

Grzyby entomopatogeniczne w glebie

RYSZARD MIĘTKIEWSKI, ZOFIA MIĘTKIEWSKA

Katedra Ochrony Roślin, Wyższa Szkoła Rolniczo-Pedagogiczna,
Siedlce

Miętkiewski R., Miętkiewska Z.: (Department of Plant Protection, Agricultural and Teachers University, Siedlce, Poland). Occurrence of entomopathogenic fungi in arable soil. Acta Mycol. XXVIII (1): 77-82, 1993.

Samples of soil were taken from arable field and from balk. Larvae of *Galleria mellonella* and *Ephestia kühniella* were used as an "insect bait" for isolation of entomopathogenic fungi from soil. *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* were isolated from both kind of soil, but *Beauveria bassiana* was present only in soil taken from balk.

WSTĘP

Za pomocą metody owadów pułapkowych badano gleby okolic Siedlec na występowanie entomopatogenicznych grzybów (Miętkiewski i in., 1991 a, 1991 b; Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1991). W badanych glebach stwierdzono obecność najważniejszych owadobójczych strzępczaków, do których zaliczyć należy: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith oraz występującego najrzadziej *P. farinosus* (Holm ex S. F. Gray) Brown et Smith. Dotychczas przeprowadzone na tym terenie badania dotyczyły występowania grzybów owadobójczych w glebie w zależności od sposobu jej użytkowania. Rozpoznano występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebie ornej, gdzie dominują *M. anisopliae* i *P. fumosoroseus* (Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1991; Miętkiewski i in., 1991 a; Miętkiewski, Tkaczuk, Bądowska - Czubik, 1992). W glebie z sadu pobranej spod murawy w międzyrzędziach dominowało *B. bassiana*, a w glebie z ugoru herbicydowego utrzymywanego pod drzewami – *M. anisopliae* (Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1992). W glebie z lasu sosnowego przeważał *P. fumosoroseus* (Miętkiewski i in., 1991 b), a w glebie łąkowej *M. anisopliae* (Miętkiewski, Tkaczuk, Zasada, 1992).

Celem niniejszej pracy było porównanie występowania patogenicznych grzybów w glebie pobranej z pola i przyległej miedzy.

METODY

Na początku stycznia 1992 r. w trzech miejscowościach (Siedlce, Chodów, Kisielany) pobrano próby glebowe do badań z pola obsianego żytem i z przyległej łąki. We wszystkich stanowiskach była to gleba typu biellicowego, wytworzona z piasku luźnego, zaliczana do V klasy. Próby pobrano za pomocą laski glebowej do głębokości 20 cm ze 100 punktów na każdym stanowisku; z materiału tego przygotowano próbę średnią.

Do izolowania grzybów użyto larw przedostatniego stadium rozwojowego *Ephestia kühniella* Zell. i *Galleria mellonella* L. W plastikowych szalkach Petriego 7 cm wypełnionych glebą umieszczono larwy owadów pułapkowych. Do 5 szalek z każdego stanowiska włożono po 20 larw *E. kühniella*, a w przypadku *G. mellonella* do każdej szalki po 10 larw. Szalki z glebą i owadami umieszczono w temperaturze 20°C i 28°C w celu wychwycenia grzybów o różnych wymaganiach termicznych. Śmiertelność larw sprawdzono po 7, 11, 14 i 18 dniach przetrzymywania ich w glebie. Podczas każdej obserwacji liczono martwe larwy, które po powierzchniowej sterylizacji w 1 % podchlorynie sodu i 3-krotnym przemyciu w wysterylizowanej wodzie destylowanej, wykładano do mokrych kamer.

Martwe osobniki z widoczną grzybnią na zewnątrz nie były sterylizowane, a tylko 3-krotnie obmywane w wysterylizowanej wodzie. Mokre kamery z martwymi owadami przetrzymywano w temperaturze 20°C i 28°C aż do momentu wytworzenia przez grzyby zarodników, które stanowiły podstawę do ich identyfikacji.

WYNIKI

W glebie pobranej z pola i z łąki stwierdzono występowanie *Metarhizium anisopliae* i *Paecilomyces fumosoroseus*. Grzyby te wyizolowano na larwy *Galleria mellonella* i *Ephestia kühniella* w temperaturze 20°C i 28°C. Ponadto z gleby pobranej z łąki na larwy *G. mellonella* w temperaturze 20°C wyizolowano trzeci gatunek grzyba owadobójczego *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (tab. 1). Oprócz typowych gatunków entomopatogenicznych na larwach owadów pułapkowych wyrastały grzyby nie zaliczane do typowych patogenów owadów. Należały one głównie do rodzajów *Mucor*, *Fusarium* i *Gliocladium*. Wśród grzybów o nieudokumentowanych właściwościach owadobójczych wymienić należy *Aspergillus flavus*, stwierdzony tylko na larwach *E. kühniella* mających kontakt z glebą z pola i z łąki w temp. 28°C. W wielu przypadkach na larwach owadów pułapkowych rozwijała się grzybnia nieowocująca.

Rozwój tej grzybni jak i wygląd martwych owadów wskazuje na infekcję przez gatunek saprofityczny. Na martwych larwach owadów pułapkowych – poza grzybami – stwierdzono obecność entomopatogenicznych nicieni.

Tabela 1 – Table 1

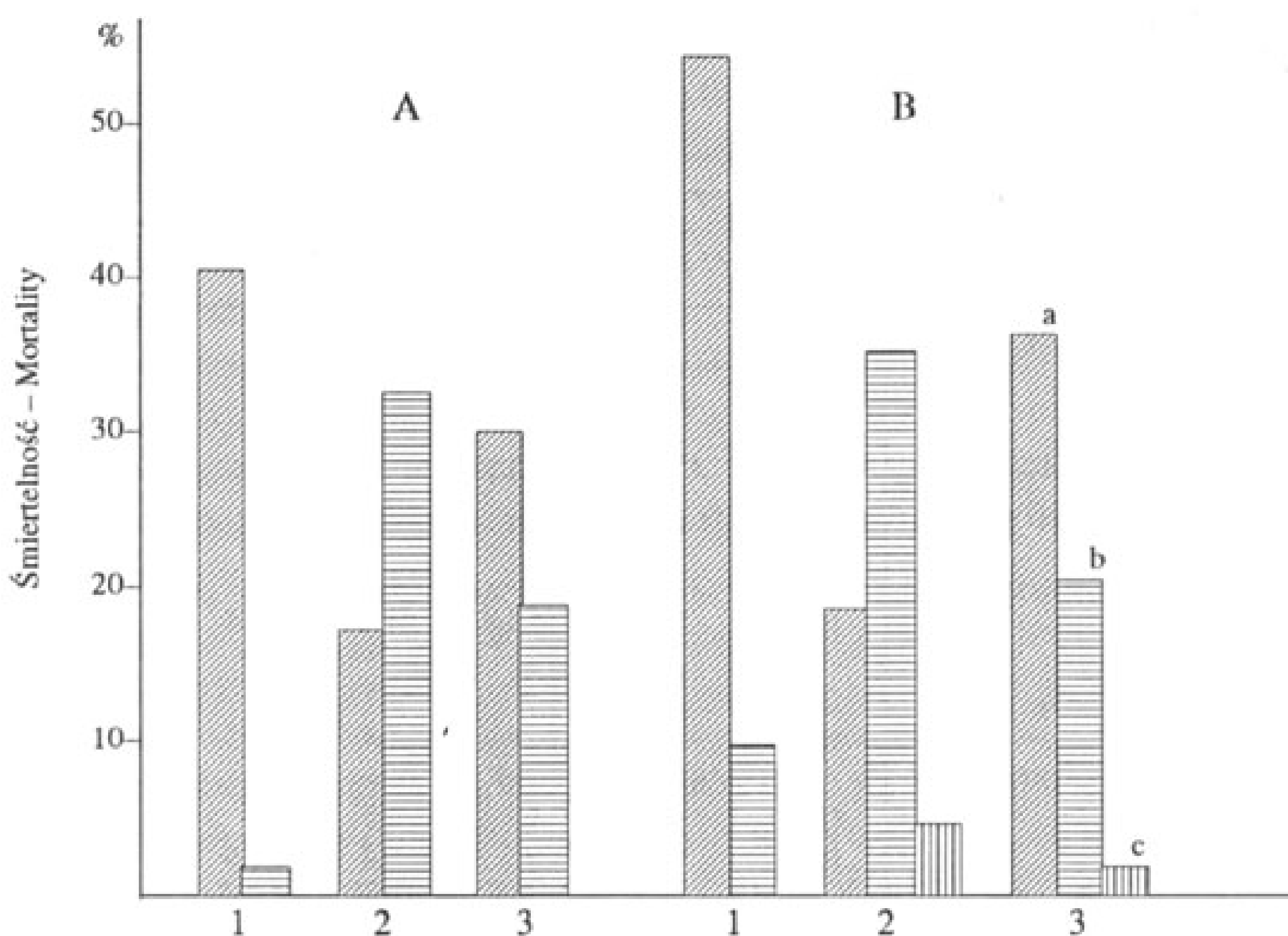
Śmiertelność larw owadów pulapkowych wyłożonych do gleby (w %)
Mortality of bait insects barded into soil (in %)

Czynnik śmiertelności Mortality factor		Gatunek owada pulapko- wego Species of bait insect	Gleba z pola Soil from arable field			Gleba z miedzy Soil from balk		
			20°C	28°C	średnia average	20°C	28°C	średnia average
Gatunki entomopatogeniczne Entomopathogenic species	<i>Beauveria bassiana</i>	G. m. E. k.				6,3	3,2	
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	G. m.	11,8	40,3	26,0	10,4	44,4	27,4
		E. k.	18,3	40,4	29,4	27,1	61,3	44,2
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	G. m.	35,3	2,6	19,0	44,2	11,9	28,0
E. k.		27,9		13,9	28,8	5,4	17,1	
Ogółem – Total	G. m.	47,1	42,9	45,0	60,9	56,3	58,6	
	E. k.	46,2	40,4	43,3	55,9	66,7	61,3	
Grzyby o nieudokumentowanych właściwościach owadobójczych Fungi of unproved entomopathogenic abilities	<i>Aspergillus flavus</i>	G. m. E. k.					5,4	2,7
	<i>Fusarium</i> sp.	G. m. E. k.	1,2			0,6		
	<i>Gliocladium roseum</i>	G. m.		3,3	1,6			
		E. k.	3,6	5,1	4,4	1,4	2,0	1,7
	<i>Penicilium</i> sp.	G. m. E. k.				2,9	1,4	
	<i>Mucor</i>	G. m.		1,3	0,7			
		E. k.	0,4	0,5	0,4	1,8	1,3	1,5
Grzybnia nieowocująca Non-sporulated mycelium	G. m.		7,6	3,8				
	E. k.	3,7	9,2	6,5	3,2	13,4	8,3	
Ogółem – Total	G. m.	–	12,2	6,1	–	6,5	3,2	
	E. k.	11,8	15,8	13,8	6,4	22,1	14,2	
Inne – Others	Nicienie – Nematodes	G. m.	46,6	27,9	37,2	37,1	18,6	
		E. k.	30,3	34,6	32,4	32,7	5,0	18,8
	Przyczyny nie określone Indenified causes	G. m.	6,3	18,3	12,3	2,1	35,9	19,0
		E. k.	11,7	9,1	10,4	4,9	6,3	5,6
	Ogółem – Total	G. m.	52,9	46,2	49,5	39,2	35,9	37,6
		E. k.	42,0	43,7	42,8	37,6	11,3	24,4

G. m. – *Galleria mellonella*, E. k. – *Ephestia kühniella*

Pierwsze martwe larwy opalone przez grzyby entomopatogeniczne notowano już podczas pierwszej obserwacji, od 7 do 18 dnia kontaktu owadów z glebą. W temperaturze 28°C grzyb *P. fumosoroseus* infekował larwy *G. mellonella* później niż *M. anisopliae*. Pierwsze martwe larwy opalone przez ten grzyb pojawiały się w 14 dniu w glebie z pola i w 18 dniu w glebie pobranej z miedzy, natomiast *M. anisopliae* infekował larwy podczas pierwszej obserwacji.

Liczba larw owadów pułapkowych opalonych przez *M. anisopliae* i *P. fumosoroseus* uzależniona była od temperatury, w jakiej te larwy miały kontakt z glebą. W temperaturze 20°C na obu owadach pułapkowych – niezależnie od pochodzenia gleby – dominował *P. fumosoroseus* nad *M. anisopliae* (ryc. 1).



Ryc. 1. Śmiertelność larw owadów pułapkowych wyłożonych do gleby pobranej z pola i z miedzy
Mortality of insect bait larvae barned into soil taken from arable field and from balk
A – Gleba z pola (Soil from arable field), B – Gleba z miedzy (Soil from balk);
a – *Metharizium anisopliae*, b – *Paecilomyces fumosoroseus*, c – *Beauveria bassiana*;
1 – 28°C, 2 – 20°C, 3 – Temp. średnia (Average)

W temperaturze 28°C było odwrotnie, a dominacja *M. anisopliae* nad *P. fumosoroseus* była wyższa w tych samych warunkach. Porównując występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebie pobranej z miedzy i z pola na podstawie procentu zainfekowanych larw wynika, że więcej martwych larw występowało w glebie z miedzy. Dotyczy to zarówno larw opalonych przez *M. anisopliae* jak i *P. fumosoroseus* (ryc. 1). W glebie z miedzy wystąpił grzyb nie notowany w glebie z pola, *B. bassiana*.

DYSKUSJA

Wyniki badań potwierdzają powszechność występowania *Metarhizium anisopliae* i *Paecilomyces fumosoroseus* w glebach lekkich w okolicy Siedlec. Stosując metodę owadów pułapkowych do izolowania grzybów obecność tych gatunków stwierdzili Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha (1991); Miętkiewski i wsp. (1991a); Miętkiewski, Tkaczuk, Zasada (1992). *B. bassiana* wystąpiła tylko w glebie z miedzy, a *P. farinosus* nie był reprezentowany w żadnej próbie, co jest zgodne z wynikami otrzymanymi przez cytowanych autorów. Dominację *M. anisopliae* stwierdzono także w glebach w innych krajach, np. w Niemczech (Kleespies, Bathon, Zimmermann, 1989), w Tasmanii z gleb pobranych z pastwisk (Yip, Rath, Koen, 1992) czy z gleb sadów brzoskwińowych w Japonii (Yaginuma, 1990). Jedynie w glebach Finlandii *M. anisopliae* ustępuje liczebności *P. farinosus* (Vänninen, Husberg, Hokkanen, 1989). Tak liczne występowanie *M. anisopliae* w glebach różnych krajów może być spowodowane tym, że zarodniki tego grzyba zachowują swoją żywotność w glebie znacznie dłużej niż np. *B. bassiana* (Vänninen, Tyni-Justin, 1991).

Drugi co do liczebności gatunek występujący w glebie ornej i w glebie z miedzy, *P. fumosoroseus*, nie jest tak szeroko badany na świecie. Był on najliczniej reprezentowany w glebach z okolicy Siedlec (Miętkiewski, Tkaczuk, Bądowska-Czubik, 1992; Miętkiewski i wsp., 1991b). W rejonie Siedlec i Skiernewic powodował on mikozę larw *Otiorynchus ovatus*, czego nie stwierdzono w stosunku do *M. anisopliae* pomimo jego liczego występowania w glebie na tych stanowiskach (Miętkiewski, Tkaczuk, Bądowska-Czubik, 1992). *P. fumosoroseus* w glebach Niemiec występował w dwukrotnie mniejszym nasileniu niż *M. anisopliae* i nieznacznie ulegał liczebności *B. bassiana* (Kleespies, Bathon, Zimmermann, 1989). W glebie z sadów brzoskwińowych Japonii *P. fumosoroseus* wystąpił tylko w 4 sadach z 32 badanych (Yaginuma, 1990). Wspomniane dwa gatunki grzybów owadobójczych występujące w badanej glebie różnią się wymaganiami termicznymi. Larwy owadów pułapkowych mające kontakt z glebą w temperaturze 20°C były infekowane głównie przez *P. fumosoroseus*, a w temp. 28°C przez *M. anisopliae*. Taką samą zależność wykazali Miętkiewski, Tkaczuk i Bądowska-Czubik (1992).

Większe nasilenie występowania grzybów entomopatogenicznych w glebie z miedzy niż z pola uprawnego w rejonie Siedlec, a także w okolicach Darmstadu (Kleespies, Bathon, Zimmermann, 1989), gdzie w glebie z miedzy stwierdzono dwukrotnie więcej tych patogenów owadów niż w glebie z pola, być może spowodowane było kilkoma czynnikami. Na polu wykonywane są zabiegi uprawowe i wprowadzane do lub na glebę nawozy i pestycydy, które nie tylko hamują, ale także uniemożliwiają rozwój tych patogenów, co wykazano w licznych badaniach laboratoryjnych. (Majchrowicz, Miętkiewski, 1976; Miętkiewski, Sapięha, Miętkiewska, 1989, 1990; Vänninen, Hokkanen, 1988; Wojciechowska, Bajan, Kmitowa, 1980). Istniejąca

na miedzy murawa daje bardziej atrakcyjne schronienie owadom poszukującym kryjówek na zimowanie lub przepoczwarzzenie, gdzie ulegają mikoitom pozostawiając w glebie dużą ilość materiału infekcyjnego.

LITERATURA

- Kliespies R., Bathon H., Zimmermann G., 1989. Untersuchungen zum natürlichen Vorkommen von entomopathogenen Pilzen und Nematoden in verschiedenen Böden in der Umgebung von Darmstadt. *Gesunde Pflanzen*. 41 (10): 350-356.
- Majchrowicz I., Miętkiewski R., 1976. Wpływ insektycydów stosowanych w ochronie ziemniaka i buraków na rozwój grzybów owadobójczych in vitro. *Zesz. Nauk. AR Szczecin* 53: 133-142.
- Miętkiewski R., Miętkiewska Z., Sapięcha A., 1991. Reakcja grzybów owadobójczych na herbicydy w doświadczeniu wazonowym. *Zesz. Nauk. WSR-P Siedlce* 29: 215-228.
- Miętkiewski R., Miętkiewska Z., Sapięcha A., 1992. Występowanie grzybów entomopatogennych w glebie pochodzącej z sadu. *Zeszyty Nauk. WSR-P Siedlce* 31: 29-40.
- Miętkiewski R., Sapięcha A., Miętkiewska Z., 1989 (1990). Wzrost grzybów owadobójczych na pożywkach zawierających herbicydy stosowane w sadownictwie. *Acta Mycol* 25 (2): 35-50.
- Miętkiewski R., Tkaczuk C., Badowska-Czubik T., 1992. Entomogenous fungi isolated from strawberry plantation soil infested by *Otiorynchus ovatus* L. *Roczniki Nauk. Rol. E* (w druku).
- Miętkiewski R., Tkaczuk C., Zasada L., 1992. Występowanie grzybów entomopatogennych w glebie ornej i łąkowej. *Acta Mycol*. 27 (2): 197-203.
- Miętkiewski R., Żurek M., Tkaczuk C., Bałazy Ś., 1991 b. Występowanie grzybów entomopatogennych w glebie ornej, leśnej oraz ściółce. *Rocz. Nauk. Rol. E* 21(1/2).
- Miętkiewski R., Żurek M., Miętkiewska Z., Tkaczuk C., 1991 a. Przydatność wybranych gatunków owadów do wychwytywania grzybów owadobójczych z gleby. *Zesz. Nauk. WSR-P Siedlce* 29: 129-239.
- Yaginuma K., 1990. Detection of fungi pathogenic to peach fruit moth *Carposina niponensis* Walsingham from soil. *Bull. Fruit Tree Res. Stat.* 17: 77-89.
- Yip H. Y., Rath A. C., Koen T. B., 1992. Characterization of *Metarhizium anisopliae* isolates from Tasmanian pasture soil and their pathogenicity to redheaded cockchafer (*Coleoptera: Scarabeidae: Adoryphorus couloni*). *Mycol. Res.* 96 (2): 92-96.
- Vänninen I., Hokkanen H., 1988. Effect of pesticides on four species of entomopathogenic fungi in vitro. *Ann. Agricult. Fenn.* 27: 345-353.
- Vänninen I., Husberg G. B., Hokkanen H. M. T., 1989. Occurrence of entomopathogenic fungi and entomoparasitic nematodes in cultivated soil in Finland. *Acta Entomol. Fennica* 53: 65-71.
- Vänninen I., Tyni-Justin J., 1991. Persistence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils: preliminary results. *Bull. OILB/SROP*. (14) 7: 67-69.
- Wojciechowska M., Bajan C., Kmitowa K., 1980. Działanie herbicydów Gramoxone i Gesagardu 50 na grzyby porażające stonkę ziemniaczaną. [In]: *Entomologia a intensyfikacja rolnictwa*. (Ed.: H. Sander), PWN, pp. 123-144.

SUMMARY

Plastic Petri dishes were filled with soil taken from a field where rye was cultivated. Also samples of soil from the adjacent balk were taken. Larvae of *Galleria mellonella* and *Ephestia kühniella* were placed into the Petri dishes filled with soil. The Petri dishes were stored at 20°C and 28°C in incubator. The mortality of larvae was checked after 7, 11, 14 and 18 days from the time when insects had contact with soil. Diseased or mummified larvae were recovered and if external fungus growth was still lacking they were surfacesterilized. Subsequently, cadavers of larvae were incubated in moist chamber till the presence of pathogens could be assessed and identified.

The most frequently isolated species from both kinds of soil were *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Beauveria bassiana* occurred only in balk soil. *M. anisopliae* was the dominant fungus isolated from both kinds of bait insects at 28°C. *P. fumosoroseus* was the dominant fungus at 20°C. The soil from balk was more abundant in entomopathogenic fungi than the soil from the field.