

Occurrence of entomopathogenic fungi in the soils from mid-field afforestation and adjacent fields

Występowanie grzybów owadobójczych w glebach z pasmowych zadrzewień śródpolnych i sąsiadujących z nimi pól uprawnych

Anna Krysa, Dariusz Ropek, Tomasz Kuźniar

Summary

The entomopathogenic fungi are microrganisms naturally occurring in the soil of agrocenosis and forest or mid-field afforestation. The aim of the work was the evaluate the influence of mid-field afforestation on the occurrence of entomopathogenic fungi in the soil environment. The studies were conducted in 2010 and 2011 in an ecological agricultural organic farm in Zreczyce. Mid-field shelterbelts had a beneficial effect on the occurrence of entomopathogenic fungi in the soil. Entomopathogenic fungi were most often isolated from the soil of ecotones.

Key words: entomopathogenic fungi, mid-field afforestation, soil

Streszczenie

Grzyby owadobójcze są mikroorganizmami naturalnie występującymi w środowisku glebowym agrocenoz oraz lasów i zadrzewień śródpolnych. Celem badań było określenie wpływu zadrzewień śródpolnych na występowanie grzybów owadobójczych w badanych środowiskach glebowych. Badania terenowe przeprowadzono w latach 2010 oraz 2011 w ekologicznym gospodarstwie rolniczym w miejscowości Zreczyce, województwo małopolskie. Uzyskane wyniki wskazują na korzystny wpływ zadrzewień śródpolnych na występowanie grzybów owadobójczych w glebie. Najwięcej grzybów owadobójczych wyizolowano z gleby ze strefy ekotonowej.

Słowa kluczowe: grzyby owadobójcze, zadrzewienia śródpolne, gleba

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Katedra Ochrony Środowiska Rolniczego
Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków
partykaania@gmail.com

Wstęp / Introduction

Powszechne stosowanie chemicznych środków ochrony roślin przyczynia się do skażenia gleby, a także do wzrostu odporności owadów na stosowane insektycydy (Augustyniuk-Kram 2010). Kraje Unii Europejskiej dążą do ograniczenia stosowania chemicznych środków ochrony roślin w gospodarstwach rolniczych i leśnych. W niektórych krajach do zwalczania szkodliwych owadów w uprawach rolnych oraz lasach, stosowane są preparaty biologiczne, które z powodzeniem zastępują wycofane z rynku chemiczne insektycydy. Obecnie jedną z ważniejszych grup organizmów wykorzystywanych do produkcji biopreparatów są grzyby owadobójcze. Od wielu lat prowadzone są badania określające możliwość ich wykorzystania w walce ze szkodnikami w gospodarce rolnej i leśnej (Karg i Bałazy 2009). Konieczne wydają się również badania dotyczące nie tylko bezpośredniego stosowania tych biopreparatów, ale również badania dotyczące ekologii występujących w agrocenozach grzybów owadobójczych. Ważne jest także poznanie czynników wpływających na występowanie tych mikroorganizmów w glebie, która jest naturalnym środowiskiem ich bytowania (Jaworska i Dudek 1992; Miętkiewski i wsp. 1992). Według Bałazego (2004) istotne znaczenie mają tutaj zadrzewienia śródpolne, które mogą korzystnie wpływać na bioróżnorodność żywych organizmów w agrocenozach. Zadrzewienia śródpolne mają pełnić również funkcję ochronną przed erozją gleb i stanowić ostoję dla zwierząt szczególnie ważnych w łowiectwie i pszczelarstwie (Karg i Bałazy 2009). Światowe badania potwierdzają, że występowanie grzybów owadobójczych jest ważne w systemach rolniczych (Klingen i wsp. 2002). W dalszym ciągu zagadnienie to nie jest dokładnie poznane. Słusznym wydaje się przeprowadzenie dalszych badań w tym kierunku.

Celem przeprowadzonych badań było poznanie występowania grzybów owadobójczych w glebie w strefie ekotonowej, w zadrzewieniach śródpolnych i na polu uprawnym, a także wpływu pór roku na występowanie ich w środowisku naturalnym.

Materiały i metody / Materials and methods

Badania przeprowadzono w latach 2010 i 2011. Próbkę gleby pobierane były w obrębie gospodarstwa prowadzonego metodami ekologicznymi, usytuowanego w województwie małopolskim w gminie Gdów. Poboru próbek dokonano cztery razy w każdym roku, w następujących terminach: luty, kwiecień, lipiec, październik. Teren doświadczalny został podzielony na dwie części, o różnym układzie zadrzewień śródpolnych. W pierwszym doświadczalnym zadrzewieniu śródpolne znajdowały się pasmowo po południowej stronie poletek, a w drugim przypadku pasmowo od strony północnej. Skład gatunkowy występujących drzew na terenie doświadczalnym to głównie: osiki, wierzby, brzozy, w mniejszym natężeniu dęb. W środkowej części pasa zadrzewień, na wilgotniejszym terenie występuje również olcha. Na każdej powierzchni doświadczalnej wyznaczono trzy strefy:

- A) zadrzewienia śródpolne sąsiadujące z polami uprawnymi,
- B) strefa ekotonowa – przylegająca do zadrzewień (do 10 m w głąb pola),
- C) strefa otwartego pola uprawnego (powyżej 10 m od pasa zadrzewień).

Z każdej strefy pobierano po 5 próbek gleby z głębokości do 30 cm, przy pomocy łaski Egnera. Podczas poboru próbek zachowano sterylność łaski Egnera, przemywając ją wodą destylowaną oraz 70% etanolem. Glebę umieszczono w sterylnych pojemnikach.

Izolację grzybów owadobójczych z pobranych próbek glebowych wykonano metodą owadów pułapkowych (Zimmermann 1986). Jako owada pułapkowego wykorzystano stadium larwalne mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) po pierwszym linieniu. W każdym pojemniku z glebą umieszczono 10 larw owada pułapkowego. Pojemniki przechowywano w temperaturze 21°C przez 21 dni. Codziennie kontrolowano śmiertelność owadów pułapkowych. Martwe osobniki przenoszono do odrębnych pojemników z wilgotną bibułą i przechowywano w temperaturze 21°C. Po 14 dniach oceniono obecność mykozy na powierzchni ciała owada. Identyfikacji grzybów do gatunków dokonywano na podstawie cech morfologicznych przy użyciu mikroskopu świetlnego.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Z pobranych próbek gleby wyizolowano trzy gatunki grzybów owadobójczych: *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* oraz *Metarhizium anisopliae*. Na powszechność występowania tych grzybów w warunkach Polski wskazują Miętkiewski i wsp. (1991a, b, 1992, 1995). W badaniach własnych najczęściej izolowanym grzybem owadobójczym był grzyb *B. bassiana*. Nieco rzadziej izolowano grzyb z gatunku *M. anisopliae*, a najrzadziej izolowanym gatunkiem był grzyb *I. fumosorosea*. Najmniejszą liczbę wszystkich izolatów grzybów owadobójczych odnotowano w okresie zimowym, niezależnie od miejsca poboru próbek glebowych (tab. 1). Warto wspomnieć, że najwięcej izolatów grzybów pozyskiwano ze strefy ekotonowej w porównaniu z otwartym polem i zadrzewieniami. Badania Binga i Xinga (2008) wskazują na częstość występowania grzyba *B. bassiana* i *M. anisopliae* w glebach z siedlisk przyrodniczych, a obecność tych grzybów nie różniła się znacznie pomiędzy badanymi regionami. Wielu autorów wskazuje, że *B. bassiana* jest częściej izolowana z naturalnych siedlisk natomiast *M. anisopliae* z większą częstotliwością występuje na polach uprawnych w zależności od sposobu użytkowania (Vänninen 1996; Bruck 2004; Quesada-Moraga i wsp. 2007).

Gatunek grzyba *B. bassiana* najczęściej występował w strefie ekotonowej, niezależnie od pory roku. Jedynie w 2011 roku w okresie zimowym, uzyskano procentowo więcej izolatów tego grzyba w strefie otwartego pola, a także w zadrzewieniach śródpolnych. W 2010 roku grzyb *B. bassiana* najczęściej izolowano wiosną oraz jesienią, natomiast w roku 2011 w okresie jesiennym, nieco mniej izolatów pozyskano latem oraz wiosną (tab. 2).

Tabela 1. Występowanie grzybów owadobójczych w glebie z różnych siedlisk w 2010 i 2011 r.

Table 1. Occurrence of entomopathogenic fungi in soil from different environment in 2010 and 2011

Pora roku Season	Strefa Zone	Liczba izolatów – Number of isolates							
		<i>Bauveria bassiana</i>		<i>Metarhizium anisopliae</i>		<i>Isaria fumosorosea</i>		razem – total	
		2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Wiosna Spring	zadrzewienie afforestation	6	8	5	4	0	2	11	14
	ekoton – ecotone	14	12	6	7	1	1	21	20
	otwarte pole open space	6	7	3	4	0	0	9	11
Lato Summer	zadrzewienie afforestation	7	8	2	3	0	3	9	14
	ekoton – ecotone	9	10	5	6	1	1	15	17
	otwarte pole open space	4	3	3	4	0	0	7	7
Jesień Autumn	zadrzewienie afforestation	1	2	0	1	0	0	1	3
	ekoton – ecotone	7	8	2	2	0	1	9	11
	otwarte pole open space	4	5	0	1	1	2	5	8
Zima Winter	zadrzewienie afforestation	1	2	1	3	0	2	2	7
	ekoton – ecotone	1	2	0	2	0	0	1	4
	otwarte pole open space	1	3	2	1	0	1	3	5

Tabela 2. Występowanie grzyba owadobójczego *B. bassiana* w glebie w poszczególnych strefach w zależności od pory rokuTable 2. Occurrence of entomopathogenic fungi *B. bassiana* in soil in various zones, depending on the season of the year

Częstotliwość występowania izolatów [%] – Frequency of occurrence of isolates [%]								
Strefa – Zone	pora roku – season							
	wiosna – spring		lato – summer		jesień – autumn		zima – winter	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Zadrzewienie Afforestation	23,08 a	29,63 b	35,00	38,10	8,33	13,33	33,33	28,57 c
Ekoton – Ecotone	53,85	44,44	45,00	47,62	58,33	53,33	33,33	28,57 c
Otwarte pole Open space	23,08 a	25,93 b	20,00	14,29	33,33	33,33	33,33	42,86
Razem – Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie według testu Newmana-Keulsa przy poziomie istotności 5%

Average marked with the same letters are not significantly different at the 5% significance level by the Newman-Keuls test

Tabela 3. Częstotliwość izolacji grzybów owadobójczych z gleby w zależności od położenia pola względem zadrzewień śródpolnych

Table 3. The frequency of isolation of entomopathogenic fungi from soil depending on location of field and mid-field afforestation

Strefa – Zone	Zadrzewienia od strony północnej Northern afforestation			Zadrzewienia od strony południowej Southern afforestation		
	2010	2011	razem – total	2010	2011	razem – total
Zadrzewienie Afforestation	16	24	40	7	14	21
Ekoton – Ecotone	31	33	64	15	19	34
Otwarte pole Open space	13	20	33	11	11	22

W ogólnym założeniu zadrzewienia śródpolne spełniają funkcje ochronne przed erozją gleb oraz stanowią ostoje biologicznej różnorodności (Karg i Bałazy 2009). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż usytuowanie zadrzewień śródpolnych względem badanej powierzchni pola ma znaczący wpływ na obecność w glebie grzybów owadobójczych. Zarówno w roku 2010, jak i 2011, częściej izolowano grzyby owadobójcze ze stref znajdujących się na południu względem zadrzewień śródpolnych. Grzyby owadobójcze izolowano najczęściej ze strefy ekotonowej zarówno po stronie północnej, jak i południowej pola doświadczalnego (tab. 3).

Jak donoszą Karg i Bałazy (2009), gatunki grzybów owadobójczych, które występują w naszym kraju są stosunkowo dobrze przystosowane do sezonowych zmian temperatury klimatu umiarkowanego. Dlatego też ważną rolę w bioróżnorodności grzybów występujących w glebie odgrywają różne siedliska ekologiczne, np. lasy, zadrzewienia, szuwały, łąki, uprawy wieloletnie, ponieważ sprzyjają one rozwojowi i utrzymaniu w środowisku bogatych zespołów tych grzybów. Obecność grzybów owadobójczych w glebie została udowodniona również na całym świecie, między innymi w umiarkowanych i tropikalnych

lasach Meksyku (Evans 1982; Sánchez-Peña 1990; Wongsas i wsp. 2005). Grzyby te są producentami wielu interesujących metabolitów (Wongsas i wsp. 2005).

Wnioski / Conclusions

1. Aktywność grzybów owadobójczych w glebie zależy od pory roku, najwięcej grzybów izolowano w okresie wiosennym i letnim, najmniej w okresie zimowym.
2. Najczęściej izolowanym grzybem owadobójczym był *B. bassiana*, następnie *M. anisopliae* i *I. fumosorosea*.
3. W strefie ekotonowej odnotowano najwięcej izolatów grzybów owadobójczych.
4. Usytuowanie zadrzewień śródpolnych względem badanej powierzchni ma istotny wpływ na występowanie i częstotliwość izolacji grzybów entomopatogenicznych. Położenie zadrzewień po północnej stronie pola uprawnego wpływa korzystnie na występowanie grzybów owadobójczych we wszystkich badanych strefach.

Literatura / References

- Augustyniak-Kram A. 2010. Organizmy pożyteczne w strategiach biologicznego zwalczania – grzyby owadobójcze. *Studia Ecologiae et Bioethicae* 8 (1): 45–54.
- Bałazy S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. *Kosmos* 53 (1): 5–16.
- Bing D.S., Xing Z.L. 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Appl. Soil Ecol.* 39: 100–108.
- Bruck D.J. 2004. Natural occurrence of entomopathogens in Pacific Northwest nursery soils and their virulence to the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Environ. Entomol.* 33: 1335–1343.
- Evans C.H. 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. *Ecol. Entomol.* 7: 47–60.
- Jaworska M., Dudek B. 1992. Występowanie owadobójczych nicieni w glebach wybranych upraw. *Zesz. Nauk. AR Kraków* 267 (20): 131–147.
- Karg J., Bałazy S. 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (3): 1015–1034.
- Klingen I., Eilenberg J., Meadow R. 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agric. Ecosyst. Environ.* 91: 191–198.
- Miętkiewski R., Żurek M., Miętkiewska Z., Tkaczuk C. 1991a. Przydatność wybranych gatunków owadów do wychwytywania grzybów owadobójczych z gleby. *Zesz. Nauk. WSR-P Siedlce* 29: 229–237.
- Miętkiewski R., Żurek M., Tkaczuk C., Bałazy S. 1991b. Występowanie entomopatogenicznych grzybów w glebie ornej, leśnej oraz ściółce. *Rocz. Nauk Rol.* 21 (1/2): 61–68.
- Miętkiewski R., Tkaczuk C., Zasada L. 1992. Występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebie ornej i łąkowej. *Acta Mycol.* 27 (2): 197–203.
- Miętkiewski R., Kolczarek R. 1995. Grzyby owadobójcze izolowane z gleby pobranej z pól spod koniczyny czerwonej i ziemniaków. *Zesz. Nauk. WSR-P Siedlce* 39: 91–95.
- Quesada-Moraga E., Navas-Cortes J.A., Maranhao E.A.A., Ortiz-Urquiza A., Santiago-Alvarez C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycol. Res.* 111: 947–966.
- Sánchez-Peña S.R. 1990. Some insect- and spider-pathogenic fungi from Mexico with data on their host range. *Florida Entomologist* 73 (3): 517–522.
- Vänninen I. 1996. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: Effect of geographical location, habitat type and soil type. *Mycol. Res.* 100: 93–101.
- Wongsas P., Tساناتاي K., Watts P., Hywel-Jones N. 2005. Isolation and in vitro cultivation of the insect pathogenic fungus *Cordyceps unilateralis*. *Mycol. Res.* 109: 936–940.
- Zimmermann G. 1986. „Galleria bait method” for detection of entomopathogenic fungi in soil. *J. Appl. Ent.* 102: 213–215.