

УДК 581.2 : 582.284 : 632.4

Изучение комплекса грибов *Armillaria mellea sensu lato* в центральных районах Красноярского края

Т. Ю. Раздорожная – Российский центр защиты леса,
филиал Центр защиты леса Красноярского края, инженер,
Красноярск, Российская Федерация, Yushkova.Tatiana@yandex.ru

Е. А. Шилкина – Российский центр защиты леса,
филиал Центр защиты леса Красноярского края, начальник отдела,
кандидат биологических наук, Красноярск, Российская Федерация

Приведены данные о высокой устойчивости сибирских штаммов опенка к низким температурам. Выполнена их видовая идентификация классическими и современными генетическими методами, при этом один из видов комплекса *Armillaria mellea s. l.* определен как *Armillaria borealis*.

Ключевые слова: фитопатогены, ДНК-диагностика, секвенирование, видовая идентификация

Для ссылок:

Раздорожная, Т. Ю. *Изучение комплекса грибов *Armillaria mellea sensu lato* в центральных районах Красноярского края* [Электронный ресурс] / Т. Ю. Раздорожная, Е. А. Шилкина // Лесохоз. информ. : Электрон. сетевой журн. – 2016. – № 1. – С. 48–59. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

Комплекс грибов *Armillaria mellea* s. l. – естественный компонент биоценоза, который наравне с другими дереворазрушающими грибами является одним из эндогенных механизмов перестройки в ходе сукцессии неустойчивых лесных сообществ в более устойчивые, от простого строения древостоев к более сложному [1].

Ранее воздействие корневых патогенов (*Armillaria mellea* s. l., *Heterobasidion annosum* s. l.) на древесную растительность на территории Сибири не представляло большой опасности, фиксировались лишь случаи незначительного куртинного усыхания, например лесных культур сосны обыкновенной на юге Красноярского края [2]. Ухудшение санитарного и лесопатологического состояния хвойных лесов способствовало заметному расширению ареала патогенного воздействия грибов [3]. Степень участия фитопатогенов комплекса *Armillaria mellea* s. l. в процессах усыхания древостоев и их вредоносность сильно недооценены по причине малоизученности и сложности их обнаружения и идентификации. В настоящее время необходимо на постоянной основе осуществлять мониторинг развития возбудителей корневых гнилей и комплексные исследования их вредоносности, а также обеспечить разработку мер борьбы с указанными патогенами.

Цель работы – изучение комплекса грибов *Armillaria mellea sensu lato* на территории центральной части Красноярского края.

В задачи исследования входило:

1. Отобрать образцы грибов комплекса *Armillaria mellea* s. l. в разновозрастных хвойных древостоях на территории Красноярского и Емельяновского лесничеств Красноярского края, выделить чистые культуры.
2. Изучить влияние температуры на рост мицелия выделенных штаммов опенка осеннего.
3. Дать оценку агрессивности штаммов *Armillaria mellea* s. l. путем искусственного внедрения патогена в ткани растения.
4. Провести видовую идентификацию штаммов, устойчивых к низким температурам и проявляющих агрессивные свойства в отношении растения-хозяина.

Решение указанных задач позволяет изучить особенности развития исследуемых грибов в условиях Красноярского края, облегчить диагностику возбудителей корневых гнилей, в том числе с использованием инновационных молекулярно-генетических методов, и в дальнейшем дать рекомендации по сдерживанию их развития.

Объекты и методы исследований

Объекты исследования – грибы комплекса *Armillaria mellea sensu lato*, отобранные с усыхающих деревьев хвойных и лиственных пород на территории Красноярского и Емельяновского лесничеств Красноярского края. Детальное лесопатологическое обследование изучаемых территорий показывает, что корневые системы хвойных и лиственных пород всех категорий, включая внешне здоровые, в той или иной степени повреждены гнилями. Периферическая часть древесины разрушается по типу белой волокнистой коррозионно-деструктивной гнили, типичной для воздействия грибов рода *Armillaria*.

Для выделения чистых культур грибов с левой части и корней усыхающих деревьев отбирали образцы древесины размером 3–5 см, а также плодовые тела и культивировали их в чашках Петри на агаризированном сусло-агаре (1,5–2,0 %, 4° по Баллингу) в термостате при температуре 24–26 °С. Чистоту культур проверяли микроскопированием [4].

Исследование экологических особенностей представителей комплекса *Armillaria mellea* s.l. проводили на 5 штаммах, выделенных в процессе работы и отличающихся географической и субстратной приуроченностью (табл. 1).

Влияние температур на рост грибницы изолятов *Armillaria mellea* s. l. изучали методом агаровых блоков ($d = 0,5$ см) путем инкубирования в течение 4 недель в холодильной камере при температуре 6 и 24 °С. При этом еженедельно фотографировали и фиксировали интенсивность зарастания чашки Петри мицелием гриба с помощью лабораторно-программного комплекса по исследованию радиального прироста древесных растений [5].

Таблица 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ШТАММОВ

ШТАММ	РАСТЕНИЕ-ХОЗЯИН	КАТЕГОРИЯ СОСТОЯНИЯ ДЕРЕВЬЕВ	РАЙОН СБОРА ОБРАЗЦОВ
1	<i>Populus tremula</i> L.	I	Красноярское лесничество
2	<i>Pinus sylvestris</i> L.	II	То же
3	<i>Pinus sibirica</i> Du Tour	I	Емельяновское лесничество
4	<i>Pinus sylvestris</i> L.	I	То же
5	<i>Betula pendula</i> Roth.	V	«-»

Патогенность (агрессивность) изолятов комплекса *Armillaria mellea sensu lato* изучали в питомнике путем инокуляции 2-летних саженцев сосны обыкновенной, лиственницы сибирской, ели обыкновенной, сосны кедровой сибирской (кедра сибирского) чистыми культурами патогена по модифицированной методике Соколова [6]. Модификация заключалась в том, что у отобранных саженцев с соблюдением асептики отрезали тонкий кусочек коры, мицелий патогена плотно прикладывали к камбию и прижимали корой. Для предотвращения высыхания и разрушения опенка почвенными грибами и бактериями кусочек коры закрепляли с помощью полиэтилена. Эксперимент проводили в конце мая – начале июня при среднесуточной температуре 2,7 °С и влажности воздуха 69 %. Для учета результатов по внедрению патогена в ткани растения осуществляли вскрытие сделанной прививки, микроскопирование древесины, а также дублирование выделения чистой культуры из пораженной древесины. Часть саженцев оставляли для учета степени усыхания от воздействия изучаемого гриба.

Видовую принадлежность изолятов *Armillaria mellea sensu lato* идентифицировали с помощью морфологического описания плодовых тел, а также методов «ди-мон» и секвенирования.

Макроскопические характеристики опенка осеннего фиксировали на стадии плодовых тел. Сбор и высушивание проводили согласно общепринятым методикам. Для микроскопирования частей сухих плодовых тел методом «раздавленная капля» использовали 5 %-й раствор КОН, 3–10 %-й аммиачный раствор конго красного. Значения количественных показателей базиро-

вались на измерениях не менее 20 спор и различных специфических структур (базидии, цистиды, пряжки и т.п.) [7].

Для видовой идентификации методом «ди-мон» (дикарион-монокарион) использовали метод совместного культивирования, сращивая поочередно диплоидные изоляты рода *Armillaria mellea* s. l., инокулированные на агаровые блоки, и штаммы-тестеры нескольких интестерильных групп, любезно предоставленные в 2006 г. доктором Кари Корхоненом (Финляндия) [8]. К одной интерстерильной группе диплоидный изолят относили при явном изменении морфологии хотя бы одного из 5-ти тестеров на крустозный тип мицелия и отсутствии демаркационной линии на границе двух культур в течение 4-недельного культивирования [9].

Молекулярно-генетическую диагностику грибов проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим секвенированием фрагментов [10]. Анализировали регион рДНК, включающий следующую последовательность локусов: 18S рРНК-ВТС1-5, 8S-рРНК-ВТС2-28SpРНК [11]. Экстракцию ДНК проводили из свежей культуры гриба. Выделение ДНК осуществляли с помощью набора реагентов Diatom™ (ООО «Лаборатория Изоген»), согласно протоколу фирмы-производителя.

Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор реагентов GenPak PCA Core (ООО «Лаборатория Изоген») и универсальные праймеры ITS1 F (5-TCCGTAGGTGAACCT-GCGG-3) (10 мкм); ITS4 R (5-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3) (10 мкм). Процесс амплификации проводили в термоциклере по следующей программе:

- 1) денатурация $t = 4$ мин, $T = 96$ °C;
- 2) денатурация $t = 1$ мин, $T = 96$ °C;
- 3) отжиг $t = 30$ сек, $T = 55$ °C;
- 4) элонгация $t = 2$ мин, $T = 72$ °C; со 2-го по 4-й шаг, 30 циклов;
- 5) элонгация $t = 10$ мин, $T = 72$ °C;
- 6) охлаждение реакционной смеси $t = 5$ мин, $T = 4$ °C.

Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК осуществляли в агарозном геле (2 %). Загрузочный раствор каждой дорожки состоял из 5 мкл образца ДНК и 2 мкл загрузочного буфера (30 %-й глицерин, 0,5 %-й бромфеноловый синий). Электрофорез проводили при комнатной температуре в течение 2 ч при параметрах тока 90 В/60 мА. Детекция продуктов электрофореза достигалась окрашиванием гелевых пластин в растворе бромистого этидия. Для визуального наблюдения гель помещали в УФ-транслюминатор. Фотодокументирование продуктов электрофореза достигалось за счет видеосканирования в УФ-свете специальной системой GellImager.

Для видовой идентификации патогенов осуществлялось иссечение фрагмента геля, содержащего ДНК-фрагмент гриба. Очистку фрагментов ДНК от геля выполняли в соответствии с протоколом набора реагентов Clean up mini (Евроген). Секвенирование фрагментов ДНК проводили с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) по методике, предложенной фирмой-производителем. Интерактивный анализ нуклеотидных последовательностей образцов осуществляли с помощью программы Sequencing Analysis v.6 и Variant Reporter v.2, CLC DNA Workbench v. 6. Результаты секвенирования в формате FASTA использовали для идентификации с помощью баз данных NCBI и Mucobank.

Результаты и обсуждение

Согласно литературным данным, оптимальными температурами для роста мицелия опенка являются 19–25 °C [6, 12]. При температуре ниже 11 °C их рост очень слабый, а ниже 5 °C и выше 35 °C – полностью прекращается. Северные

европейские виды *A. borealis*, *A. cepistipes*, *A. ostoyae* имеют более низкий температурный оптимум, чем южные (из низких широт) виды *A. gallica* и *A. mellea* [8].

Исследование влияния температуры на рост грибницы выделенных корневых патогенов выявило наличие особых свойств сибирских штаммов. Образцы, отобранные с деревьев I–II класса Крафта, по скорости формирования грибницы в оптимальных температурных условиях относились к группе быстрорастущих штаммов, но при температуре 6 °C имели низкую способность формирования мицелия. В то же время были отмечены изоляты, имеющие среднюю скорость роста при оптимальных условиях, а также проявившие себя быстрорастущими при низкой температуре, например, штаммы 3, 4, 5 (рис. 1). Это свидетельствует о высокой устойчивости сибирских видов опенка к низким температурам, что согласуется с данными И. Н. Павлова и др. [13, 14].

Такая устойчивость для патогенов комплекса *Armillaria mellea sensu lato* играет положительную роль, так как их развитие начинается при более низких температурах и завершается позднее, чем у других дереворазрушающих грибов. Это позволяет грибнице не только достичь камбиального слоя, но и привести дерево к гибели, успешно закрепиться, создав защитные структуры, а также позволяя опенку осеннему успешно перезимовать.

Искусственному заражению подверглись саженцы 5-ти хвойных пород (по 10 шт.). Активное внедрение патогена в здоровое растение наблюдалось только для штамма 4 в отношении сосны кедровой сибирской и сосны обыкновенной (табл. 2, рис. 2). Штаммы 1, 2, 3 и 5 не проявили агрессивных свойств в отношении заражаемых растений-хозяев: у инфицированных участков растений отсутствовали признаки поражения, штаммы искусственно внедренных фитопатогенов из тканей саженцев не выделялись.

В результате проведенных исследований штамм 4 *Armillaria mellea* s. l. был отобран для дальнейшей видовой идентификации по трем направлениям: морфологическое описание, ме-

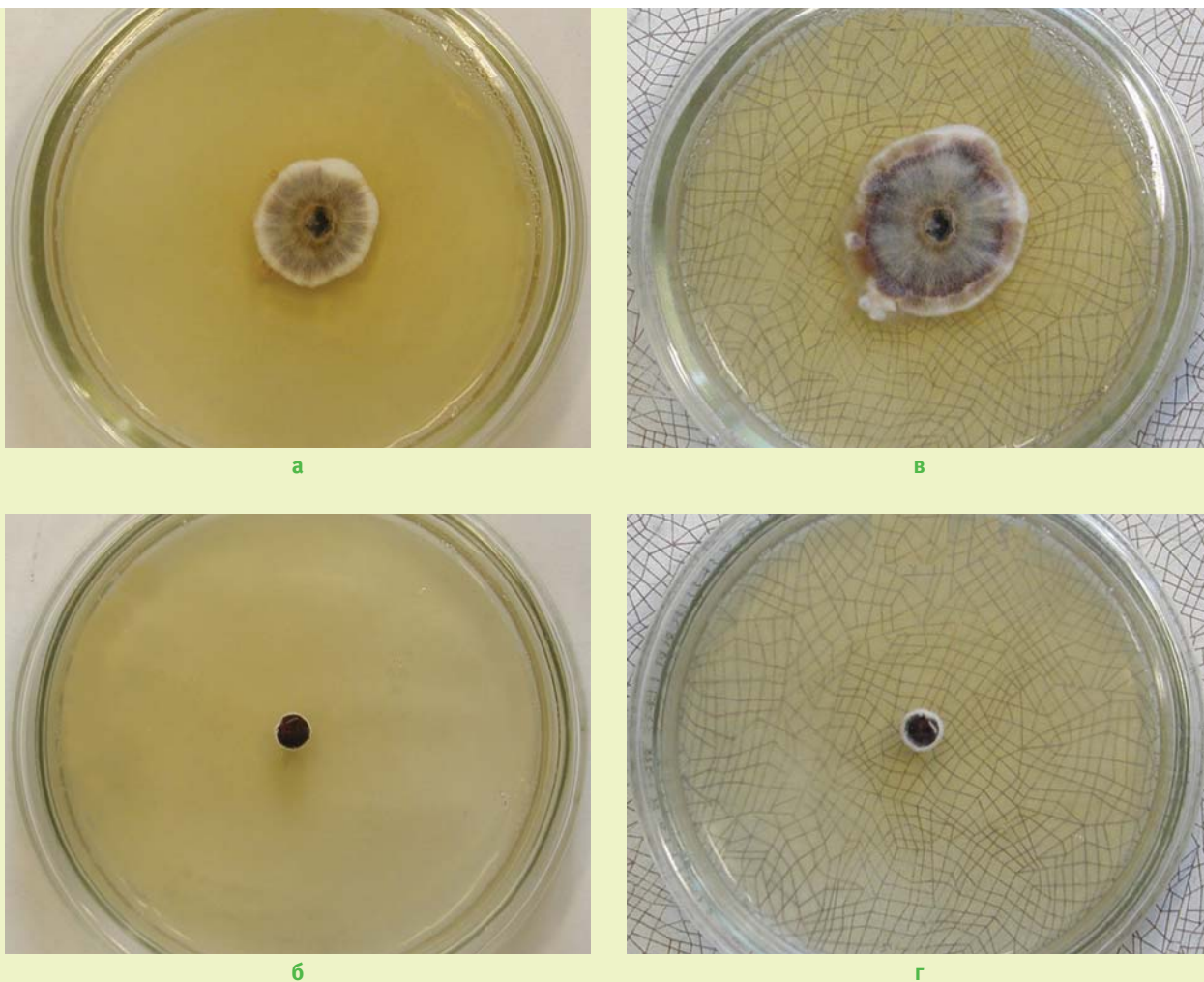


Рис. 1. Рост мицелия *Armillaria mellea sensu lato* при различных температурах (на примере штамма 4):
 а – при температуре 24 °С (1 неделя эксперимента);
 б – при температуре 6 °С (1 неделя эксперимента);
 в – при температуре 24 °С (4 неделя эксперимента);
 г – при температуре 6 °С (4 неделя эксперимента)

Таблица 2. Результаты искусственного заражения хвойных растений штаммами *ARMILLARIA MELLEAE SENSU LATO*, шт.

РАСТЕНИЕ-ХОЗЯИН	ШТАММЫ <i>ARMILLARIA MELLEAE SENSU LATO</i>				
	1	2	3	4	5
Лиственница сибирская	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Сосна обыкновенная	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10
Сосна кедровая сибирская	0/10	0/10	0/10	5/10	0/10
Ель обыкновенная	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

тод скрещивания культур с тестерами и молекулярно-генетическая идентификация.

Морфологическое описание плодовых тел штамма 4 *Armillaria mellea sensu lato* (рис.

3). Шляпка полукругло-выпуклая до распростертой, поверхность темно-кремовая, бледно-охристая. Чешуйки темно-коричневые, лохматые, торчащие вверх, состоящие из нескольких

пучков, густо расположенные в центральной части, более редкие по краям. Поверхность шляпки точечно-крапчатая, иногда местами голая. Край шляпки белесый с остатками частного покрывала без чешуек, ровный. Пластинки светло-кремовые, почти белые; коротко низбегающие, частые с пластиночками. Край пластинок ровный. Пластинки светлыми линиями продолжаются до кольца. Кольцо двойное, пушисто-войлочное. Имеется белая ложбинка между верхней и нижней частью кольца. Верхняя часть беловойлочная. Нижняя часть кольца обычно окрашена в желтоватый и желтый цвет и покрыта многочисленными бурыми, отдельно расположенными точечными чешуйками. Ножка того же цвета, что и пластинки. К основанию имеет буроватый оттенок, само основание темно-бурое. Вся поверхность ножки покрыта клочками частного покрывала с бородавками. Плодовые тела растут пучками на корневых лапах сосны обыкновенной. Микроскопирование: базидии булабовидные длиной 45 мкм и диаметром 8–10 мкм, септированные, основание с пряжками. Это подтверждает, что данное плодовое тело не относится к группе *A. mellea*. Имеются 2–4 стеригмы высотой 5 мкм и более. Споры крупные, размером 12×8 мкм, от овальных до миндалевидных.

Согласно полученному описанию данный штамм предположительно относится к виду *Armillaria borealis* [15].

Тест-скрещивание проводили со следующими видами: *A. mellea*, *A. ostoyae*, *A. gallica*, *A. borealis*, *A. cepistipes*. Данный метод, основанный на сексуальной совместимости грибов, показал, что штамм 4 относится к виду *Armillaria borealis* (рис. 4). Согласно литературным данным [9, 12], указанный вид не характеризуется агрессивными свойствами и не играет весомой роли в ослаблении древостоев на территории Европы и Америки, однако его способность вызывать в Сибири массовые очаги усыхания хвойных пород представляет большой научный и практический интерес.

Молекулярно-генетические исследования подтвердили ранее полученные нами данные о



Рис. 2. Стволик 2-летнего саженца сосны кедровой сибирской, искусственно инфицированный штаммом 4 *Armillaria mellea sensu lato*: в месте заражения наблюдается некроз тканей



Рис. 3. Морфологическое описание опенка осеннего: а – плодовые тела *Armillaria borealis*, б – базидия с 4-мя стеригмами, пряжкой и спорой

видовой принадлежности исследуемого штамма. Сравнение полученного сиквенса с генетической базой данных позволило достоверно определить его вид как *Armillaria borealis* (AJ250052.1). Полученные данные свидетельствуют о том, что трудоемкие и длительные по времени классические методы видовой идентификации могут быть успешно заменены на генетические, как более быстрые, но не менее надежные.

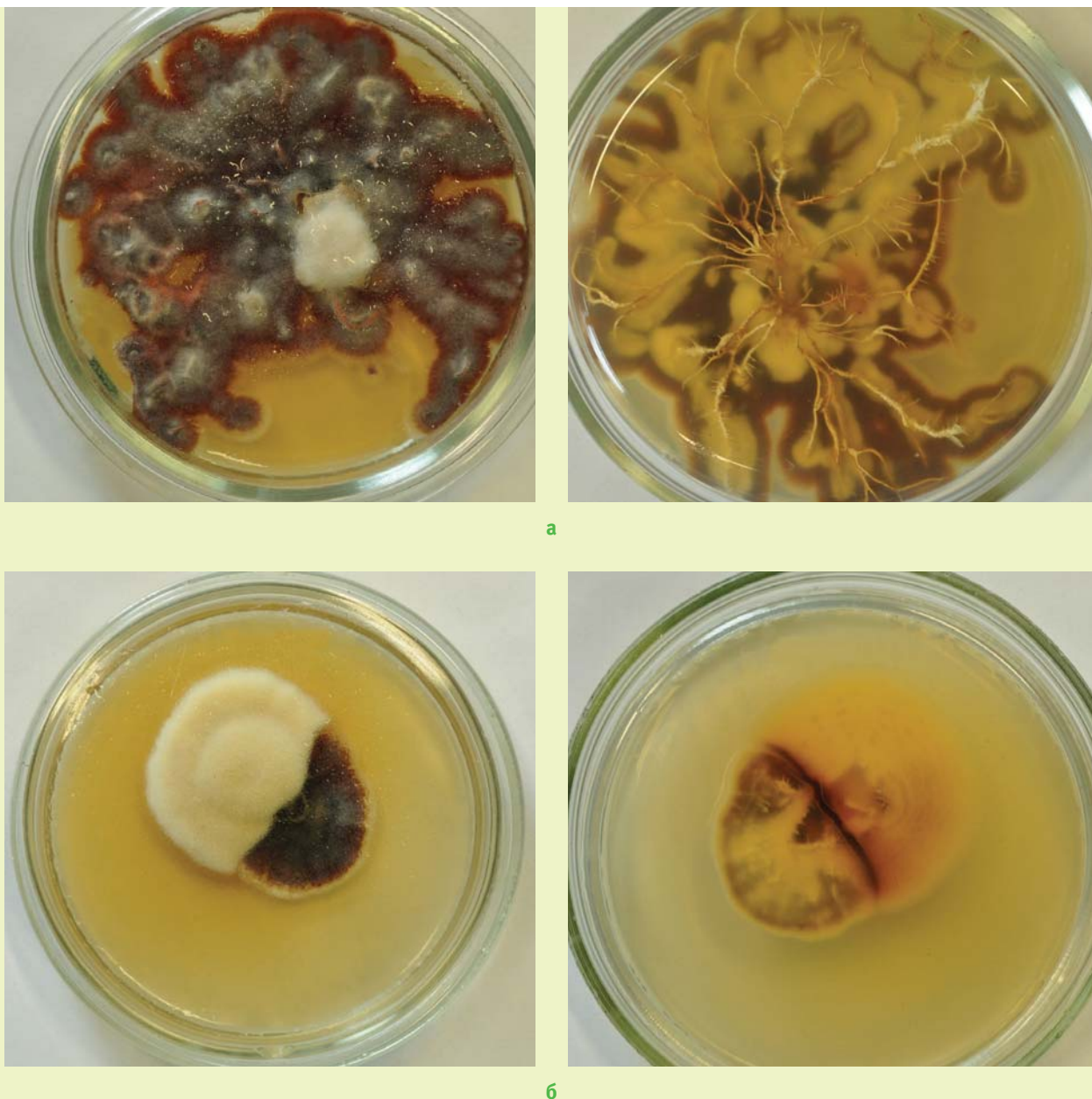


Рис. 4. Тест-скрещивание *A. borealis* с тестерами:
 а – положительная реакция;
 б – отрицательная реакция

Выводы

1. Большинство штаммов фитопатогенных грибов комплекса *Armillaria mellea* s. l., отобранных в ослабленных древостоях на территории центральной части Красноярского края, характеризуются способностью к активному формированию грибницы и защитных структур при низких температурах окружающей среды. Эта особен-

ность сибирских штаммов *Armillaria mellea* s. l. может служить причиной усиления их патогенных свойств, приводящих к массовому куртинному усыханию хвойных лесов в Красноярском крае. Целесообразно расширить ареал исследований в данном направлении на территории Сибири.

2. В результате видовой идентификации наиболее агрессивный и патогенный из выде-

ленных штаммов был определен как *Armillaria borealis* Marxm. & Korhonen, что согласуется с литературными данными об активном участии данного вида в образовании очагов усыхания хвойных и лиственных пород деревьев на территории Сибири.

На наш взгляд, изучение проблемы корневых патогенов, представленных комплексом *Armillaria mellea* s.l., имеет большое прикладное значение. В настоящее время вредоносность указанного комплекса недооценена, в том числе по причине наличия множества противоречивых данных о его видовом составе. Учитывая, что комплекс включает ряд агрессивных видов, таких как *A. ostoyae* и *A. borealis*, а идентификация

их систематической принадлежности традиционными методами весьма затруднительна из-за отсутствия определителей для сибирских видов, возникает потребность в расширении арсенала используемых методов, например, с помощью молекулярно-генетической диагностики. Это позволит провести детальные исследования особенностей видового состава комплекса *Armillaria mellea* s. l. с целью написания новых ключей для определителей сибирских штаммов и создания базы данных по их пространственной распространенности. Наличие такой базы будет способствовать осуществлению более качественного мониторинга корневых гнилей в древостоях хвойных и лиственных пород.

Авторы выражают благодарность
Наталье Петровне Кутафьевой – консультанту
филиала Центра защиты леса Красноярского края,
которая принимала активное участие
в проведенных исследованиях.

Список использованной литературы

1. Стороженко, В. Г. Комплексы сапрофитных грибов на валеже в еловых древостоях различного происхождения / В. Г. Стороженко // Лесоведение. – 1992. – № 5. – С. 64–67.
2. Пояснительная записка к проекту организации и ведения хозяйства Минусинского лесхоза. – Т. I ; Кн. 1. – Красноярск, 2004. – 300 с.
3. Денисов, Б. С. Современные проблемы защиты леса / Б. С. Денисов // Лесхоз. информ. – 2003. – № 2. – С. 23-25.
4. Афанасова, Е. Н. Изучение питательных сред при культивировании / Е. Н. Афанасова, Н. В. Пашенова // Микология и фитопатология. – 2005. – № 2. – С. 62–65.
5. Лабораторно-программный комплекс по исследованию радиального прироста древесных растений : Свид. 2003612095 РФ / И. Н. Павлов, А. А. Марков, С. П. Якимов, Н. А. Степаненко, С. Ю. Гортман. – RU. – № 2003611608 ; Заявл. 15.07.03 ; Опубл. 08.09.03, Бюл. № 9.
6. Соколов, Д. В. Корневая гниль от опенка и борьба с ней / Д. В. Соколов. – М. : Лесн. пром-сть, 1964. – 372 с.
7. Коваленко, А. Е. Род *Сamarophyllopsis* в России: новые находки и новый вид *C. albofloccipes* / А. Е. Коваленко, Е. В. Малышева, О. В. Морозова // Микология и фитопатология. – 2012. – Т. 46. – Вып. 1. – С. 54–66.
8. Guillaumin, J. J. Armillaria species in the northern temperate hemisphere / J. J. Guillaumin, C. Mohammed, S. Berthelay ; ed. D. J. Morrison // Proceedings of the 7th international conference on root and butt rots (Vernon and Victoria, August, 1988). – Victoria : IUFRO, 1988. – P. 27–43.
9. Радзиевская, М. Г. Структура комплекса *Armillaria mellea sensu lato* : автореф. дисс. ... к. б. н. : 03.00.24 / М. Г. Радзиевская. – М. : МГУ им. Ломоносова, 1989. – 23 с.
10. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Мн. : Юнипол, 2007. – 176 с.
11. Молекулярно-генетическая диагностика грибных болезней в лесных питомниках // О. Ю. Баранов, В. А. Ярмолович, С. В. Пантелеев, Д. Г. Купреенко // Лесное и охотничье хозяйство. – 2012. – № 6. – 9 с.
12. Shaw, III C.G. Armillaria root disease / III C. G. Shaw, G. A. Kile // Agriculture Handbook. – Washington D.C. – 1991. – № 691. – P. 233.
13. К вопросу влияния лесорастительных условий на устойчивость сосняков Минусинской впадины к корневым патогенам / И. Н. Павлов [и др.] // Хвойные бореальной зоны. – Т. 25. – 2009. – Т. 25. – № 1-2. – С. 28–36.
14. Основная причина массового усыхания пихтово-кедровых лесов в горах Восточного Саяна – корневые патогены / И.Н. Павлов [и др.] // Хвойные бореальной зоны. – Т. 26. – 2009. – № 1. – С.33–41.
15. Кутафьева, Н. П. Морфология грибов : учеб. пособ. ; 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск : Сиб. унив. изд, 2003. – 215 с.

References

1. Storozhenko, V. G. Kompleksy saprofitnykh gribov na valezhe v elovykh drevostoyakh razlichnogo proisxozhdeniya / V. G. Storozhenko // Lesovedenie. – 1992. – № 5. – S. 64–67.
2. Poyasnitel'naya zapiska k proektu organizaczii i vedeniya hozyajstva Minusinskogo lesxozza. – T. I ; Kn. 1. – Krasnoyarsk, 2004. – 300 s.
3. Denisov, B. S. Sovremennye problemy zashhity lesa / B. S. Denisov // Lesoxoz. inform. – 2003. – № 2. – S. 23–25.

4. Afanasova, E. N. Izuchenie pitatel'nyx sred pri kul'tivirovanii / E. N. Afanasova, N. V. Pashenova // Mikologiya i fitopatologiya. – 2005. – № 2. – S. 62–65.
5. Laboratorno-programmnyj kompleks po issledovaniyu radial'nogo prirosta drevesnyx rastenij : Svid. 2003612095 RF / I. N. Pavlov, A. A. Markov, S. P. Yakimov, N. A. Stepanenko, S. Yu. Gortman. – RU. – № 2003611608 ; Zayavl. 15.07.03 ; Opubl. 08.09.03, Byul. № 9.
6. Sokolov, D. V. Kornevaya gnil' ot openka i bor'ba s nej / D. V. Sokolov. – M. : Lesn. prom-st', 1964. – 372 s.
7. Kovalenko, A. E. Rod Camarophyllopsi v Rossii: novye naxodki i novyj vid *S. albofloccipes* / A. E. Kovalenko, E. V. Malysheva, O. V. Morozova // Mikologiya i fitopatologiya. – 2012. – T. 46. – Vyp. 1. – S. 54–66.
8. Guillaumin, J. J. Armillaria species in the northern temperate hemisphere / J. J. Guillaumin, C. Mohammed, S. Berthelay ; Morrison, D. J., ed. // Proceedings of the 7th international conference on root and butt rots. – Vernon and Victoria, August, 1988. – Victoria : IUFRO, 1988. – P. 27–43.
9. Radzievskaya, M. G. Struktura kompleksa *Armillaria mellea* sensu lato : avtoref. diss. ... k. b. n. : 03.00.24 / M. G. Radzievskaya. – M. : MGU im. Lomonosova, 1989. – 23 s.
10. Padutov, V. E. Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza / V. E. Padutov, O. Yu. Baranov, E. V. Voropaev. – Mn. : Yunipol, 2007. – 176 s.
11. Molekulyarno-geneticheskaya diagnostika gribnyx boleznej v lesnyx pitomnikax // O. Yu. Baranov, V. A. Yarmolovich, S. V. Pantelev, D. G. Kupreenko // Lesnoe i oxotnich'e khozyajstvo. – 2012. – № 6. – 9 s.
12. Shaw, III C. G. Armillaria root disease / III C. G. Shaw, G. A. Kile // Agriculture Handbook. – Washington D.C. – 1991. – № 691. – P. 233.
13. K voprosu vliyaniya lesorastitel'nyx uslovij na ustojchivost' sosnyakov Minusinskoj vpadiny k kornevym patogenam / I. N. Pavlov [i dr.] // Hvojnye boreal'noj zony. – 2009. – T. 25. – № 1-2. – S. 28–36.
14. Osnovnaya prichina massovogo usyxaniya piktovo-kedrovyx lesov v gorax Vostochnogo Sayana – kornevye patogeny / I. N. Pavlov [i dr.] // Hvojnye boreal'noj zony. – 2009. – T. 26. – № 1. – S. 33–41.
15. Kutafeva, N. P. Morfologiya gribov : ucheb. posob. ; 2-e izd., ispr. i dop. – Novosibirsk : Sib. univ. izd, 2003. – 215 s.

The study of *Armillaria Mellea Sensu Lato* Complex in the Central Areas of the Krasnoyarsk Region

T. Yu. Razdorozhnay – Russian Centre of Forest Health, Krasnoyarsk Centre of Forest Health, Engineer, Krasnoyarsk, Russian Federation, Yushkova.Tatiana@yandex.ru

E. A. Shilkina – Russian Centre of Forest Health, Krasnoyarsk Centre of Forest Health, Head of the Department, Candidate of Biological Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Keywords: pathogenic fungi, DNA-diagnostics, sequencing, species identification

The *Armillaria mellea* s.l. complex is a natural component of the ecosystem, which along with other wood decaying fungi is one of the endogenous mechanisms of restructuring unsustainable forest communities into more sustainable in the course of succession, from a simpler structure of forest stands to more complex [1].

Until recently, the impact of root pathogens (*Armillaria mellea* s.l., *Heterobasidion annosum* s.l.) on the territory of Siberia did not represent a great danger, only minor cases of drying were recorded, as, for example, in forest cultures of Scots pine in the South of Krasnoyarsk territory [2]. The worsening state of health, and forest pathology of coniferous trees significantly expanded the range of pathogenic fungi exposure [3, 4] and currently requires continuous monitoring of the root pathogens development, comprehensive studies of their severity and development of measures to combat these diseases. In addition, the current level of participation of phytopathogens of the *Armillaria mellea* s.l. complex in the process of drying of forest stands and their harmfulness are strongly underestimated because of poor-studying and difficulties in their detection and identification.

In this regard, the aim of this work was to study the *Armillaria mellea sensu lato* complex on the territory of Siberia.

The objectives of the study included:

1. To Select the samples of the *Armillaria mellea* s.l. complex in coniferous stands on the territory of Krasnoyarsk and Emelyanov forestries, isolate the pure cultures;
2. To determine the optimum temperature of mycelial growth of the honey mushroom in Siberia;
3. To assess the aggressiveness of the isolates by artificial introduction of the pathogen into the plant tissues;
4. To carry out species identification of strains resistant to low temperatures and aggressive in respect of the host plant.

Solving these problems allows to study the features of development of the studied pathogen in Krasnoyarsk region, to facilitate the diagnosis of this disease, including the use of innovative molecular genetic methods, and make recommendations to restrain its development.

References

1. Storozhenko, G. Complexes saprophytic fungi on valezhe in spruce stands of different origin / G. Storozhenko // *Forestry*. – 1992. – № 5. – P. 64–67.
2. Explanatory note concerning the Organization and management of Minusinskogo forestry. – T. I ; Kn. 1.- Krasnojarsk, 2004. – 300 p.
3. Denisov, B. S. Modern problems of forest protection / B. S. Denisov // *Lesohoz. inform.* – 2003. – № 2. – P. 23-25.
4. Afanasova, E. N. Study nutrient Wednesday when cultured / E. N. Afanasova, N. Pashenova // *Mycology and Phytopathology*. – 2005. – № 2. – P. 62–65.