

EWA D. KRÓL, ZOFIA MACHOWICZ-STEFANIAK, BEATA ZIMOWSKA,
BARBARA A. ABRAMCZYK, EWA D. ZALEWSKA

Grzyby zasiedlające nasiona wybranych gatunków drzew leśnych

Fungi inhabiting seeds of selected forest tree species

ABSTRACT

Król E. D., Machowicz-Stefaniak Z., Zimowska B., Abramczyk B. A., Zalewska E. D. 2015. Grzyby zasiedlające nasiona wybranych gatunków drzew leśnych. Sylwan 159 (2): 135-141.

The seeds of forest trees usually transfer numerous fungi species, including pathogens, facultative parasites and saprotrophs. The aim of the present work was to determine qualitative and quantitative composition of fungi inhabiting the seeds of 10 trees species i.e.: birch (*Betula pendula* Roth.), beech (*Fagus sylvatica* L.), red oak (*Quercus rubra* L.), common oak (*Quercus robur* L.), sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.), black alder (*Alnus glutinosa* Gaerth.), fir (*Abies alba* Mill.), European larch (*Larix decidua* Mill.), pine (*Pinus sylvestris* L.) and spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst). The seed samples were obtained courtesy of 5 forest districts located in the south-eastern Poland. Mycological analysis was performed in the years 2012-2013. Each time, the study included 100 surface-disinfected seeds of particular plant species. As a result of the study about 2000 colonies of fungi representing 26 genera and above 39 species were isolated. The most frequently occurring species were: *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma koningii*, *Epicoccum nigrum*, *Phoma* spp. and *Cylindrocarpon destructans*. Moreover *Discula* spp., *Phyllosticta* spp., *Pyrenochaeta* spp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria consortiale* were obtained only from the seeds of deciduous trees while *Truncatella angustata* and *Sphaeropsis sapinea* exclusively from the seeds of coniferous trees. The genus *Fusarium* was represented by 8 species and among them *F. avenaceum*, *F. oxysporum* and *F. sporotrichioides* dominated. Moreover *Penicillium* spp., *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma koningii*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum* and *Trichothecium roseum* were commonly isolated while the other species of fungi were present in smaller numbers. Isolation of numerous fungi species which may cause mold of sowing material, seedling blight as well as leaves and needles spot, indicates their big threat for seeds during storage and for plants in the initial period of growth in a nursery. The obtained results show that the seeds, besides the infected soil, are a very important source of infection for young plants.

KEY WORDS

pathogens, mycological analysis, coniferous trees, deciduous trees, fungal communities

ADDRESSES

Ewa D. Król – e-mail: ewa.krol@up.lublin.pl
Zofia Machowicz-Stefaniak – e-mail: zofia.machowicz@up.lublin.pl
Beata Zimowska – e-mail: beata.zimowska@up.lublin.pl
Barbara A. Abramczyk – e-mail: barbara_kowalik@op.pl
Ewa D. Zalewska – e-mail: ewa.zalewska@up.lublin.pl

Katedra Fitopatologii i Mykologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie; ul. Leszczyńskiego 7,
20-069 Lublin

Wstęp

Nasiona drzew leśnych zasiedlane są przez liczne gatunki grzybów, wśród których znajdują się zarówno potencjalne patogeny, jak i grzyby saprotroficzne. Mogą one obniżyć zdolność kiełkowania, powodować pleśnienie, przedwczesne i powszechne zgorzele siewek oraz plamistość liści i igieł, co w konsekwencji przyczynia się do dużych strat w produkcji szkółkarskiej. Ponadto, osłabiając kondycję nasion i wyrastających z nich siewek, stwarzają sprzyjające warunki do zakażenia przez grzyby glebowe [Sahai, Mehrotra 1982; Mittal, Wang 1987; Kuzmichev i in. 2001; Kowalczyk i in. 2004; Cram, Fraedrich 2009]. Nasiona mogą być zasiedlane zewnętrznie, wówczas grzybnia lub zarodniki znajdują się na powierzchni okrywy owocowo-nasiennej i infekują kiełkujące nasiona oraz siewki, lub wewnętrznie, gdy grzybnia przenika w głąb tkanek, uszkadzając zarodek i liście. W pierwszym przypadku mówimy zwykle o zanieczyszczeniu nasion, a w drugim o ich zainfekowaniu. Niezależnie od sposobu zasiedlania nasion grzyby są w stanie przeżyć przez dłuższy czas, co przyczynia się do ich przenoszenia wraz z materiałem siewnym [Kuzmichev i in. 2001; Kowalczyk i in. 2004; Cram, Fraedrich 2009; Fraedrich, Cram 2012].

Celem obecnej pracy było poznanie zbiorowisk grzybów zasiedlających nasiona wybranych gatunków drzew liściastych i iglastych, co pozwoli ocenić, które z nich mogą stanowić największe zagrożenie dla upraw leśnych.

Materiał i metody

Badania laboratoryjne przeprowadzono w latach 2012-2013. Uwzględniono nasiona 10 gatunków drzew, tj. brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth.), buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.), dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.), dębu czerwonego (*Q. rubra* L.), klonu jawora (*Acer pseudoplatanus* L.), olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaerth.), jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.), modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.), sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) i świerka pospolitego (*Picea abies* (L.) H. Karst). Materiał do badań pozyskano z Leśnego Ośrodka Nasiennego przy Nadleśnictwie Zwierzyniec, a pochodził on z 5 nadleśnictw – Biała Podlaska, Parczew, Świdnik, Zwierzyniec i Tomaszów Pasięki. Z dwóch nadleśnictw, tj. Tomaszów Pasięki i Zwierzyniec, pozyskano nasiona prawie wszystkich gatunków drzew, natomiast z pozostałych głównie nasiona sosny.

Z każdego gatunku pobierano do badań po 100 nasion. Nasiona płukano przez 20 minut w bieżącej wodzie, a następnie odkażono powierzchniowo w 10-procentowym podchlorynie sodu przez 30 sekund i ponownie płukano 3 razy po 3 minuty w sterylnej wodzie destylowanej. Tak odkażony materiał roślinny wykładano na zestaloną pożywkę mineralną. Po upływie 10 dni odszczepiano wyrosłe kultury grzybów na skosy z pożywką glukozowo-ziemniczaną (BD Difco). Skosy inkubowano w termostacie w temperaturze 22°C przez 2 tygodnie. Po tym czasie wykonano segregację wyrosłych kultur i oznaczono je do gatunku.

Wyniki

W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono, że skład ilościowy i jakościowy izolowanych grzybów był bardzo podobny w obu latach badań. W sumie uzyskano ponad 2000 kultur grzybów, reprezentujących 26 rodzajów i ponad 39 gatunków. Do grzybów najczęściej wyosabnianych z materiału siewnego obu grup roślin należały *Fusarium* spp. i *Alternaria alternata*, których izolaty pochodziły ze wszystkich badanych gatunków drzew liściastych i iglastych (tab. 1). Rodzaj *Fusarium* reprezentowany był przez 8 gatunków, wśród których dominowały *F. avenaceum*, *F. oxysporum* i *F. sporotrichioides* (tab. 2). Powszechnie izolowano także kultury *Alternaria alternata*, które stanowiły od 1,5% wszystkich wyosabnionych grzybów z nasion klonu do 21,7% ogółu wyosabnień z nasion buka (tab. 1).

Do często izolowanych grzybów należały ponadto gatunki z rodzaju *Penicillium*. Uzyskano je z materiału siewnego aż 8 gatunków drzew i stanowiły od 4,6% wszystkich wyizolowanych grzybów w przypadku nasion brzozy do 52,9% w przypadku dębu. Spośród *Penicillium* spp. oznaczono 3 gatunki, wśród których dominował *P. expansum* (tab. 2).

Powszechnie izolowanymi gatunkami były także *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma koningii*, *Botrytis cinerea* i *Cladosporium cladosporioides*. Grzyby te uzyskano z nasion większości badanych gatunków drzew. Stanowiły one odpowiednio od 2,1 do 22,7%, od 1,5 do 39,7%, od 1,9 do 10,8% oraz od 0,5 do 3,7% wszystkich wyosobnień (tab. 1). Dość licznie uzyskiwano izolaty *Phoma* spp. Różniły się one morfologią kultur oraz tworzonych struktur morfologicznych, ale identyfikacja tych grzybów do gatunku wymaga dodatkowych badań na podłożach standardowych oraz wykonania testów fizjologicznych. Spośród innych gatunków znanych w literaturze jako czynniki powodujące pleśnienie nasion izolowano kultury *Chaetomium globosum* i *Trichothecium roseum*, których izolaty stanowiły odpowiednio od 1,7 do 4,6% oraz od 1,5 do 39,7% wszystkich wyosobnień. Z materiału siewnego większości analizowanych drzew izolowano ponadto: *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium herbarum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Coniothyrium fuckeli*, *Cylindrocarpon destructans*, *Mucor hiemalis*, *Phomopsis* spp., *Rhizopus nigricans* oraz *Ulocladium atrum*. Zaobserwowano, że grzyby takie jak *Cylindrosporium plantanoides*, *Discula* spp., *Phyllosticta* spp., *Pyrenochaeta* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn i *Alternaria consortiale* wyizolowano jedynie z nasion drzew liściastych, natomiast grzyby *Sphaeropsis sapinea* i *Truncatella angustata* wyłącznie z nasion drzew iglastych (tab. 1).

Dyskusja

Zidentyfikowanie w obecnej pracy licznych gatunków grzybów świadczy o dużym zróżnicowaniu gatunkowym populacji zasiedlającej nasiona drzew leśnych, pomimo ich wcześniejszej sterylizacji. Może to świadczyć o wnikaniu strzępek grzybni w głąb tkanek nasion i nawiązaniu z nimi ścisłego kontaktu pasożytniczego. Niektórzy autorzy informują o bogatszym składzie grzybów zasiedlających nasiona nieodkażone niż odkażone, co wskazuje głównie na powierzchniowe zanieczyszczanie nasion [Kowalczyk i in. 2004]. Częste izolowanie grzybów odpowiedzialnych za pleśnienie nasion, m.in. *Penicillium* spp., *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp., *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Trichothecium roseum*, *Trichoderma* sp., *Mucor* spp. i *Rhizopus* spp., potwierdza liczne doniesienia literaturowe o powszechnym występowaniu tych gatunków na nasionach i owocach drzew leśnych [Sahai, Mehrotra 1982; Mittal, Wang 1987; James 1990; Lilja i in. 1992; Novak-Agbaba 2001; Kowalski 2003, 2004; Mallams 2004; Kowalczyk i in. 2004; Cram, Fraedrich 2009; Fraedrich, Cram 2012]. Grzyby *Penicillium* spp. z łatwością rozprzestrzeniają się nawet podczas stratyfikacji, co wskazuje na ich małe wymagania środowiskowe oraz częstą obecność na nasionach i owocach [Mallams 2004]. Z kolei w glebie drzewostanów iglastych i liściastych powszechnie występuje *P. adametzii*, gatunek, który hamuje rozwój *Armillaria* i *Heterobasidion* w drzewostanach oraz patogenów odglebowych w szkółkach leśnych [Kwaśna 2004; Sz wajkowska-Michałek i in. 2011].

Za szczególnie niekorzystne należy uznać masowe występowanie gatunków z rodzaju *Fusarium*, szczególnie *F. oxysporum* i *F. solani*, które mogą odgrywać ważną rolę jako potencjalne patogeny powodujące zgorzele i zgnilizny siewek [Sahai, Mehrotra 1982; James 1990; Kuzmichev i in. 2001; Kowalczyk i in. 2004; Mallams 2004; Cram, Fraedrich 2009; Sz wajkowska-Michałek i in. 2011]. Istotne znaczenie w powodowaniu zgorzeli przed- i powschodowej mają także *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. proliferatum*, natomiast *F. sporotrichioides* zwykle nie wykazuje działania patogennego. Niektórzy autorzy uważają, że patogeniczność izolatów w obrębie

Tabela 1.

Udział [%] różnych gatunków grzybów zasiedlających nasiona wybranych gatunków drzew leśnych
 Frequency [%] of various fungi species inhabiting the seeds of some species of forest trees

	Birzoza Birch	Buk Beech	Dąb Oak	Dąb czerw. Red oak	Klon Maple	Olusza Alder	Jodła Fir	Modrzew Larch	Sosna Pine	Świerk Spruce
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	4,6	21,7	8,9	2,9	1,5	1,6	13,5	11,0	6,0	7,8
<i>Alternaria consortiale</i> (Thümen) Hughes			0,9	4,2		1,6				
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	3,7	1,4	2,3			17,0			0,6	9,8
<i>Aurobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud					1,0				2,2	
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	5,6	4,7				10,8	3,4	8,2	1,9	
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Fr.	4,6					4,1	1,7		2,5	
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	3,7	1,4	1,3	2,9	0,5	2,1			0,9	
<i>Cladosporium herbarum</i> Link et Fries			0,9				8,2			
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Renz. et. Sacc.		4,2				1,5			1,9	
<i>Coniolyrium fuckelii</i> Sacc.		0,6			0,5				0,9	1,4
<i>Cylindrocarpum destructans</i> (Zins.) Scholten		3,4				1,0	3,4			
<i>Cylindrosporium plantanoides</i> Allesch.					1,0					
<i>Discula</i> spp.		0,8	1,3	11,4	10,3					
<i>Epitocum nigrum</i> Link.	4,6	7,5	6,7	8,6	2,5	2,1		22,7	1,6	
<i>Fusarium</i> spp.	52,8	7,2	21,4	12,8	65,9	15,9	22,0	32,7	7,8	4,0
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer		5,6			1,0		3,4	2,7		
<i>Penicillium</i> spp.	4,6	6,1	13,0	52,9		12,4	42,4		20,7	30,7
<i>Phoma</i> spp.	3,7				1,5	20,1	3,4		4,7	16,3
<i>Phomopsis</i> spp.		0,8		2,9		5,7		10,0	1,3	
<i>Phyllosticta</i> spp.	2,8					2,1				
<i>Pyrenochaeta</i> spp.			3,6							
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn		1,1								
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	1,9	2,8		1,4			5,1		1,3	
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko et B. Sutton									19,4	
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	2,8	15,6	39,7		11,8	1,5			2,5	11,1
<i>Trichothecium roseum</i> Link	4,6	14,5			2,0		1,7			2,6

rodzaju *Fusarium* waha się od wysokiej wirulencji do całkowitego braku zdolności do zakażenia, co powoduje, że stwierdzony poziom zanieczyszczenia nasion nie zawsze koresponduje z dużym zagrożeniem chorobowym [Kuzmichev i in. 2001; Mallams 2004; Fraedrich, Cram 2012].

Izolowanie z nasion *Botrytis cinerea* i *Cylindrocarpon destructans* wskazuje na zagrożenie młodych roślin przez te gatunki. W literaturze znajdują się bowiem liczne informacje o dużej szkodliwości wymienionych grzybów w szkółkach drzew i młodych nasadzeniach [Lilja i in. 1992; Kuzmichev i in. 2001; Mallams 2004; Szwajkowska-Michałek i in. 2011].

Wydaje się ponadto, że uzyskiwanie z nasion izolatów grzybów powodujących plamistość liści i igieł, tj. *Phomopsis* spp., *Phyllosticta* sp., *Phoma* spp., *Truncatella* sp. oraz *Sphaeropsis* sp., świadczy o możliwości przenoszenia tych patogenów wraz z nasionami na znaczne odległości. Ma to duże znaczenie praktyczne ze względu na generatywne rozmnażane drzew leśnych. Uzyskiwanie w obecnych badaniach kultur *Trichoderma koningii* można uznać za zjawisko pozytywne. Chociaż grzyb ten może powodować pleśnienie nasion, to w literaturze gatunki z rodzaju *Trichoderma* opisywane są przede wszystkim jako pożądanymi antagoniści. Grzyby te bardzo szybko kolonizują nasiona roślin iglastych i liściastych, wytwarzają liczne metabolity hamujące rozwój patogenów oraz wykazują mykopasożytnicze właściwości [Mańka i in. 1989, 2001; Mańka, Kacprzak 1998; Mallams 2004, Szwajkowska-Michałek i in. 2011].

Wnioski

- ✦ Zasiedlanie nasion przez liczne gatunki grzybów przyczynia się do ich rozprzestrzeniania wraz z materiałem siewnym.
- ✦ Wydaje się, że nasiona, obok zainfekowanej gleby, stanowią bardzo ważne źródło infekcji młodych roślin.
- ✦ Izolowanie licznych gatunków grzybów mogących powodować pleśnienie materiału siewnego i gatunków wywołujących zgorzele siewek oraz plamistość liści i igieł świadczy o dużym zagrożeniu nasion w czasie przechowywania oraz roślin w początkowym okresie wzrostu w szkółce.
- ✦ Uzyskiwanie licznych grzybów mimo powierzchniowej sterylizacji nasion świadczy o ich ścisłym związku z zasiedlanymi przez nie organami.
- ✦ Występowanie na nasionach gatunków grzybów, które uchodzą za patogeny słabości, może przyczynić się do nasilenia objawów chorobowych w warunkach niekorzystnych dla rośliny.

Literatura

- Cram M. M., Fraedrich S. W. 2009. Seed diseases and seedborne pathogens of North America. *Tree Planter's Notes* 53 (2): 35-44.
- Fraedrich S. W., Cram M. M. 2012. Conifer and hardwood diseases. Seed fungi. www.rngr.net/publications/forest-nursery-pests/conifer-and-hardwood-diseases/seed-fungi, dostęp 18.06.2014 r.
- James R. 1990. Fungal colonization of pine cell containers harming tree seed orchard nursery bureau of land management. *Nursery Disease Notes* 109: 1-4.
- Kowalczyk A., Kacprzak M., Mańka M. 2004. Fungi inhabiting Scots pine (*Pinus sylvestris*) seeds in various stages of extraction process. *Phytopathol. Pol.* 33: 53-70.
- Kowalski T. 2003. Endophytic fungi. V. Mycobiota in living leaves of *Acer pseudoplatanus* and in necrotic tissues associated with galls of *Drisina glutinosa*. *Phytopathol. Pol.* 29: 23-35.
- Kowalski T. 2004. Endophytic fungi. VI. Mycobiota in living symptomless leaves of *Ulmus glabra* and in necrotic tissues associated with gall-making insects. *Phytopathol. Pol.* 32: 61-73.
- Kuzmichev E., Sokolova E. S., Kulikowa E. G. 2001. Common fungal diseases of Russian forests. General Technical Report NE-279. 137.
- Kwaśna H. 2004. Natural shifts in communities of rhizosphere fungi of common oak after felling. *Plant Soil* 264: 209-218.
- Lilja A., Lilja S., Poteri M., Zieren L. 1992. Conifer seedling root fungi and root dieback in Finnish nurseries. *Scand. J. For. Res.* 7: 545-556.
- Mallams K. M. 2004. Fungal contaminants on selected conifer seed. J. Herbert Stone Nursery.

- Mańka M., Kacprzak M. 1998. Środowiskowe uwarunkowania wzrostu *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* i *F. solani*. W: Profilaktyka i terapia w szkółkach leśnych zagrożonych przez choroby infekcyjne. Materiały konferencji naukowo-technicznej 25-25 III 1998, Warszawa – Sękocin. 10-12.
- Mańka K., Przebórski A., Kwaśna H., Żółtańska E. 1989. Badania nad wpływem mieszanin grzybów saprofitycznych na grzyby powodujące zgorzel siewek sosny pospolitej. Zesz. Prob. Post. Nauk. Rol. 374: 266-281.
- Mańka M., Stępniewska S., Kacprzak M. 2001. Soil fungal communities from forest nursery versus damping-off pathogens. W: Proceedings of the 5th Congress of the European Foundation for Plant Pathology, Biodiversity in Plant Pathology, Taormina-Giardini Naxos, Italy 18-22 September 2000. 479-482.
- Mittal R. K., Wang B. S. P. 1987. Fungi associated with seeds of eastern white pine and white spruce during cone processing and seed extraction. Can. J. For. Res. 17: 1026-1034.
- Novak-Agbaba S. 2001. Sjeme hraste luznjaka – mikoze i moguć'nosti zastite. W: Matic S., Krpan A. P. B., Gracan J. [red.]. Znanost u potrajnim gospodarenju hrvatskim sumama: znastvena koji. 343-351.
- Sahai A., Mehrotra B. S. 1982. Mycoflora associated with seeds of forest trees and their effect on germination. Proc. Indian Natn. Sci. Acad. 5: 706-713.
- Szwajkowska-Michałek L., Kwaśna H., Perkowski J. 2011. Czy *Penicillium adametzii* może ograniczyć pasożytniczą zgorzel siewek sosny zwyczajnej? Sylwan 155 (1): 46-62.