

УДК 630.4

К. В. ДАВИДЕНКО¹, В. Л. МЄШКОВА²*1. ДСЛП «Східлісозахист»**2. Український НДІ лісового господарства та агролісомеліорації ім. Г. М. Висоцького***ПОШИРЕНІСТЬ ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ХВОЇ ТА ПАГОНІВ
В ОДНОРІЧНИХ СОСНОВИХ КУЛЬТУРАХ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

В однорічних культурах сосни звичайної Харківської області виділено 24 види грибів, із яких 7 мають поширеність 5,83 – 25 %. Найбільш небезпечними з них для культур сосни можуть бути збудники шютте та діплодіозу, які виявлені лише на всихаючих і загиблих рослинах. Поширеність збудника шютте була найбільшою у лісових культурах ДП «Жовтневе ЛГ», діплодіозу — у лісових культурах ДП «Вовчанське ЛГ».

Вступ. Вирощування до змикання життєздатних соснових культур в умовах Лівобережного Лісостепу та Степу України ускладнюється у зв'язку із посухами, пошкодженням комахами, ураженням збудниками хвороб та іншими чинниками [2, 5, 6–9]. Під час обстежень культур сосни звичайної віком 1 – 3 років у Харківській області нами були виявлені всихаючі та загиблі рослини сосни звичайної з відсутністю ознак пошкодження коріння, хвої та стовбурів комахами. Ми припустили, що причинами ослаблення й відпаду рослин можуть бути збудники хвороб. Факти збільшення поширення збудників хвороб у монокультурах сосни відомі також із закордонних публікацій [8, 10, 11].

Метою досліджень було визначення поширеності збудників хвороб хвої та пагонів в однорічних соснових культурах Харківської області залежно від фізіологічного стану рослин.

Матеріали та методи. Ослаблені, всихаючі та загиблі рослини сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) були відібрані протягом 2010–2011 років у однорічних лісових культурах лісостепової (Старосалтівське лісництво ДП «Вовчанське ЛГ», Бабаївське лісництво ДП «Жовтневе ЛГ») та степової зон (Червонооскільське лісництво ДП «Ізюмське ЛГ»). Відібрані рослини в окремих пакетах з етикетками зберігали до проведення фітопатологічних досліджень при температурі +4 °С.

Дослідження проведено методами виділення грибів-ендофітів у чисту культуру та ПЦР-аналізу фітопатогенного матеріалу. Для цього поверхню рослин ретельно промивали проточною водою, стерилізували 5 % розчином гіпохлорату натрію та 96 % розчином етилового спирту. Кожен зразок було поділено на дві частини.

Одну половину зразків було вміщено у чашки Петрі на середовище Хагема [8] на 24 доби. Щоденно спостерігали за ростом грибних культур, кожен морфологічно новий тип міцелію переносили у нову чашку Петрі на середовище Хагема без додавання антибіотиків з метою виділення гриба у чисту культуру. Ідентифікацію кожного морфотипу проводили морфологічними методами, а за ускладнення визначення виду міцелій використовували для ПЦР-аналізу [9]. Другу половину зразків було використано для проведення ПЦР-аналізу з використанням загальних грибних праймерів для секвенування грибної ДНК та визначення комплексу видів грибів-ендофітів. Для цього виділяли загальну ДНК із зразків з використанням 3 % розчину СТАВ (3 %

цетрилметиламмонійбромід, 150 мМ Tris–HCl, 2,6 М NaCl, рН 8). Отриманий водний розчин ДНК використовували для проведення ПЦР-реакції. Рибосомальний ITS регіон секвенували за допомогою двох загальних для грибів праймерів ITS 1F (CTTGGTCAATTTAGAGGAAGTAA) та ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) [10]. При візуалізації наявності продукту грибної ДНК визначали кількість видів для кожного із зразків. У разі виявлення одного виду грибної ДНК продукт використовували для проведення визначення послідовності нуклеотидів відразу. У разі визначення суміші декількох видів грибної ДНК продукт розділяли на агарозному гелі за допомогою електрофорезу, кожний новий продукт вирізували за допомогою скальпеля, виділяли грибну ДНК із агарозного гелю та проводили повторну ПЦР за допомогою праймерів ITS 1 (TCCGTAAGGTGAACCTGCGG) та ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) [2, 10].

Отримані дані використовували для визначення послідовностей стосовно кожного виду для порівняння з відкритою базою даних — GenBank. Достовірним при визначенні видів вважали рівень збігу послідовності нуклеотидів 98 – 100%, для родів — 94 – 97 %.

Поширеність окремих видів грибів розраховували за часткою їх виявлення у проаналізованих зразках. Аналіз даних здійснювали стандартними статистичними методами [1] засобами програмного продукту MS Excel.

Результати. У результаті проведених дослідів нами було виявлено 24 види грибів з різною частотою поширення. Частина грибів було визначено лише до рівня родини, а видову належність 5 грибів ендоефітів із поширенням від 0,83 до 1,67 % не було визначено (табл. 1).

1. Перелік видів грибів, визначених у ослаблених, всихаючих і загиблих рослинах сосни звичайної

Вид	Поширеність виду у зразках, %
1	2
<i>Acremonium sp.</i>	0,83
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	25,00
<i>Alternaria sp.</i>	0,80
<i>Aspergillus sp.</i>	0,83
<i>Chaetomium fusiforme</i> Chivers.	1,67
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.	1,67
<i>Cladosporium tenuissimum</i> Cooke	1,67
<i>Cytospora sp.</i>	1,67
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl	20,83
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	10,83
<i>Gibberella acuminata</i> Wollenw (= <i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everh.)	14,17
<i>Gliocladium sp.</i> Bainier	0,83
<i>Lophodermium seditiosum</i> Minter, Staley & Millar	5,83
<i>Phomopsis sp.</i>	0,83
<i>Phoma sp.</i>	10,83
<i>Penicillium restrictum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott	0,83

Продовження таблиці 1

1	2
<i>Penicillium sp.</i> А	0,83
<i>Penicillium sp.</i> В	0,83
<i>Sordaria sp.</i>	0,83
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & B. Sutton (= <i>Diplodia pinea</i> (Desm.) J. Kickx)	15,83
Невизначений вид 19	1,67
Невизначений вид 34	0,83
Невизначений вид 57	0,83
Невизначений вид 58	0,83
Невизначений вид 74	0,83

Поширеність більшості визначених видів є низькою (0,83–1,67 %), і вони не можуть бути основною причиною ослаблення та відпаду культур сосни звичайної.

Найбільшою мірою (5,83–25 %) поширені 7 видів грибів (*F. oxysporum*, *G. acuminata*, *F. porotrichioides*, *A.alternata*, *L. seditiosum*, *S. sapinea*, *Phoma sp.*), які можуть бути збудниками захворювань не тільки сосни звичайної, але й інших рослин [3, 4, 7, 12].

Максимальну поширеність (25 %) мав гриб *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. — зазвичай сапротрофний організм, що розвивається на мертвих рослинних залишках, але при потраплянні на ослаблені або пошкоджені рослини може виявляти паразитичні властивості. Гриб є космополітом та уражує широке коло рослин із різних родин. На уражених органах з'являються темні плями, що складаються з міцелію та спороносіння гриба, в межах яких тканина поступово відмирає [10]. При розвитку гриба утворюється оксамитовий оливковий наліт, що складається з міцелію та конідій. Конідії оливкові або чорно-бурі зворотно булавоподібні, з 3–6 поперечними і однією поздовжньою перегородками, розміром 20–63 × 10–18 мкм [12].

У 5,83 % усіх зразків виявлено одного з найбільш поширених патогенів соснових культур — *Lophodermium seditiosum* (Minter, Staley & Millar), який спричиняє захворювання хвої типу "шютте". Цей збудник заселяє сосну у перші роки життя. На ураженій хвої упродовж вегетаційного періоду з'являються дрібні жовті інфекційні крапки, хвоя набуває бурого забарвлення. Наступної весни на хвої з'являється конідіальне спорношення у вигляді чорних пікнід, а після опадання хвої на ній формуються чорні апотеції із асками та аскоспорами. Розповсюдженню захворювання сприяє висока відносна вологість повітря [10].

Особливої уваги варто виявлення у 15,83 % зразків небезпечного збудника захворювання хвої та пагонів діплодіозу — *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton (= *Diplodia pinea* (Desm.) J. Kickx).

Цей збудник уражує понад 20 видів сосни, у т. ч. *P. sylvestris* L., *P. resinosa* Ait., *P. ponderosa* Laws., *P. mugo* Turta, *P. radiata* D. Don. та *P. banksiana* у багатьох штатах США, Канаді, Австралії та Африці. Він поширений у розсадниках на сіянцях і у насадженнях віком понад 15–20 років. Плодові тіла розвиваються не тільки на заражених пагонах, але й на хвої цих пагонів [3, 4, 6, 9]. Найбільш помітним симптомом є формування деформованих нових пагонів з укороченою коричневою хвоею, яка на заражених пагонах спочатку втрачає забарвлення, потім стає коричневою та зібрана у пучки. Наявність крапель смоли на хвої та пагонах і пагонів з укороченою хвоею є першими ознаками їх ураження [7, 12].

Діплодіоз часто розвивається на сильно пошкоджених градом або ураганом та заселених стовбуровими комахами деревах, викликає так званий сферопсідний опік пагонів сосни, які всихають [8, 11]. Пікніди гриба утворюються на пагонах і хвої сосни, заглиблені у субстрат і виступають на поверхню лише продихи пікнід. Конідії (стілоспори) зворотно яйцеподібні, спочатку безбарвні, потім оливково-коричневі, одноклітинні, можуть бути двуклітинними $30\text{--}45 \times 10\text{--}16 \mu\text{m}$. Гриб заселяє молоді пагони сосни і спричиняє припинення їх росту, а потім і засихання.

Гриби роду *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* Schltdl., *Gibberella acuminata* Wollenw (= *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh.) та *Fusarium sporotrichioides* Sherb.) мали поширеність 20,8; 10,83 та 10,17 % відповідно (див. табл. 1). Їх і *A. alternata* виявляли у рослинах сосни різного фізіологічного стану, причому їх поширеність мала тенденції до зростання у міру ослаблення рослин (рис. 1). Водночас зростання поширеності зазначених грибів, які можуть бути сапротрофами, можна пояснити також наявністю залишків мертвих тканин рослин сосни у міру ослаблення культур, тому однозначно робити висновки щодо агресивного впливу зазначених грибів на рослини сосни неможливо.

У всихаючих рослинах були найбільш поширені *F. oxysporum* та *A. alternata* (20 %), а також збудник звичайного шютте сосни (*L. seditiosum*) — у 10 % зразків. Останній вид є єдиним, що був більшою мірою поширений серед усихаючих рослин, ніж серед загиблих.

Серед загиблих рослин найбільш поширеними були *S. sapinea* та *A. alternata* (47,5 та 42,5 % відповідно) і доволі поширеними – гриби з роду *Fusarium* (22,5–32,5 %).

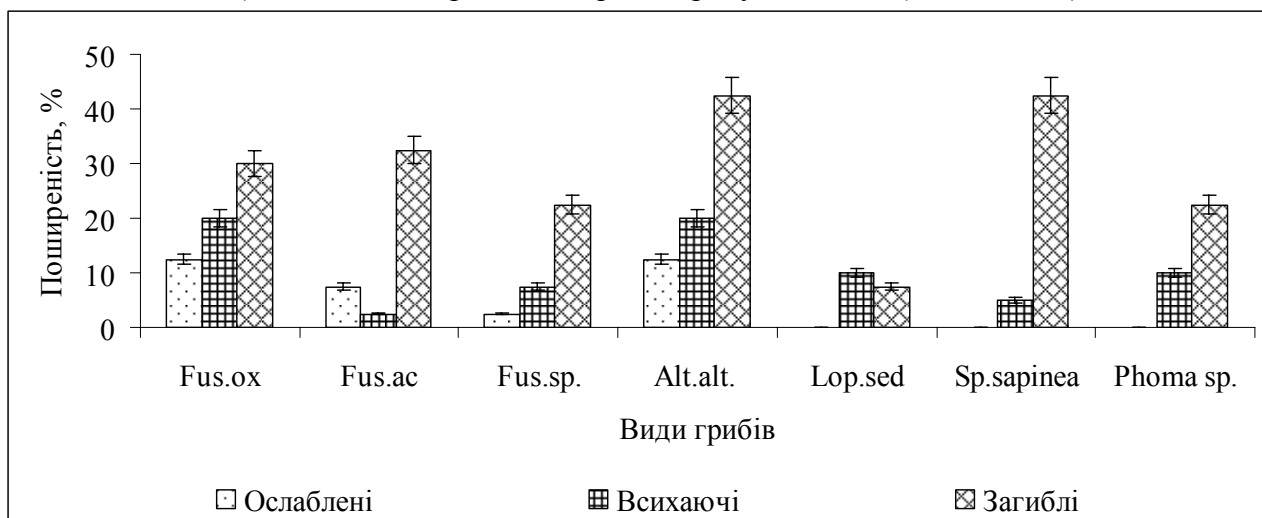


Рис. 1. Поширеність грибів на сосні звичайній різного фізіологічного стану (*Fus.ox* — *Fusarium oxysporum*; *Fus.ac* — *Fusarium sporotrichioides*; *Fus.sp.* — *Fusarium sp.*; *Alt.alt.* — *Alternaria alternata*; *Lop.sed* — *Lophodermium seditiosum*; *S.sapinea* — *Sphaeropsis sapinea*)

Однозначного висновку щодо патогенного впливу *Phoma sp.* на рослини сосни звичайної також зробити неможливо. Ці гриби виявлені лише на всихаючих і загиблих рослинах (рис. 1). Серед представників цього роду є агресивні види, у тому числі небезпечні для хвойних порід, але патогенність виявленого виду для сосни в наших дослідженнях не підтверджено постулатами Коха.

L. seditiosum і *S. sapinea* виявлені також лише на всихаючих і загиблих рослинах сосни. Збудника діплодіозу сосни було виявлено як у комплексі з іншими збудниками хвороб, так і як єдиний вид у зразках.

В усіх досліджених лісових культурах *Phoma sp.* та *A. alternata* були поширені однаковою мірою — 10–11,1 і 24,4–26,7 % відповідно (рис. 2).

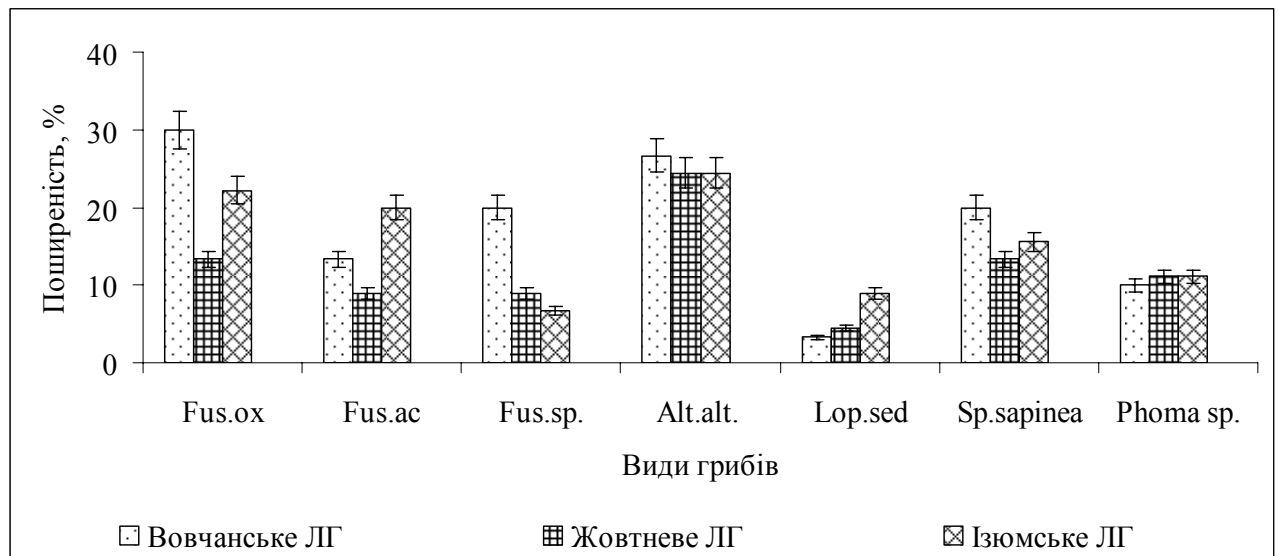


Рис. 2. Поширеність окремих видів грибів на сосні звичайній із різних лісгосподарських підприємств (*Fus.ox* — *Fusarium oxysporum*; *Fus.ac* — *Fusarium sporotrichioides*; *Fus.sp.* — *Fusarium sp.*; *Alt.alt.* — *Alternaria alternata*; *Lop.sed* — *Lophodermium seditiosum*; *S.sapinea* — *Sphaeropsis sapinea*)

У обстежених лісових культурах ДП «Ізюмське ЛГ» усі види роду *Fusarium* були поширені меншою мірою, ніж в інших лісгоспах. Це може бути пов'язане з меншою зволоженістю ділянок, оскільки цей лісгосп знаходиться у степовій зоні, на відміну від ділянок інших обстежених лісгоспів, які знаходяться у лісостеповій зоні.

Поширеність збудника шютте була найбільшою у лісових культурах ДП «Жовтневе ЛГ» (8,9%), тоді як у ДП «Вовчанське ЛГ», яке також знаходиться у лісостеповій зоні, цей показник був у 2,7 разу меншим і навіть поступався поширеності у ДП «Ізюмське ЛГ».

Це може бути пов'язане з тим, що лісові культури Бабаївського лісництва ДП «Жовтневе ЛГ», де проведені дослідження, ослаблені дією високого антропогенного навантаження.

Однією з причин невисокого рівня поширення шютте у лісових культурах ДП «Вовчанське ЛГ» може бути значне поширення в них збудника діплодіозу (20%), який виявляв більшу агресивність стосовно ослаблених рослин сосни. Поширеність цього збудника у ДП «Жовтневе ЛГ» та ДП «Ізюмське ЛГ» становила 15,6 і 13,3% і відрізнялася недостоєрно ($P > 0,1$) (рис. 2).

Висновки. В однорічних культурах сосни звичайної Харківської області виділено 24 види грибів, із яких 7 видів (*F. oxysporum*, *G. acuminata*, *F. porotrichioides*, *A. alternata*, *L. seditiosum*, *S. sapinea*, *Phoma sp.*) мають поширеність 5,83–25%. Найбільш небезпечними з них для культур сосни можуть бути збудники шютте (*L. seditiosum*) та діплодіозу (*S. sapinea* (= *Diplodia pinea*)), які виявлені лише на всихаючих і загиблих рослинах.

У обстежених лісових культурах ДП «Ізюмське ЛГ» види роду *Fusarium* були поширені меншою мірою, ніж в інших лісгоспах. Поширеність збудника шютте була найбільшою у лісових культурах ДП «Жовтневе ЛГ», діплодіозу — у лісових культурах ДП «Вовчанське ЛГ».

Бібліографічний список: 1. Атраментова Л. А. Статистические методы в биологии / Л. А. Атраментова, О. В. Утевская. — Горловка, 2008. — 148 с. 2. Давиденко Е. В. Комплекс грибов семейства Ophiostomatacea, переносимых двумя видами корнежилков в культурах сосны обыкновенной Левобережной Украины / Е. В. Давиденко // Болезни и вредители в лесах России: век XXI. Мат. Всероссийской конф. с международным участием и V ежегодных чтений памяти О. А. Катаева. Екатеринбург, 20–25 сентября 2011 г. — Красноярск: ИЛ СО РАН, 2011. — С. 42–44. 3. Давиденко К. В. Збудники хвороб хвої у соснових культурах Харківської області / К. В. Давиденко, В. Л. Мешкова // Біологічне різноманіття і сучасна стратегія захисту рослин: Мат. міжнарод. наук.-практ. конференції до 90-річчя з дня народження д. б. н. проф. Б. М. Літвінова. — Х.: ХНАУ, 2011. — С. 40–41. 4. Давиденко К. В. Попередні результати досліджень патогенного впливу *Rhizina undulata* на саджанці сосни звичайної / К. В. Давиденко, В. Л. Мешкова // Лісівнича наука: витоки, сучасність, перспективи: Мат. наук. конф., присвяченої 80-річчю від дня заснування УкрНДІЛГА (12–14 жовтня 2010 р., м. Харків). — Х.: УкрНДІЛГА, 2010. — С. 170–171. 5. Мешкова В. Л. Энтомологические проблемы на вырубках и гарях в сосновых лесах Лесостепи и Степи Украины / В. Л. Мешкова // Вестник Московского государственного университет леса. «Лесной вестник». — 2009. — № 5 (68). — С. 72–79. 6. Мешкова В. Л. Міжнародні конференції із захисту лісу у міжнародний рік лісів / В. Л. Мешкова // Лісовий і мисливський журнал. — 2011. — № 5. — С. 5–8. 7. Blodgett J. T. *Sphaeropsis sapinea* morphotypes differ in aggressiveness, but both infect nonwounded red or jack pines / J. T. Blodgett, G. R. Stanosz // Plant Dis. — 1997. — V. 81. — P. 143–147. 8. Burgess T. Simple sequence repeat markers distinguish among morphotypes of *Sphaeropsis sapinea* / T. Burgess, M. J. Wingfield, B. W. Wingfield // Applied and Environmental Microbiology. — 2001. — V. 67. — P. 354–362. 9. **Global change and forest diseases: new threats new strategies** : Abstracts book. IUFRO 2011 WP 7.02.02. Foliage, Shoot and Stem Diseases (Montesclaros Monastery, May 23–28th 2011 Cantabria (Spain) / Ed.: J. J. Diez, P. Martínez-Álvarez, C. Romeralo. — Universidad de Valladolid, 2011. — 134 p. 10. Kowalski T. Endophytic fungal colonization of branch bases in several forest tree species / T. Kowalski, R. D. Kehr // Sydowia. — 1992. — V. 44. — P. 137–168. 11. Stanosz G. R. Surveys for asymptomatic persistence of *Sphaeropsis sapinea* on or in stems of red pine seedlings from seven Great Lakes region nurseries / G. R. Stanosz, D. R. Smith, J. S. Albers // For. Pathol. — 2005. — V. 35. — P. 233–244. 12. Wingfield M. J. *Diplodia pinea* in South Africa / M. J. Wingfield // Phytopathology. — 1981. — V. 71. — P. 913.

UDC 630.4

Davydenko K. V., Meshkova V. L. Frequency of foliage and shoots pathogens in one-year pine plantations of Kharkov region // The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series «Phytopathology and Entomology». — 2011. — № 9 — P. 57–62.

In one-year pine plantations of Kharkiv region 24 fungi species have been isolated. 7 species have frequency 5.83–25%. *Lophodermium seditiosum* and *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*) are the most injurious from them for pine plantations. These fungi are isolated only from declining and dead plants. Frequency of "Schütte" was the highest in pine plantations of Zhovtneve Forest Enterprise, and frequency of diplodiosis was the highest in pine plantations of Vovchancke Forest Enterprise.

Tab. 1. Fig. 2. Bibl. 12.