

Xylotrophic agaricomycetes – antagonists of rare mushroom *Hericium Coralloides* (Scop.) Pers. (Hericiaceae) in the pure culture

M.V. Pasaylyuk

National Natural Park “Gutsul'shchina”

Kosiv, Druzhby St. 84, Ukraine

E-mail: masha.pasajlyuk@gmail.com

Submitted: 12.08.2017. Accepted: 28.09.2017

It is established the patterns of growth and type of mutual relations of *Hericium coralloides* 2332 culture from PDA with the presence cultures of *Fomes fomentarius* 1528 and/or *Schizophyllum commune* 1763. It is established that cultures of *F. fomentarius*, i *S. commune* are antagonists to *H. coralloides* on the PDA by direct confrontation and consecutive combined cultivation culture method. But, during direct confrontation mycelium of *H. coralloides* cultivation with culture *F. fomentarius* and/or *S. commune* the inhibition effect was 60-84% on the 10th day of the experiment with stopping growth of *H. coralloides*. In the case of consecutive combined cultivation culture method, the inhibition effect was 15-35%. Mycelium of *H. coralloides* was growing to contact with antagonists. The obtained results indicate the importance for the growth and survival of *H. coralloides* mycelia of primary occupation of the nutrient medium in binary and triple compositions. Between *H. coralloides* and *F. fomentarius* for direct confrontation the fact of bilateral antagonism is established. For the triple composition of the selected cultures, the phenomenon of additive antagonism is characterized. For cultures of the composition the *S. commune* + *F. fomentarius* on the 10th day of the experiment, the fact of equilibrium confrontation was established. In direct confrontation for composition *H. coralloides* + *F. fomentarius* colonial characteristic was bilateral growth inhibition at a distance from the formation of inhibition zones. Colonies from binary composition *F. fomentarius* + *S. commune* and triple *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune* for direct confrontation growth stopped after contact. For variant *H. coralloides* + *S. commune* growth has been a stop of the colonies *H. coralloides* followed the growth of mycelium *S. commune*. In a series of consecutive combined cultivation culture method for binary and triple composition of cultures after contact the colonies of *H. coralloides* growth stopped, rare mushroom the colony continued to grow over antagonist's mycelium, but never overgrown it completely. According to the growth coefficients on PDA the monocultures *S. commune* and *F. fomentarius* belong to those growing at an average speed under the given experimental conditions, *H. coralloides* culture is slowly growing. These results are important for the remediation *H. coralloides* in vivo to avoid the loss of seed inoculum of *H. coralloides*. Fact antagonism between *H. coralloides* and *F. fomentarius* must be viewed for logs *Fagus silvaticus* involved to remediation *H. coralloides*.

Key words: *Hericium coralloides*; *Fomes fomentarius*; *Schizophyllum commune*; antagonism; direct confrontation; consecutive combined cultivation culture method

Ксилотрофні агарикоміцети – антагоністи рідкісного гриба *Hericium Coralloides* (Scop.) Pers. (Hericiaceae) в культурі

М.В. Пасайлюк

Національний природний парк «Гуцульщина»

м. Косів, вул. Дружби, 84, Україна

E-mail: masha.pasajlyuk@gmail.com

В результаті проведених досліджень виявлено закономірності росту та типи взаємовідносин культури *Hericium coralloides* 2332 на КГА у присутності культур *Fomes fomentarius* 1528 і/чи *Schizophyllum commune* 1763. Встановлено, що і *F. fomentarius*, і *S. commune* є антагоністами щодо *H. coralloides* в культурі на КГА і за прямої конфронтації і за послідовного сумісного культивування. Однак, за умов одночасного внесення і культивування міцелію *H. coralloides* з

культурою *F. fomentarius* та/чи *S. commune* інгібуючий ефект стосовно рідкісного гриба коливався в межах 60-84 % на 10-у добу експерименту із наступною зупинкою росту *H. coralloides*, тоді як у випадку поступового освоєння середовища конфронтуючими культурами інгібуння росту колоній *H. coralloides* склало лише 15-35 %, і їх ріст тривав до контакту із культурами антагоністів. Отримані результати яскраво свідчать про важливість для росту і виживання міцелію *H. coralloides* першочергового заселення ним живильного середовища у бінарних і трійних композиціях. При прямій конфронтації колоніям, сформованим у композиції *H. coralloides* + *F. fomentarius* властивим було двостороннє пригнічення росту на відстані із формуванням зони інгібуння. Ріст колоній у бінарній композиції *F. fomentarius* + *S. commune* та потрійній *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune* за прямої конфронтації зупинявся після їх контакту. Для варіанту *H. coralloides* + *S. commune* мала місце зупинка росту колоній *H. coralloides* із наступним наростанням міцелію *S. commune*. При послідовному сумісному культивуванні для бінарних композицій *H. coralloides* + *F. fomentarius*, *H. coralloides* + *S. commune* і потрійної *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune* після контакту колоній ріст *H. coralloides* припинявся, колонії антагоністів продовжували рости поверх міцелію рідкісного гриба, але так і не обросли його повністю. Отримані результати важливі для рекультиватії *H. coralloides* в природних умовах.

Ключові слова: *Hericium coralloides*; *Fomes fomentarius*; *Schizophyllum commune*; антагонізм; пряма конфронтація; метод послідовної сумісної культури

Вступ

Охорона рідкісних і зникаючих видів – актуальне питання для вчених, які вирішують проблеми природничих наук. Щодо грибів, як і інших груп живих організмів, розроблені і впроваджуються в практику два основні підходи збереження біорізноманіття – *in situ* та *ex situ* (Hawksworth, 1991, Hawksworth, 1991). Реалізація цих напрямів об'єднує зусилля мікологів-інвентаризаторів і мікологів, що підтримують життєдіяльність культур рідкісних або лікарських видів грибів в лабораторних умовах, проте не є запорукою відтворення або поповнення чисельності рідкісних видів в природі. Беручи до уваги той факт, що саме відтворення рідкісних грибів в природі могло б стати практичною реалізацією різного роду природоохоронних зусиль, нами, на базі Національного природного парку (далі НПП) «Гуцульщина» розроблена технологія *re situ*, що передбачає відпрацювання методик по внесенню і підтримці життєдіяльності міцелію аборигенних штамів грибів в природних субстратах до їх плодоношення (Petrichuk et al., 2017). Кінцевим ефектом таких дій стане зниження загрози зникнення рідкісних видів грибів: вилучення їх із Червоних списків, або перехід в категорію з менш вразливим статусом рідкісності.

Hericium coralloides (Scop.) Pers. - реліктовий вид, який характеризується низькою чисельністю, рідко реєструється в Європі, тому включений у Червоні списки цілого ряду європейських країн (Asef et al., 2014), в Червону книгу окремих регіонів Російської Федерації (Garibova, 2012), та Червону книгу України, категорія «вразливий» (Didukh, 2009). Штами гриба зберігаються у колекціях Всесвітньої федерації колекцій культур (WFCC) (Global Catalogue of microorganisms, 2016), Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (IBK) (Bisko et al., 2016), на кафедрі ботаніки Навчально наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету ім. Шевченка (Global Catalogue of microorganisms, 2016), Лабораторії екологічного моніторингу НПП «Гуцульщина» та ін.

H. coralloides - «старолісовий» вид, типовий індикатор умов пралісів і старовікових лісів (Izhyk, 2013), плодове тіла якого можна виявити на колодах бука лісового *Fagus sylvatica* L (Antonin et al., 2010, Zhang et al., 2017). Тому серед причин низької чисельності *H. coralloides* в природі – скорочення лісових площ, особливо букових старовікових лісів і пралісів, запаси мертвої деревини в яких більше 100 м³/га (Pogribnyu et al., 2015). Негативно на природне відтворення гриба впливає збір плодівих тіл *H. coralloides*, зміна клімату, особливо зниження вологи з одночасним підвищенням температури в літню пору року, низька схожість базидіоспор *H. coralloides* (не більше 1% в лабораторних умовах) і їх відносно невисока здатність до саморозповсюдження (більшість спор поширюються на відстань 1 м від плодового тіла гриба, тільки невелика частка на відстань 100 м і зовсім мало на відстань 1000 км) (Asef et al., 2014).

Але, ми вважаємо, що перелік причин скорочення чисельності *H. coralloides* неповний. *H. coralloides* – ксилотроф, здатний рости на букових колодах, провокуючи білу гниль а, значить, розкладати лігнін і целюлозу завдяки наявності целюлаз і оксидоредуктаз в ферментному комплексі (Daniljak et al., 1989, Zou et al., 2012, Kozarski et al., 2015). Ми припустили, що однією з причин низької чисельності *H. coralloides* є також той факт, що цей гриб – тільки один із багатьох ксилотрофів, що сприяє розкладу мертвої деревини *F. sylvatica*.

Гриби в природних умовах не ізольовані один від одного, вони взаємодіють з представниками інших видів і наслідки цих взаємодій можуть бути різними - від послідовного конвеєрного розкладу субстрату до одночасного використання трофічних ресурсів. Так і можлива ситуація, коли жоден з видів, що гіпотетично одночасно потрапили на субстрат, не здатний розкладати його в силу рівноцінних конкурентних здатностей за даних умов, або ж тільки один з видів успішно розвивається повністю або частково пригнічуючи розвиток іншого. І якщо питання конвеєрної зміни ксилотрофів на різних стадіях розкладання деревини досліджувалися (Khacheva, 2015), то проблема дослідження комбінацій «фунгісідства» і антагонізму між ксилотрофами стала актуальною сьогодні, в рамках стратегії ренатуралізації *H. coralloides*, оскільки субстратами для внесення міцелію *H. coralloides* в природні умови служать колоди *F. sylvatica*, які перебувають на різних стадіях розкладу і, відповідно, заселені іншими ксилотрофами (Petrichuk et al., 2017).

Серед мікроклімату гниючої букової колоди на різних стадіях розкладу можна виявити більше 40 видів різних грибів. Серед них – *Fomes fomentarius* (L.) Gillet, плодове тіла якого можна знайти майже на всіх стадіях розкладання і

Schizophyllum commune Fr., властивий для другої стадії розкладу (Khacheva, 2015). І *S. commune* і *F. fomentarius* виявляють схожі еколого-трофічні вимоги, зокрема, як і *H. coralloides* провокують білу гниль (Hadda et al., 2015, Humar et al., 2001, Tiron et al., 2016), поселяються на деревині тих же видів дерев, локалізуються в лісах однакового типу (Izhyk, 2013), а також їх можна виявити в межах одного субстрату на другій стадії розкладу букової колоди – стадії найбільш доступної при дослідженні проблем рекультивациі *H. coralloides* (Petrichuk et al., 2017). При цьому і *S. commune*, і *F. fomentarius*, на відміну від *H. coralloides*, широко розповсюджені види.

У природних умовах виокремити вплив окремо взятого фактору неможливо – адже одночасно діє цілий комплекс абіотичних та біотичних чинників. Для виявлення взаємодій конкурентного чи синергічного характеру між конкретними грибами зручно проводити дослідження з їх культурами. Тому дослідження питання можливого антагонізму на поживних середовищах між *H. coralloides* і розповсюдженими ксилотрофами ми розпочали із видів *S. commune* та *F. fomentarius*.

Метою роботи було встановити особливості росту культури *H. coralloides* на картопляно-глюкозному агарі в присутності культури *S. commune* і/чи *F. fomentarius*.

Матеріали і методи досліджень

Культури використаних в експерименті видів грибів люб'язно надані співробітниками Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного: *S. commune* 1763, *F. fomentarius* 1528, *H. coralloides* 2332, (Bisko et al., 2016).

Дослідження закономірностей росту *H. coralloides* в присутності культур ксилотрофів інших видів проводили на картопляно-глюкозному агарі (КГА, компоненти: картопля 200 г, глюкоза 20 г, агар 20 г, дистильована вода – до 1 л) (Bouziane et al., 2011).

Ріст і морфологію зразків монокультур вивчали, використовуючи в якості інокулюму агарові диски ($d = 7$ мм) з міцелієм семидобової культури кожного виду.

Ріст культур фіксували кожних 2-3 доби. Ростовий коефіцієнт оцінювали за формулою: $PK = dgh/t$, де d – діаметр колонії, мм, h – висота колонії, мм, g – щільність колонії (1 бал – рідкісна, 2 бали – середня, 3 бали – щільна), t – вік колонії, доба (Buchalo, 1988).

Антагоністичну активність між *H. coralloides* і іншими грибами досліджували методом прямої конфронтації (Bouziane et al., 2011, Comporta, 1985), який полягає в тому, що в одну чашку Петрі, що містить 15 мл КГА поміщали два або три види культур (комбінації: *Hericium coralloides* + *Fomes fomentarius*; *Hericium coralloides* + *Shizophyllum commune*; *Hericium coralloides* + *Fomes fomentarius* + *Shizophyllum commune*, *Fomes fomentarius* + *Shizophyllum commune*).

Як інокулюм використовували агарові диски ($d = 7$ мм) з міцелієм семидобової культури кожного виду, які поміщали діаметрально протилежно на КГА на відстані 2 см від краю чашки Петрі і 5 см один від одного. Контролем служили монокультури кожного виду гриба на КГА.

Залежно від мети експерименту культури в різних комбінаціях вносили або одночасно (Дослід №1, метод прямої конфронтації), або культури *Fomes fomentarius* та/чи *Shizophyllum commune* вносили через 10 діб (Дослід №2, метод сумісної культури Barinova et al., 2008, Lilli & Barnett, 1953) після пересіву культури *Hericium coralloides* (термін приурочений до переходу росту культури *H. coralloides* на КГА з лог-фази у стаціонарну, Petrichuk et al., 2014). Таким чином ми хотіли перевірити вплив одночасного та першочергового заселення культурою *H. coralloides* поживного середовища на її ростові потенції в присутності інших культур. Оскільки у обох випадках культури культивували спільно для зручності щодо досліду №2 у тексті використовували назву метод **послідовної сумісної культури**.

Контрольні та дослідні чашки інкубували 70 діб при 25 ° С. Темпи росту міцелію фіксували кожні 2-3 доби, вимірюючи діаметри колоній.

Оцінку інгібування росту *H. coralloides* визначали за формулою:

$$I \% = (1 - C_n / C_o) \times 100$$

де C_n - середній діаметр колоній *H. coralloides* в присутності *F. fomentarius* і/або *S. commune*, C_o - середній діаметр контрольних колоній *H. coralloides* (Bouziane et al., 2011, Comporta 1985). Від'ємні показники, отримані в результаті розрахунків, свідчили про факт синергізму між культурами.

Для встановлення повної картини взаємодії культур оцінювали також інгібування росту *S. commune* та *F. fomentarius* у присутності інших культур.

Оцінку інгібування росту *F. fomentarius* визначали за формулою:

$$I \% = (1 - C_n / C_o) \times 100$$

де C_n – середній діаметр колоній *F. fomentarius* в присутності *H. coralloides* і/або *S. commune*, C_o – середній діаметр контрольних колоній *F. fomentarius*.

Оцінку інгібування росту *S. commune* визначали за формулою:

$$I \% = (1 - C_n / C_o) \times 100$$

де C_n – середній діаметр колоній *S. commune* в присутності *H. coralloides* і/або *F. fomentarius*, C_o – середній діаметр контрольних колоній *S. commune*.

Для верифікації тотожності колоній гриба, отриманих в поверхневій культурі, при кожному пересіві відкладали по одній чашці Петрі, які зберігали в термостаті до формування телеоморфи.

Типологію взаємодій грибів у сумісній культурі визначали, опираючись на роби Barinova et al. (2008).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента (Lakin, 1990). Достовірними вважали результати, якщо $P \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Аналізуючи результати дослідження №1 (метод прямої конфронтації, в одну чашку Петрі досліджувані культури вносили одночасно) встановлено достовірне зниження інтенсивності міцеліального росту колоній *H. coralloides* в присутності як *F. fomentarius*, так і *S. commune* на 80 і 84% відповідно на десяту добу експерименту (табл.1).

Таблиця 1. Середній діаметр колоній *H. coralloides* на КГА на 10-у (*) і 14-у (#) добу експерименту. Метод прямої конфронтації.

Комбінація конфронтуючих культур	Середній діаметр <i>H. coralloides</i> в експерименті, см	Середній діаметр контролю <i>H. coralloides</i> , см	% інгібування
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i> + <i>S. commune</i>	2.00±0.3***	5.00±0.4*	60*
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i>	3.85±0.4#**	6.15±0.7#	37#
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i>	1.00±0.2***	5.00±0.4*	80*
<i>H. coralloides</i> + <i>S. commune</i>	1.15±0.2#**	6.15±0.7#	81#
<i>H. coralloides</i> + <i>S. commune</i>	0.80±0.1***	5.00±0.4*	84*
<i>S. commune</i>	0.80±0.1#**	6.15±0.7#	87#

Тут і надалі ** - різниця достовірна порівняно з контрольними показниками на відповідну добу експерименту, P≤0,05.

Відповідно, культури обох досліджених ксилотрофів за умов одночасного використання харчових ресурсів КГА антагоністи щодо *H. coralloides*. Інгібуючий ефект незначно підвищувався з продовженням терміну спільного культивування: діаметр колоній *H. coralloides* в присутності колоній *F. fomentarius* на чотирнадцятий день експерименту був на 81% меншим в порівнянні з контрольними показниками, в присутності колоній *S. commune* – на 87% порівняно з контролем (табл. 1). Антагонізм між колоніями досліджуваних ксилотрофів був двостороннім - не лише *F. fomentarius* мав високий інгібуючий ефект щодо *H. coralloides*, але і *H. coralloides* пригнічував ріст міцелію *F. fomentarius* на 82% на десяту добу і 73% - на 14 -і добу експерименту (табл. 2).

Таблиця 2. Середній діаметр колоній *F. fomentarius* на КГА на 10-у (*) і 14-у (#) добу експерименту. Метод прямої конфронтації.

Комбінація конфронтуючих культур	Середній діаметр <i>F. fomentarius</i> в експерименті, см	Середній діаметр контролю <i>F. fomentarius</i> , см	% інгібування
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i> + <i>S. commune</i>	2.80±0.3***	7.00±0.8*	60.00*
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i>	4.23±0.5#**	9.00±0.2#	53.00#
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i>	1.25±0.2***	7.00±0.8*	82.00*
<i>H. coralloides</i> + <i>S. commune</i>	2.46±0.3#**	9.00±0.2#	73.00#
<i>F. fomentarius</i> + <i>S. commune</i>	3.50±0.4***	7.00±0.8*	50.00*
<i>S. commune</i>	5.38±0.6#**	9.00±0.2#	40.00#

Досліджуючи закономірності росту колоній *H. coralloides* за одночасної контамінації культурами двох антагоністів, виявлено достовірно нижчий інгібуючий ефект сумарної дії *F. fomentarius* і *S. commune*, ніж в разі культивування *H. coralloides* в присутності культури тільки одного з цих ксилотрофів: 60% проти 80 – 84% на десятий день і 37% проти 81 і 87% на чотирнадцятий день експерименту (табл. 1). Таким чином, між культурами має місце адитивний антагонізм (Folt et al., 1999). Найнижчим інгібуючий ефект в бінарних культуральних моделях був відносно *S. commune* (табл. 3).

Таблиця 3. Середній діаметр колоній *S. commune* на КГА на 10-у (*) і 14-у (#) добу експерименту. Метод прямої конфронтації.

Комбінація конфронтуючих культур	Середній діаметр <i>S. commune</i> в експерименті, см	Середній діаметр контролю <i>S. commune</i> , см	% інгібування
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i> + <i>S. commune</i>	3.50±0.4***	6.00±0.7*	42.00*
<i>H. coralloides</i> + <i>F. fomentarius</i>	6.92±0.7#	8.00±0.7#	13,50#
<i>H. coralloides</i> + <i>S. commune</i>	2.00±0.2***	6.00±0.7*	67.00*
<i>H. coralloides</i> + <i>S. commune</i>	6.15±0.7#	8.00±0.7#	23.00#
<i>F. fomentarius</i> + <i>S. commune</i>	3.00±0.4***	6.00±0.7*	50.00*
<i>S. commune</i>	6.54±0,7#	8.00±0.7#	18.25#

У разі спільного культивування *F. fomentarius* і *S. commune* виявлено протидію культур одна одній в межах 50% для кожної з них, що дозволяє говорити про рівноважний ефект конфронтації і факт двостороннього антагонізму для цих грибів на десяту добу експерименту (див. табл. 2, 3). Тривале культивування (34 доби) *F. fomentarius*, *H. coralloides* і *S. commune* в різних комбінаціях дозволило встановити, що зупинка росту колоній навіть в умовах вільного простору в чашці Петрі мала місце для комбінації *F. fomentarius* + *H. coralloides* – для колоній *H. coralloides* з шостої, для *F. fomentarius* – з тридцятої доби експерименту (рис. 1а).

Ріст колоній в інших комбінаціях тривав практично до повного заповнення простору чашки Петрі, після чого зупинявся. Між конфронтуючими культурами лінія розмежування була чіткою (рис.1 b, c, d).

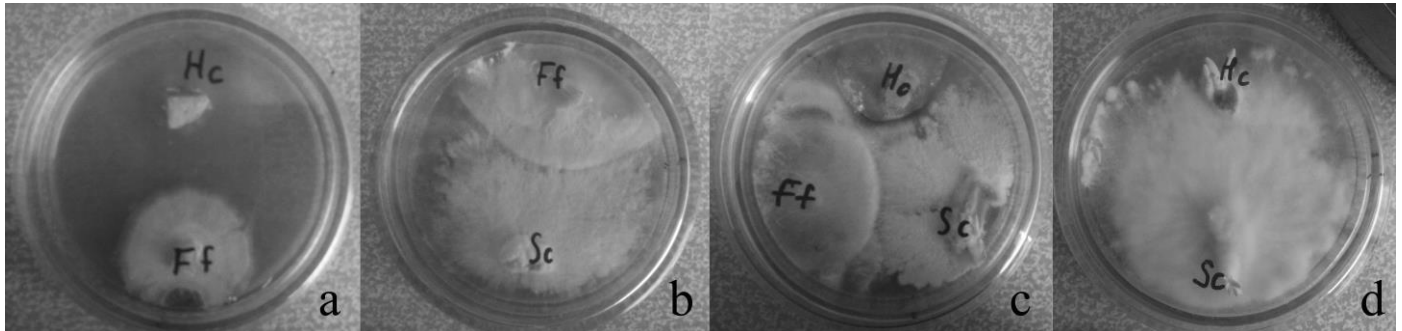


Рис. 1. Пряма конфронтація на КГА між культурами *F. fomentarius*, *H. coralloides* і *S. commune*, 34-а доба експерименту
Примітка: позначення на чашках Петрі - Ff – колонії *Fomes fomentarius*, Sc – колонії *Shyzyphyllum commune*, Hc – колонії *Hericium coralloides*

Таким чином, згідно Varinova et al., 2008, має місце IV (*H. coralloides* + *F. fomentarius*), III (*F. fomentarius*+*S. commune*; *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune*) та VIII тип (*H. coralloides* + *S. commune*) взаємовідносин грибів у спільній культурі. Тобто, для бінарної композиції *H. coralloides* + *F. fomentarius* реєстрували двостороннє пригнічення росту на відстані із формуванням зони інгібування, для *H. coralloides* + *S. commune* мала місце зупинка росту лише *H. coralloides* із наступним наростанням міцелію *S. commune*, у інших композиціях ріст колоній зупинявся після контакту.

Незважаючи на те, що і в присутності *F. fomentarius*, і *S. commune* ріст культури *H. coralloides* зупинявся практично повністю, і мало відрізнявся від розмірів інокулянтів, взятих для досліджень, це не стало перешкодою для отримання стадії телеоморфи для *H. coralloides* (рис 2а) в присутності сформованої телеоморфи культури *S. commune* (рис. 2b) на шістдесят шостий день експерименту.

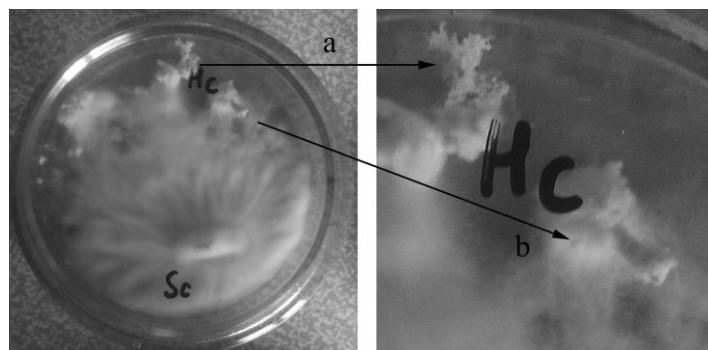


Рис. 2. Пряма конфронтація на КГА між культурами *H. coralloides* і *S. commune*, 66-а доба експерименту.
Примітки: позначення на чашках Петрі: - Sc – колонії *Shyzyphyllum commune*, Hc – колонії *Hericium coralloides*, a і b – стадія телеоморфи для культури *H. coralloides* і *S. commune* відповідно.

Причому стадія телеоформи отримана в цей період для всіх комбінацій і монокомпонентних культур, крім комбінації *F. fomentarius*+ *H. coralloides* (рис. 3 а, b, c).

Отримані результати свідчать про те, що і *F. fomentarius*, і *S. commune* є антагоністами щодо *H. coralloides*. Одночасне попадання міцелію *H. coralloides* і *F. fomentarius* і / або *S. commune* в субстрат, в складі якого представлені легкодоступні вуглеводи, супроводжується пригніченням росту колоній *H. coralloides*. Цьому факту може бути кілька пояснень.

По-перше, відібрана нами в експеримент культура *H. coralloides* була повільноростучою, свідченням чого є низькі ростові коефіцієнти, тоді як культури *F. fomentarius* і *S. commune* належать до таких, що ростуть із середньою швидкістю за даних експериментальних умов (табл. 4).

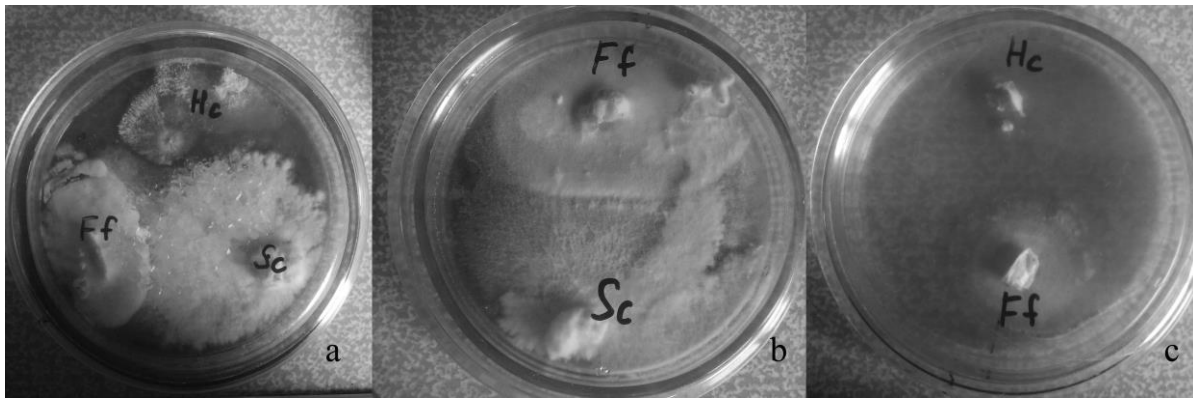


Рис. 3. Пряма конфронтація на КГА між трійними і бінарними композиціями культур *F. fomentarius*, *H. coralloides* и *S. commune*, 66-а доба експерименту. Примітки: позначення на чашках Петрі: - Sc – колонії *Shyzyphyllum commune*, Hc – колонії *Hericium coralloides*. Помітна стадія телеоморфи для культур на всіх комбінаціях, крім *F. fomentarius* + *H. coralloides*.

Таблиця 4. Ростові коефіцієнти (в балах) дереворуйнівних базидіоміцетів на КГА при 25 °С

Вид	Тривалість експерименту, доба		
	3	10	14
<i>H. coralloides</i>	25.89±2.38	21.73±2.18	13.18±1.41
<i>F. fomentarius</i>	100.00±4.90	84.00±4.32	77.00±2.12
<i>S. commune</i>	88.00±3.21	72.00±3.71	51.43±2.14

Таким чином, з огляду на біологічні характеристики культур, цілком закономірне інтенсивніше освоєння живильного середовища культурами, яким властиві високі ростові коефіцієнти. Але, виходячи тільки з цих міркувань, неможливо пояснити факт двостороннього антагонізму між *H. coralloides* і *F. fomentarius* за умов їх одночасного внесення у середовище. Ми припускаємо, що це явище може бути обумовлено виробництвом біологічно активних речовин культурами, з поки що не встановленою антагоністичною природою. Можливо також, що зупинка росту міцелію обумовлена двосторонньою секрецією ензимів в живильне середовище, дія яких спрямована на перехресну утилізацію мікропродуктів культур, кінцевим ефектом чого є зупинка росту. Основи для таких припущень знаходимо в роботах Pates et al., 1999.

Отже, культура і *F. fomentarius*, і *S. commune* у випадку одночасного з культурою *H. coralloides* потрапляння у середовище КГА є антагоністами відносно *H. coralloides*. Тому, гіпотетично, за умови одночасного потрапляння міцелію *H. coralloides* і *F. fomentarius* та/чи *S. commune* в субстрат, локалізований в природних умовах, шанси освоїти його для *H. coralloides* мізерні. Адже, як показано, ріст міцелію *H. coralloides* припиняється навіть при наявності вільної поверхні на живильному середовищі в чашці Петрі. Враховуючи отриманий результат припускаємо, що, імовірно, факт антагонізму між ксилотрофами є одним із вирішальних чинників нерезультативної рекультивациі *H. coralloides*, проведеної нами у природних умовах на колодах бука лісового II, III і IV стадій розкладу. Адже, як показали наші попередні дослідження (Petrichuk et al., 2017), плодоношення *H. coralloides* при застосуванні технології *re-situ* відбувалось тільки на колодах *Fagus sylvaticus*, які перебували на першій стадії розкладу розкладу, і які, відповідно, ще не були заселені іншими базидіоміцетами-ксилотрофами. Тому ми припустили, що одним із вирішальних чинників для успішної реалізації технології *re-situ* в природних умовах для *H. coralloides* є ступінь розкладу колод. Сьогодні можемо доповнити це твердження тим, що передумовою позитивного результату рекультивациі *H. coralloides* є відсутність ксилотрофів-антагоністів, зокрема *F. fomentarius* та/чи *S. commune*.

Враховуючи конкурентні взаємовідносини між культурами, що одночасно були внесені у поживне середовище, ми вважали за потрібне перевірити, чи антагоністичний ефект матиме місце по відношенню до *H. coralloides* і за умови, якщо *F. fomentarius* та/чи *S. commune* потраплять у чашку Петрі після того, як ріст культури *H. coralloides* перейде до стаціонарної стадії росту. Тому у досліді № 2 (метод **послідовної сумісної культури**) культури ксилотрофів ми вносили у живильне середовище у такій послідовності: спочатку культуру *H. coralloides*, а через 10 діб – культуру *F. fomentarius* та/чи *S. commune*. У зв'язку із цим середній діаметр колоній *H. coralloides* і, відповідно, відсоток інгібування їх росту, ми описували не на 10-у (бо це була перша доба внесення конфронтуючих культур), а на 14-у, 20-у та 24-у доби експерименту.

Ми встановили, що за умов розмежованого у часі потрапляння культур в одне середовище, відносно *H. coralloides* також має місце факт антагонізму між цією культурою та культурами *F. fomentarius* та *S. commune*. Однак інгібуючий ефект значно нижчий, в межах 15-22 %, не перевищує 35 % (табл. 5), на противагу отриманому методом прямої конфронтації – 60-87 % (див. табл. 1).

Таблиця 5. Середній діаметр колоній *H. coralloides* на КГА на 14-у (#), 20-у (^) і 24-у (!) добу експерименту. Метод послідовної сумісної культури.

Комбінація конфронтуючих культур	Середній діаметр <i>H. coralloides</i> в експерименті, см	Середній діаметр контролю <i>H. coralloides</i> , см	% інгібування	% синергізму	Формування I типу взаємовідносин
<i>H. coralloides</i> +	5.25±0.8#	6.15±0.7#	14.63#	---	---
<i>F. fomentarius</i> +	7.00±1.1^	6.25±0.4^	---	12^	---
<i>S. commune</i>	6.75±0.7	7.00±0.7!	---	---	+++!
<i>H. coralloides</i> +	4.0±0.4#,**	6.15±0.7#	35.00#	---	---
<i>F. fomentarius</i>	5.1±0.5^,**	6.25±0.4^	18.40^	---	---
	5.6±0.5!	7.00±0.7!	20.00!	---	---
					*З 30-ої доби експерименту
<i>H. coralloides</i> +	4.75±0.5#,**	6.15±0.7#	22.76#	---	---
<i>S. commune</i>	5.25±0.5^,**	6.25±0.4^	16.00^	---	---
	5.6±0.6!,**	7.00±0.7!	20.00!	---	---
					*З 26-ої доби експерименту

Примітки: ** - різниця достовірна порівняно з контрольними величинами на відповідну добу експерименту, $P \leq 0,05$; +++ - має місце формування I типу взаємовідносин культур грибів; --- - ефект відсутній

Більше того, за умов послідовної сумісної культури для трикомпонентної композиції реєстрували недостовірний синергічний ефект на 20-у добу експерименту, зумовлений незначно більшими розмірами колоній *H. coralloides* у композиції, ніж у монокультурі. Як і за методу прямої конфронтації, методом послідовного сумісного культивування для композиції із трьох культур виявлений також факт адитивного антагонізму – на 14 – у добу експерименту (табл. 5). Примітно, що після посіву культур *F. fomentarius* та/чи *S. commune* ріст культури *H. coralloides* в умовах послідовного сумісного культивування не припинявся, а тривав у всіх досліджуваних варіантах до повного заповнення простору чашки Петрі і контакту культур з добре помітною лінією їх розмежування (рис. 4 а, б, с).

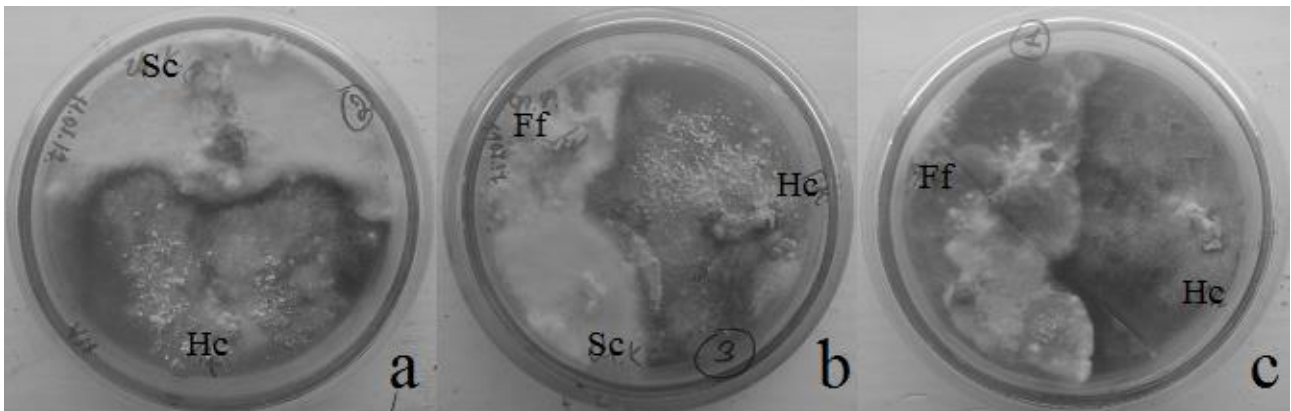


Рис. 4. Метод послідовної сумісної культури між трійними і бінарними композиціями культур *F. fomentarius*, *H. coralloides* і *S. commune*, 30-а доба експерименту. Примітки: позначення на чашках Петрі: - Sc – колонії *Shyzyphyllum commune*, Hc – колонії *Hericium coralloides*, Ff – колонії *Fomes fomentarius*. Помітна стадія телеоморфи для культур на всіх комбінаціях, крім *F. fomentarius* + *H. coralloides*.

Після цілковитого обростання поверхневої культури міцелієм грибів у всіх варіантах, крім *H. coralloides*+*F. fomentarius*, починали формуватися зачатки плодових тіл. Ріст міцелію *H. coralloides* на цьому зупинився, тоді як колонії *F. fomentarius* та *S. commune* продовжували освоювати середовище, і повільно росли поверх колонії *H. coralloides*, однак так і не покрили її повністю. Для бінарних композицій *H. coralloides*+*F. fomentarius* та *H. coralloides*+*S. commune* I тип взаємовідносин грибів у сумісній культурі (після контакту колоній ріст однієї із них припиняється, інша продовжує рости поверх неї, Varinova et al., 2008) встановлювався на 30-у та 26-у добу від початку експерименту відповідно, для потрібної композиції така особливість мала місце, починаючи з 24-ої доби експерименту (табл. 5).

Таким чином, ми встановили особливості взаємовідносин грибів в умовах послідовного сумісного культивування. Можемо припустити, що здатність культур одних базидіоміцетів рости поверх інших зумовлена, в першу чергу, наявністю на момент експерименту невичерпаного доступного поживного середовища, та, імовірно, біологічними характеристиками культури *H. coralloides*, зокрема її загибеллю після плодоношення. Однак, зважаючи на те, що в умовах монокультури *H. coralloides* залишається життєздатним довше, ніж 30 днів (Petrichuk et al., 2014), то, очевидно,

трофічні можливості культур широко розповсюджених ксилотрофів *F. fomentarius* та *S. commune* потужніші, ніж рідкісного гриба *H. coralloides*.

Висновки

Проведені дослідження дозволили виявити закономірності росту та типи взаємовідносин культури *H. coralloides* 2332 на КГА у присутності культур *F. fomentarius* 1528 і *S. commune* 1763. Встановлено, що і *F. fomentarius*, і *S. commune* є антагоністами щодо *H. coralloides* в культурі на КГА і за прямої конфронтації і за послідовного сумісного культивування. Однак, за умов одночасного внесення і культивування міцелію *H. coralloides* з культурою *F. fomentarius* та/чи *S. commune* інгібуючий ефект стосовно рідкісного гриба коливався в межах 60-84 % на 10-у добу експерименту із наступною зупинкою росту *H. coralloides*, тоді як у випадку поступового освоєння середовища конфронтуючими культурами інгібуювання росту колоній *H. coralloides* склало лише 15-35 %, і їх ріст тривав до контакту із культурами антагоністів. Отримані результати яскраво свідчать про важливість для росту і виживання міцелію *H. coralloides* першочергового заселення ним живильного середовища у бінарних і трійних композиціях.

Між *H. coralloides* і *F. fomentarius* при прямій конфронтації встановлений факт двостороннього антагонізму. Потрійній композиції з відібраних у експеримент культур властиве явище адитивного антагонізму. Для культур бінарної композиції *S. commune* + *F. fomentarius* на десятий день експерименту встановлений факт рівноважної конфронтації. При прямій конфронтації колоніям, сформованим у композиції *H. coralloides* + *F. fomentarius* властивий був IV тип взаємодії – двостороннє пригнічення росту на відстані із формуванням зони інгібуювання. Колоніям бінарної композиції *F. fomentarius* + *S. commune* та потрійної *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune* за прямої конфронтації встановлений III тип взаємодії – ріст колоній зупинявся після їх контакту. Для варіанту *H. coralloides* + *S. commune* мала місце зупинка росту колоній *H. coralloides* із наступним наростанням міцелію *S. commune*, тобто VIII тип взаємодії. При послідовному сумісному культивуванні для бінарних композицій *H. coralloides* + *F. fomentarius*, *H. coralloides* + *S. commune* і потрійної *H. coralloides* + *F. fomentarius* + *S. commune* після контакту колоній ріст *H. coralloides* припинявся, колонії антагоністів продовжували рости поверх міцелію рідкісного гриба, але так і не обросли його повністю, тобто властивим був I тип взаємодії.

Згідно ростових коефіцієнтів монокультур на КГА, культури *S. commune* і *F. fomentarius* належать до тих, що ростуть із середньою швидкістю за даних умов експерименту, культура *H. coralloides* – повільноростуча.

Отримані результати мають важливе значення для рекультивациі *H. coralloides* в природних умовах. З огляду на виявлений антагонізм між *H. coralloides* і *F. fomentarius* та *S. commune* використовувати в якості субстратів для внесення міцелію *H. coralloides* колоди *F. sylvatica*, уражені *F. fomentarius* та/чи *S. commune* недоцільно. Ця рекомендація дозволить уникнути втрат посівного інокулянту *H. coralloides* при діях, спрямованих на відтворення *H. coralloides* в природі.

Отримані результати цікаві також, на наш погляд, тим, що в умовах конкуренції за субстрат, досліджувані культури, швидше за все, виробляють біологічно активні речовини антагоністичного характеру, які мало ймовірно (або неможливо) отримати в умовах монокультури грибів. Вивчення складу і властивостей цих метаболітів, здатних пригнічувати ріст ксилотрофів, може виявитися новим шляхом для отримання фунгіцидних препаратів.

Подяки

Автор висловлює щирі подяки Н.А. Бісько, Т.В. Андріановій, М.Л. Ломберг, О.Б. Михайловій, (Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного) та М.М. Сухомлин (Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка) за надані для експерименту культури грибів, поради, зауваження.

References

- Antonin, V., Kotlaba, F., Kluzak, Z., Ostry, V., Shkubla, P., Vesely, I. (2010). Fungi. Big encyclopedia. Publishing House Riders Digest, France (in Russian).
- Asef, M.R., Dahlberg, A., Daniele, I., Harsh, N., Hattori, T., Ivančević, B., Karadelev, M., Kunca, V., Kędra, K., Nadyeina, O., Ibarguren I.O., Perini C., Bonsdorff T. (2014). The Global Fungal Red List Initiative. *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. Retrieved from: http://iucn.ekoo.se/iucn/species_view/120231, Accessed on 31.08.2017.
- Barinova, K.V., Vlasov, D.Yu., Psurtseva, N.V. (2008). Antagonistic relationships between *Agaricales* macromycetes and micromycetes – biodestructors during the experiment. Modern mycology in Russia, vol. 2: Materials of 2th Congress of Russia. National Academy of Mycology, Moscow, 217–218 (in Russian).
- Bisko, N.A., Lomberg, M.L., Mytropolska, N.Yu., Mykchaylova, O.B. (2016). The IBK mushroom culture collection. Kyiv, M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of the Ukraine, Kyiv, Alterpres (in Ukrainian).
- Bouziane, Z., Dehimat, L., Abdelaziz, W., Benabdelkader, M., Kacemchaouche, N. (2011). The antagonism between *Trichoderma viride* and other pathogenic fungal strains in *Zea mays*. Agric. Biol. J. N. Am, 2(4), 584 – 590.
- Bukhalo A.S. (1988). Higher edible Basidiomycetes in pure culture. Naukova dumka, Kiev (in Russian).
- Comporta, P. (1985). Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kuhn. Agronomies, 5, 613-620.

- Danilyak, N.I., Semichaevskiy, V.D., Dudchenko, L.G., Trutneva, I.A. (1989). Enzyme system of higher Basidiomycetes. Naukova dumka, Kiev (in Russian).
- Didukh, Ya.P. (2009). Red book of Ukraine. Plantage. Kiev, Globalkonsaltyng (in Ukrainian)
- Folt, C.L., Chen, C.Y., Moore, M.V., Burnaford, J. (1999). Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnol. Oceanogr*, 44 (3, part 2), 864 – 877.
- Garibova, L.V. (2012). Fungi in the Red book of Moscow region. *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. Retrieved from: http://kkmo2.verhovye.ru/rb/fungi/hericium_coralloides.php, Accessed on 31.08.2017 (in Russian)
- Global Catalogue of Microorganisms. (2016). *Hericium coralloides* Strain number total 36. Retrieved from: http://gcm.wfcc.info/NameListDisplayInServlet?name=Hericium%20coralloides&displayin=table&strain_number=&advanced=null&namelist_collection=&namelist_temperature=&namelist_organismtype=&namelist_isolatedfrom=#, Accessed on 31.08.2017.
- Hadda, M., Djamel, C., Akila, O. (2015). Screening of Extracellular Enzyme Activities of *Ganoderma* and *Fomes* Species Collected from North East Algeria. *RJPBCS*, 6(4), 1455 – 1462.
- Hawksworth, D.L. (1991). The numbers of fungi, their significance in ecosystem function, conservation, and importance to man. *Ukrainian botanical journal*, 48(5), 5–13.
- Hawksworth, D.L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 95, 641–655.
- Humar, M., Petric, M., Pohleven, F. (2001). Changes of the PH value of impregnated wood during exposure to wood-rotting fungi. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 99, 288–293.
- Izhyk, G.V. (2013). Mushrooms-destroyers of dead wood in the virgin beech forests. *Scientific Bulletin of the National Forestry University of Ukraine*, 23(11), 44–49 (in Ukrainian.)
- Khacheva, S.I. (2015). Ways of mycogenetic decomposition of wood in the forest ecosystems of specially protected natural territories of the republic of Abkhazia. *Scientific notes of the Kazan University. Natural Sciences*, 157(1), 75–89.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrovic, P., Niksie, M., Vrvie, M., Griensven, L. (2015). Antioxidants of Edible Mushrooms. *Molecules*, 20, 19489-19525.
- Lakin, G.F. (1990). *Biometrics: a manual for biological specialties universities*, 4th ed. Vysshaya shkola, Moscow.
- Lilli, V., Barnett, G. (1953). *Physiologi of fungi*. Moscow. Mir (in Russian).
- Pates, E., Meredith, F., Smart, W., Bacon, C.W., Jaworski, A.J. (1999). *Trichoderma viride* suppresses de fumonisin B₁ production by *Fusarium moniliforme*. *J Food Protects*, 66, 1326–1332.
- Petrichuk, Yu.V., Pasaylyuk, M.V., Suhomlin, M.M. (2017). Aspects the reproduction of *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. by re-situ method in the National natural park "Gutsul'shchina". *Bioresources and nature management*, 9(1-2), 1–17 (in Ukrainian).
- Petrichuk, Yu.V., Pasaylyuk, M.V., Suhomlin, M.M. (2014). Mushrooms Red Book of Ukraine in Culture. 1. Patterns of Growth *Hericium coralloides*. *Nature of Eastern Polissya and neighbor territory*, 11, 162–166.
- Pogribnyy, O.O., Stefurak, Yu.P., Prorochuk, V.V., Fokshey, S.I. (2015). Virgin Forests and Old Growth Forests of Gutsul'shchyna National Park. *Scientific Bulletin National Forestry university of Ukraine*, 25(10), 87–97 (in Ukrainian).
- Tiron, O., Bumbac, C., Cristea, I.N., Cosma, C. (2016). Textile Dyes Decolourisation by White-Rot Fungus *Fomes fomentarius*. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 17(1), 331-340.
- Zhang, C., Li, C., Ye, W., Yang, M. (2017). The Complete Mitochondrial Genome of *Hericium coralloides* (Hericaceae, Basidiomycota). *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, 2(2), 385-386.
- Zou Y.-J., Wang H.-X., Ng T.-B., Huuang C.-Y., Zhang J.-X. (2012). Purification and Characterization of Novel Laccase from the Edible Mushroom *Hericium coralloides*. *The Journal of Microbiology*, 50(1), 72-78.

Citation:

Pasaylyuk, M.V. (2017). Xylotrophic agaricomycetes – antagonists of rare mushroom *Hericium Coralloides* (Scop.) Pers. (Hericaceae) in the pure culture. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(3), 225–233.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License