

HANNA KWAŚNA

Grzyby występujące na żołądziach z objawami brunatnej plamistości i mumifikacji

Fungi Occurring in Acorn
with Symptoms of Brown Spotness and Mummification

Wstęp

Od wiosny 1993 r. początkowo w rejonach północno-zachodniej Polski, a później również na terenach Polski zachodniej stwierdza się zamieranie żołądzi i brak wschodów na szkółkach i uprawach. Jak podano z Instytutu Badawczego Leśnictwa [3] oraz jak podaje Suszka [4], zjawisko to jest spowodowane masowym wystąpieniem grzyba patogenicznego *Stromatinia pseudotuberosa* Rehm (*Ciboria batschiana* (Zopf) Buchw.), powodującego czarną zgniliznę i mumifikację żołądzi. Wiosną 1994 r. w Polsce zachodniej i północno-zachodniej, straty na skutek infekcji wyniosły 155,5 ton żołądzi, co obejmuje 29,3% masy pozyskanych żołądzi. Przyjmując dla całego, ogólnopolskiego zbioru żołądzi dębu szypułkowego i bezszypułkowego ten sam współczynnik strat, masa utraconych żołądzi w Polsce w roku 1994 wynosiła 290,6 ton o łącznej wartości 116 251 zł [4]. Wielkość poniesionych strat wzrasta po przeliczeniu ich na sadzonki jednoroczne, których nie udaje się wyprodukować w latach następnych ze względu na brak żołądzi. Choroby żołądzi z objawami podobnymi do tych powodowanych przez *C. batschiana* mogą być powodowane również przez inne grzyby, wśród których mogą występować grzyby pleśniowe [3]. Nabierają one szczególnego i coraz szerszego znaczenia.

Praca prezentuje wyniki analizy mikologicznej 13 prób żołądzi z objawami plamistości, czarnej zgnilizny i mumifikacji oraz zamierania kielków.

Materiały i metodyka

Materiał stanowiły żołądzie z objawami żółknięcia, brązowienia, czernienia okrywy nasiennej i liścieni oraz mumifikacji przysyłane do Katedry Fitopatologii Leśnej w latach

TABELA 1. Pochodzenie żołądźi oraz opis prób

Próba 1	Nadleśnictwo Świerczyna. Żołądźie pozyskane z drzew nie traktowanych środkami chemicznymi, zebrane w 1994 r. Okrywy nasienne spękane. Liście zbrunatniałe lub szerniałe.
Próba 2	Nadleśnictwo Świerczyna. Żołądźie z drzew opryskiwanych 1-krotnie fungicydem, zebrane w 1994 r. Opis próby podobny do próby 1.
Próba 3	Nadleśnictwo Świerczyna. Żołądźie z drzew opryskiwanych 2-krotnie fungicydem, zebrane w 1994 r. Opis próby podobny do próby 1.
Próba 4	Nadleśnictwo Świerczyna. Żołądźie z drzew opryskiwanych fungicydem, zebrane w 1995 r. ołądźie z objawami słabej lub silnej brunatnej plamistości na okrywach.
Próba 5	Nadleśnictwo Świerczyna. Żołądźie z drzew nie opryskiwanych fungicydem, zebrane w 1995 r. Żołądźie z pojedynczymi plamami na okrywie lub średnio zaawansowaną plamistością i nekrozą.
Próba 6	Nadleśnictwo Kaczory. Żołądźie po termoterapii przechowywane w lodowni. Przystane do analizy w marcu 1997 r. Żołądźie tylko trochę mniejsze od zdrowych, o okrywach równo zbrązowiałych. Liścienie stopniowo lub całkowicie zbrunatniałe. Miąższ o charakterystycznej gąbczastej konsystencji.
Próba 7	Nadleśnictwo Kaczory. Żołądźie użyte do siewu jesiennego po termoterapii, w szkółce Grabówno, oddz. 192, 193 w roku 1996. Żołądźie z niewielkimi kielkami. Okrywy silnie zbrunatniałe. Liścienie silnie zbrunatniałe lub szerniałe. Miąższ o konsystencji gąbczastej.
Próba 8	Nadleśnictwo Kaczory. Żołądźie przechowywane w lodowni, bez termoterapii. Przystane do analizy w marcu 1997 r. Żołądźie drobne. 30% posiada drobne, zamierające od szczytu kielki. Okrywy z licznymi, drobnymi ale powiększającymi się brunatnymi plamami. Liścienie z drobnymi, brązowymi, postępującymi od powierzchni okrywy ku wnętrzu plamami. 20% żołądźi z liścieniami silnie zbrunatniałymi. Pojedyncze żołądźie szerniałe.
Próba 9	Nadleśnictwo Kaczory. Leśnictwo Kalina, oddz. 356c. Żołądźie użyte do siewu jesiennego, bezpośrednio po zbiorze w 1996 r. Żołądźie drobne, często z pękniętą pokrywą, z długimi, zbrązowiałymi, od szczytu zamierającymi kielkami. Okrywy z licznymi, brunatnymi, niewielkimi przebarwieniami. Liścienie z brązowymi, powiększającymi się plamami, aż do całkowitego szernienia.
Próba 10	Nadleśnictwo Kaczory. Leśnictwo Samcarsco, oddz. 331d. Żołądźie użyte do siewu jesiennego, bezpośrednio po zbiorze w 1996 r. Żołądźie bardzo drobne, przeważnie pęknięte, z długimi, zbrązowiałymi, od szczytu zamierającymi kielkami. Okrywa żołądźi z licznymi, brunatnymi, niewielkimi przebarwieniami. Liścienie z brązowymi, powiększającymi się plamami, aż do całkowitego szernienia.
Próba 11	Nadleśnictwo Kaczory. Leśnictwo Samcarsco, oddz. 320d. Żołądźie użyte do siewu jesiennego, bezpośrednio po zbiorze w 1996 r. Wygląd żołądźi zbliżony do tych w próbie 10.
Próba 12	Nadleśnictwo Kaczory. Leśnictwo Białośliwie, oddz. 139A. Żołądźie użyte do siewu jesiennego, bezpośrednio po zbiorze w 1996 r. Okrywa żołądźi silnie popękane. Liścienie silnie szerniałe.
Próba 13	Nadleśnictwo Kaczory. Żołądźie użyte do siewu jesiennego bez termoterapii, w szkółce Grabówno, oddz. 192, 193, w roku 1996. Żołądźie stosunkowo duże, z pękniętą okrywą, bez kielków. Liścienie silnie szerniałe, pokryte zielono-szaro-czarną grzybnią.

1995-1997. Pochodziły one z dwóch nadleśnictw Polski północno-zachodniej. Dokładne informacje na temat pochodzenia żołądzi oraz opis prób podany jest w tabeli 1.

Na podstawie nasilenia objawów chorobowych żołądzie z każdej próby dzielono na 4-5 kategorii: 1 – żołądzie z drobnymi, brązowymi lub marmurkowymi plamami na liścieniach; 2 – żołądzie z liścieniami lekko zbrunatniałymi; 3 – żołądzie z liścieniami silnie zbrunatniałymi; 4 – żołądzie z liścieniami silnie szerniałymi; 5 – żołądzie z zamierającymi kielkami.

Czyste, opłukane pod bieżącą wodą żołądzie sterylizowano powierzchniowo, wytrząsając je przez 5 sek. w 2% podchlorynie sody, a następnie płuczac 3 razy po 10 min w wodzie destylowanej, sterylnej. Następnie żołądzie osuszano na sterylnej bibule filtracyjnej, dzielono na fragmenty (inokula), które wykładano na pożywki: glukozowo-ziemniaczaną oraz SNA z antybiotykiem (0,004 g/l pożywki). Każda próba reprezentowana była przez 84-96 inokula. Po 7-10 dniach inkubacji w temp. 24°C przystępowano do oznaczania wyrosłych grzybów. Identyfikację wykonywano na podstawie morfologii grzybów wyrastających z inokulów lub rosnących na pożywkach specjalistycznych.

Pozostałe, niesterylizowane żołądzie z każdej próby umieszczano w piasku, w temperaturze otoczenia w celu dalszych obserwacji ewentualnego stwierdzenia obecności miseczek grzyba *Ciboria batschiana*. Obserwacje prowadzono przez 6-12 miesięcy.

Wyniki

W wyniku izolacji grzybów z żołądzi z objawami plamistości okrywy i liścieni, szernienia liścieni i mumifikacji otrzymano 39 różnych gatunków grzybów (tab. 2). Do najczęściej występujących gatunków stwierdzanych w próbach z obu nadleśnictw należały *Cystodendron dryophilum* oraz *Phomopsis glandicola*. W próbach z Nadleśnictwa Kaczory licznie występowały również *Cylindrocarpon* cf. *gracile*, *Phacidium lacerum* oraz *Phialophora botulispora*. W większości przypadków gatunek grzyba związany był ściśle z rodzajem objawów na okrywach i liścieniach. Żołądzie z pojedynczymi plamami zasiedlone były głównie przez *Ph. glandicola*. W próbach z Nadleśnictwa Kaczory towarzyszyły mu *C. cf. gracile* oraz *Ph. botulispora*. Na żołądziach z objawami średnio, a następnie silnie zaawansowanej plamistości i zgnilizny wzrastał udział grzyba *C. dryophilum*. Silnie szerniałe i zmumifikowane żołądzie były zasiedlone niemal wyłącznie przez *C. dryophilum*. Wymienionych grzybów prawie w ogóle nie stwierdzono na żołądziach poddanych termoterapii. Te ostatnie były niemal wyłącznie zasiedlone przez *Mucor racemosus* f. *sphaerosporus*, *Penicillium* oraz *Sporothrix schenckii*. Zamierające kielki zasiedlone były głównie przez *C. cf. gracile* i *Ph. lacerum*.

Na pożywce glukozowo-ziemniaczanej *Ph. glandicola* tworzył kremowo-rdzawą, stosunkowo wolno rosnącą kolonię z bardzo licznymi, śluzowatymi skupieniami zarodników. *Cystodendron dryophilum* tworzył bardzo szybko rosnącą, czarno zabarwioną kolonię z obfitą grzybnią powietrzną i obfitym zarodnikowaniem konidialnym. Biorąc pod uwagę tempo oraz skalę zarodnikowania obu grzybów, można przypuszczać, że oba mogą doprowadzić do masowego porażenia nawet dużych partii żołądzi.

TABELA 2. Grzyby zasiedlające żółędzie oraz procent zasiedlonych przez nie żółędzi

Gatunek grzyba	Numer próby												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Acronium strictum</i> W. Gams										0-60			
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler					0-50					0-20			
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.					0-4						0-100		
<i>Candida albicans</i> (Robin) Nerkhout						0-30							
<i>Coniothyrium fuckelii</i> Sacc.				0-8									
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Hartig) Wollenw.	7	1								0-100	0-100	0-20	
<i>Cylindrocarpon</i> cf. <i>gracile</i> Bugnicourt						0-100				0-25	0-100		
cf. <i>Cylindrocolla</i> sp.										0-100	0-100	0-100	0-100
<i>Cystodendron dryophilum</i> (Pass.) Bubak	24			0-63	0-88			0-100	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda) Sacc.				0-50									
<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel				0-8								0-25	
<i>Mortierella gracilis</i> Linnemann													
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer					0-8								
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>sphaerosporus</i> (Hag.) Schipp.			5		0-4	0-100	0-100						
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>racemosus</i> (Hag.) Schipper				0-50	0-4								0-30
<i>Papulaspora polyspora</i> Hotson					0-8								
<i>Penicillium adametzii</i> Zaleski					0-8								
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	10	2		0-33	29-100								
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling				0-10									
<i>Penicillium granulatum</i> Bainier	6	10		0-8							0-10	0-100	
<i>Penicillium spinulosum</i> Thom	14			0-10	0-37	0-100							
<i>Phacidium lacerum</i> Fr.										0-100	0-25		0-100

cd. tabeli 2 na następnej stronie

TABELA 2 cd

Gatunek grzyba	Numer próby												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Phialophora botulispورا</i> Cole et Kendrick									0-100	0-100		0-100	0-100
<i>Phoma</i> sp.										0-20			
<i>Phomopsis glandicola</i> (Lev.) Grove	52	30	71	20-75	0-50			0-100				0-30	
<i>Pseudomicrodochium suttonii</i> Ajello et Padhye												0-10	
<i>Rhizoctonia</i> sp.	7												
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg				0-1									
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	18								0-25	0-10			
<i>Sclerotinia</i> sp.	10												
<i>Sporothrix schenckii</i> Hectoen et Perkins								0-100		0-100			0-100
<i>Trichoderma atroviride</i> Karsten			1										
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai												0-100	
<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans										0-20			
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai	1												
<i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai										0-20			
<i>Trichoderma strigosum</i> Bissett	2												
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex Gray	14			0-8	0-12								
<i>Verticillium</i> sp.					0-4								
Bakterie													0-100

Pozostałe grzyby stwierdzone w próbach należą do powszechnie występujących saprofitów zasiedlających podłoża organiczne, zwłaszcza jeżeli warunki przechowywania nie są właściwe. Zasadlają one żołądź po zaatakowaniu ich przez patogeny i następnie współuczestniczą w rozkładzie tkanek. Makroskopowe obserwacje żołądź przechowywanych w piasku nie potwierdziły miseczek *C. batschiana*. Powszechnie natomiast wystąpiły sporodochia grzybów z rodzaju *Cylindrocarpon*. Przyjmowały one postać kremowo-różowych, zbitych, wyraźnych nalotów na powierzchni okrywy nasiennej.

W próbie 12 stwierdzono bardzo silne porażenie żołądź przez *Pseudomonas fluorescens*. Bakteria rozwijała się bardzo intensywnie pomimo obecności antybiotyku w pożywce.

Kultury *Ph. glandicola* oraz *C. dryophilum* wyizolowane w 1995 roku z żołądź z Nadleśnictwa Świerczyna zostały przyjęte do kolekcji kultur International Mycological Institute (IMI) w Kew, Wielka Brytania (IMI 367 065, IMI 370 0007).

Dyskusja

Podane wyniki świadczą o tym, że poza *C. batschiana* [3, 4] są również inne grzyby powodujące plamistość, czarną zgniliznę i mumifikację żołądź. Wydaje się, że w różnych warunkach choroba o podobnych objawach może być powodowana przez inne grzyby. Pod uwagę należy wziąć przede wszystkim *Ph. glandicola* oraz *C. dryophilum*, a w następnej kolejności również *C. cf. gracile*, *Ph. lacerum* oraz *Ph. botulispora*.

Phomopsis glandicola jest znanym gatunkiem porażającym żołądź [1, 2]. Innym stwierdzonym na żołądźkach gatunkiem z rodzaju *Phomopsis* jest *Ph. querci* [3].

Śledząc występowanie grzybów na żołądźkach o różnym stopniu porażenia, można przypuszczać, że *Ph. glandicola* jest prekursorem w zasiedlaniu opadłych na ziemię żołądź. Fakt, że grzyb ten stwierdzono do tej pory tylko na żołądźkach skłania do przypuszczeń, że do infekcji dochodzi po opadnięciu żołądź, w trakcie ich kontaktu z ziemią i opadłym listowiem. Nie można wykluczyć jednak możliwości infekcji z pędu, w trakcie zawiązywania się nasion na drzewie. Generalnie, rodzaj *Phomopsis* (= stadium niedoskonałe grzyba z rodzaju *Diaporthe*) powoduje choroby pędów i gałęzi wielu gatunków liściastych. Stwierdzenie, w którym momencie dochodzi do infekcji, wymaga dalszych obserwacji.

Cylindrocarpon cf. gracile często współuczestniczy w wywoływaniu początkowych objawów na żołądźkach. Jest to grzyb nieodłącznie związany ze środowiskiem glebowym dębu. Powszechnie stwierdza się go w glebie spod drzewostanów dębowych, jak i korzeniach dębu. Porażenie żołądź tym grzybem, z pewnością następuje w trakcie przelegiwania żołądź na powierzchni ziemi.

Interesujący okazał się grzyb oznaczony jako *cf. Cylindrocolla sp.* Z tym organizmem autorka spotkała się po raz pierwszy. Brak jest opisu kultury w dostępnej literaturze fachowej. Wstępne oznaczenia do rodzaju przeprowadzono tylko na podstawie ilustracji [2]. Trwają dalsze obserwacje i konsultacje zmierzające do potwierdzenia oznaczenia tego grzyba. Nie wyklucza się udziału *Cylindrocolla sp.* w inicjowaniu porażenia. Ponieważ jest on grzybem bardzo wolno rosnącym, którego obecność na żołądźkach nie można stwierdzić

bez użycia specjalistycznych pożywek mineralnych, mógł on być w przeszłości nie zauważany.

Wydaje się, że jeden lub więcej wymienionych już grzybów powoduje infekcję pierwotną. Pojawiają się drobne, brązowe, powiększające się plamy. Stopniowo zbrunatnienie obejmuje całe liścienie. Towarzyszy mu zmiana konsystencji liścieni, które stają się gąbczaste. Później, zainfekowane już tkanki zostają opanowane przez inne, wtórnie występujące pasożyty względne i saprofity: *Acremonium*, *Botrytis cinerea*, *Mortierella* spp., *Mucor*, *Penicillium* spp., *Sporothrix schenckii*, *Trichoderma* spp. *Mucor racemosus* f. *sphaerosporus* zasiedlił głównie żołędzie po termoterapii. Ponieważ w próbach tych nie stwierdzono sprawców infekcji pierwotnej, wydaje się, że termoterapia pozwoliła zlikwidować pierwszą i zasadniczą przyczynę porażenia, ale osłabione tkanki z początkowymi objawami nekrozy zaatakowane zostały przez bardzo szybko rosnący rodzaj *Mucor*.

Pod koniec porażenia, we wszystkich przypadkach, za silne szernienie liścieni odpowiedzialny był tylko jeden grzyb – *C. dryophilum*. Stwierdzono go dotychczas tylko w Austrii, na żywych liściach dębu, na których powodował duże, okrągłe lub nieregularne, brązowe, czasem strefowane plamy [1]. Wydaje się, że nie stwierdzono go dotychczas na żołędziach. Do infekcji żołędzi prawdopodobnie dochodzi w kontakcie z porażonymi liśćmi, zarówno na drzewie jak i po ich opadnięciu.

Dokładne stwierdzenie udziału wspomnianych grzybów w wywoływaniu plamistości i mumifikacji żołędzi wymaga serii doświadczeń infekcyjnych na żołędziach i dębach z udziałem każdego grzyba osobno.

Literatura

1. **Ellis M. B.:** Dematiaceous *Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1971, pp. 608.
2. **Ellis M. B., Ellis J. P.:** Microfungi of Land Plants. An Identification Handbook. Macmillan Publishing Company, New York, 1985, pp. 818.
3. Praca zbiorowa. Ocena występowania ważniejszych szkodników leśnych i chorób infekcyjnych w Polsce w 1993 oraz prognozy ich pojawu w 1994 r. Instytut Badawczy Leśnictwa. Zakład Ochrony Lasu, Zakład Fitopatologii Leśnej, Warszawa. 1994, ss. 192.
4. **Suszka B.:** Wytyczne termoterapii, zaprawiania i przechowywania żołędzi (aktualizacja). Dyrekcja Generalna Lasów Państwowych, Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk. Warszawa, 1997.

Summary

Fungi Occuring in Acorn with Symptoms of Brown Spotness and Mummification

On acorn from two Forest Districts of Northwest Poland, with symptoms of spotness on the cover and cotyledons, nigrification and mummification of cotyledons there were 39 various fungi species found. Two of them were most often occuring: *Phomopsis glandicola* and

Cystodendron dryophilum. In numerous samples from the Kaczory Forest District there were also *Cylindrocarpon* cf. *gracile*, *Phacidium lacerum* and *Phialophora botulispora* occurring. In most cases fungal species was closely linked with the kind of symptoms on the cover and cotyledons. Acorns with single spots were colonized mainly by *Phomopsis glandicola*. *Cylindrocarpon* cf. *gracile*, and *Phialophora botulispora* have often accompanied the latter. On acorns with the symptoms of medium and then highly advanced spotness and decay there the share of *Cystodendron dryophilum* increased. Deeply nigrificated and mummificated acorn were colonized almost solely by the latter fungus. The fungi mentioned above were almost not found at all in acorn going under thermotherapy. Such acorns were almost exclusively colonized by *Mucor racemosus* f. *sphaerosporus*, *Penicillium* and *Sporothrix schenckii*. Dying sprouts were colonized mainly by *Cylindrocarpon* cf. *gracile* and *Phacidium lacerum*. Marcoscopic observations on acorn stored in sand did not confirm the presence of *C. batschiana* fungus discs.