

ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ІМ. М. Г. ХОЛОДНОГО
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Медведєв Дмитрій Геннадійович



УДК 582.282.162

**Біологія деяких видів роду *Huromyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. та його
анаморф *Cladobotryum* – збудників павутинної цвілі печериці в Україні**

03.00.21 – мікологія

Біологічні науки

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертація є рукописом

Робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Бісько Ніна Анатоліївна
Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України
провідний науковий співробітник відділу мікології

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Сухомлин Марина Миколаївна
ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
професор кафедри біології рослин

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник
Волощук Наталія Михайлівна
Національний університет біоресурсів і
природокористування України
Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК
завідувач науково-дослідним сектором фітосанітарної
експертизи та сертифікації насіння

Захист відбудеться «26 » жовтня 2020 р. о 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.211.01 при Інституті ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України за адресою: 01024, м. Київ, вул. Терещенківська, 2.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці при Інституті ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України за адресою: 01025, м. Київ, вул. Велика Житомирська, 28.

Автореферат розіслано 23 вересня 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук



С. О. Нипорко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. *Agaricus bisporus* (J.E.Lange) Imbach – один з найбільш поширених культивованих їстівних видів грибів у світі. Загалом, декілька мікофільних видів грибів з родів *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C.Tul., *Hypocrea* Fr., *Neurospora* Shear & B.O.Dodge та *Penicillium* Link у процесі розвитку в компості або на поверхні карпофорів спричиняють цілу низку захворювань печериці при промисловому виробництві (Fletcher & Gaze, 2007). Види роду *Hypomyces*, зокрема ті, що утворюють анаморфи *Cladobotryum* Nees, уражують *A. bisporus* та викликають хворобу, відому як павутинна цвіль. Починаючи з середини 1990-х років, види роду *Hypomyces/Cladobotryum* перестали бути рідкісними збудниками захворювань печериць, а хвороба, викликана цими збудниками, набула характеру епідемії (Fletcher & Gaze, 2007; Carrasco et al., 2017). Наразі види роду *Hypomyces* у конідіальній стадії *Cladobotryum* спричиняють значні збитки в умовах промислового виробництва *A. bisporus*. Втрати врожаю печериці в різних країнах становлять 28-40% (Seth & Dar, 1989; Bhatt & Singh, 1992; Ozaktan & Bora, 2000; Adie et al., 2006; Carrasco et al., 2017). Історично склалось, що павутинна цвіль насамперед асоціюється з *H. rosellus* (Alb. & Schwein.) Tul. & C. Tul. (у конідіальній стадії *C. dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz.). Проте, на сьогодні зібрано відомості, що *H. aurantius* (Pers.) Tul. (у конідіальній стадії *C. varium* Nees), *C. multiseptatum* de Hoog (телеоморфа невідома), *Hypomyces ochraceus* (Pers.) Tul. & C. Tul. (у конідіальній стадії *C. verticillatum* (Link) S. Hughes) та особливо *H. odoratus* G. R. W. Arnold (у конідіальній стадії *C. mycophilum* (Oudem) W. Gams & Hooz) також є збудниками цієї хвороби, як в *A. bisporus*, так і в інших широко культивованих видів їстівних грибів (Carrasco et al., 2017).

Упродовж багатьох років вважали, що збудником павутинної цвілі на карпофорах *A. bisporus* в умовах грибних господарств на території України є *H. rosellus/C. dendroides*. Проте, існують численні свідчення, що протягом останніх 20 років ситуація в різних країнах світу істотно змінилась, і основним патогеном, що викликає це захворювання, виявився інший вид – *H. odoratus/C. mycophilum* (McKay et al., 1999; Back et al., 2010, 2012; Gea et al., 2011). Ряд авторів зазначають, що всесвітнє поширення *C. mycophilum*, яке супроводжується скороченням частоти трапляння *C. dendroides* у грибних господарствах, з великою вірогідністю пов'язано з широким використанням бензімідазольних фунгіцидів (McKay et al., 1999).

Враховуючи вищенаведене, вкрай актуальним та своєчасним є дослідження видового складу та поширення збудників павутинної цвілі у спеціалізованих з вирощування печериць господарствах України, вивчення їх культурально-морфологічних особливостей, стійкості до фунгіцидів та взаємодію з іншими грибами, асоційованими з виробництвом печериці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України відповідно до планів НДР за темою №433 «Біологічні властивості штамів

Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК» (№ державної реєстрації – 0115U002001).

Мета роботи. Дослідити видовий склад мікофільних грибів роду *Hypomyces*, з анаморфою *Cladobotryum*, що викликають павутинну цвіль печериці у грибних господарствах України, вивчити їх біологічні особливості та стійкість штамів до найбільш поширених фунгіцидів.

Для досягнення мети було визначено такі завдання:

1. Встановити видовий склад збудників павутинної цвілі у грибних господарствах України, спеціалізованих з вирощування печериці.
2. Створити колекцію штамів *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum*, виділених з уражених карпофорів печериці у грибних господарствах України.
3. Дослідити вплив фізичних факторів (температури та рН живильного середовища) на ріст штамів *Cladobotryum* spp. Визначити критичні та оптимальні температури для росту цих штамів.
4. Вивчити ростові особливості, а також морфологію та мікроморфологію штамів *Cladobotryum* spp. на живильних середовищах різного складу.
5. Дослідити резистентність виділених штамів *Cladobotryum* spp. до найбільш поширених фунгіцидів.
6. Оцінити антагоністичну дію штамів *Cladobotryum* spp. по відношенню до *Agaricus bisporus*, інших мікофільних грибів та грибів-контамінантів компосту та покривного ґрунту.

Об'єкт дослідження. Штами *Hypomyces* spp. з анаморфою *Cladobotryum* – збудники павутинної цвілі у грибних господарствах України, спеціалізованих з вирощування *Agaricus bisporus*.

Предмет дослідження. Біологічні особливості збудників павутинної цвілі печериці у грибних господарствах України.

Методи дослідження. Загальноприйняті мікробіологічні та мікологічні методи роботи з чистими культурами грибів, світлова, лазерно-конфокальна та сканувальна електронна мікроскопія, статистичні та математичні методи обробки результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено дослідження штамів *Hypomyces* spp. з анаморфою *Cladobotryum* – збудників павутинної цвілі печериці, виділених з українських грибних господарств. Вперше виявлено, що основними збудниками зазначеного захворювання в умовах України є *Hypomyces odoratus* у конідіальній стадії *Cladobotryum mycophilum*, а не *H. rosellus* у конідіальній стадії *C. dendroides*. Запропоновано виділити два типи (А і В) павутинної цвілі, в залежності від особливостей перебігу захворювання та видової приналежності збудника. Показано, що *H. odoratus*/*C. mycophilum* та *H. rosellus*/*C. dendroides* спричиняють павутинну цвіль типу А. Вперше виділено та охарактеризовано штами *Cladobotryum* sp., що викликають павутинну цвіль типу В. За допомогою експериментальних досліджень вивчені особливості росту штамів *C. mycophilum* та *Cladobotryum* sp. типу В на живильних середовищах різного складу в умовах різних температурних режимів та кислотності середовища. Вперше досліджено стійкість до різних фунгіцидів штамів *Cladobotryum* spp. українського походження. Виявлено антагоністичні властивості штамів *Cladobotryum* spp. по

відношенню до *Agaricus bisporus*, інших мікофільних грибів та видів-контамінантів компосту та покривного ґрунту.

Практичне значення отриманих результатів. Вперше створено колекцію культур штамів штамів *Hypomyces* spp., з анаморфою *Cladobotryum* (17 штамів), що викликають павутинну цвіль печериць в умовах грибних господарств України. Наведені біологічні характеристики цих штамів. Розроблені рекомендації щодо ефективності застосування різних фунгіцидів (флуазінаму, беномілу, метрафенону, прохлоразу, карбендазиму) для боротьби та профілактики павутинної цвілі печериць, враховуючи біологічні особливості штамів, що поширені на грибних підприємствах України.

Особистий внесок. Робота є самостійним дослідженням здобувача. Основні збори матеріалу, моніторинг грибних господарств, ізоляція чистих культур, культурально-морфологічні та ростові дослідження штамів проведені автором особисто. Ідентифікацію культур та планування дослідження проведено за допомогою наукового керівника д.б.н. Н. А. Бісько та наукового співробітника Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного Національної академії наук України к.б.н. Г. А. Аль-Маалі. Дослідження стійкості до фунгіцидів штамів *Cladobotryum* та дослідження антагоністичних властивостей проведено за участю студентів Національного університету харчових біотехнологій та екологічного контролю А.О. Кернер та С.В. Бондарук.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені та обговорені на засіданнях відділу мікології Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного Національної академії наук України, Міжнародній конференції молодих вчених “Актуальні проблеми ботаніки та екології” (Харків, 2019), Міжнародній конференції “Advances in Microbiology and Biotechnology” (Львів, 2018), Міжнародній конференції “Modern methodologies, innovations, and operational experience in the field of biological sciences” (Люблін, 2017), Міжнародній науково-практичній конференції “Актуальні питання розвитку екології та біології” (Вінниця, 2016), а також на Республіканський (з міжнародною участю) науково-практичній конференції “Современное состояние наук о жизни: фундаментальные и прикладные аспекты” (Караганда, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 4 статті, з яких 3 – у наукових фахових виданнях України та одна стаття у виданні, що індексовано у наукометричній базі даних Web of Science, а також 5 публікацій в інших виданнях та матеріалах конференцій.

Обсяг і структура роботи.

Дисертація складається зі вступу та 6 розділів, висновків, списку літератури (206 найменувань, з них 174 англомовних). Загальний обсяг роботи складає 184 сторінки. Основна частина дисертації викладена на 141 сторінці, ілюстрована 16 таблицями та 29 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

Мікофільні гриби роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum* – стан вивчення питання (огляд літератури). У розділі наведено аналіз результатів досліджень вітчизняних та зарубіжних науковців з питань біологічних особливостей збудників павутинної цвілі печериці з роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum*. Розглянуто систематичне положення роду, будову телеоморфи та анаморфи типу *Cladobotryum*, наведені дані щодо поширення грибів роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum* територією України. Окремий підрозділ присвячено павутинній цвілі – захворюванню, що викликають зазначені види в умовах промислових підприємств з виробництва їстівних грибів, розглянуто історію питання, видовий склад збудників та грибів-господарів, наведено відомості щодо перебігу та симптомів павутинної цвілі, надано інформацію про джерела інфекції та профілактичні міри. Поставлено проблему недостатнього вивчення видового складу збудників павутинній цвілі у грибних господарствах України. Зазначається, що аналіз даних літератури показав, що біологічні особливості грибів роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum* вивчено недостатньо.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Уражені павутинною цвіллю плодове тіла *A. bisporus* були зібрані у період з 2016 по 2019 рр. на спеціалізованих промислових підприємствах із виробництва печериць у різних областях України. Серед досліджених підприємств 8 мали обсяг виробництва грибів від 100 до 1000 т/рік, три – більше 1000 т/рік і одне – менше 100 т/рік. З уражених плодових тіл виділяли чисту культуру *Hypomyces/Cladobotryum*. Ідентифікацію проводили з використанням спеціалізованої літератури (de Hoog, 1978, Rogerson & Samuels, 1994; Tamm & Põldmaa, 2013). Морфолого-культуральні дослідження проводили на таких середовищах: глюкозо-пептон-дріжджовий агар (ГПДА), мальц-екстракт агар (МЕА), середовище Чапека (СЧ), картопляно-декстрозний агар (КДА), компостний агар (КА). Культивування міцелію на вищезазначених живильних середовищах проводили за температури 25 ± 1 °С. Швидкість росту розраховували за формулою: $V_R = (R_2 - R_1) / (t_2 - t_1)$ (Bisko et al., 2012): де V_R – швидкість росту, мм/доба; R_1 – радіус колонії на час t_1 , мм; R_2 – радіус колонії на час t_2 , мм.

Мікроморфологію міцелію вивчали за допомогою світлового мікроскопу марки Zeiss (Німеччина). Мікропрепарати готували у 3% розчині КОН. Фотографії обробляли у комп'ютерній програмі AxionVision. Для створення об'ємного рельєфного зображення зразків гіф і конідій використовували диференціальну інтерференційно-контрастну мікроскопію (DIC-контраст) Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Німеччина). Власну флюоресценцію гіф і конідій вивчали за допомогою лазерного конфокального мікроскопу LSM-510 Meta (Carl Zeiss, Germany) при збудженні діодним лазером з довжиною хвилі 405 нм (20XY сканів з кроком по шкалі Z 4,2 мкм; потужність лазера 10mW; фільтри емісії: синій 433-476 нм; зелений 433-476 нм; помаранчевий 561-583 нм; червоний 583-668 нм; товщина зразка 80,6 мкм).

Препарати міцелію, зафіксовані парами тетроксиду осмію (1% розчин) та покриті золотом, вивчали на сканувальному електронному мікроскопі JOEL JSM-6060 LA (Joel, Японія) за збільшеннях від x100 до x18000 (Buchalo et al. 2009).

Вплив температури на ріст і морфологію культур вивчали на картопляно-декстрозному середовищі (КДА) у температурному діапазоні 5 – 45 °С. Дослідження впливу рН на синтез біомаси штамів *Cladobotryum* проводили на рідкому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі (ГПДА). При дослідженні чутливості штамів до фунгіцидів використовували модифікований дифузійний метод та найбільш поширені у вітчизняному грибовництві препарати: флуазінам, метрафенон, карбендазим, прохлораз та беноміл. Концентрація фунгіцидів дорівнювала максимальній дозі, рекомендованій для використання при виробництві печериць. У дослідженні антагоністичних властивостей штамів *Hypomyces/ Cladobotryum* використовували культури мікофільних грибів (*Hypocrea lixii /Trichoderma harzianum*, *Hypomyces perniciosus/ Mycogone perniciososa*), культури грибів-контамінантів компосту та покривного ґрунту та три комерційних штами *Agaricus bisporus*. Для оцінки антагоністичних властивостей використовували модифікований метод Badalyan (2002).

Повторність проведення всіх дослідів три- та п'ятикратна. Кількісні результати оброблено статистичними методами аналізу (Молотов, 1965; Доспехов, 1973) за допомогою пакетів Microsoft office Excell та StatSoft Statistika. У таблицях та рисунках представлені середні статистично достовірні дані при 95% ймовірності.

ВИДОВИЙ СКЛАД ЗБУДНИКІВ ПАВУТИННОЇ ЦВІЛІ ПЕЧЕРИЦЬ, ІЗОЛЬОВАНИХ З ГРИБНИХ ГОСПОДАРСТВ УКРАЇНИ

Встановлено, що за симптоматикою перебігу інфекції у *A. bisporus*, викликаній штамами *Hypomyces* spp. у конідіальній стадії *Cladobotryum*, можна виділити два типи павутинної цвілі. Тип А в цілому співпадає з загально прийнятим у літературі описом захворювання. Для цього типу характерним є розвинення рясного міцелію, білого, жовто-білого, чи блідо-рожевого кольору, з виразною хвилястою та зернистою структурою, при цьому наявні виразні пухкі подушкоподібні скупчення міцелію, рясно розташовані на покривному ґрунті. Для типу В є характерним міцелій лише білого кольору, однорідної структури, без виразної зернистості. Цей міцелій не утворює характерних скупчень, а рівномірним шаром вкриває покривний ґрунт. У процесі дослідження українських грибних господарств було виділено 17 штамів роду *Hypomyces* spp. у конідіальній стадії *Cladobotryum*, чотири з яких спричинили павутинну цвіль типу В, всі інші належали до типу А.

Дослідження штамів, що викликають павутину цвіль типу А, виявило, що всі вони належать до *H. rosellus* (Alb. & Schwein.) Tul. & C. Tul. у конідіальній стадії *C. dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz та *H. odoratus* G. R. W. Arnold у конідіальній стадії *C. mycophilum* (Oudem.) W. Gams & Hooz. Останній вид вперше ідентифіковано, як збудника павутинної цвілі у грибних господарствах, розташованих в Україні. Було встановлено, що *H. rosellus* у конідіальній стадії *C. dendroides*, який дотепер вважали за літературними даними (Bisko & Bilay 2001) основним інфекційним агентом, що викликає павутинну цвіль *A. bisporus*, не є

основним збудником цього захворювання у грибних господарствах України. Під час нашого дослідження було виявлено лише один штам *C. dendroides*.

Дослідження штамів, що зумовлюють павутинну цвіль типу В, показало їх однорідність за мікроморфологією та значну відмінність за цим показником від найбільш поширених видів роду *Hypomyces/ Cladobotryum*. Всі штами, що викликають павутинну цвіль типу В, були умовно позначені, як *Cladobotryum* sp. В. За мікроморфологічними та культурально-морфологічними ознаками ці штами належать до класу, що формують споріднені види *C. tenue* Helfer та *C. rubrobrunnescens* Helfer, та вимагають подальшого вивчення молекулярно-генетичними методами.

Характерною ознакою *Cladobotryum* sp. В є повна відсутність пігментації повітряного міцелію штамів, що було підтверджено 3D-зображенням гіф і конідій повітряного міцелію, отриманого за допомогою лазерного конфокального сканувального мікроскопа. На відміну від штамів *Cladobotryum* sp. В, досліджені зразки *C. mycophilum* мали аутофлюоресценцію у діапазоні 433-476 нм та 583-668 нм (рис. 1).

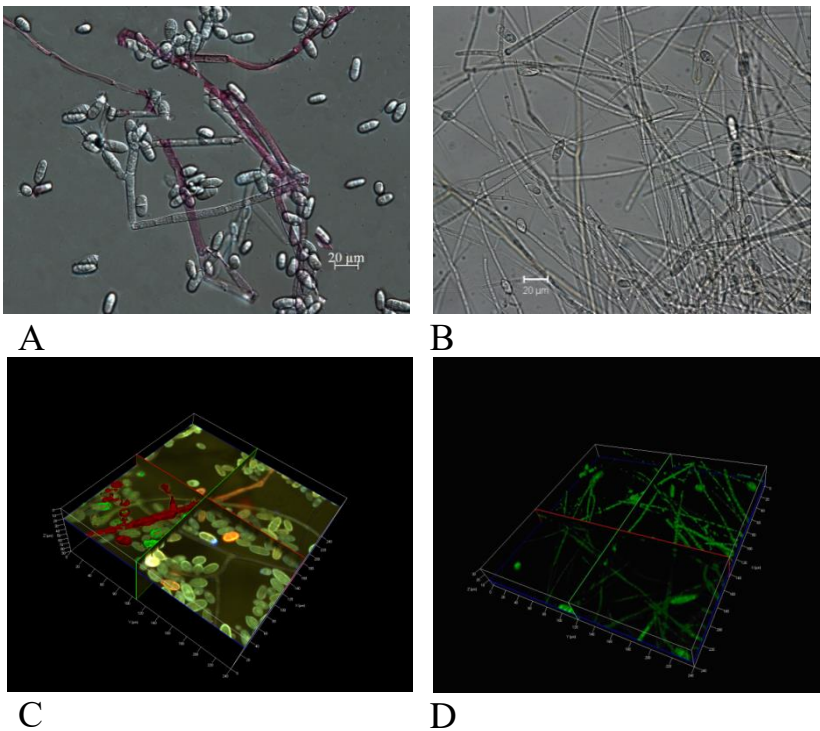


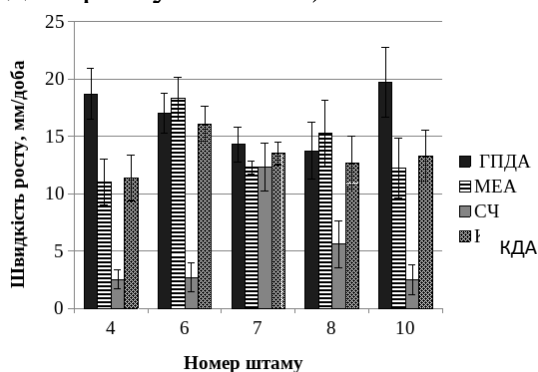
Рис. 1
Мікрофотографії гіф і конідій штамів *Cladobotryum* (9 діб культивування).

А – штам *C. mycophilum* №7 ;
В, D – *Cladobotryum* sp. В №5;
С – *C. mycophilum* №8;

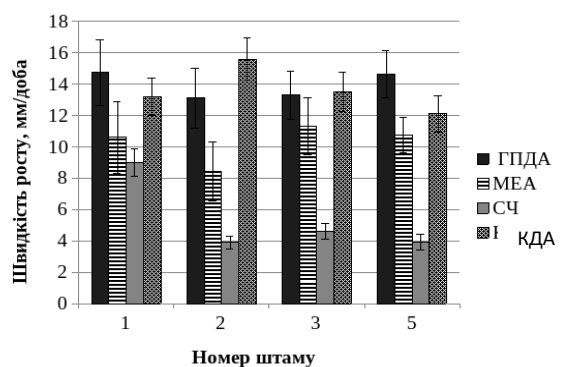
А, В – DIC-контрастування;
С, D – конфокально-лазерна сканувальна мікроскопія
Масштаб: 20 μm.

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА РІСТ ШТАМІВ *CLADOBOTRYUM* SPP. У КУЛЬТУРИ

Вивчені культурально-морфологічні та мікроморфологічні ознаки штамів *H. odoratus*/*C. musophilum* та штамів групи *Cladobotryum* sp. В. Досліджено ростові характеристики цих штамів на різних середовищах: КДА, МЕА, ГПДА, КА, СЧ. Виявлено, що за параметрами швидкості росту найкращим середовищем для культивування всіх штамів є ГПДА (14-20 мм/добу), дещо гіршим – МЕА (11-18 мм/добу) та КДА (11-16 мм/добу) (рис. 2А). На цих середовищах морфологія колоній штамів *C. musophilum* відповідала діагнозу виду, наведеному у літературних джерелах: повітряний міцелій розвинутий, бавовняний, спочатку білий або кольору слонової кістки, згодом набуває рожевих відтінків; поверхня колонії має неоднорідну структуру з вираженою радіальною зональністю, сформованою неоднорідністю у розташуванні конідиносців. Реверзум колонії спочатку набуває яскраво жовтого кольору, за декілька днів стає рожевим. Інтенсивність та час розвитку пігментації мали штамові відмінності і залежали від обраного середовища (МЕА, КДА, ГПДА), проте в цілому інтенсивність забарвлення на середовищі ГПДА була вищою, ніж на МЕА та КДА. Швидкість росту штамів групи *Cladobotryum* sp. В. на ГПДА- середовищі становила 13-15 мм/добу, на КДА – 12-16 мм/добу, на МЕА- середовищі – 8,5-11,5 мм/добу (рис. 2В). Морфологія колонії конідиальної стадії штамів цієї групи значно відрізнялась від морфології колоній *C. musophilum*, *C. dendroides*, *C. varium* Nees та інших видів цього роду, що зумовлюють павутинну цвіль печериць в умовах грибних господарств. Так, колонії штамів *Cladobotryum* sp. В. мали біле забарвлення, повітряний міцелій мав однорідну структуру, без виразної зональності та зернистості, реверзум яскраво рожевого кольору (на початкових стадіях росту жовтого).



А



В

Рис. 2. Швидкість росту штамів *Cladobotryum musophilum* (А) та *Cladobotryum* sp. В (В) на різних живильних середовищах ($x \pm SE$)

Для культивування всіх досліджених штамів обох типів *Cladobotryum* sp. на середовищах Чапека та компостного агару було характерно зменшення їх швидкості росту, зміни у морфології колонії та розвиток пігментації. Зважаючи на особливості розвитку видів роду *Cladobotryum* в системі компост-міцелій, необхідно підкреслити повну відсутність характерної пігментації міцелія та реверзumu колоній

всіх досліджених штамів при культивуванні на компостному агарі, що свідчить про непридатність цього середовища для культивування штамів *Cladobotryum*.

Встановлено експериментальним шляхом, що оптимальною температурою культивування штамів видів роду *Hypomyces* у конідіальній стадії *Cladobotryum* є температура 25° С (табл. 1). Отримані результати вказують на те, що штам *Cladobotryum* sp. В виявились більш стійкими до підвищення температури, ніж штам *C. musophilum*. Так, за температури 30 °С всі досліджені штам *C. musophilum* мали швидкість росту 2-4 мм/добу, проте більшість штамів *Cladobotryum* sp. В – 6-10 мм/добу. Також більшість штамів *Cladobotryum* sp. В зберігали життєздатність за температури 34 °С, а для штамів *C. musophilum* ця температура виявилась критичною.

Виявлено, що рН 6,9 є оптимальним для накопичення біомаси для всіх досліджених штамів роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum*, виділених з грибних господарств України.

Таблиця 1

Радіальна швидкість росту міцелію штамів *Hypomyces/ Cladobotryum* на картопляно-декстрозному агаризованому живильному середовищі за різних температур

Штам, №	Швидкість росту, мм/добу				
	Температура інкубації, °С				
	18 ± 0,3	25 ± 0,3	30 ± 0,3	31 ± 0,3	34 ± 0,3
<i>Cladobotryum</i> sp. В.					
1	2,6 ± 0,13	13,2 ± 1,21	6,6 ± 0,33	0,2±0,01	0,07±0,01
2	4,3 ± 0,21	15,6 ± 1,34	10,5±1,53	0,6±0,03	-
3	3,8 ± 0,19	13,5 ± 1,25	6,7 ± 0,64	0,5±0,03	0,15±0,01
5	4,1 ± 0,20	12,1 ± 1,15	3,6 ± 0,48	0,2±0,01	0,12±0,01
<i>Cladobotryum musophilum</i>					
4	3,9 ± 0,19	12,4 ± 1,12	2,3 ± 0,11	0,5±0,02	-
6	4,7 ± 0,25	16,1 ± 1,22	4,4 ± 0,20	0,7 ± 0,03	-
7	4,1 ± 0,23	13,5 ± 1,09	3,5 ± 0,17	0,5±0,03	-

Примітка: - Ріст відсутній

СТІЙКІСТЬ ДО ФУНГІЦИДІВ ШТАМІВ CLADOBOTRYUM SPP.

У дослідженні були використані наступні фунгіциди: бензімідазолні (беноміл, карбендазим), прохлораз, флуазінам та метрафенон. За нашими спостереженнями ці фунгіциди належать до найбільш часто застосованих у грибних господарствах для боротьби з мікофільними грибами. У дослідженні використовували найбільшу рекомендовану виробником дозу застосування.

Вплив фунгіцидів на ріст штамів *Cladobotryum musophilum* у дослідах *in vitro* на ГПДА-середовищі ($x \pm SE$)

Номер штаму	Зона інгібування росту міцелію, см ²				
	флуазінам	метрафенон	прохлораз	карбендазим	беноміл
4	6,87 ± 1,16 ^Ч	4,65 ± 1,41 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С
6	4,31 ± 1,0 ^Ч	16,68 ± 2,3 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С
7	10,20 ± 2,13 ^Ч	1,71 ± 0,23 ^{ПС}	0 ^С	0 ^С	2,49 ± 0,37 ^{ПС}
8	6,87 ± 1,54 ^Ч	8,34 ± 1,76 ^Ч	19,86 ± 2,2 ^Ч	0 ^С	2,1 ± 0,35 ^{ПС}
10	7,12 ± 1,91 ^Ч	15,66 ± 1,9 ^Ч	45,45 ± 3,7 ^Ч	0 ^С	9,27 ± 2,4 ^Ч

Примітка: ^Ч – чутливий до відповідного фунгіциду штам; ^{ПС} – помірно стійкий до відповідного фунгіциду штам; ^С – стійкий до відповідного фунгіциду штам.

За результатами дослідження стійкості до фунгіцидів вперше виявлено факт поширення у грибних підприємствах України стійких до бензімідазольних фунгіцидів штамів *H.odoratus/C.musophilum* Type II (McKay et al.,1999). Так, всі штами зазначеного виду були стійкими до карбендазиму, і лише один штам був чутливим до беномілу (табл. 2). Три штами були чутливими до прохлоразу. Найефективнішими фунгіцидами виявились флуазінам (всі штами чутливі) та метрафенон (чотири штами чутливі, один помірно стійкий).

Міцелій *C. musophilum* під впливом метрафенону був знебарвлений, загальна товщина гіф зменшилась і становила 2,5-3,1 мкм (це значення для гіф міцелію на контрольному середовищі без додавання фунгіцидів становить 6,1 ± 1,15 мкм), а окремі гіфи містили численні гранули, утворення рожевого пігменту не спостерігалось. Поза тим, вегетативні гіфи не набували характерного рожевого забарвлення під дією 3% розчину КОН. Особливо важливо підкреслити, що зазначений препарат повністю пригнічував споруляцію *C. musophilum*: ані спори ані конідієносці не утворювались (рис. 3 С).

Показано, що під дією флуазінаму відбувалися значні зміни мікроморфологічних ознак міцелію штамів *C. musophilum*. Насамперед, це проявлялось у значному збільшенні товщини гіф та утворенні великих вакуолізованих ділянок. По-друге, відбувалась деформація конідієносців, яка супроводжувалась гіпертрофією спороносних клітин. І по-третє, що надважливо: флуазінам повністю пригнічував спороутворення.

Вплив фунгіцидів на ріст штамів *Cladobotryum* sp. В у дослідах *in vitro* на ГПДА-середовищі ($\bar{x} \pm SE$)

Номер штаму	Зона інгібування росту міцелію, см ²				
	флуазінам	метрафенон	прохлораз	карбендазим	беноміл
1	9,23 ± 1,91 ^Ч	11,68 ± 2,32 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С
2	5,92 ± 1,45 ^Ч	18,89 ± 2,51 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С
3	6,58 ± 1,53 ^Ч	20,92 ± 2,27 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С
5	8,01 ± 1,94 ^Ч	21,54 ± 2,60 ^Ч	0 ^С	0 ^С	0 ^С

Примітка: ^Ч – чутливий до відповідного фунгіциду штам; ^С – стійкий до відповідного фунгіциду штам.

Встановлено, що всі штами групи *Cladobotryum* sp. В є стійкими до беномілу, карбендазиму, прохлоразу та чутливі до метрафенону та флуазінаму (табл.3). Дослідження впливу флуазінаму на мікроморфологію міцелію штамів *Cladobotryum* sp. В дозволили встановити, що під дією цього препарату мікроморфологія штамів набувала патологічних ознак: значно збільшувались конідіогенні клітини, вони містили чисельні вакуолі, гіфи були вакуалізовані та потовщені (рис. 3). На відміну від дослідів з *C. mycophilum*, флуазінам не пригнічував спороношення штамів *Cladobotryum* sp. В, проте більшість спор виглядало нетипово, їх форми та розміри були змінені. Якщо у контролі розмір спор становив 12-19 мкм, і вони здебільшого були витягнутої еліпсоїдної форми та мали 1-3 перетинки, то під дією фунгіциду вони набували округлої, майже сферичної форми, без перетинок і мали розміри 5-12 мкм.

Метрафенон, який значно змінював мікроморфологію штамів *C. mycophilum* та повністю інгібував спороношення цих штамів, не впливав на мікроморфологію та спороношення штамів *Cladobotryum* sp. В. Проте, необхідно зазначити, що всі штами *Cladobotryum* sp. В були значно більш чутливими до метрафенону, ніж штами *C. mycophilum*.

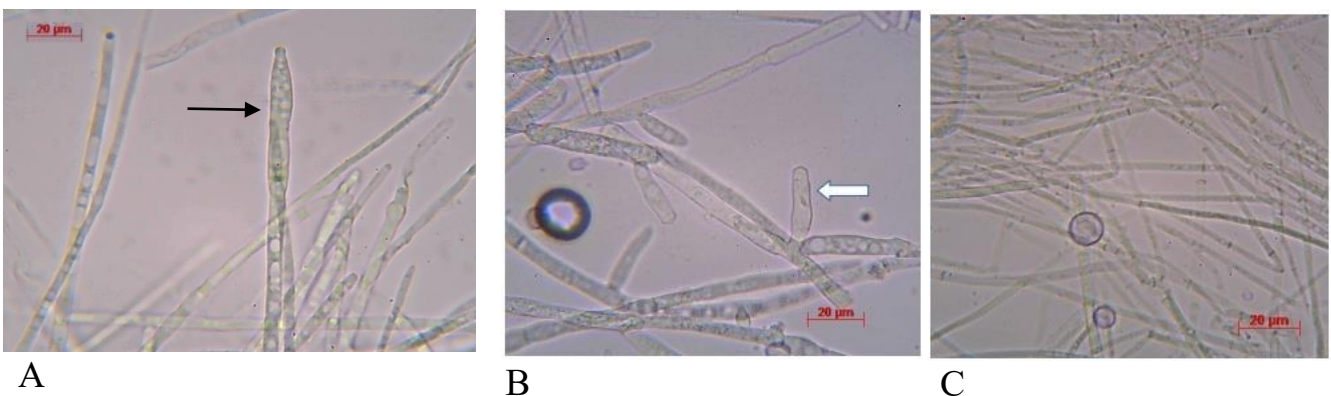


Рис. 3. Зміни у мікроморфології штамів *Cladobotryum* під впливом фунгіцидів: А – *Cladobotryum* sp. В №5 на середовищі з флуазінамом;

В – *Cladobotryum mycophilum* № на середовищі з флуазінамом;
 С – *Cladobotryum mycophilum* № на середовищі з метрафеноном.
 Стрілками позначення деформовані конідіогенні клітини.

Аналіз результатів проведеного дослідження вказують на те, що застосування метрафенону та флуазінаму проти штамів, що викликають павутинну цвіль по типу А і В, є доцільним, і ці фунгіциди можуть бути рекомендовані до застосування для боротьби зі збудниками обох типів захворювання.

АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГРИБІВ РОДУ CLADOBOTRYUM ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ІНШИХ МІКОФІЛЬНИХ ТА САПРОТРОФНИХ ГРИБІВ

Проведене дослідження взаємодії штамів роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum* з трьома комерційними штамми *A. bisporus* та з іншими грибами, асоційованими з промисловим вирощуванням печериць, а саме *Hypocrea lixii* Pat. (у конідіальній стадії *Trichoderma harzianum* Rifai), *Hypomyces perniciosus* Magnus (у конідіальній стадії *Mycogone perniciosus* (Magn.) Delacr.), *Aspergillus niger* Tiegh., *Mucor sp.* та *Penicillium sp.*

Отримані дані вказують на високу агресивність *C. mycophilum* №8 відносно вищезазначених видів грибів. Також цей штам характеризувався найвищим індексом антагонізму по відношенню до всіх досліджених груп грибів, порівняно з іншими мікофільними грибами (*T. harzianum*, *M. perniciosus*, *Cladobotryum sp.* В №5). Агресивність цього штаму проявлялась у здатності рости поверх міцелію інших видів та майже повністю пригнічувати їх розвиток. Індекс антагонізму *Cladobotryum sp.* В №5 був нижчим, аніж у *C. mycophilum* №8, але більшим ніж у *T. harzianum* і набагато більшим за *M. perniciosus*.

Зазначимо, що всі без винятку штами мікофільних грибів пригнічували ріст міцелію всіх досліджених штамів *A. bisporus* (ІВК 2198, ІВК 2440, ІВК 5422), що було в цілому очікуваним. Культури *T. harzianum* №15 та обох штамів *Cladobotryum* (*C. mycophilum* №8, *Cladobotryum sp.* В №5) росли поверх міцелію *A. bisporus* та повністю обростали колонію всіх досліджених штамів печериці протягом 5-6 днів спільного культивування. Штам *M. perniciosus* №16 частково наростав на колонії *A. bisporus* всіх штамів лише через 20-24 дні подвійного культивування цих видів. Будь-якої різниці у взаємодії досліджуваних штамів *A. bisporus* та окремих мікофільних грибів не виявлено.

Підсумковим результатом дисертаційного дослідження стала колекція з 17 штамів роду *Hypomyces*, з анаморфою *Cladobotryum*, виділених з грибних господарств промислового вирощування печериць в Україні. Для кожного штаму розроблено детальний опис, який включає дані щодо видової ідентифікації, особливостей росту та морфології колоній на різних живильних середовищах, відношення до кислотності середовища, температурних режимів культивування та зберігання, критичних температур, стійкості до різних типів фунгіцидів та антагоністичних властивостей відносно інших мікофільних грибів та грибів, асоційованих з компостом та покривним ґрунтом.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведеної ревізії видового складу збудників павутинної цвілі печериці у грибних промислових господарствах України вперше виявлено *Hypomyces odoratus* у конідіальній стадії *Cladobotryum mycophilum* та підтверджено наявність *Hypomyces rosellus* у конідіальній стадії *Cladobotryum dendroides*. Окрім того, виявлено *Cladobotryum* sp., який належить до клади, що формує споріднені види *Cladobotryum tenue* та *Cladobotryum rubrobrunnescens*.
2. Доведено, що основними патогенами, що спричиняють павутинну цвіль печериці у грибних господарствах України, є *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* та *Cladobotryum* sp. В., а не *Hypomyces rosellus/Cladobotryum dendroides*, як вважалось дотепер.
3. Внаслідок вивчення особливостей ураження покривного ґрунту міцелієм збудника, культурально-морфологічних та мікроморфологічних ознак вперше встановлено наявність двох типів павутинної цвілі печериці, що були позначені як тип А (*Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* та *Hypomyces rosellus/Cladobotryum dendroides*) та тип В (*Cladobotryum* sp. В). Вищезазначені типи відрізнялись кольором міцелію та його структурою.
4. Вивчення культурально-морфологічних особливостей 5 штамів *Cladobotryum mycophilum* та 4 штамів *Cladobotryum* sp. В на 4 різних за складом живильних середовищах дозволило встановити, що морфологія колоній всіх досліджених штамів змінювалась залежно від складу середовища. На агаризованому глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі колонії мали більшу щільність та виражену пігментацію, ніж на інших середовищах. Виявлено, що за параметрами швидкості росту найкращим середовищем для культивування всіх штамів є глюкозо-пептон-дріжджовий агар, на якому цей параметр становив від 12 до 20 мм/добу.
5. У результаті дослідження впливу температури на швидкість росту та життєздатність міцелію виділених штамів *Hypomyces/Cladobotryum* встановлено, що оптимальною температурою культивування всіх зазначених штамів є 25 °С. Штами *Cladobotryum* sp. групи В були більш стійкими до високих температур (міцелій зберігає життєздатність за 34 °С) за штами *C. mycophilum*, міцелій яких гине за 31 °С. Швидкість росту всіх штамів за 18 °С була значно нижчою, ніж за 25 °С. Отримані дані вказують на те, що дотримання правильного температурного режиму культивування карпофорів печериці (не вище 18 °С), є одним з заходів профілактики захворювання, спричиненого видами роду *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum*.
6. Отримані дані щодо впливу рН живильного середовища на накопичення біомаси виявили, що рН 6,9 є оптимальним для продукції біомаси (13-20 г/л) на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі для всіх вивчених штамів *Hypomyces* з анаморфою *Cladobotryum*. Відхилення значення рН від оптимального призводило до появи пігменту в біомасі штамів *Cladobotryum* sp. В.
7. Виявлено факт поширення на грибних підприємствах України стійких до бензімідазольних фунгіцидів (беномілу, карбендазиму) та прохлоразу штамів *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum*. Встановлено, що всі виявлені штами

Cladobotryum sp. В також стійкі до зазначених фунгіцидів. Ці результати відповідають загальносвітовим тенденціям.

8. Показано, що штами *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* та *Cladobotryum* sp. В загалом чутливі до флуазінаму та метрафенону. Ці фунгіциди також викликають патологічні зміни у мікроморфології даних штамів. Результати проведеного дослідження вказують на те, що застосування метрафенону та флуазінаму проти штамів, що спричиняють павутинну цвіль по типу А і В, є доцільним, і ці фунгіциди можуть бути рекомендовані до застосування для боротьби зі збудниками обох типів захворювання.
9. Виявлено здатність *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* пригнічувати ріст інших мікофільних грибів, а саме *Cladobotryum* sp. В, *Hypocrea lixii/Trichoderma harzianum*, *Hypomyces perniciosus/Mycogone perniciosa*. Ці результати дозволяють припустити, що високий індекс антагонізму *C. mycophilum*, по відношенню до інших мікофільних видів, разом зі стійкістю до бензімідазольних фунгіцидів є основними факторами, що зумовили глобальне поширення цього виду на промислових підприємствах з виробництва їстівних грибів у всьому світі, зокрема і в Україні.
10. Встановлено, що *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* та *Cladobotryum* sp. В значно пригнічують ріст грибів - контамінантів компосту та покривного ґрунту *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp. Отримані дані вказують на перспективність застосування біопрепаратів, розроблених на основі досліджених штамів *Cladobotryum* обох груп, для біоконтролю фітопатогенних видів.
11. Створено першу в Україні колекцію, у складі якої 17 патогенних штамів грибів роду *Cladobotryum*, виділених з плодових тіл *Agaricus bisporus*, культивованих у різних промислових господарствах України. Розроблено паспорти цих культур з описами культурально-морфологічних та мікроскопічних ознак, особливостей росту на різних живильних середовищах та стійкості до фунгіцидів.

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових виданнях, що індексовані у наукометричних базах даних Web of Science

1. Medvediev, D. G., Bisko, N. A., & Kadnikova, N. G. (2018). Influence of pH values of a nutrient medium on growth and morphological properties of strains *Cladobotryum* sp. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(4), 79-84.
(Особистий внесок здобувача: здобувачем були ізольовані культури грибів, проведені всі експериментальні дослідження з культивування культур за різних умов та написано текст статті, здійснено конфокально-лазерну мікроскопію зі співавторами)

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Медведєв, Д. Г. (2017). Вплив складу живильних середовищ на швидкість росту та культурально-морфологічні особливості штамів *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Nooz. *Вісник Харківського національного університету імені ВН Каразіна. Серія: Біологія*, (28), 87-95.
2. Медведєв, Д. Г., & Бісько, Н. А. (2018). Вплив температури на ріст і життєздатність міцелію штамів мікофільного гриба *Cladobotryum dendroides*. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки*, 4(377), 44-47.
(Особистий внесок здобувача: здобувачем були ізольовані культури грибів, проведені всі експериментальні дослідження з культивування культур за різних умов та написано текст статті у співпраці з науковим керівником)
3. Медведєв, Д. Г., Кернер, А. О., Бондарук, С. В., & Аль-Маалі, Г. А. (2019). Дослідження культуральних особливостей та фунгіцидної резистентності штамів *Cladobotryum musophilum* (Nurocreales, Ascomycota) вперше виявленого на промислових культурах печериці в Україні збудника павутинної цвілі. *Український ботанічний журнал*, 76(2), 121-131. (Особистий внесок здобувача: здобувачем були ізольовані культури грибів, проведені всі дослідження з культивування культур на різних живильних середовищах та проведені експерименти з фунгіцидами, написано текст статті у співпраці зі співавторами)

ПУБЛІКАЦІЇ У МАТЕРІАЛАХ ДОПОВІДЕЙ НАУКОВИХ КОНФЕРЕНЦІЙ

1. Медведєв, Д. Г. (2016) Основные этапы истории изучения микрофильного гриба *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Nooz. *Материалы Республиканской (с международным участием) научно-практической*

- конференції «Современное состояние наук о жизни: фундаментальные и прикладные аспекты» (194-198), Караганда .
2. Медведев, Д.Г. (2016). Дослідження біології мікофільного гриба *Cladobotrium dendroides* (Bull.) w. Gams&Hooz. у культурі. “Актуальні питання розвитку екології та біології”: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. (с.266-267), Вінниця.
 3. Медведев, Д.Г. (2017). Дослідження впливу абіотичних факторів на ріст і культурально-морфологічні характеристики міцелію гриба *Cladobotrium dendroides* в культурі. *Modern methodologies, innovations, and operational experience in the field of biological sciences: international research and practice conference*. (с. 42-45), Lublin, Poland.
 4. Kadnikova, N., & Medvedev, D. (2018). Some aspects of the *Cladobotrium* sp. biology. *Advances in Microbiology and Biotechnology* (p. 118), Lviv.
 5. Медведев, Д.Г., & Аль-Маалі, Г.А. (2019). *Cladobotrium musophilum* – збудник павутинної цвілі на промислових культурах печериці в Україні. *Актуальні проблеми ботаніки та екології: матеріали Міжнародної конференції молодих учених*. (с. 62), Харків.

АНОТАЦІЯ

Медведєв Д. Г. Біологія деяких видів роду *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. та його анаморф *Cladobotryum* – збудників павутинної цвілі печериці в Україні – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.21 – мікологія. – Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, 2020.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню біології штамів мікофільних грибів роду *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. з анаморфою *Cladobotryum* Nees, що викликають павутинну цвіль *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach в українських грибних господарствах. Висвітлюється видове та штамове різноманіття збудників павутинної цвілі *Cladobotryum* spp., виділених у грибних господарствах України, їх культурально-морфологічні та міроморфологічні властивості, особливості росту за різних умов культивування. У роботі наведені експериментально отримані дані щодо стійкості штамів *Cladobotryum* spp. до найбільш поширених фунгіцидів та антагоністичної дії цих штамів по відношенню до міцелію *Agaricus bisporus*, інших видів грибів, асоційованих з промисловим виробництвом печериці.

У результаті проведеної ревізії видового складу збудників павутинної цвілі печериці у грибних промислових господарствах України вперше виявлено *Hypomyces odoratus* у конідіальній стадії *Cladobotryum mycophilum* та підтверджено наявність *Hypomyces rosellus* у конідіальній стадії *Cladobotryum dendroides*. Окрім того, виявлено *Cladobotryum* sp., який належить до класу, що формує споріднені види *Cladobotryum tenue* та *Cladobotryum rubrobrunnescens*. Встановлено наявність двох типів павутинної цвілі печериці, що були позначені як тип А (*Hypomyces odoratus*/*Cladobotryum mycophilum* та *Hypomyces rosellus*/*Cladobotryum dendroides*) та тип В (*Cladobotryum* sp. В). Вищезазначені типи відрізнялись кольором міцелію та його структурою.

Встановлені оптимальні умови культивування штамів *Hypomyces/Cladobotryum* – живильне середовище глюкозо-пептон-дріжджовий агар, рН 6,9, температура 25 °С.

Виявлено факт поширення у грибних підприємствах України стійких до бензімідазольних фунгіцидів (беномілу, карбендазиму) та прохлоразу штамів *Hypomyces/Cladobotryum*, що викликають павутинну цвіль печериці обох типів. Показано, що більшість штамів *Hypomyces odoratus/Cladobotryum mycophilum* та *Cladobotryum* sp. В чутливі до флуазінаму та метрафенону.

Виявлено здатність штамів *Hypomyces/Cladobotryum* пригнічувати ріст міцелію штамів *Agaricus bisporus*, інших видів грибів, що присутні у компості та покривному ґрунті, а саме *Hypocrea lixii/Trichoderma harzianum*, *Hypomyces perniciosus/Mycogone perniciosus*, *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp.

Створено першу в Україні колекцію, у складі якої 17 патогенних штамів грибів роду *Cladobotryum*, виділених з плодових тіл *Agaricus bisporus*, культивованих у різних промислових господарствах України. Розроблено паспорти

цих культур з описами культурально-морфологічних та мікроскопічних ознак, особливостей росту на різних живильних середовищах та стійкості до фунгіцидів.

Ключові слова: *Cladobotryum*, *Hypomyces*, *C. mycophilum*, *H. odoratus*, павутинна цвіль, *Agaricus bisporus*, печериця, резистентність до фунгіцидів, індекс антагонізму.

АННОТАЦІЯ

Медведев Д. Г. Биология некоторых видов рода *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. и его анаморф *Cladobotryum* - возбудителей паутинистой плесени шампиньона в Украине – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.21 – микология. – Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев, 2020.

Диссертационная работа посвящена исследованию биологии штаммов микофильных грибов рода *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul., с анаморфой *Cladobotryum* Nees, вызывающих паутинистую плесень *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach на украинских промышленных предприятиях. В тексте освещено видовое и штаммовое разнообразие возбудителей паутинистой плесени *Cladobotryum* spp., выделенных из карпофоров шампиньона, выращенных в грибных хозяйствах Украины, их культурально-морфологические и микроморфологические свойства, особенности роста при различных условиях культивирования. В диссертации представлены экспериментально полученные данные по устойчивости штаммов *Cladobotryum* spp. к наиболее распространенным фунгицидам, а также данные по антагонистическому действию этих штаммов по отношению к *Agaricus bisporus* и другим видам грибов, ассоциированных с промышленным производством шампиньона.

В результате проведенной ревизии видового состава возбудителей паутинистой плесени шампиньона в грибных промышленных хозяйствах Украины впервые обнаружен *Hypomyces odoratus* в конидиальной стадии *Cladobotryum mycophilum* и подтверждено наличие *Hypomyces rosellus* в конидиальной стадии *Cladobotryum dendroides*. Кроме того, выявлено *Cladobotryum* sp., который относится к кладе, которую формируют родственные виды *Cladobotryum tenue* и *Cladobotryum rubrobrunnescens*. Установлено наличие двух типов паутинистой плесени шампиньона, которые были обозначены как тип А (*Hypomyces odoratus* / *Cladobotryum mycophilum* и *Hypomyces rosellus* / *Cladobotryum dendroides*) и тип В (*Cladobotryum* sp. В). Вышеупомянутые типы отличались цветом мицелия и его структурой.

Установлены оптимальные условия культивирования штаммов *Hypomyces* / *Cladobotryum* - питательная среда глюкозо-пептон-дрожжевой агар, рН 6,9, температура 25 ° С.

Выявлен факт распространения на предприятиях Украины по производству шампиньона устойчивых к бензимидазольным фунгицидам (беномилу, карбендазиму) и прохлоразу штаммов *Hypomyces* / *Cladobotryum*, которые вызывают

паутинистую плесень типов А и В. Показано, что большинство штаммов *Hypomyces odoratus* / *Cladobotryum mycophilum* и *Cladobotryum* sp. В чувствительны к флуазинаму и метрафенону.

Обнаружена способность штаммов *Hypomyces* / *Cladobotryum* подавлять рост *Agaricus bisporus* и других видов грибов, присутствующих в компосте и покровной почве, а именно – *Hypocrea lixii* / *Trichoderma harzianum*, *Hypomyces perniciosus* / *Mycogone perniciosus*, *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp.

Создана первая в Украине коллекция, состоящая из 17 патогенных штаммов грибов рода *Cladobotryum*, выделенных из плодовых тел *Agaricus bisporus*, культивируемых на различных промышленных предприятиях Украины. Разработаны паспорта этих культур с описаниями культурально-морфологических и микроскопических признаков, особенностей роста на различных питательных средах, устойчивости к фунгицидам.

Ключевые слова: *Cladobotryum*, *Hypomyces*, *C. mycophilum*, *H. odoratus*, паутинистая плесень, *Agaricus bisporus*, шампиньон, резистентность к фунгицидам, индекс антагонизма.

SUMMARY

Medvedev D. G. Biology of some species of the genus *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. and its anamorph *Cladobotryum* – cause of cobweb disease of button mushroom in Ukraine. – Manuscript.

The Thesis for PhD in Biology on specialty 03.00.21 – mycology. – M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, Kyiv, 2020.

The dissertation is devoted to the research of strains of mycophilic fungi of the genus *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C.Tul. with *Cladobotryum*-like anamorph, which cause cobweb disease of *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach on Ukrainian mushroom farms. The thesis covers different aspects of this problem: the species and strain diversity of *Hypomyces* spp. with *Cladobotryum*-like anamorph, isolated on Ukrainian mushroom farms, their cultural-morphological and micromorphological features, features of growth under different cultivation conditions. The paper presents experimentally obtained data on the fungicide resistance of *Cladobotryum* strains and antagonistic action of these strains against other species of fungi associated with the industrial production of mushrooms.

It was found that according to the symptoms of infection in *A. bisporus* caused by strains of *Hypomyces* spp. with *Cladobotryum*-like anamorph, we can distinguish two types of cobweb diseases: Type A and B.

A study of strains that cause cobweb disease type A found that they all belong to *H. odoratus* G. R. W. Arnold (anamorph: *C. mycophilum* (Oudem.) W. Gams & Hooz.) This species was first identified as a causative agent of cobweb disease on Ukrainian fungal farms. The study of strains that cause cobweb disease type B, showed their homogeneity in micromorphology and a significant difference from the most common species of the genus

Cladobotryum. All strains that cause cobweb disease type B were conventionally designated as *Cladobotryum* sp. B. According to micromorphological and cultural-morphological features, these strains belong to the class that forms related species of *C. tenue* Helfer and *C. rubrobrunnescens* Helfer and require further study by molecular genetics methods.

It was found that *H. rosellus* (Alb. & Schwein.) Tul. & C. Tul. (anamorph: *C. dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz), which had been considered the main infectious agent that causes cobweb disease of *A. bisporus*, is not the main causative agent of this disease in Ukrainian fungal farms. Only 1 strain of *C. dendroides* was detected in our study.

It was found that according to the parameters of growth rate, the best medium for cultivation of all strains of *C. mycophilum* is glucose-peptone-yeast agar medium (14-20 mm/day), slightly worse than malt extract agar medium (11-18 mm/day) and potato-dextrose agar medium (11-16 mm/day). The growth rate of strains from the *Cladobotryum* sp. group B on glucose-peptone-yeast agar medium was 13-15 mm/day, on potato-dextrose agar medium – 12-16 mm/day, on malt extract agar medium – 8.5-11.5 mm/day. The intensity and time of pigmentation development had strain differences and depended on the selected medium (MEA, PDA, GPDA), but in general the color intensity on the GPDA medium was higher than on MEA and PDA.

It was established experimentally that the optimal cultivation temperature of all *Cladobotryum* strains is a temperature of 25 °C and pH 6.9 is optimal for biomass accumulation for all strains of *Cladobotryum* isolated from fungal farms of Ukraine.

The fact of the spread of *Hypomyces* / *Cladobotryum* strains which was resistant to benzimidazole fungicides (benomyl, carbendazim) and prochloraz at the fungal farms of Ukraine was revealed.

It was shown that the strains of *Hypomyces odoratus* / *Cladobotryum mycophilum* and *Cladobotryum* sp. groups B are generally sensitive to fluazinam and metrophenone. It was found the ability of *Hypomyces* / *Cladobotryum* strains to inhibit the growth of other fungi, namely, *Hypocrealixii* / *Trichoderma harzianum*, *Hypomyces perniciosus* / *Mycogone perniciosus*, *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp.

The final result of the current research was a creation of a collection that contains 17 strains of *Hypomyces* (Fr.) Tul. & C. Tul. with *Cladobotryum*-like anamorph isolated from Ukrainian mushroom farms. For each strain, we made a detailed description, which includes data on species identification, growth characteristics, and morphology of colonies on different nutrient media, temperature regimes of cultivation and storage, critical temperatures, resistance to different types of fungicides, and antagonistic properties against other mycophilic fungi and fungi associated with compost and cover soil.

Keywords: *Cladobotryum*, *Hypomyces*, *C. mycophilum*, *H. odoratus*, cobweb disease, *Agaricus bisporus*, button mushroom, fungicides resistance, index of antagonism.