

Минск. Жилкин Б.Д., Шипова И.П. Влияние биологической мелиорации на повышение смолопродуктивности в средневозрастных насаждениях сосны обыкновенной в БССР. Лесной ж. Изв. высш. учебн. завед., вып. 6. Жилкин Б.Д., Григорьев В.П., Рожков Л.Н. 1970. Влияние многолетнего люпина на фитоклимат культур ели. В сб.: Лесоведение и лесное хоз-во, вып. 3, Минск. Рихтер И.Э. 1966. Влияние многолетнего люпина на рост сосны и ели. Автореф. канд. дис. Минск. Шипова И.П. 1969. Смолопродуктивность сосновых насаждений и ее повышение культурой люпина многолетнего. Тез. докл. научн.-техн. конф. молодых ученых Белоруссии. Минск. Чичибабин А. Е. 1963. Основные начала органической химии, т. 1, М. Veru-feld P. 1955. Methods in enzymology, V. IV, p. 149, N-Y.

## СКОРОСТЬ РОСТА И АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ ГРИБОВ ИЗ РОДА *Phellinus*, ВЫЗЫВАЮЩИХ СЕРДЦЕВИННУЮ ГНИЛЬ ЛИСТВЕННЫХ ПОРОД

Н.И. Стайченко, Н.И. Федоров

(Белорусский технологический институт им. С.М. Кирова)

К роду *Phellinus* относятся несколько близких между собой видов грибов, встречающихся на многих лиственных породах и вызывающих в общих чертах сходную сердцевинную гниль (Ванин, 1955). Однако процесс заражения и развития гнили у отдельных пород протекает по-разному. А.С. Бондарцев (1912) на основании различия по внешнему виду плодовых тел установил для ложного трутовика несколько форм: осиновою, березовую, кленовую, ольховую и др. П.Н. Борисов (1940) обнаружил на осине два вида ложного трутовика, которые были выделены в самостоятельные виды Бондарцевым (1953). Ролл-Хансен (1967) сравнил морфологические и культуральные признаки этих видов и подтвердил их самостоятельность. В то же время изучение тех же свойств у березовой и осиновой форм ложных трутовиков показало их идентичность. Однако сравнительные исследования более глубоких процессов метаболизма у разных видов и форм ложных трутовиков не проводились. Поэтому в нашей работе, кроме исследования культуральных признаков

Таблица 1. Перечень штаммов ложных трутовиков

Вид	№ штамма	Древесная порода	Время сбора плодовых тел	Место произрастания древесных пород
<i>Phellinus tremulae</i>	1	Осина живая	Июнь 1965 г.	Минский район
"	2	"	Сентябрь 1971 г.	Рижский район
"	3	"	Июнь 1972 г.	Район Тарту
"	4	"	Май 1971 г.	Беловежская пуша
<i>Phellinus igniarius</i>	5	"	Сентябрь 1966 г.	Минский район
"	6	"	Май 1971 г.	Беловежская пуша
"	7	"	Июнь 1972 г.	Район Тарту
"	8	Осина валежная	Май 1971 г.	Беловежская пуша
"	9	Береза живая	Июнь 1972 г.	Район Тарту
"	10	Береза	-	Ленинград, ЛТА шт. № 12-64
"	11	Береза сухостойная	Май 1971 г.	Беловежская пуша
"	12	Клен живой	Сентябрь 1970 г.	Минский район
"	13	"	Май 1971 г.	Беловежская пуша
"	14	Ольха живая	Сентябрь 1970 г.	Минский район
"	15	Ольха сухостойная	Июнь 1972 г.	Район Тарту
"	16	Ива козья живая	Сентябрь 1970 г.	Минский район
"	17	"	Май 1971 г.	"
"	18	Грб живой	Май 1971 г.	Беловежская пуша
<i>Phellinus robustus</i>	19	Дуб живой	Май 1971 г.	"

ложных трутовиков (скорости линейного роста, накопления биомассы мицелия, кислотности среды, окраски пигмента), была изучена активность внутриклеточной и внеклеточной пероксидазы, участвующей в разложении лигнина древесины.

Для исследования взяты следующие группы грибов: 5 штаммов ложного осинового трутовика *Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. et Boriss; 13 штаммов ложного трутовика, выделенных из плодовых тел с зараженных стволов осины, березы, ивы, ольхи, клена, граба и 1 штамм ложного дубового трутовика *Phellinus robustus* (Karst.) Bourd. et Galz.

Чистые культуры грибов получены из плодовых тел, собранных в Минском районе Белоруссии и в Беловежской пуше. Несколько штаммов были привезены из Эстонии, Латвии и Ленинграда (табл. 1). Штаммы ложного осинового трутовика (№ 4) и ложного трутовика (№ 6) выделены из плодовых тел совместно произрастающих на одном стволе осины. Культуры поддерживались на 8%-ном сусло-агаре.

Линейный рост мицелия определялся путем замера диаметра колоний в двух перпендикулярных направлениях через каждые 5 дней при выращивании грибов на агаризованном пивном сусле в колбах Эрленмейера на 250 мл (диаметр дна колбы - 90 мм) при комнатной температуре в течение двух месяцев.

Для исследования накопления биомассы мицелия и активности пероксидазы мицелий грибов выращивался на жидком 8%-ном сусле в колбах Эрленмейера на 250 мл по 50 мл питательной среды в каждой колбе. Рост происходил в течение двух месяцев на качалке при 25°С. Для определения накопления биомассы мицелия через каждые 5 дней мицелий отфильтровывался, высушивался и взвешивался. При изучении активности внутриклеточной пероксидазы мицелий также отфильтровывался от культуральной жидкости, промывался дистиллированной водой, отжимался в фильтровальной бумаге, и его определенная навеска растиралась в фарфоровой ступке с фосфатным буфером рН 5, 9. Активность пероксидазы определялась по методу, основанному на измерении интенсивности окраски продукта окисления о-дианизидина перекисью водорода, образованного под действием фермента (Гудкова, Дегтярь, 1968). Единица активности пероксидазы соответствует количеству фермента, катализирующего превращения 1 мкмоль за 1 мин. в оптимальных условиях. В культуральной жидкости определялся рН с помощью рН-метра ЛПМ-60М.

Наши исследования показали, что разные штаммы ложного трутовика имели неодинаковую скорость линейного роста мицелия (табл. 2).

Таблица 2. Линейный рост мицелия штаммов ложных трутовиков

№ штам- ма	Диаметр колоний гриба (мм) при выращивании в течение суток					
	10	20	30	40	50	60
1	17	31	45	60	63	68
2	19	56	80	90	-	-
3	17	23	30	34	40	56
4	12	22	30	43	55	65
5	7	33	53	74	80	90
6	10	18	28	38	48	57
7	37	67	90	-	-	-
8	16	36	43	68	79	90
9	34	80	90	-	-	-
10	31	68	90	-	-	-
11	35	69	90	-	-	-
12	14	42	67	90	-	-
13	8	30	50	78	90	-
14	7	13	22	36	47	76
15	22	45	68	90	-	-
16	35	76	90	-	-	-
17	18	64	83	90	-	-
18	26	68	90	-	-	-
19	47	90	-	-	-	-

Среди них медленным ростом мицелия отличались штаммы ложного осинового трутовика. Так, мицелий штаммов № 1, 3, 4 даже на 60-е сутки роста не покрывал поверхности питательной среды в колбах. В то же время штаммы № 2 и 5 росли быстрее, первый покрывал мицелием питательную среду на 40-е сутки роста, а второй - на 60-е. Более быстрым линейным ростом обладали штаммы ложного трутовика, выделенные из стволов клена, осины, березы, ольхи, ивы и граба: мицелий достигал краев колбы к 30-м суткам роста. В этой группе грибов имелись три штамма (№ 6, 8, 14) с более медленным ростом, чем остальные. Ложный трутовик (№ 6), выделенный из одного ствола осины при совместном произрастании на нем с

Таблица 3. Накопление биомассы мицелия штаммов ложных трутовиков

№ штамма	Вес сухого мицелия (мг) при выращивании в течение суток				
	10	20	30	40	50
1	5	164	248	419	264
2	6	286	207	333	507
3	43	201	155	390	343
4	46	133	394	428	385
5	5	96	118	352	162
6	4	26	75	526	430
7	120	774	1635	1025	1005
8	30	201	434	603	565
9	105	1153	1329	1064	827
10	61	775	1693	1385	791
11	21	167	812	789	562
12	3	48	638	932	894
13	1	201	896	1525	990
14	22	34	217	685	650
15	25	264	618	833	780
16	234	692	1049	772	709
17	76	472	579	663	310
18	5	434	833	633	-
19	6	197	919	1313	1209

ложным осиновым трутовиком, не отличался по скорости роста от медленно растущего штамма ложного осинового трутовика в культуре. Ложный дубовый трутовик характеризовался самым быстрым линейным ростом: уже на 15 сутки вся поверхность питательной среды была покрыта пышным мицелием.

Наибольшее накопление биомассы мицелия при выращивании в жидкой среде наблюдалось у штаммов ложного трутовика (табл. 3).

Накопление мицелия у большинства штаммов ложного осинового трутовика происходило менее интенсивно: максимальный вес мицелия наблюдался на 40-50-е сутки и был в 3-4 раза меньше, чем у наиболее быстрорастущих штаммов ложного трутовика.

Накопление биомассы мицелия у ложного дубового трутовика было довольно высокое с максимумом на 40-е сутки выращивания.

Как видно из приведенных данных (табл. 2 и 3), не все штаммы исследуемых групп грибов имели одинаковые скорость роста и накопление мицелиальной массы. В каждой группе были штаммы, характеризовавшиеся более быстрым или замедленным ростом. Таким образом, признаку скорости роста нельзя придавать, по нашему мнению, решающее значение, как предлагают некоторые авторы (Суворов, 1965).

Все исследуемые штаммы грибов выделяли в питательную среду окрашивающие пигменты. Штаммы ложного осинового трутовика принадлежали к S-типу и окрашивали среду в очень темный коричневый цвет. Погруженный мицелий, выросший на жидкой питательной среде, был такого же цвета.

У штаммов ложного трутовика выделялись в среду пигменты от светло-коричневого до коричневого цвета.

Ложный дубовый трутовик отличался желтым пигментом, появляющимся к концу опыта.

Известно, что дереворазрушающие грибы способны регулировать pH среду, в которую они помещены (Рипачек, 1967). Все штаммы ложных трутовиков в течение двухмесячного роста изменяли начальную величину pH питательной среды, равную 5,1. Наиболее сильно подкислял среду ложный дубовый трутовик (pH 4,2). Величина pH культуральной жидкости после роста штаммов ложного осинового трутовика колебалась в пределах 4,9 - 5,1. Штаммы ложного трутовика, выделенные с осины, березы, клена, ивы, ольхи, имели в конце опыта pH среды от 5,3 до 5,6.

Как показали наши исследования, наиболее четкие различия у изучаемых групп грибов наблюдались при определении пероксидазы, активность которой была неодинакова.

Штаммы ложного осинового трутовика не синтезировали этого фермента: пероксидаза отсутствовала как в мицелии, так и в культуральной жидкости. Это согласуется с литературными данными: Хирт (1965) отмечал отсутствие этого фермента у колоний S-типа ложного осинового трутовика.

В то же время штаммы ложного трутовика из стволов лиственных пород характеризовались образованием пероксидазы, как в мицелии, так и в культуральной жидкости. Особенно активна пероксидаза культуральной жидкости (табл. 4).

Наибольшей активностью отличались штаммы ложного трутовика, развивающиеся на стволах древесных пород с плотной твердой древесиной (граб, клен, береза). Наименее активными были штаммы ложного трутовика, выделенные из лиственных пород с мягкой древесиной: осины (штамм № 6), ольхи (штамм

Таблица 4. Активность внеклеточной пероксидазы штаммов ложного трутовика

№ штамма	Количество единиц пероксидазы в 100 мл культуральной жидкости при выращивании в течение суток					
	10	20	30	40	50	60
6	0	0,3	0,5	11,4	80,3	139,0
7	0	15,4	345,3	626,5	9,1	1,5
8	0,7	2,5	54,8	66,2	262,5	26,4
9	0	3,7	200,6	582,8	837,5	4,5
10	1,6	3,5	74,0	342,1	37,0	19,4
11	0	5,8	295,3	604,6	328,1	14,1
12	0	8,8	303,1	895,3	179,7	50,8
13	0	2,3	72,1	851,5	571,8	19,5
14	0	1,0	58,1	375,0	28,5	0
15	0	17,2	145,3	259,0	28,9	-
16	0,8	43,7	510,9	189,0	8,4	-
17	2,4	62,5	166,5	215,0	3,5	-
18	0	7,1	610,9	879,7	757,8	69,3
19	0	13,3	390,6	75,0	3,3	-

№ 15), ивы (штамм № 17). Активность пероксидазы изменялась в зависимости от возраста мицелия. В первые 20 дней роста активность внеклеточной пероксидазы была незначительной у всех штаммов гриба. Начиная с 30 суток выращивания активность значительно возрастала, достигая максимума на 40 — 45-е сутки во время наибольшего накопления мицелиальной массы. На 50-е сутки роста активность фермента почти у всех штаммов резко снижалась.

Активность внутриклеточной пероксидазы проявлялась уже в 5-суточном мицелии, хотя и очень незначительная. Максимум активности достигался на 20—30-е сутки роста во время интенсивного роста мицелия. На 50-е сутки выращивания активность пероксидазы заметно снижалась, а у некоторых штаммов полностью отсутствовала (табл. 5).

Таким образом, все исследованные группы грибов различались по линейному росту и накоплению биомассы мицелия, по изменению рН среды, окраске пигмента, и особенно по наличию и активности пероксидазы.

Таблица 5. Активность внутриклеточной пероксидазы штаммов ложного трутовика

№ штамма	Количество единиц активности пероксидазы в 1 г мицелия при выращивании в течение суток				
	10	20	30	40	50
6	7,8	34,3	29,3	25,3	16,3
7	0	1,3	0,9	2,5	0
8	5,2	24,8	12,3	7,2	3,9
9	0	0,3	1,3	2,0	0,5
10	3,5	3,9	19,0	17,0	0,4
11	6,6	5,4	2,1	0	0
12	3,2	9,9	11,4	2,3	1,2
13	0	3,3	6,8	3,7	0,9
14	2,1	56,9	47,0	27,0	11,2
15	1,8	29,0	35,3	15,6	13,0
16	13,0	10,3	33,0	19,0	11,0
17	4,0	24,4	15,0	14,8	11,0
18	7,1	33,7	32,8	23,9	18,1
19	0,7	21,1	1,1	0,8	0

Штаммы ложного осинового трутовика характеризовались замедленным ростом, меньшим накоплением биомассы мицелия, интенсивным темно-коричневым пигментом и полным отсутствием пероксидазы.

Штаммы ложного трутовика, выделенные с листовенных пород, обладали более быстрым линейным ростом, большей массой выросшего мицелия и активной внутриклеточной и внеклеточной пероксидазой, чем штаммы ложного осинового трутовика.

Ложный дубовый трутовик отличался быстрым ростом мицелия, окраской воздушного мицелия и пигмента, наибольшим подкислением среды во время роста мицелия, а также ранним активированием внеклеточной пероксидазы.

#### Л и т е р а т у р а

Бондарцев А.С. 1912. Грибы, собранные на стволах лесных пород в Брянском опытном лесничестве. Тр. по лесному оп. делу в России, вып. 37. Бондарцев А.С. 1953. Трутовые грибы (Polyporaceae) Европейской части СССР и Кавказа, М .

Борисов П.Н. 1940. *F.igniarius* и некоторые его биологические особенности. Сб. тр. ЦНИИЛХ, 15, Л. Ванин С.И. 1955. Лесная фитопатология. М.-Л. Гудкова Л.В., Дегтярь Р. Г. 1968. Метод определения активности пероксидазы. Ферменты в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Сер. "Молекулярная биология", Киев. Рипачек В. 1967. Биология дереворазрушающих грибов. М Суворов П.А. 1965. Культуральные признаки ложного трутовика. Проблемы современной биологии, т.1. Hiorth I. 1965. The phenoloxidase and peroxidase activities of two culture types of *Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. et Boriss. Meddelelser fra Det Morske Skogforskesvesen. N.75, B. 20, H. 4. Roll-Hansen F. 1967. *Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. et Boriss and *Phellinus igniarius* (L. ex. Fr.) Quel. on *Populus tremula* L. Meddelelser Skogforskesvesen, N 85, B. 23.

## ОТМИРАНИЕ НАДЗЕМНЫХ И ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ, ПОВРЕЖДЕННЫХ КОРНЕВОЙ ГУБКОЙ

И.Т. Ермак, Н.А. Новиков

(Белорусский технологический институт им. С.М. Кирова)

Известно, что возбудителем гнили деревьев сосны является гриб *Fomitopsis annosa*. Загнивание и отмирание корневой системы приводит вначале к ослаблению, а в последствии к отмиранию больных деревьев. Грибница корневой губки распространяется в почве от одного дерева к другому при непосредственном контакте зараженных корней со здоровыми. Скорость распространения инфекции и интенсивность усыхания деревьев зависят от скорости распространения гнили по корням деревьев.

Исследования проводились в сосновом насаждении, зараженном корневой губкой в Каранском лесничестве Осиповичского лесхоза (БССР).

Таксационная характеристика насаждения следующая: возраст - 30 лет, средний диаметр 12 см, средняя высота - 14 м, бонитет П, полнота 0,6. Тип леса - сосняк мшистый.

Почва дерново-подзолистая, среднеподзоленная, развивающаяся на супеси легкой, пылевато-песчанистой, подстилаемой песком связанным, ниже с глубины 0,9 м моренным суглинком.