BIOLOGICZNE ZWALCZANIE ZGORZELI SIEWEK SOSNY ZWYCZAJNEJ ZA POMOCĄ GRZYBA *MYCELIUM RADICIS ATROVIRENS* MELIN

Karol Mańka i Antoni Przezbórski

Akademia Rolnicza w Poznaniu

Biologiczne zwalczanie zgorzeli siewek drzew leśnych ma skromne tradycje. Możliwość takiego zwalczania brał pod uwagę Hartley, lecz po nim zainteresowanie tą sprawą zanikło na dłuższy czas. Podniesiono ją na nowo dopiero po bliższym poznaniu roli jaką u roślin drzewiastych odgrywa grzyb *Mycelium radicis atrovirens* odkryty przez Melina [6]. Dodatni wpływ tego grzyba na roślinność drzewiastą stwierdził jako pierwszy Lihnell [1] w pracy poświęconej jego występowaniu na korzeniach jałowca pospolitego. Wyraźną opinię tego rodzaju sformułował później Mańka [2], a Mańka, Gierczak i Prusinkiewicz [5] wykazali, że regularne od wielu dziesięcioleci ginięcie samosiewów cisa w Wierzchlesie łączy się z brakiem warunków występowania w środowisku glebowym wierzchlawskiego rezerwatu grzyba *M. radicis atrovirens*. Wreszcie Mańka i Gierczak zademonstrowali w doświadczeniach laboratoryjnych [4] możliwość zwalczania za pomocą tego grzyba zgorzeli siewek sosny zwyczajnej powodowanej przez grzyb *Fusarium oxysporum*. W niniejszej pracy autorzy przedstawiają próbę zwalczania za pomocą grzyba *M. radicis atrovirens* zgorzeli siewek sosny zwyczajnej w warunkach szkółki leśnej, uwzględniając jako sprawców zgorzeli oprócz *F. oxysporum* Schlecht. także grzyb *Rhizoctonia solani* Kühn.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto szczep grzyba *M. radicis atrovirens*, nazwany w dalszym ciągu skrótowo Mra, wyizolowany przez S. Kowalskiego z korzenia około 50-letniej sosny zwyczajnej z nadleśnictwa Konstantynów (wyko-

rzystany także we wspomnianej już pracy Mańki i Gierczak) oraz po jednym szczepie grzybów *F. oxysporum* i *R. solani*, które wyizolowano z siewek sosnowych uległych zgorzeli w szkółce leśnej leśnictwa Rakownia (nadleśnictwo Zielonka).

Materiał inokulacyjny, potrzebny do wykonania badań, przygotowano w ten sposób, że do kilkudziesięciu kolb stożkowych, półlitrowych, wprowadzono po około 300 ml świeżych trocin sosnowych, dodano do nich po 50 ml płynnego 4% agaru maltozowego a następnie umieszczono na 30 minut w autoklawie (nadciśnienie 1 atm.) i po wyjęciu oraz ochłodzeniu zaszczepiono grzybem Mra. W innej partii kolb stożkowych (o pojemności 300 ml) hodowano przez 2 tygodnie na warstwie agaru glukozowo-ziemniaczanego o grubości około 10 mm albo grzyb *F. oxysporum*, lub grzyb *R. solani*. Z kolei wprowadzono do tych kolb po około 200 g gleby sterylnej, pobranej ze szkółki leśnej leśnictwa Rakownia. Glebę tę sterylizowano dwa razy przez 60 minut, przy nadciśnieniu 0,5 atm., w odstępie jednodobowym. Inkubacja zarówno kolb z Mra jak i kolb z *F. oxysporum* i *R. solani* odbywała się początkowo w stałej temperaturze 23°C (dwa tygodnie), później, przez około 1,5 miesiąca w temperaturze pokojowej. Po około 1-miesięcznej inkubacji stwierdzono, że cała zawartość kolb była jednolicie zasiedlona przez wprowadzone do nich grzyby.

W czasie od 22 do 24 maja 1974 r. założono w szkółce leśnej leśnictwa Rakownia (oddz. 24 o) doświadczenie poletkowe (po 3 powtórzenia, bloki losowane). Powierzchnię gleby starannie przekopano i wyrównano, po czym wytyczono na niej poletka o wielkości 1 m². Na każdym poletku wyciśnięto 5 rowków o szerokości 5 cm i głębokości 1 cm, rozmieszczając w nich następujące mieszaniny materiałów inokulacyjnych i gleby szkółkowej:

I kombinacja (Mra): 100 ml trocin przerośniętych grzybem Mra i 100 ml gleby,

II kombinacja (Mra+F): 100 ml trocin przerośniętych grzybem Mra i 100 ml gleby przerośniętej grzybem *F. oxysporum*,

III kombinacja (Mra+R): 100 ml trocin przerośniętych grzybem Mra i 100 ml gleby przerośniętej grzybem *R. solani*,

IV kombinacja (K): 200 ml gleby szkółkowej (kontrola),

V kombinacja (F): 100 ml gleby przerośniętej grzybem *F. oxysporum* i 100 ml gleby szkółkowej,

VI kombinacja (R): 100 ml gleby przerośniętej grzybem *R. solani* i 100 ml gleby szkółkowej,

VII kombinacja (Mra+R+F): 100 ml trocin przerośniętych grzybnią Mra, 100 ml gleby przerośniętej grzybem *R. solani* i 100 ml gleby przerośniętej grzybem *F. oxysporum*.

Po równomiernym rozmieszczeniu tych materiałów w rowkach wy-

ciskano w nich ponownie rowek, tym razem krawędzią listewki (na głębokość 10 mm), po czym wysiewano do niego 100 nasion sosny i przysypywano je cienką warstwą (około 5 mm) gleby szkółkowej lekko ją przygniatając. W ten sposób na 1 poletko wysiano po 500 nasion. Każda kombinacja doświadczalna obejmowała po 3 poletka. Z powodu suszy, która panowała w pierwszych okresach doświadczenia, poletka były sztucznie nawadniane. Pierwsze wschody sosny zaobserwowano 10 czerwca (18 dni po siewie), pełne wschody — około 20 czerwca. 26 czerwca policzono i usunięto z poletek siewki chore; 13 lipca ustalono liczbę siewek zdrowych i liczbę siewek uległych zgorzeli powschodowej w czasie od pierwszej lustracji; 26 czerwca pobrano spośród chorych siewek po 10 sztuk z każdej kombinacji doświadczalnej, a 6 sierpnia po 10 zdrowych siewek, w celu wyizolowania zasiedlających je grzybów. Siewki dezynfekowano przez kolejne krótkotrwałe zanurzenie w alkoholu etylowym i sublimacie, następnie kąpano w 3 sterylnych wodach, cięto na fragmenty i wykładano na agar glukozowo-ziemniaczany.

WYNIKI

Wyniki badań przedstawiono w tabelach 1-3. Tabela 1 odzwierciedla przede wszystkim wydajność siewów i zdrowotność siewek ukształtowaną pod wpływem m. in. wprowadzonych do gleby materiałów inokulacyjnych. Najlepsze wyniki siewu otrzymano w kombinacji z *M. radicis atrovirens* (68%) i w kombinacji *M. radicis atrovirens* + *F. oxysporum* (67%), gorsze w kombinacjach: kontrolnej (47%), z *F. oxysporum* (32%) i z *M. radicis atrovirens* + *R. solani* (24%), a najgorsze w kombinacjach z *R. solani* (16%) i z *M. radicis atrovirens* + *R. solani* + *F. oxysporum* (7%).

Tabela 2 unaocznia, że z chorych siewek otrzymano ogółem 117 izolatów grzybów należących do 14 gatunków, oraz że grzyby *R. solani* i *F. oxysporum* izolowano na ogół z siewek pochodzących z poletek, do których grzyby te zostały wprowadzone sztucznie (co było do przewidzenia). Uderza jednak zupełny brak grzyba *M. radicis atrovirens* wśród otrzymanych izolatów. O grzybie *R. solani* można jeszcze powiedzieć, że izolowano go z 4 siewek z komb. I (Mra), z 1 siewki komb. II (Mra+F), z 6 siewek komb. III (Mra+R), z 1 siewki z komb. IV (kontr.), z 2 siewek z komb. V (F), z 9 siewek z komb. VI (R), i z 6 siewek z komb. VII (Mra+R+F). Taka prezentacja wyników wskazuje na ściślejszy związek między rezultatem izolacji grzybów z siewek, a grzybem sztucznie wprowadzonym do gleby (tutaj *R. solani*).

Grzyb *M. radicis atrovirens* wystąpił tylko na korzeniach siewek,

Tabela 1

Liczba siewek zdrowych i chorych (porażonych zgorzelą powschodową) w kombinacjach doświadczalnych (z trzema powtórzeniami w każdej, z 500 nasionami w każdym z nich)

Kombinacja	Liczba siewek	
	zdrowych	chorych
Mra	322	9
	340	11
	352	18
	1014 (67,6%)	38
Mra + F	347	13
	352	9
	299	20
	998 (66,5%)	42
Mra + R	72	24
	175	27
	108	35
	355 (23,7%)	86
K	212	37
	244	24
	255	23
	711 (47,4%)	84
F	149	48
	208	44
	118	55
	475 (31,7%)	147
R	54	47
	150	55
	40	33
	244 (16,3%)	135
Mra + R + F	50[a]	25
	21[a]	16
	71 (7,1%)	41

[a] Tylko dwa powtórzenia.

Mra — *Mycelium radicis atrovirens*; F — *Fusarium oxysporum*; R — *Rhizoctonia solani*.

które na podstawie zewnętrznego wyglądu wydawały się roślinami zdrowymi (tab. 3). Nie było go jednak na korzeniach siewek zdrowych pochodzących z poletek zawierających sztucznie wprowadzone patogeny *R. solani* i *F. oxysporum*, podczas gdy na siewkach z poletek, do których wprowadzono sztucznie grzyb *M. radicis atrovirens*, lub grzyby Mra+F(!), lub nawet mieszaninę grzybów Mra + *F. oxysporum* + *R. solani* — wystąpił szczególnie silnie.

Tabela 2

Liczba izolatów grzybów otrzymanych z siewek uległych zgorzeli powschodowej

Gatunek grzyba	Kombinacja doświadczalna						
	Mra	Mra + F	Mra + R	K	F	R	Mra + F + + R
Rhizoctonia solani	8	5	6	1	2	10	7
Fusarium oxysporum	4	9	1	3	5	2	5
Chaetomium cochlioides	4	1	1	2	4	—	3
Phoma conigena	2	—	2	4	—	—	1
Sclerotium sp.	1	—	—	3	1	—	—
Botrytis cinerea	—	3	—	—	—	—	1
Fusarium solani	2	1	—	—	—	—	—
Chaetomium globosum	—	—	—	—	3	—	—
Alternaria tenuis	3	—	—	—	—	—	—
Nie zarodnikujący sp. 1	—	—	—	2	—	—	—
Fusarium sp.	—	2	—	—	—	—	—
Torula sp.	—	—	1	—	—	—	—
Chaetomium sp.	—	—	1	—	—	—	—
Nie zarodnikujący sp. 2	—	—	—	—	—	—	1
Razem	24	21	12	15	15	12	18

Mra — *Mycelium radicis atrovirens*, F — *Fusarium oxysporum*, R — *Rhizoctonia solani*, K — kontrola.

Tabela 3

Liczba izolatów *Mycelium radicis* atrovirens otrzymanych z korzeni zdrowych siewek

Kombinacja	Liczba inokulum	Liczba izolatów	
		Mycelium radicis atrovirens	Inne grzyby
Mra	60	8	2
Mra + F	60	16	8
Mra + R	60	6	8
K	60	4	2
F	60	0	2
R	60	0	16
Mra + F + + R	60	8	2

Mra — *Mycelium radicis atrovirens*, F — *Fusarium oxysporum*, R — *Rhizoctonia solani*, K — kontrola.

DYSKUSJA

Ochronne działanie grzyba *M. radicis atrovirens* przed zgorzelą siewek sosny zwyczajnej zaznaczyło się w niniejszej pracy wyraźnie. Działanie to było jednak znacznie większe w przypadku gdy patogenem był

grzyb *F. oxysporum*, niż w przypadku gdy patogenem był grzyb *R. solani*, a zupełnie zanikał gdy do gleby wprowadzano mieszaninę tych patogenów. Już Mańka i Gierczak [4] zwracali uwagę na wielką patogeniczność grzyba *R. solani* w stosunku do siewek sosny zwyczajnej i co najmniej tak samo wielką patogeniczność jaką reprezentują obydwa te grzyby łącznie. Tutaj obserwacja ta potwierdziła się. Najprawdopodobniej wspólne występowanie tych grzybów w glebie prowadzi do synergicznego wzrostu patogeniczności.

Zastanawiający był wynik izolowania grzybów z korzeni siewek sosnowych pochodzących z poletek doświadczalnych. Jeżeli to były siewki chorujące na zgorzel, nie otrzymano z nich żadnego izolatu grzyba *M. radicis atrovirens*. Grzyba tego otrzymywano natomiast z siewek wyglądających zdrowo jeśli pochodziły one z poletek, na których wprowadzono do gleby sztucznie grzyb *M. radicis atrovirens*, niezależnie od tego, czy jego samego czy też łącznie z patogenami. Nie było go jednak na korzeniach tych zdrowo wyglądających siewek, które pochodziły z poletek, których gleba została sztucznie zasilona jedynie jednym czy drugim patogenem. Z tego stanu rzeczy zdaje się wynikać, że grzyb *M. radicis atrovirens* jest istotnym czynnikiem regulującym zdrowotność siewek sosny zwyczajnej, a zatem jego obecność w środowisku glebowym jest wysoce pożądana i w razie deficytu elementem mogącym wymagać uzupełnienia. Obecność lub nieobecność w glebie grzyba *M. radicis atrovirens* wydaje się też być ściśle związana ze zjawiskiem zdrowego rozwoju lub zamierania cisa [5] i jodły (informacja ustna od dr S. Kowalskiego).

Warto jeszcze wspomnieć, że oprócz około 2-miesięcznego inokulum Mra (trociny przerośnięte tym grzybem) operowano w niniejszej pracy (co prawda w ograniczonej mierze, po 2 powtórzenia kombinacji poletkowych) także inokulum o jeden rok starszym. W tym wypadku otrzymano wyniki podobne jak przy stosowaniu inokulum 2-miesięcznego lecz utrzymane na niższym poziomie. Mianowicie liczba zdrowych siewek (w stosunku do liczby wysianych nasion) wynosiła tu w kombinacji Mra 45%, w kombinacji Mra+F 54%, a w kombinacji Mra+R 32%. Nasuwają się tu następujące uwagi:

1) niższy poziom wyników wynika prawdopodobnie stąd, że baza odżywcza grzyba Mra (trociny) w starszym inokulum była wyczerpana, co mogło się wyrazić niższą aktywnością tego grzyba w stosunku do badanych patogenów;

2) w kombinacji Mra+F stwierdzono większy efekt ochronny grzyba Mra niż w kombinacji Mra, co przypomina podobny efekt uzyskany poprzednio w warunkach laboratoryjnych przez Mańkę i Gierczak [3].

LITERATURA

1. Lihnell D.: 1939, Symb. Bot. Ups., III, 3, 1-141.
2. Mańka K.: 1960, Monogr. Bot. 10 (2), 147-158.
3. Mańka K., Gierczak M.: 1971, Zesz. probl. Post. Nauk rol. 127, 87-95.
4. Mańka K., Gierczak M.: 1972, Pr. Kom. Nauk Roln. i Kom. Nauk Leśn. PTPN. 34, 111-119.
5. Mańka K., Gierczak M., Prusinkiewicz Z.: 1968, Pr. Kom. Nauk Roln. i Kom. Nauk Leśn. PTPN. 25, 177-195.
6. Melin E.: 1921, Mykol. Unters. u. Ber. 2, 73-331.

Кароль Манька, Антони Пшезбурски

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БОРЬБА С ОЖОГОМ СЕЯНЦЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ С ПОМОЩЬЮ ГРИБА *MYCELIUM RADICIS ATROVIRENS* MELIN

Резюме

Был проведен опыт, целью которого было определение возможности борьбы с ожогом сеянцев сосны обыкновенной с помощью гриба *M. radicis atrovirens* в условиях лесного питомника. Этот гриб вводили в почву в виде опилок проросших его мицелием, вместе с семенами сосны. При искусственном введении в почву одного только гриба *M. radicis atrovirens* (в сокращении Mra) и при введении в почву Mra + *Fusarium oxysporum* было получено 67-68%, а в контрольном варианте — 47% здоровых сеянцев. При введении в почву *F. oxysporum* было получено 32%, при введении Mra + *Rhizoctonia solani* — 24%, при введени *Rhizoctonia solani* — 16%, а при введении Mra + *F. oxysporum* + + *R. solani* — 7% здоровых сеянцев.

Из сеянцев пораженных послевсходным ожогом изолировали, как превило, либо *R. solani* либо *F. oxysporum*, но никогда *M. radicis atrovirens*. Этот последний гриб изолировали только из корней растений со здоровой внешностью, если они не происходили с делянок, в почву которых вводили искусственно гриб *R. solani* или гриб *F. oxysporum*, без одновременного введения гриба *M. radicis atrovirens*.

Karol Mańka, Antoni Przezbórski

BIOLOGICAL CONTROL OF BLIGHT OF COMMON PINE SEEDLINGS BY MEANS OF THE *MYCELIUM RADICIS ATROVIRENS* MELIN FUNGUS

Summary

An experiment was carried out, the aim of which was to prove possibility of the control of blight of common pine seedlings by means of the *M. radicis atrovirens* fungus under the forest nursery conditions. The fungus was introduced

into soil in the form of sawdust grown through by its mycelium, jointly with pine seeds. At an artificial introduction into soil of *M. radicis atrovirens* (shortened name Mra) alone and/or at introduction into soil the Mra + *Fusarium oxysporum* fungi, there were 67-68% of healthy seedlings, while in the control treatment — 47% of healthy seedlings. At introduction into soil of *F. oxysporum* alone there were 32%, at introduction of Mra + *Rhizoctonia solani* — 24%, at introduction of *A. solani* — 16% and at introduction of Mra + *F. solani* + *R. solani* — 7% of healthy seedlings.

From the seedlings infested with post-sprouting blight were isolated, as a rule, either *R. solani* or *F. oxysporum*, but never *M. radicis atrovirens*. The latter fungus was isolated only from roots of plants with a healthy appearance, unless they originated from plots into soil of which the *F. oxysporum* or *R. solani* fungi were artificially introduced, without simultaneous introduction of the *M. radicis atrovirens* fungus.