

УДК: 561.288(*Daedaleopsis confragosa*)

Изворни научни рад *Original scientific paper*

**УТИЦАЈ TEMPERATURE НА ПОРАСТ МИЦЕЛИЈЕ ГЉИВЕ
Daedaleopsis confragosa (Bolt.: Fr.) J. Schröt.**

Мирослав Марковић, Саша Орловић, Предраг Пап, Владислава Галовић, Саша Пекеч, Зоран Галић¹

Извод: У овом раду су приказани резултати испитивања пораста мицелије различитих изолата гљиве *Daedaleopsis confragosa* на различитим температурама (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35⁰С) и хранљивим подлогама (ПДА и Малтагар декстроза). На основу највећег просечног дневног раста мицелија свих 5 посматраних изолата може се закључити да је оптимална температура развоја око 35⁰С. Оптимална температура, уз повољну влажност ваздуха, фаворизује развој гљиве *Daedaleopsis confragosa* што је, у условима густог склопа, основни разлог честог и обилног јављања ове гљиве на стаблима у шумама на нижим надморским висинама (Фрушка Гора).

Кључне речи: *Daedaleopsis confragosa*, пораст мицелије, температура, дивља трешња

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE MICELIUM GROWTH OF Daedaleopsis confragosa (Bolt.: Fr.) J. Schröt.

Abstract: The results of the research on mycelium growth of different isolates of *Daedaleopsis confragosa* in different temperatures (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35⁰C) and medium (PDA and Malat-dextrose). According to the highest average daily micelium growth for all five examined isolates the optimal temperature for development was 35⁰C. Optimal temperature, with favorable air humidity, favors the development of *Daedaleopsis confragosa*, which is, in conditions of dense stand fundamental cause of frequent and abundant appierance of this fungus on trees in forests on lower altitudes (Fruška gora Mnt.).

Key words: *Daedaleopsis confragosa*, micelium growth, temperature, wild cherry

¹ Др Мирослав Марковић, научни сарадник, Др Саша Орловић, научни саветник, Др Предраг Пап, научни сарадник, Др Владислава Галовић виши научни сарадник, Др Саша Пекеч научни сарадник, Др Зоран Галић, научни саветник, Институт за низијско шумарство и животну средину, Антона Чехова 13, 21000 Нови Сад, Србија

УВОД

Први опис рода *Daedaleopsis* дао је Schröter J. 1888. године. Род је широко распрострањен у Европи, Северној Америци и Азији и садржи шест врста: *D. confragosa* (Bolt.: Fr.) J. Schröt., *D. nipponica* Imazeki, *D. papyraceosupinata* (S. Ito & S. Imai) Imazeki, *D. pergamenea* (Berk. & Broome) Ryvarden, *D. septentrionalis* (P. Karst.) Niemelä, *D. sinensis* (Lloyd) Y.C. Dai. (<http://en.wikipedia.org/wiki/Daedaleopsis>).

Род *Daedaleopsis* је, захваљујући изгледу хименијалне површине која често личи на лавиринт, добио назив по Daedalus (гр. Δαίδαλος), у грчкој митологији познатог као творца лавиринта. Овакав облик пора је таксономски описан као дедалоидан (engl. daedaloid).

Гљива *Daedaleopsis confragosa* (Bolt.: Fr.) J. Schröt. је лигничолна гљива која изазива белу трулеж. Јавља се као паразит слабости или сапрофит на мртвом дрвету лишћара. Караџић, (2010) наводи да је честа на *Alnus*, *Betula*, *Salix*, *Corylus*, *Fagus*, *Quercus* и *Prunus avium*. Описана је и као изазивач беле трулежи на стаблима граба (*Carpinus betulus*) (Караџић, 2011). Милијашевић и Караџић, (2007) наводе да се на храсту китњаку (*Q. petraea*) у Србији јавља као факултативни паразит или сапрофит. Једна је од најзначајнијих и најчешће регистрованих гљива на црној јови (*Alnus glutinosa*) на територији Србије, Црне Горе и Републике Српске (Караџић и Чолић, 2009).

Током проучавања паразитских и сапрофитских гљива на дивљој трешњи (Марковић, 2012) ова гљива је, осим на дивљој трешњи (*Prunus avium*), регистрована и на јови (*Alnus incana*), врби (*Salix* spp.), липи (*Tilia* spp.), лески (*Corylus avellana*), грабу (*Carpinus betulus*), дивљој јабуци (*Malus silvestris*) и смрчи (*Picea abies*).

Код нас (Република Србија) се најчешће јавља у влажним шумама и на стаблима поред река. Обично се налази на озлеђеним стаблима, стаблима у густом склопу (која су загушена околним стаблима других врста дрвећа) и на лежећем дрвном материјалу (Марковић, 2012). Током наших истраживања *D. confragosa* је јако често и у великом броју налажена на стаблима у шумама на нижим надморским висинама до 500 метара надморске висине (Фрушка Гора 468 m нв) док је на стаништима изнад 1.100 метара надморске висине релативно ретко налажена. На дивљој трешњи су карпофоре налажене и на живим стаблима што указује на чињеницу да се ова гљива на њима развија као паразит слабости, а свој развој наставља и након сушења стабала на дубећем или лежећем материјалу. Први пут је у Србији и Црној Гори описана на врбама као супстрату описана тек 2006. године (Марковић, 2006).

Карпофоре су полуокругле или лепезасте (понекад лепезасто саставе цео круг или се мало и преклопе), конзоласте (мада понекад могу да буду слабо силазне), величине 4 – 15 x 3 – 10 x 2 – 4 cm. Горња страна је јаче или слабије концентрично зонирана, глатка, понекад са кратким чекињастим длачицама у концентричним зонама, без сјаја, најчешће у смеђим тоновима, мада боја може да варира од окер (ближе рубу) до смеђецрвене (према средини). Ивица је увек танка и оштра, најчешће светлија од осталог дела.

Хименофор је изграђен од цевчица које могу бити дуге до 10 mm и, у зависности од положаја, могу попримити облик оргуља. У младости су беличасте, касније сивосмеђе а на оштећеним местима ружичастосмеђе. Поре су врло ретко округласте, углавном су издужене и, често, у облику лавиринта. Трама је жилава, танка и у сиво – смеђим нијансама. Карпофоре расту појединачно (када су правилно конзоласте) или у групама (када се цреполико преклапају или сростају). Базидије су издужене до батинасте, на врху са 4 стеригмате у основи са везицом. Базидиоспоре су хиалинске, цилиндричне до благо кифласто закривљене, глатке, величине (5,9) 7,1 – 9,4 (11,8) x (1,4) 2,3 – 2,8 (4,1) μm (Марковић, 2012). Према Ellis и Ellis, (1990) плодносна тела су конзоласта, широко прикачена за супстрат, плутаста, појединачна или у групама када се преклапају, полукружна или у облику лепезе, 5 – 20 x 4 – 10 cm, дебљине 2 – 5 cm, са танким, оштрим ивицама. Горња површина је равна, концентрично зонирана и назубљена, а често и са радијалним стријама, смеђа до црвенкасто браон или тамно браон. Доња површина је беличаста до бледо смеђа или сива са браон одсјајем, са розе или црвеним зомана. Поре су радијално издужене, 1 – 2 по милиметру, код варијетета *tricolor* у облику лавиринта са разгранатим, анастомозираним ламелама. Хифе су са везицама. Нема цистида. Скелетне хифе су присутне, жућкасте су и дебелих зидова. Базиди су 4-спори, димензија 15 – 25 x 4 – 5 μm . Споре су цилиндричне, благо заобљене, 7 – 11 x 2 – 3 μm , хиалинске, глатке, J-. Јавља се на мртвим дубећим или лежећим стаблима и гранама лишћара, нарочито *Salix*, али и *Alnus*, *Betula*, итд.

Daedaleopsis confragosa var. *tricolor* је такође врло често налажена врста на дивљој трешњи. Од *D. confragosa* се разликује по томе што је мањих димензија, на горњој површини се јављају концентричне мркоцрвене до чоколадне зоне а ивица је често светлоокер до готово бела. Хименофор је изграђен из ламела (понекад су ламеле са попречним, концентрично распоређеним преградама). Ламеле су бледе до црвенкастосмеђе, изрецкане по ивици и често неправилно поређане, поцрвене на оштећеним местима. Трама је тамнија и мало плутаста (Караџић, 2010).

За испитивање ферментских реакција гљиве коришћен је метод Bavendamm et al., (1928), који је касније разрађен од стране Davidson et al., (1938). Резултати показују да испитивани изолати гљиве *D. confragosa* интензивно образује ензиме из групе оксидаза. Реакција на обе подлоге (са додатком галне и са додатком танинске киселине) означена је са +++++. На подлози са додатком галне киселине након 14 дана, мицелија се развила у траговима само по површини инокулума, док се на подлози са додатком танинске киселине мицелија образовала у пречнику 2,1 – 3 x 2 – 3 cm, на основу чега је гљива према кључу Davidson – а и сар. сврстана у 5. групу (Караџић, 2010).

Гљиве изоловане из природних станишта а потом пренесене и гајене у лабораторијским условима налазе се у необичним условима постојања, што проузрокује њихову донекле другачију физиолошку активност (Вучетић, 1985 – цит. Марковић, 1999). Зато резултати добијени и најпрецизнијим лабораторијским методама не могу директно важити и за природне услове, па

их треба прихватити смо као вероватне показатеље могућих појава (Мирић, 1993). Основни предуслов за разумевање услова који омогућавају да гљива колонизира дрво је управо познавање њених основних физиолошких карактеристика. Такође је у лабораторији врло тешко остварити услове који адекватно одражавају услове спољне средине и варирање само једног фактора без утицаја на друге. Како је температура један од основних чинилаца који условљава раст и развој свих живих организама, а по литературним подацима, температурни интервал развоја еписилних гљива се налази у интервалу од 0 – 40°C (изузетно између -20C и 46°C).

Циљ овог рада је био да се утврде граничне (минимална и максимална) и оптималну температуру развоја (које се налазе ближе максималним него минималним температурама) за врсту *D. confragosa* тј. изолате ове врсте пореклом из Републике Србије.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За овај оглед коришћене су културе гљива *Daedaleopsis confragosa*, изоловане из плодноних тела или дрвета у непосредној близини плодноних тела, са различитих локалитета и врста дрвета (Табела 1).

Табела 1. Списак изолата коришћених у испитивањима

Table 1. The list of examined isolates

Шифра културе <i>Isolate code</i>	Локалитет Site	Врста дрвета <i>Tree specie</i>	Датум изолације <i>Date of isolation</i>	Број у микотеци <i>Code in micoteca</i>
1	Фрушка гора - 468 mnv 45°09'36,75''С, 19°47'30,87''И <i>Fruška gora - 468 m a.s.l.</i> 45°09'36,75''N, 19°47'30,87''E	Дивља трешња <i>Prunus avium</i>	18.05.2009	19 – III
2	Црни врх – Бор- 719 mnv 44°08'22,36''С, 21°59'20,58''И <i>Crni vrh – Bor- 719 m a.s.l.</i> 44°08'22,36''N, 21°59'20,58''E	Дивља трешња <i>Prunus avium</i>	28.12.2009	23 – IV
3	Црни врх – Бор- 719 mnv 44°08'22,36''С, 21°59'20,58''И <i>Crni vrh – Bor- 719 m a.s.l.</i> 44°08'22,36''N, 21°59'20,58''E	Врба <i>Salix spp.</i>	28.12.2009	24 - V
4	Фрушка гора - 468 mnv 45°09'36,75''С, 19°47'30,87''И <i>Fruška gora - 468 m a.s.l.</i> 45°09'36,75''N, 19°47'30,87''E	Дивља трешња <i>Prunus avium</i>	10.03.2009	11 – I
5	Фрушка гора - 468 mnv 45°09'36,75''С, 19°47'30,87''И <i>Fruška gora - 468 m a.s.l.</i> 45°09'36,75''N, 19°47'30,87''E	Дивља трешња <i>Prunus avium</i>	10.03.2009	12 - II

Испитивања су вршена у Петри-посудама пречника 9 cm. Пораст мицелије ових изолата је праћен на две различите хранљиве подлоге - ПДА (кромпир-декстроза агар) и МЕА (малц екстракт агар) према рецепту Booth,

(1971). Засејавање подлоге вршено је инокулима величине 5 x 5 mm. Фрагменти инокулума узимани су са крајева колонија старих 7 дана, гајених на температури 22⁰С.

Пораст мицелије мерен је са два унакрсна пречника, а за оцену величине усвајана је средња вредност ова два мерења. Испитиван је утицај осам различитих температура од 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35⁰С а мерења су вршена на свака 2 дана (48 сати). Оглед је изведен у 10 понављања.

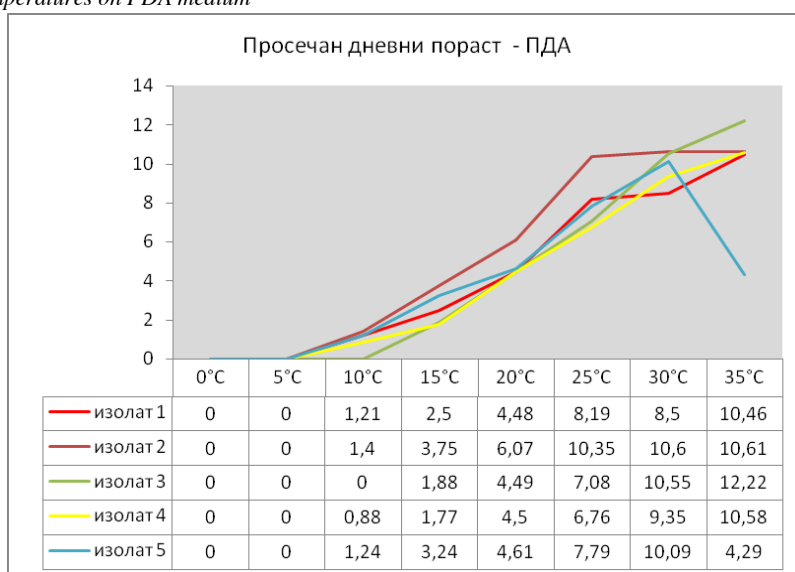
У фототаблици 1 (Сл. 1 – 4) дат је приказ утицаја различитих температура на пораст култура различитих изолата гљиве *D. confragosa* гајених на ПДА подлози на 20, 30 и 35⁰С.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Гљиве су се макроскопски разликовале, развијале су се на различитим стаништима и врстама дрвећа а забележена је и разлика у изгледу и брзини пораста мицелије. Резултати лабораторијског испитивања утицаја различитих температура на пораст мицелије пет различитих изолата гљиве *D. confragosa* приказани су у графиконима 1 и 2. Различити изолати су показали различит пораст мицелије у зависности од температуре и врсте култивисане хранљиве подлоге.

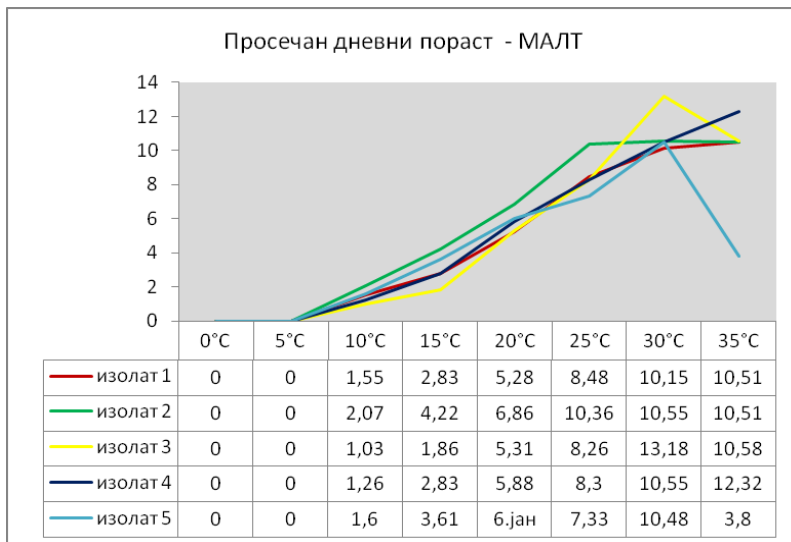
Графикон 1. Просечан дневни пораст мицелије гљиве *Daedaleopsis confragosa* на различитим температурама на ПДА хранљивој подлози

Graph 1. Average daily mycelium growth of *Daedaleopsis confragosa* fungus on different temperatures on PDA medium



Графикон 2. Просечан дневни пораст мицелије *Daedaleopsis confragosa* на различитим температурама на МАЛТ хранљивој подлози

Graph 2. Average daily mycelium growth of *Daedaleopsis confragosa* fungus on different temperatures on MALT medium



На основу приказаних резултата се може закључити да се доња гранична температура налази изнад 50С (између 6 – 10⁰С) за све посматране изолате на обе врсте подлога.

Изолат 1 је, на температури од 10⁰С, на ПДА подлози почео са растом након 8 дана, а просечна брзина раста је била 1,21 mm/дан. На МЕА подлози је раст је забележен након 4 дана, а просечна дневна брзина раста је била 1,55 mm/дан. Изолат 2 је, на температури од 10⁰С, на ПДА подлози почео са растом након 6 дана, а просечна брзина раста је била 1,4 mm/дан. На МЕА подлози је раст констатован након 4 дана док је просечна дневна брзина раста износила 2,07 mm/дан.

Најмањи дневни пораст мицелије је исказао уочен код изолат 3 на температури од 10⁰С, на ПДА подлози, који је где је почео са растом након 8 дана, а просечна брзина раста је била 0,83 mm/дан. На МЕА подлози је раст забележен након 4 дана, а просечна дневна брзина раста је била 1,3 mm/дан.

Изолат 4 је на температури од 10⁰С показао резултате сличне изолату 3. На ПДА подлози почео са растом након 8 дана, а просечна брзина раста је била 0,88 mm/дан. Најмањи дневни пораст је показао на МЕА подлози – раст је забележен након 6 дана, а просечна дневна брзина раста је била 1,26 mm/дан.

Изолат 5 је, на температури од 10⁰С, на обе врсте подлога почео са растом након 6 дана, а просечна брзина раста је била 1,24 mm/дан на ПДА подлози, односно 1,55 mm/дан на МЕА подлози.

Постоје знатне разлике међу изолатима и по питању оптималне температуре.

Највећи дневни пораст забележен је на изолату 3, на температури од 30⁰С, на МЕА подлози - 13,18 mm/дан. Изолат 2 је максимални пораст исказао на две температуре : 30 и 35⁰С, на ПДА подлози (10,6 односно 10,61 mm/дан).

Изолат 1 је максимални пораст постигао на температури од 35⁰С на обе врсте подлога (10,46 односно 10,51 mm/дан). Изолат 4 је максимум пораста остварио на 35⁰С и на МЕА подлози (12,32 mm/дан) и на ПДА подлози (10,58 mm/дан). Изолат 5 је максимални пораст постигао након 10 дана на температури од 30⁰С на обе врсте подлога (10,09 односно 10,48 mm/дан). Међутим, овај изолат је на температури од 35⁰С показао знатно спорији раст у односу на остале изолате – након 16 дана развоја на овој температури испунио је тек 2/3 површине Петри-посуда.

На основу највећег просечног дневног раста мицелија свих 5 пет посматраних изолата може се закључити да је оптимална температура њиховог развоја на око 35⁰С. Свој оптимум на 30⁰С постижу изолати 5 (на обе врсте подлога) и изолат 3 (на ПДА подлози). Састав подлоге није утицао на добијене резултате, мада се може приметити да је МЕА подлога дала нешто повољније услове за пораст.

На температурама од 0 и 5⁰С није забележен пораст мицелије у посматраном периоду (граф 2 и 3). На температури од 10⁰С пораст мицелије на ПДА подлози забележен је након 8 дана, односно на МЕА подлози након 6 дана. Пораст мицелије код свих изолата на овој температури је био спор али уједначен (2 – 4 mm у периоду од 2 дана).

Просечан дневни пораст мицелије на испитиваним температурама креће се у границама од 0,45 – 15,3 mm за 24 часа. Минималне и максималне температуре за развој ове гљиве (ових изолата) нису тачно одређени, јер је температурни распон између испитиваних температура већи од 1⁰С, па се могу само оквирно одредити.

У току извођења огледа извршена је молекуларна детекција мицелија гљиве коришћених у овом експерименту како би се потврдила чистота добијених изолата. Резултати молекуларних анализа Из приказаних резултата се може закључити да се потврдили су да се код свих 5 изолата ради о истој врсти гљиве (*Daedaleopsis confragosa*, strain dd08088 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal, RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence Length=671), чиме је потврђена класична таксономска анализа (Марковић, 2012).

Захвалница

Овај рад је реализован у оквиру пројекта „Истраживање климатских промена на животну средину: праћење утицаја, адаптација и ублажавање“ (43007) који

финансира Министарство за просвету и науку Републике Србије у оквиру програма Интегрисаних и интердисциплинарних истраживања за период 2011-2014. године.

ЗАКЉУЧАК

- Гљива *D. confragosa* (Bolt.: Fr.) J. Schröt. изазива белу трулеж.
- У овим истраживањима гљива *D. confragosa* регистрована је на дивљој трешњи (*Prunus avium*), јови (*Alnus incana*), врби (*Salix* spp.), липи (*Tilia* spp.), лески (*Corylus avellana*), грабу (*Carpinus betulus*), дивљој јабуци (*Malus silvestris*) и смрчи (*Picea abies*),
- На дивљој трешњи су карпофоре налажене и на живим стаблима што указује на чињеницу да се ова гљива на њима развија као паразит слабости, а свој развој наставља и након сушења стабала на дубећем или лежећем материјалу,
- У овим истраживањима *D. confragosa* је чешће и у великом броју пронађена на стаблима у шумама на нижим надморским висинама до 500 мнм (Фрушка Гора), док је на стаништима изнад 1.100 метара надморске висине релативно ретко налажена,
- За овај оглед коришћене су културе гљива *D. confragosa*, изоловане из плодноносних тела или дрвета у непосредној близини плодноносних тела, са различитих локалитета и врста дрвета,
- Испитиван је утицај температурних опсега од 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35⁰С на пораст мицелије, на две различите хранљиве подлоге - ПДА и МЕА,
- Оглед је изведен са 10 понављања,
- Доња гранична температура пораста мицелије налази се изнад 5⁰С (између 6 – 10⁰С) за све посматране изолате на обе врсте подлога,
- На основу највећег просечног дневног раста мицелија свих 5 посматраних изолата може се закључити да је оптимална температура развоја око 35⁰С,
- Оптимална температура (35⁰С), уз повољну влажност ваздуха, фаворизује развој гљиве *Daedaleopsis confragosa* што је, у условима густог склопа, основни разлог честог и обилног јављања ове гљиве на Фрушкој Гори.

ЛИТЕРАТУРА

- Вучетић, Ј. (1985): Микробиолошке синтезе антибиотика. Први општи део, Београд.
- Карацић, Д., Чолић, Н. (2009): Најчешће паразитске и сапрофитске на стаблима црне (*Alnus glutinosa* Gaertn) и сиве јове (*Alnus incana* Mch.). Гласник Шумарског факултета Универзитета у Бањој Луци, бр. 11, стр. 27 – 36)
- Карацић, Д. (2010): Шумска фитопатологија. Универзит у Београду, Шумарски факултет Београд. Стр. 774.
- Карацић, Д. (2011): Најчешће паразитске и сапрофитске гљиве на грабу (*Carpinus betulus* L.) у Србији и њихова улога у пропадању стабала. Шумарство бр. 1-2 . Београд. Стр. 138 (1-11).
- Марковић, М. (2006): Миколошки комплекс на *Salix* врстама на подручју средњег подунавља. Магистарски рад. Универзитет у Београду, Шумарски факултет. Стр. 79
- Марковић, Р. Мирослава (1999): Испитивање утицаја *Laetiporus sulphureus* (Bull. Ex Fr.) Murrill на деструкцију дрвета *Quercus petraea* agg. Магистарски рад. Универзитет у Београду, Шумарски факултет. Стр. 79.
- Милијашевић, Т., Карацић, Д. (2007): Најзначајније гљиве – узрочници трулежи дрвета у храстовим шумама Србије. Гласник Шумарског факултета, Београд, бр. 95, стр. 95-107
- Мирић, М. (1993): Биолошка истраживања најважнијих гљива из рода *Stereum*, изазивача трулежи храстовог дрвета. Докторска дисертација, Универзитет у Београду, Шумарски факултет.
- Davidson, R. W., Campbell, W. A., Blaisdel, D. J. (1938): Differentiation of wood-decaying fungi by the reaction on gallic or tannic acid medium. Journal of agricultural research, Vol. 57, No. 7. Washington. (683-695)
- Ellis, M. & Ellis, P. (1990): Fungi without gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes) an Identification Handbook. Chapman and Hall. London, New York, Tokio, Melbourne, Madras. 329 pp.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Daedaleopsis>

S u m m a r y

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE MICELIUM GROWTH OF *Daedaleopsis confragosa* (Bolt.: Fr.) J. Schröt.

by

Miroslav Marković, Saša Orlović, Predrag Pap, Vladislava Galović, Saša Pekeč, Zoran Galić

*The results of the research on mycelium growth of different isolates of *Daedaleopsis confragosa* in different temperatures (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35⁰C) and media: PDA (potato-dextrose agar) and MEA (Malc extract agar). The micelium growth was monitored every two days by two cross-section measurement of micelium diameter. According to the highest average daily micelium growth for all five examined isolates the optimal temperature for development was 35⁰C. Optimal temperature, along with favorable air humidity, favors the development of *Daedaleopsis confragosa*. Within the conditions of dense stand, this is principal cause of frequent and abundant appierance of this fungus on trees in forests on lower altitudes (Fruška gora - 468 m a.s.l.).*

Фототаблица 1. Утицај температуре на пораст мицелије – Сл. 1 и 2. На 20⁰С; Сл. 3. На 30⁰С; Сл. 4. На 35⁰С.

Fototabliet 1. Influence of temperature on micelium growth – Figure 1 and 2. On 20⁰С; Figure 3. on 30⁰С; Figure 4. on 35⁰С

