимо, що штами організмів із різних біологічних і екологічних груп, включаючи представників ризосфери, мікоризних і дереворуйнівних грибів, які мають антагоністичні властивості до збудників хвороб рослин, залишаються недостатньо дослідженими [3, 4]. Метою нашої роботи було вивчення впливу різних штамів *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quel. на розвиток гриба-патогену *Armillariella mellea* (Fr. ex Vahl.) Karst.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами досліджень були штами *P. ostreatus* P-107, P-77 та PM-1 (P-107 та P-77 — із колекції культур Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України).

PM-1 ми виділили із дикорослих плодових тіл, зібраних на дослідних об'єктах у Карпатському національному природному парку (на території Підліснівського лісництва). На тих же об'єктах виділено дослідний штам *A. mellea*.

Культурально-морфологічні ознаки грибів вивчали методом чистих культур [1]. Виділення чистих культур грибів, дослідження антагонізму проводили на агаризованих живильних середовищах: сусло-агаровому (СА), сусло-агаровому із відваром дубової кори та картопляно-глюкозному (КГА).

Результати досліджень та їх обговорення

Найсприятливішим для росту культур виявилось 2 %-не сусло-агарове середовище, обране для подальших досліджень. На ньому чітко проявлялися культурально-морфологічні ознаки грибів. На СА із відваром дубової кори колонії грибів були глибше зануреними у субстрат, на КГА швидкість їх росту порівняно вища, але вони притиснуті до субстрату, із слабо розвинутим повітряним міцелієм.

Характерними морфологічними ознаками опенька в культурі є склеротичний тип колоній, темно-коричневе забарвлення, численні криві дихотомічно розгалужені ризоморфи. Міцелій гриба містить фенолоксидази: лакказу, пероксидазу, тирозиназу. Середньодобова швидкість росту опенька на СА за температури 25 °С становила 1,25 мм/добу.

За культурально-морфологічними ознаками штами *P. ostreatus* дещо відрізнялися один від одного. Характерні для всіх штамів риси — утворення плодових тіл у культурі, наявність на гіфках міцелію численних пряжок різної форми. Штами *P. ostreatus* також різнилися за швидкістю росту на СА: для P-107 вона становила 12,6 мм/добу, P-77 та PM-1 — 12,34 та 9,34 мм/добу, відповідно.

Для виявлення антагоністичної активності дослідних штамів грибів використано метод подвійних культур [1]. Стерильне сусло-агарове середовище у чашках Петрі інокулювали з протилежних боків міцелієм кожного із дослідних штамів. Відстань між інокулюмами — 6 см. Сумісне вирощування грибів здійснювалося у термостаті за температури 25 °С. Контакт колоній

P. ostreatus та *A. mellea* відбувся для Р-107 та Р-77 на 8-му добу після інокуляції, для РМ-1 — на 10-ту добу. На лінії контакту з колонією *A. mellea* колонія *P. ostreatus* утворювала міцеліальний валик і в подальшому гіллястими тяжами повільніше наростала на гриб-патоген (таблиця). Середньодобова швидкість росту Р-107 становила 6,25 мм/добу, Р-77 — 5,8, РМ-1 — 2,8 мм/добу. Повністю колонію опенька штам Р-107 обростав на 12-ту добу після інокуляції, Р-77 та РМ-1 — на 13-ту та 20-ту добу, відповідно. В усіх варіантах досліджень подвійних культур *A. mellea* гинув.

Очевидно, антагонізм між грибами виявляється через метаболіти, які вони виділяють у живильне середовище. Характерним для колонії опенька у подвійній культурі є прояв і активізація росту ризоморф у напрямку колонії *P. ostreatus*.

Вивчення антагонізму *in vitro* — надійний спосіб елімінування неефективних штамів із подальших досліджень [8], водночас для з'ясування можливості застосування потенційних штамів у біологічній боротьбі необхідні експерименти *in vivo*.

Для проведення таких досліджень були створені базові об'єкти у Карпатському НПП на території Підліснівського лісництва: кв. 14, вид. 35 та кв. 12, вид. 2. Об'єкти — дві дослідні ділянки мішаних ялиново-ялицевих деревостанів 80—100-річного віку, сильно пошкоджених кореневими гнилями (47—74 %), де у зимово-весняний період здійснено експериментальні реконструктивні рубки. Пні хвойних порід дерев інокулювали посівним міцелієм *P. ostreatus* (штам Р-77), вирощеним у лабораторії. Діаметр пнів становив 40—70 см. Інокуляцію проводили у травні. Посівний міцелій наносили на заболонну частину пня, з якого попередньо зрізали диск завтовшки 3—5 см; ним прикривали інокульовану поверхню. Слід зауважити, що всі пні, відведені під інокуляцію, були уражені опеньком осіннім — під корою корневих лап контрольних пнів в осінній період з'являлася біла віялоподібна плівка міцелію опенька.

Виявлено активний розвиток міцелію *P. ostreatus* на деревному субстраті пнів. Активність була вищою на сонячному боці пнів, затінених підростом. Гриб починав плодоносити через 5 місяців після інокуляції. Гриби у вигляді поодиноких шапинок або групами росли на місцях стику покривного диску і пня, частіше на північному боці. Шапинки сіро-коричневі, розміром 3—7 см, увігнуте-розпростерті, голі, вологі. Ніжка коротка, ексцентрична. Пластинки вузькі, м'якуш білий.

Швидкість лінійного росту колоній дослідних штамів *P. ostreatus* у подвійній культурі із *A. mellea*

Штам	Швидкість росту, мм /доба		
	монокультури	подвійна культура (до контакту з колонією <i>A. mellea</i>)	наростання на колонію <i>A. mellea</i>
Р-107	12,60	6,30	6,25
Р-77	12,34	6,10	5,80
РМ-1	9,34	4,80	2,80

На жодному із інокульованих пнів не виявлено плодових тіл *A. mellea* та інших дереворуйнівних грибів, що свідчить про конкурентну здатність *P. ostreatus* у боротьбі за субстрат та антагоністичні властивості щодо *A. mellea*. Необхідно згадати, що *P. ostreatus* є сапрофітним дереворуйнівним грибом, а також може уражати ослаблені дерева, спричинюючи білу гниль заболонної деревини [2]. Отже, екологічні особливості гриба, його спосіб живлення та результати досліджень дають підставу застосовувати посівний міцелій *P. ostreatus* для інокуляції пнів з метою прискорення їхньої біодеструкції. Це має обмежити поширення епіфітотії кореневої гнилі у хвойних лісах Карпат.

Результати подальших досліджень взаємовпливу дослідних штамів грибів на інокульованих пнях допоможуть визначити ефективність використання посівного міцелію *P. ostreatus* з метою біологічної боротьби з опенком осіннім в ялинових лісах.

1. Дудка Н.А., Вассер С.П., Эланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии: Справочник. — Киев: Наук. думка, 1982. — 552 с.
2. Рупачек В. Биология дереворазрушающих грибов. — М.: Лесн. пр-сть, 1967. — С. 21.
3. Слободян Я.М., Сирко М.О., Слободян П.Я. та ін. Антагоністичні відносини *Pleurotus ostreatus* (Fr. ex Jacq) Quel., *Laetiporus sulphureus* (Bull. ex Fr) Bond. et Sing., *Fistulina hepatica* (Schaeff.) Fr., *Calvatia gigantea* Fr. із *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref в умовах культури // Наук. вісн. УкрДЛТУ. Лісівничкі дослідження в Україні. — Львів, 2002. — С. 73—77.
4. Хансо М., Хансо С. Поиск антагонистов корневой губки // Лесоводственные исследования. — Таллинн: Valqus, 1985. — С. 122—145.
5. Шевченко С.В., Цилюрик А.В. Лесная фитопатология. — Киев: Высш. шк., 1986. — 384 с.
6. Korhonen K. Interfertility studies on the *Armillariella mellea* complex and on *Heterobasidion annosum* // Mat. Konf. IUFRO w Kassel, dotyczacey chorob korzeni drzew iglastych. — Kassel, 1978. — S. 259—266.
7. Manka K. Fitopatologia lesna. — Warszawa, Panstwowe wydawnictwo rolnicze i lesne, 1998. — 367 s.
8. Rishbeth J. Modern aspects of biological control of *Fomes* and *Armillaria* // Eur. J. For Path. — 1979. — 9, N 6.

Рекомендує до друку
І.О. Дудка

Надійшла 14.10.2005

Я.Н. Слободян, М.Е. Сирко

Украинский научно-исследовательский институт горного лесоводства
им. П.С. Пастернака, г. Ивано-Франковск

ПОИСК АНТАГОНИСТОВ *ARMILLARIELLA MELLEA* (FR. ex VANH.) KARST В ЕЛОВЫХ И БУКОВЫХ ЛЕСАХ УКРАИНСКИХ КАРПАТ

Изучен характер взаимовлияния *Pleurotus ostreatus* и *Armillariella mellea* в лабораторных и полевых условиях. Установлена антагонистическая активность исследуемых штаммов *P. ostreatus* к *A. mellea*, при этом выявлен межштаммовый полиморфизм. Разработан метод применения посевного мицелия *P. ostreatus* для ускорения процесса биодеструкции пней.

Ключевые слова: гриб-патоген, гриб-антагонист, биологический метод, межштаммовый полиморфизм, антагонистическая активность, метаболиты

Ya. M. Slobodyan, M. O. Sirko

P.S. Pasternak Ukrainian Research Institute for Mountain Forestry. Ivano-Frankivsk

SEARCH FOR ANTAGONISTS TO *ARMILLARIELLA MELLEA* (FR. ex VAHL.) KARST IN SPRUCE AND BEECH WOODS OF THE UKRAINIAN CARPATHIANS

The character of mutual relation of *Pleurotus ostreatus* and *Armillariella mellea* was investigated in laboratory and field conditions. The antagonistic activity of the research strain *P. ostreatus* to the *A. mellea* is established, the inter-strain polymorphism discovered.

The method of the application crops mycelium *P. ostreatus* for the acceleration of the process biodestruction the stumps is worked.

Key words: mushroom-pathogen, mushroom-antagonist, biological method, inter-strain polymorphism, antagonistic activity, metabolite