

Występowanie grzybów entomopatogennych w glebie ornej i łąkowej

RYSZARD MIĘTKIEWSKI, CEZARY TKACZUK, LUDWIK ZASADA

Zakład Ochrony Roślin, Wyższa Szkoła Rolniczo-Pedagogiczna,
Siedlce

Miętkiewski R., Tkaczuk C., Zasada L.: (Department of Plant Protection, Agricultural and Teachers University, Siedlce, Poland). Occurrence of entomopathogenic fungi in arable soil and meadow soil. Acta Mycol. XXVII (2): 197-203, 1991-1992.

The samples of soil for experiment were taken from arable field and meadow. Larvae of *Laspeyresia pomonella*, and *Plodia interpunctella* were used as an "insect bait" for isolation of entomopathogenic fungi from the soil. *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *P. fumosoroseus* were isolated from both kinds of soil.

WSTĘP

Zaproponowana przez Zimmermanna (1986) metoda owadów pułapkowych do izolowania grzybów entomopatogennych, polegająca na wykładaniu do gleby larw *Galleria mellonella* L., daje większe możliwości poznania składu gatunkowego tych grzybów w glebie, które odgrywają ważną rolę wśród czynników redukujących populację owadów szkodliwych (Ferron, 1981; Ignoffo in., 1978).

Kolejne badania przy posłużeniu się wspomnianą metodą (Kleespie, Bathon, Zimmermann, 1989; Vänninen, Husberg, Hokkanen, 1989; Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1991; Miętkiewski et al., 1991; Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1992) wykazały występowanie w glebie najważniejszych owadobójczych strzępczaków, do których zaliczyć należy: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Paecilomyces farinosus* (Holm ex Gray) Brown et Smith, *P. fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith.

W okolicach Siedlec rozpoznano wstępnie występowanie grzybów owadobójczych w glebie ornej (Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha,

1991; Miętkiewski et al., 1991), w glebie z sadu (Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1992) i w glebie leśnej (Miętkiewski et al., 1992).

Celem niniejszej pracy było porównanie występowania grzybów entomopatogennych w glebie ornej i łąkowej.

METODY

Pod koniec września 1990 roku w trzech miejscowościach (Siedlce, Wiśniew, Jastrzębie Kąty) pobierano próby glebowe z pola po pszenicy i przyległej łąki, z warstwy do głębokości 20 cm, za pomocą laski glebowej.

Do izolowania grzybów używano larw *L₅ Laspeyresia pomonella* L. i *Plodia interpunctella* Hbn. Glebę z każdego stanowiska napelniano szalki; do 10 z nich wkładano po 10 larw *L. pomonella*, a w przypadku *P. interpunctella* do 5 szalek z każdego stanowiska wkładano po 6 larw. Wilgotność gleby dzięki dosuszaniu w temperaturze pokojowej doprowadzono do $10 \pm 2\%$, po czym umieszczono je w temp. 22°C. Pierwszą kontrolę śmiertelności przeprowadzono po 5 dniach kontaktu larw z glebą, a następnie co 3 dni, aż do 20-tego dnia. Podczas każdej kontroli liczono martwe larwy, które po powierzchniowej sterylizacji w roztworze sublimatu w etanolu (1 g HgCl₂ na 1000 ml 70 % C₂H₅OH) i trzykrotnym przemyciu w wysterylizowanej wodzie destylowanej, wykładano do mokrych kamer. Martwe osobniki, z widoczną grzybnią na zewnątrz nie były sterylizowane, a tylko 3-krotnie obmyte w takiej samej wodzie. Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono w układzie całkowicie losowym, dwuczynnikowym, traktując każdego owada pułapkowego jako oddzielne doświadczenie. Szczegółowego porównania średnich dokonano na podstawie testu Tukey'a.

WYNIKI BADAŃ

W glebie pochodzącej z pola uprawnego i łąki wystąpiły te same 4 gatunki grzybów entomopatogennych (tab. 1): *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* i *P. fumosoroseus*; wszystkie były wychwytywane na larwy *L. pomonella*, natomiast na larwy *P. interpunctella* nie wychwytywano tylko *P. farinosus*. Dominującym gatunkiem na obu owadach pułapkowych okazał się *M. anisopliae* (ryc. 1), co wykazano z zastosowaniem metod statystycznych. Nasilenie występowania *B. bassiana* przewyższało nasilenie pozostałych gatunków, chociaż różnice między tymi gatunkami nie były istotne. Oprócz typowych gatunków entomopatogennych na larwach owadów pułapkowych wyrastały grzyby nie zaliczane do typowych patogenów owadów. Należały one głównie do grzybów z rodzajów *Mucor* i *Fusarium*. Na martwych larwach owadów pułapkowych poza grzybami stwierdzono obecność entomofilnych nicieni.

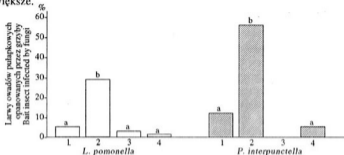
Tabela 1 - Table 1

Śmiertelność (%) owadów pułapkowych wyłożonych do gleby
Mortality (%) of bait insects burned into soil

Organizmy stwierdzone w obumarłych owadach Organisms stated in insect cadavers		Gatunek owada pułapkowego Species of bait insect	Siedlice		Wiśniew		Jastrzębie Kąty	
			gleba orna arable soil	gleba łąkowa meadow soil	gleba orna arable soil	gleba łąkowa meadow soil	gleba orna arable soil	gleba łąkowa meadow soil
Gatunki entomopatogenne Entomopathogenic fungi	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>L. p.</i>	2,5	3,6	2,6	4,2	1,1	-
		<i>P. i.</i>	8,3	15,0	-	11,1	4,3	22,8
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>L. p.</i>	19,9	26,8	23,4	28,5	12,2	38,3
		<i>P. i.</i>	16,6	75,0	31,4	77,7	51,9	30,7
	<i>Paecilomyces farinosus</i>	<i>L. p.</i>	-	1,2	3,9	1,4	-	1,4
		<i>P. i.</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	<i>L. p.</i>	-	-	-	-	-	1,4
		<i>P. i.</i>	16,6	-	-	-	-	-
	Ogółem Total	<i>L. p.</i>	22,4	31,6	29,9	34,1	13,3	41,1
		<i>P. i.</i>	41,5	90,0	31,4	88,8	56,2	53,5
Grzyby o nieudokumentowanych właściwościach owadobójczych Fungi of unproved entomopathogenic abilities	<i>Fusarium</i> sp.	<i>L. p.</i>	-	-	-	-	-	2,8
		<i>P. i.</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Mucor</i> sp.	<i>L. p.</i>	6,1	11,7	14,3	22,7	4,4	9,6
		<i>P. i.</i>	8,3	10,0	10,4	3,7	-	15,3
	<i>Penicillium</i> sp.	<i>L. p.</i>	-	-	2,6	-	-	-
		<i>P. i.</i>	-	-	-	-	-	-
	Grzybniła nieowocująca Non-sporulated mycelium	<i>L. p.</i>	1,2	5,8	1,3	1,4	6,6	-
		<i>P. i.</i>	-	-	-	-	-	-
	Ogółem Total	<i>L. p.</i>	7,3	17,5	18,2	24,1	11,0	12,4
		<i>P. i.</i>	8,3	10,0	10,4	3,7	4,3	15,3
Inne Others	Nicień Nematodes	<i>L. p.</i>	56,1	39,5	39,0	35,7	66,7	42,5
		<i>P. i.</i>	16,6	-	52,5	3,7	21,7	30,7
	Przyczyny nieokreślone Indefinited causes	<i>L. p.</i>	1,2	8,2	9,1	2,8	4,4	2,8
		<i>P. i.</i>	16,6	-	5,2	3,7	-	-
	Ogółem osobników martwych Total dead specimens	<i>L. p.</i>	87,0	96,8	96,2	96,7	95,4	98,8
		<i>P. i.</i>	99,7	100,0	99,5	99,9	99,5	99,5

Objaśnienia (Explanation): *L. p.* - *Laspeyresia pomonella*, *P. i.* - *Plodia interpunctella*

Pochodzenie gleby miało wpływ na nasilenie występowania grzybów entomopatogennych. Ich większe nasilenie w glebie łąkowej udowodniono dzięki metodzie statystycznej przy izolowaniu tych grzybów na larwy *L. pomonella* (ryc. 2); zależności takiej nie stwierdzono podczas izolowania grzybów z gleby na larwy *P. interpunctella*, chociaż nasilenie tych patogenów w glebie łąkowej było również większe.

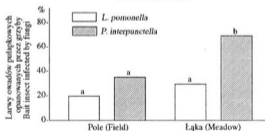


Ryc. 1. Występowanie grzybów entomopatogennych łącznie w glebie ornej i łąkowej na *L. pomonella* i *P. interpunctella*

Total occurrence of entomopathogenic fungi in arable soil and meadow soil on *L. pomonella* and *P. interpunctella*

1 - *Beauveria bassiana*, 2 - *Metarhizium anisopliae*, 3 - *Paecilomyces farinosus*, 4 - *P. fumosoroseus*;

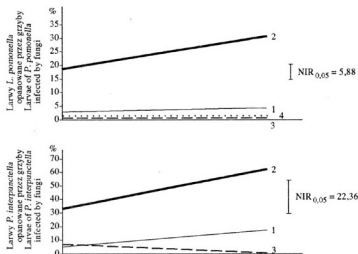
a, b - jednakowymi literami oznaczono wartości nie różniące się istotnie (values marked with the some letters not significantly different)



Ryc. 2. Porównanie występowania czterech gatunków grzybów entomopatogennych w glebie ornej i łąkowej
Comparison of occurrence of four entomopathogenic fungi in arable soil and meadow soil

a, b - jednakowymi literami oznaczono wartości nie różniące się istotnie (values marked with the some letters not significantly different)

Rodzaj gleby miał istotny wpływ na nasilenie występowania *M. anisopliae*. Grzyb ten częściej był wychwytywany z gleby łąkowej niż ornej na obydwie gatunki owadów pułapkowych (ryc. 3). Pozostałe patogeny stwierdzono w znacznie mniejszym nasileniu, a przy tym nie wystąpiły różnice w ich liczebności w zależności od pochodzenia gleby. Niemniej jednak, poza *P. fumosoroseus*, który może być bardziej typowy dla gleby ornej, występuje tendencja do liczniejszego ich występowania w glebie łąkowej.



Ryc. 3. Różnice występowania grzybów entomopatogennych w zależności od siedliska
The difference in occurrence of entomopathogenic fungi according to site
1 - *B. bassiana*, 2 - *M. anisopliae*, 3 - *P. farinosus*, 4 - *P. fumosoroseus*

DYSKUSJA

Wyniki badań potwierdzają powszechność występowania w glebie 4 gatunków grzybów owadobójczych: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* i *P. fumosoroseus*. Stosując metodę owadów pułapkowych grzyby te izolowali wcześniej Zimmermann (1986); Kleespies, Bathon, Zimmermann (1989); Vänninen, Husberg, Hokkanen (1989); Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha (1992).

W glebach uprawnych panuje *M. anisopliae* (Miętkiewski, Miętkiewska, Sapięha, 1991; Miętkiewski et al., 1991, 1992). Grzyb ten, obok *P. farinosus*, był najczęściej izolowany z gleb uprawnych w Finlandii (Vänninen, Husberg, Hokkanen, 1989). Kleespies, Bathon, Zimmermann (1989) badali występowanie entomopatogennych grzybów w glebach pochodzących z różnych siedlisk, jak np. pole uprawne, lasy, sady, łąki i pastwiska. Dominował grzyb *M. anisopliae*, który wystąpił w 42 % wszystkich badanych próbach glebowych, podczas gdy *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* i *P. farinosus* wyizolowano odpowiednio z 22, 23 i 10 % badanych prób. Niestety autorzy powyższych badań nie określili procentowego składu gatunkowego dla poszczególnych biotopów.

W podobnych badaniach (Miętkiewski et al., 1992) w każdym z badanych środowisk zawsze dominował inny gatunek owadobójczego grzyba, a pozostałe, o właściwościach entomopatogennych występowały nielicznie. W glebie ornej dominował *M. anisopliae*, w glebie z lasu sosnowego *P. fumosoroseus*, a w ściółce leśnej *B. bassiana*.

W naszych badaniach stwierdziliśmy różnice w nasileniu występowania grzybów owadobójczych w glebie ornej i łąkowej. W glebie pochodzącej z łąki stwierdzono istotnie większe nasilenie *M. anisopliae*, niż w glebie z pola uprawnego. Również pozostałe gatunki, z wyjątkiem *P. fumosoroseus*, wystąpiły liczniej w glebie łąkowej. Nie były to różnice istotne statystycznie, niemniej jednak tendencja do liczniejszego występowania entomopatogennych grzybów w glebie łąkowej w porównaniu z glebą orną jest wyraźna.

Większe nasilenie grzybów owadobójczych w glebach pochodzących z łąk i pastwisk – w stosunku do gleb uprawnych – odnotowali w swoich badaniach również Kleespies, Bathon, Zimmermann (1989). Z kolei Vänninen, Husberg, Hokkanen (1989) stwierdzili większe nasilenie tych samych strzępczaków owadobójczych w glebach z pól uprawnych (ziemiaki, zboża), a mniejsze na łące.

Większe nasilenie grzybów entomopatogennych w glebie łąkowej można by odczytać jako pewną prawidłowość polegającą na tym, że bardziej zróżnicowane ekosystemy posiadają z natury bogatszą florę i faunę. Wspomniana zależność dotyczy również badanych w naszej pracy grzybów owadobójczych. Znajduje to potwierdzenie w badaniach Majchrowicz (1965) i Bałazego (1981).

Zdaniem wielu autorów zasobność gleb w entomopatogeny zmniejsza się pod wpływem pestycydów stosowanych w ochronie roślin (Keller, Zimmermann, 1989; Kleespies, Bathon, Zimmermann, 1989; Vänninen, Husberg, Hokkanen, 1989). Pestycydy niszcząc entomofaunę ograniczają źródło potencjalnych żywicieli dla grzybów, a nierzadko wykazują również działanie fungistatyczne, jak mówią autorzy dwóch pierwszych prac.

Większa zasobność gleby łąkowej w grzyby entomopatogenne może mieć związek ze sporadycznym stosowaniem środków ochrony w tym środowisku w przeciwieństwie do intensywnych upraw polowych.

LITERATURA

- Bałazy S., 1981. Ściółka leśna ostoją grzybów owadobójczych. Las Polski, nr 3: 14-15.
 Ferron P., 1981. Pest control by the Fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. [In]: Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, red. Burges H.D.: 465-482.
 Ignoffo C. M., Garcia C., Hostetter D. L., Pinner R. E., 1978. Stability of conidia on entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* in and on soil. J. Invertebr. Pathol. 28: 259-268.
 Keller S., Zimmermann G., 1989. Mycopathogens of Soil Insects. [In]: Insect - Fungus Interaction. Red.

Wilding N.: 239-270.

- Kleespies 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. Jahrg., Heft 10: 350-355.
- Majchrowicz I., 1965. Studia nad grzybami glebowymi towarzyszącymi obumieraniu owadów w glebie ze szczególnym uwzględnieniem stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* Say.). Szczecińskie Tow. Nauk. Wyd. Nauk Przyrod. Rol. 25(1): 3-58.
- Miętkiewski R., Miętkiewska Z., Sapięha A., 1991. Reakcja grzybów owadobójczych na herbicydy w doświadczeniu wazonowym. Zeszyty Nauk. WSR-P Siedlce 29: 217-229.
- Miętkiewski R., Miętkiewska Z., Sapięha A., 1992. Występowanie grzybów owadobójczych w glebie z sadów. Zeszyty Naukowe WSR-P 31: 29-40.
- Miętkiewski R., Żurek M., Miętkiewska Z., Tkaczuk C., 1991. Przydatność wybranych gatunków owadów do wychwytywania grzybów z gleby. Zeszyty Nauk. WSR-P Siedlce 29: 231-242.
- Miętkiewski R., Żurek M., Tkaczuk C., Bałazy S., 1992. Występowanie entomopatogennych grzybów w glebie ornej, leśnej oraz ściółce. Roczniki Nauk Rolniczych Seria E (w druku 21 (1, 2)).
- Vänninen I., Husberg G. B., Hokkanen H. M. T., 1989. Occurrence of entomopathogenic fungi and entomoparasitic nematodes in cultivated soils in Finland. Acta Entomol. Fennica 53: 65-71.
- Zimmermann G., 1986. "Galleria bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. Zeitch. angew. Entomol., 2: 213-215.

SUMMARY

Spectrum and frequencies of entomopathogenic fungal species were investigated in arable soil and meadow soil.

Beauveria bassiana, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *P. fumosoroseus* were isolated from both kinds of soil. *M. anisopliae* was the dominant species among entomopathogenic fungi. The frequencies of *B. bassiana* was higher than remaining both species. However, these differences were not confirmed by the statistical methods.

The kind of soil affected the occurrence of entomopathogenic fungi. The frequencies of entomopathogenic fungi were higher in meadow soil than in arable soil. Among isolated fungi only *P. fumosoroseus* seems to be typical for arable soil.