PROGRESS IN PLANT PROTECTION
56 (1): 5-11, 2016
ISSN 1427-4337

DOI: 10.14199/ppp-2016-001
Published online: 17.11.2015

Received: 03.07.2015 / Accepted: 19.10.2015

The occurrence and infective potential of entomopathogenic fungi in the soil of arable fields, meadows and forest habitats

Występowanie oraz potencjał infekcyjny grzybów entomopatogenicznych w glebach z pól uprawnych, łąk i siedlisk leśnych

Cezary Tkaczuk*, Anna Majchrowska-Safaryan, Marta Harasimiuk

Summary

The aim of the study was to compare the species composition and the intensity of occurrence of entomopathogenic fungi in the soil of arable fields and adjacent grassland and forest habitats. The soil and litter samples were collected in October 2012 from different habitats: mixed forest, farmland and meadow. Fungi were isolated from soil by means of two methods: trap insects (larvae of *Galleria mellonella*) and selective medium. A total five entomopathogenic fungal species: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosa* and *Conidiobolus* sp., were isolated by means of the first method, while only three first species of fungi by means of selective medium. It was found, that usually one fungal species dominated in each of the surveyed habitats. On average in the litter and forest soil the most infectious units formed fungus *B. bassiana*, in the soil of farmlands *M. anisopliae*, while in the meadow soil in a similar intensity *I. fumosorosea* and *B. bassiana* occurred. The richest species composition of entomopathogenic fungi was found in soils from meadows but the highest density of their colony forming units was found in soil samples collected from the small-scale arable fields.

Key words: entomopathogenic fungi; soil; farmland; meadow; forest

Streszczenie

Celem badań było porównanie składu gatunkowego oraz nasilenia występowania grzybów owadobójczych w glebach z pól uprawnych oraz sąsiadujących z nimi użytków zielonych i siedlisk leśnych. Materiał stanowiły próby gleby i ściółki leśnej pobrane w październiku 2012 r. z różnych siedlisk: las mieszany, pole uprawne i łąka kośna. Grzyby owadobójcze izolowano z gleby stosując metodę owadów pułapkowych (larwy *Galleria mellonella*) oraz podłoże selektywne. Z badanych gleb za pomocą pierwszej metody wyizolowano pięć gatunków grzybów owadobójczych: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *I. farinosa* i *Conidiobolus* sp., natomiast stosując podłoże selektywne stwierdzono obecność tylko trzech pierwszych gatunków. Ustalono, że w każdym z badanych siedlisk dominował zwykle jeden gatunek grzyba. W ściółce i glebie leśnej najwięcej jednostek infekcyjnych tworzył grzyb *B. bassiana*, w glebie z pól *M. anisopliae*, natomiast w glebie łąkowej w zbliżonym nasileniu wystąpiły *I. fumosorosea* i *B. bassiana.* W glebach z łąk odnotowano najbogatszy skład gatunkowy badanych grzybów, a największe zagęszczenie jednostek tworzących kolonie stwierdzono w próbach gleb z małoobszarowych pól uprawnych.

Słowa kluczowe: grzyby owadobójcze; gleba; pole uprawne; łąka; las

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Zakład Ochrony i Hodowli Roślin
Prusa 14, 08-110 Siedlce
*corresponding author: tkaczuk@uph.edu.pl

The Polish Society of Plant Protection
The Institute of Plant Protection – National Research Institute
The Committee of Plant Protection of the Polish Academy of Science

Wstęp / Introduction

Grzyby owadobójcze należą do grupy mikroorganizmów zasiedlających środowisko glebowe, posiadają zdolność infekowania owadów, a ich rozwój prowadzi do zakłóceń procesów fizjologicznych u gospodarzy oraz w efekcie końcowym do ich śmierci (Tkaczuk i wsp. 2012, 2013; Augustyniak-Kram i wsp. 2013). Podstawową ich zaletą jest zdolność do ograniczania populacji szkodników w uprawach rolniczych, sadowniczych, ogrodniczych, a także w uprawach pod osłonami (Fiedler i Sosnowska 2011; Ropek i wsp. 2014).

Występowanie oraz aktywność biologiczna grzybów owadobójczych w glebie uzależniona jest od wielu czynników związanych z procesami zachodzącymi w środowisku glebowym, m.in.: rodzaju gleby, temperatury, wilgotności, pory roku, dostępności gospodarzy, struktury oraz sposobu użytkowania (Vänninen i wsp. 2000; Tkaczuk 2008; Krysa i wsp. 2012; Tkaczuk i wsp. 2012, 2013, 2014). Grzyby owadobójcze zasiedlające środowisko glebowe są istotnymi bioregulatorami nie tylko typowych szkodników glebowych, ale także licznej grupy szkodników upraw rolniczych i leśnych, które schodzą do gleby na okresową diapauzę, przepoczwarczenie lub zimowanie. Ocenia się, że około 90% szkodliwych dla roślin stawonogów przynajmniej część swego cyklu rozwojowego spędza w glebie (Gaugler 1988). Obumarłe w glebie na skutek mikoz osobniki, stają się źródłem rozprzestrzeniania grzybowych czynników infekcyjnych w środowisku glebowym. Według Bałazego (1997), gleby środowisk seminaturalnych stanowią w krajobrazie przyrodniczym istotny rezerwuar populacji grzybów owadobójczych, z którego przenikają one do siedlisk pól uprawnych oraz łąk. Znaczenie wywoływanych przez grzyby owadobójcze epizoocji, szczególnie wśród gatunków szkodników występujących gradacyjnie, jest wysoko cenione, zwłaszcza przez leśników, zarówno w drzewostanach produkcyjnych, jak i na obszarach chronionych (Bałazy 2004; Augustyniak-Kram i Kram 2012). Grzyby entomopatogeniczne są ważnym elementem w integrowanej ochronie roślin, gdyż stanowią samoodnawiający się czynnik regulacyjny populacji szkodliwych dla upraw stawonogów w przestrzeni rolniczej (Bałazy i Cysewski 2003; Sosnowska 2013).

Celem przeprowadzonych badań było porównanie składu gatunkowego oraz nasilenia występowania grzybów owadobójczych w glebach z pól uprawnych oraz sąsiadujących z nimi użytków zielonych i siedlisk leśnych.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowiły próby gleby i ściółki leśnej pobrane w październiku 2012 r. na terenie trzech miejscowości w okolicach Terespola: Mały Dobryń, Lachówka i Kijowiec. W każdej miejscowości pobierano próby z trzech różnych siedlisk: małoobszarowego pola uprawnego (powierzchnia 1–1,5 ha), na którym uprawiano zboże ozime, przyległej do pola łąki kośnej oraz lasu mieszanego z przewagą drzewostanu sosnowego (wiek 40–50 lat). W przypadku środowisk leśnych pobrano oddzielnie próbę ściółki oraz zalegającej pod nią warstwy gleby. Próby pobrano za pomocą laski glebowej do głębokości 15 cm z 10–15 losowo wybranych punktów na każdym stanowisku.

Grzyby owadobójcze izolowano z gleby stosując dwie metody: metodę owadów pułapkowych zaproponowaną przez Zimmermanna (1986) oraz podłoże selektywne opracowane przez Strassera i wsp. (1996). Jako owada pułapkowego użyto larw (stadium L3) barciaka większego *Galleria mellonella.* Glebą (lub ściółką) z każdego siedliska napełniono 5 plastikowych pudełek o pojemności około 200 ml. Do każdego pudełka wkładano po 10 larw *G. mellonella*, łącznie 50 larw do gleby z każdego siedliska. Pudełka z glebą umieszczono w cieplarce w temperaturze 22–23°C. Pierwszą kontrolę śmiertelności przeprowadzono po 7 dniach od założenia doświadczenia, a następne w odstępach 3-dniowych, aż do momentu śmierci wszystkich larw. Martwe larwy przemywano w wodzie destylowanej, a następnie sterylizowano powierzchniowo przez 30 sekund w 1% roztworze podchlorynu sodu. Po dwukrotnym opłukaniu w wodzie destylowanej larwy wykładano do szalek Petriego z wilgotną bibułą. Szalki z wyłożonymi larwami przetrzymywano w inkubatorach w temperaturze 20–22°C bez dostępu światła. Rozwijające się na owadach grzyby wraz z zarodnikami badano makroskopowo, a następnie sporządzano preparaty mikroskopowe, na podstawie których oznaczano przynależność gatunkową występujących na owadach grzybów.

W drugiej części doświadczenia izolację grzybów owadobójczych z badanych gleb i ściółki przeprowadzono za pomocą podłoża selektywnego o następującym składzie: 20 g glukozy, 10 g peptonu, 18 g agaru, które rozpuszczono w 1 l wody destylowanej, a następnie sterylizowano w autoklawie w temperaturze 120°C przez 20 minut. Do tak przygotowanego podłoża schłodzonego do temperatury około 50°C dodano następujące składniki selektywne: 0,6 g streptomycyny, 0,05 g tetracykliny oraz 0,1 g dodyny. Podłoża selektywne rozlano do szalek Petriego o średnicy 9 cm.

Z próby glebowej pochodzącej z danego stanowiska odważano po 2 g gleby, a następnie zalewano 18 ml wody destylowanej z dodatkiem środka Triton X-100 zmniejszającego napięcie powierzchniowe. Otrzymany roztwór wytrząsano przez około 2 minuty. Za pomocą automatycznej pipety pobierano 0,1 ml roztworu glebowego, wylewano na powierzchnię podłoża selektywnego i rozprowadzano szklaną szpatułką.

Doświadczenie wykonano w trzech powtórzeniach dla każdej próby glebowej. Następnie szalki zostały przeniesione do komory cieplnej i po 7–10 dniach liczono liczbę rozwijających się na podłożu hodowlanym kolonii (CFU – colony forming unit) poszczególnych gatunków grzybów entomopatogenicznych. W końcowym etapie dokonano przeliczenia jednostek tworzących kolonie poszczególnych gatunków grzybów (CFU) w 1 gramie suchej gleby lub ściółki.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, wykorzystując analizę wariancji dla doświadczenia trzyczynnikowego, gdzie badanymi czynnikami były: A – miejscowość; B – siedlisko; C – gatunek grzyba. O istotności

wpływu czynników doświadczalnych na wartość badanych cech wnioskowano na podstawie testu Fishera-Snedecora, a wartość NIR przy p = 0,05 wyliczono testem Tukeya.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Z prób glebowych pobranych z różnych siedlisk, przy wykorzystaniu metody owadów pułapkowych, wyizolowano pięć gatunków grzybów entomopatogenicznych: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria farinosa* i *Conidiobolus* sp. (tab. 1, 2). Stosując do izolacji grzybów metodę wysiewu roztworów glebowych na podłoże selektywne, w badanych glebach stwierdzono łącznie występowanie jedynie trzech pierwszych wymienionych gatunków (tab. 3). Skład gatunkowy, liczba zainfekowanych larw owada pułapkowego oraz zagęszczenie jednostek tworzących kolonie (CFU) grzybów owadobójczych były zróżnicowane w poszczególnych próbach glebowych zarówno w obrębie miejscowości, jak i badanych siedlisk.

W próbach ściółki leśnej pobranych z miejscowości Lachówka i Kijowiec odnotowano na owadach pułapkowych tylko jeden gatunek grzyba – *B. bassiana*, który był przyczyną śmiertelności odpowiednio 62 i 72% larw *G. mellonella* (tab. 1). W ściółce z lasu w miejscowości Mały Dobryń na larwach barciaka stwierdzono 4 gatunki grzybów owadobójczych, gdzie zdecydowanie dominował *M. anisopliae*. Średnio we wszystkich badanych próbach ściółki leśnej, najwięcej larw *G. mellonella* porażał grzyb *B. bassiana* (46,0%), następnie *M. anisopliae* (12,6%), *I. fumosorosea* (0,7%) oraz reprezentujący owadomorki *Conidiobolus* sp., który wystąpił w ściółce leśnej z jednej tylko miejscowości (tab. 1, 2).

W glebach leśnych pobranych spod warstwy ściółki najwięcej larw *G. mellonella* zainfekował również grzyb *B. bassiana* – średnio (34%). Ponadto stwierdzono obecność *I. fumosorosea* (średnio 16,0% zainfekowanych larw) oraz *M. anisopliae* (10,6%) (tab. 2).

Traktując łącznie badane siedliska leśne z trzech miejscowości, z prób ściółki i gleby za pomocą podłoża selektywnego jedynie w próbach pobranych z miejscowości Mały Dobryń wyizolowano dwa gatunki grzybów: *B. bassiana* i *I. fumosorosea*, a w pozostałych stwierdzono występowanie tylko *B. bassiana*. Podobnie, jak to miało miejsce w przypadku zastosowania do izolacji grzybów metody pułapkowej, zarówno w ściółce, jak i glebie leśnej zdecydowanie dominował grzyb *B. bassiana*, który wystąpił we wszystkich próbach ściółki i gleby leśnej pobranych z trzech miejscowości (tab. 3, rys. 1). Drugim wyizolowanym za pomocą podłoża selektywnego gatunkiem grzyba był *I. fumosorosea*, ale jego obecność stwierdzono tylko w glebie i ściółce z lasu w Małym Dobryniu, gdzie tworzył w obu środowiskach $0,2 \times 10^3$ CFU/g (tab. 3).

Przeprowadzone badania wykazały wyraźną dominację owadobójczego grzyba *B. bassiana* w próbach gleby i ściółki leśnej. Bajan i wsp. (1995) badając ściółkę i glebę pochodzącą z borów sosnowych w Polsce stwierdzili, że gatunkiem grzyba, który w największym stopniu powodował śmiertelność larw owada pułapkowego był *B. bassiana*. Potwierdzają to również badania Medo i Cagáňa (2011), gdzie grzyb *B. bassiana* zdecydowanie dominował w glebach leśnych na Słowacji, powodując

Tabela 1. Śmiertelność larw *Galleria mellonella* w glebach z różnych siedlisk [%]
Table 1. Mortality of *Galleria mellonella* larvae in soils from different habitats [%]

Czynnik śmiertelności Factor of mortality	Miejscowość – Locality											
	Mały Dobryń				Lachówka				Kijowiec			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
Beauveria bassiana	4	46	–	4	62	34	–	18	72	22	2	12
Metarhizium anisopliae	38	14	86	38	–	8	28	16	–	10	18	2
Isaria fumosorosea	2	16	–	2	–	–	40	26	–	32	36	4
Isaria farinosa	–	–	–	4	–	–	–	2	–	–	–	2
Conidiobolus sp.	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ogółem – Total	48	76	86	48	62	42	68	62	72	64	56	20
Aspergillus sp.	–	2	4	6	14	52	–	6	12	10	12	4
Fusarium sp.	2	2	–	2	–	–	2	–	–	–	4	2
Gilocladium sp.	2	–	–	–	–	–	6	4	–	2	–	4
Mucor sp.	2	–	–	–	–	–	4	2	4	4	2	18
Grzybnia niezarodnikująca Unsporulated mycelium	8	10	10	18	6	6	18	22	6	10	22	42
Ogółem – Total	14	14	14	26	20	58	30	34	22	26	40	70
Nicienie – Nematodes	24	–	–	14	18	–	–	–	–	6	2	2
Inne przyczyny Other causes	14	10	–	12	–	–	2	4	6	4	2	8
Ogółem – Total	38	10	–	26	18	–	2	4	6	10	4	10

a – ściółka leśna – forest litter; b – gleba leśna – forest soil; c – pole uprawne – farmland; d – łąka – meadow

Tabela 2. Śmiertelność larw *Galleria mellonella* spowodowana przez poszczególne gatunki grzybów entomopatogenicznych w glebach z różnych siedlisk (średnia z trzech miejscowości) [%]
Table 2. Mortality of *Galleria mellonella* larvae caused by entomopathogenic fungi in soils from different habitats (the average of the three locations) [%]

Gatunek grzyba Fungal species	Siedlisko – Habitat			
	ściółka leśna forest litter	gleba leśna forest soil	pole uprawne farmland	łąka meadow
Beauveria bassiana	46,0	34,0	0,7	11,3
Metarhizium anisopliae	12,6	10,6	44,0	18,6
Isaria fumosorosea	0,7	16,0	25,3	10,6
Isaria farinosa	0	0	0	2,7
Conidiobolus sp.	1,3	0	0	0
Ogółem – Total	60,6	60,6	70,0	43,2

Tabela 3. Zagęszczenie jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych (CFU × 10^3/g) w glebach z różnych siedlisk
Table 3. The density of colony forming-units of entomopathogenic fungi (CFU × 10^3/g) in soils from different habitats

Gatunek grzyba Fungal species	Miejscowość – Locality											
	Mały Dobryń				Lachówka				Kijowiec			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
Beauveria bassiana	2,2	1,0	–	–	0,8	1,8	–	0,7	1,7	0,7	–	0,7
Metarhizium anisopliae	–	–	6,2	0,5	–	–	5,2	0,2	–	–	0,7	–
Isaria fumosorosea	0,2	0,2	0,2	0,2	–	–	0,3	0,2	–	–	3,2	1,3
Razem – Total	2,4	1,2	6,4	0,7	0,8	1,8	5,5	1,1	1,7	0,7	3,9	2,0
NIR (0,05) – LSD (0.05) Czynnik – Factor A Czynnik – Factor B Czynnik – Factor C	 r.n. 0,782 0,617											

a – ściółka leśna – forest litter; b – gleba leśna – forest soil; c – pole uprawne – farmland; d – łąka – meadow
A – miejscowość – locality; B – siedlisko – habitat; C – gatunek grzyba – fungal species
r.n. – różnice nieistotne statystycznie – not significant differences

śmiertelność owada pułapkowego na poziomie wynoszącym 80%. Grzyb *B. bassiana* wymieniany jest również jako dominujący w glebach leśnych w Danii (Steenberg 1995), Finlandii (Vänninen 1996), Hiszpanii (Quesada-Moraga i wsp. 2007), Chinach (Bing i Xing 2008) oraz w Polsce (Bajan i Kmitowa 1997; Tkaczuk i Miętkiewski 1998; Tkaczuk 2008).

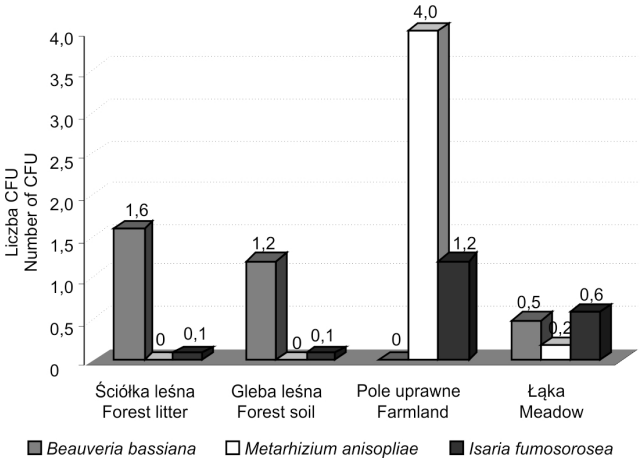
Gatunek ten jest wskazywany jako częsty patogen owadów czasowo przebywających lub zimujących w wierzchnich warstwach gleby leśnej i ściółki. *B. bassiana* był przyczyną śmiertelności ponad 85% zimujących w kokonach larw borecznika sosnowego (Świeżyńska i Górnaś 1976; Tkaczuk i Miętkiewski 1998). Jedną z koncepcji wyjaśniających dominację grzyba *B. bassiana* w bogatych w materię organiczną powierzchniowych warstwach gleby leśnej i ściółki jest zdolność tego gatunku do rozwoju w fazie saprofagicznej (Tkaczuk 2008).

W badanych próbach glebowych, pobranych z trzech pól uprawnych, gatunkiem grzyba, który spowodował największą śmiertelność larw *G. mellonella* był *M. anisopliae* (średnio 44%) (tab. 2), przy czym nasilenie jego występowania uzależnione było od miejscowości, z której pobrano materiał do badań. W miejscowości Mały Dobryń grzyb ten opanował 86% wyłożonych do gleby larw, natomiast w Lachówce i Kijowcu odpowiednio 28 i 18% (tab. 1). W próbach gleb z pól uprawnych w tych dwóch miejscowościach najwięcej larw owada pułapkowego zainfekował grzyb *I. fumosorosea*, odpowiednio 40 i 36%. Grzyb ten był przyczyną śmierci średnio 25,3% larw *G. mellonella* w trzech badanych glebach pochodzących z pól uprawnych.

Badania przeprowadzone za pomocą podłoża selektywnego potwierdziły dominację grzybów *M. anisopliae* i *I. fumosorosea* w glebach pochodzących z pól uprawnych. W próbach gleb z pól w Małym Dobryniu i Lachówce stwierdzono wyraźną dominację grzyba *M. anisopliae*, który tworzył odpowiednio 6,2 × 10^3 i 5,2 × 10^3 jednostek CFU w 1 g gleby (tab. 3). W glebie z pola uprawnego w miejscowości Kijowiec najwięcej jednostek infekcyjnych tworzył grzyb *I. fumosorosea* (3,2 × 10^3), a *M. anisopliae* ponad trzykrotnie mniej – 0,7 × 10^3 CFU/g. Średnio w glebach z pól uprawnych, pochodzących z trzech badanych miejscowości, grzyb *M. anisopliae* tworzył 4,0 × 10^3 CFU w jednym gramie gleby, natomiast *I. fumosorosea* 1,2 × 10^3 CFU/g (rys. 1).

Według Vänninen (1996) grzyb *M. anisopliae* jest gatunkiem najbardziej tolerancyjnym w stosunku do zabiegów rolniczych, takich jak orka czy stosowanie chemicznych środków ochrony roślin. Spośród grzybów entomopatogenicznych gatunek ten najlepiej znosi również

okresową nieobecność potencjalnych żywicieli w środowisku. Wcześniejsze badania Miętkiewskiego i wsp. (1991), Tkaczuka (2008) oraz Tkaczuka i wsp. (2012, 2014) wykazały dominację grzybów *M. anisopliae* i *I. fumosorosea* w glebach uprawnych w Polsce. Z kolei Krysa i wsp. (2012) stwierdzili, że grzybem owadobójczym najczęściej izolowanym z gleb uprawnych oraz zadrzewień śródpolnych był *B. bassiana*, a nieco rzadziej *M. anisopliae* i *I. fumosorosea*. Sun i Liu (2008) badając gleby uprawne w Chinach odnotowali, iż najczęściej izolowanym gatunkiem grzyba był *M. anisopliae*, natomiast w glebach uprawnych w Hiszpani (Maranhão i Santiago-Alvarez 2003; Quesada-Moraga i wsp. 2007), Danii (Steenberg 1995) oraz Włoszech i Albanii (Tarasco i wsp. 1997; Tarasco i Poliseno 2005) gatunkiem dominującym okazał się *B. bassiana*.



CFU – jednostki tworzące kolonie – colony forming units

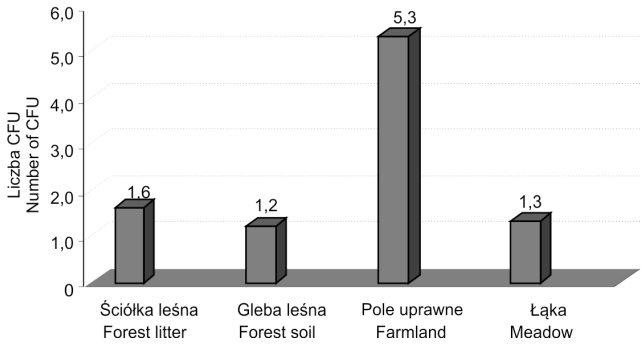
Rys. 1. Zagęszczenie jednostek tworzących kolonie poszczególnych gatunków grzybów entomopatogenicznych (CFU × 10^3/g) w badanych glebach z różnych siedlisk (średnia z trzech miejscowości)

Fig. 1. The density of colony forming-units of entomopathogenic fungi (CFU × 10^3/g) in soils from different habitats (the average of the three locations)

Najbogatszy skład gatunkowy grzybów entomopatogenicznych, spośród badanych w niniejszym opracowaniu siedlisk, odnotowano w glebie łąkowej (tab. 1, 2). Do podobnych wniosków doszli Miętkiewski i wsp. (1992), którzy stwierdzili większą różnorodność gatunkową grzybów entomopatogenicznych w glebach trwałych użytków zielonych niż sąsiadujących z nimi gruntów rolnych.

Wyłożone do gleb łąkowych larwy *G. mellonella* w największym stopniu porażone były przez *M. anisopliae* (średnio 18,6%), następnie *B. bassiana* (11,3%), *I. fumosorosea* (10,6%) oraz *I. farinosa* (2,7%) (tab. 2). Gondek i Ropek (2007) badając aktywność nicieni i grzybów owadobójczych w glebach spod trwałych użytków zielonych stwierdzili, iż najczęściej izolowanym z larw owada pułapkowego gatunkiem grzyba był *M. anisopliae.* Potwierdzają to także badania Kellera i wsp. (2003), Quesada-Moraga i wsp. (2007), Tkaczuka (2008) oraz Medo i Cagáňa (2011).

Izolacja grzybów owadobójczych z gleb łąkowych na podłoże selektywne nie potwierdziła dominacji *M. anisopliae* w tych glebach. Średnio najwięcej jednostek CFU w glebach z łąk tworzyły grzyby *I. fumosorosea* (0,6 × 10^3/g) oraz *B. bassiana* (0,5 × 10^3/g), natomiast *M. anisopliae* wystąpił w zagęszczeniu 0,2 × 10^3 jednostek koloniotwórczych w 1 gramie gleby (rys. 1).



Rys. 2. Zagęszczenie jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych (CFU × 10^3/g) w glebach z różnych siedlisk (średnia z trzech miejscowości)

Fig. 2. The density of colony forming-units of entomopathogenic fungi (CFU × 10^3/g) in soils from different habitats (the average of the three locations)

Badając łącznie występowanie wszystkich gatunków grzybów owadobójczych w analizowanych siedliskach, największe zagęszczenie jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych oznaczono w próbkach gleb pobranych z małoobszarowych pól uprawnych (średnio 5,3 × 10^3/g), natomiast najmniejsze w glebach leśnych (1,2 × 10^3/g) i łąkowych (1,3 × 10^3/g) (rys. 2). Dane te potwierdzają wyniki badań Tkaczuka i wsp. (2012), którzy stwierdzili wyższe zagęszczenie jednostek infekcyjnych grzybów owadobójczych w glebach z małoobszarowych pól uprawnych niż z sąsiadujących z nimi środowisk seminaturalnych, jakimi są zadrzewienia śródpolne. Jednak zupełnie odwrotną zależność odnotowano w przypadku wielkoobszarowych pól (powyżej 5 ha) w Austrii i Polsce (Tkaczuk 2008), na których stosowano intensywne zabiegi agrotechniczne, a zwłaszcza wysokie nawożenie mineralne oraz pełną chemiczną ochronę roślin. Rejon wschodniej Polski, z której pochodziły badane próby glebowe, charakteryzuje się wysokim rozdrobnieniem gospodarstw, w których dominują małoobszarowe pola uprawne. Obserwuje się tam jednocześnie urozmaiconą strukturę krajobrazu, z licznymi naturalnymi zadrzewieniami oraz bardzo niskie zużycie chemicznych środków ochrony roślin i nawozów mineralnych.

Według Karga i Bałazego (2009) upraszczanie struktury upraw, chemiczne zwalczanie szkodników i chwastów oraz cyklicznie powtarzalne zabiegi uprawowe zmierzające do intensyfikacji plonów eliminują z pól bezpośrednio lub pośrednio patogeny stawonogów na równi z pasożytami i drapieżcami, jako grupy troficzne o szczególnych wymaganiach środowiskowych i pokarmowych. Jednak większość z nich, w tym również grzyby owadobójcze,

charakteryzuje się dużymi zdolnościami adaptacyjnymi do niekorzystnych warunków otoczenia, a zazwyczaj także wysokim potencjałem reprodukcyjnym i migracyjnym, mogą one w krótkim czasie zasiedlać środowiska, z których w wyniku zabiegów agrotechnicznych zostały wyeliminowane, o ile w areałach lub otoczeniu pól znajdują się odpowiednie dla nich środowiska ostojowe.

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że typ siedliska miał istotny wpływ na zagęszczenie jednostek infekcyjnych (CFU) poszczególnych gatunków grzybów owadobójczych w glebie (tab. 3).

Wnioski / Conclusions

1. Z gleb pobranych z pól uprawnych oraz sąsiadujących z nimi łąk i siedlisk leśnych, za pomocą metody owadów pułapkowych wyizolowano pięć gatunków grzybów owadobójczych: *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa* i *Conidiobolus* sp., natomiast stosując metodę wysiewu roztworów glebowych na podłoże selektywne stwierdzono w badanych glebach obecność tylko trzech pierwszych gatunków grzybów.
2. Oceniając łączne występowanie grzybów owadobójczych w glebach, stwierdzono że w każdym z badanych siedlisk dominował zwykle jeden gatunek grzyba. Średnio w ściółce i glebie leśnej najwięcej jednostek infekcyjnych (CFU) tworzył grzyb *B. bassiana*, w glebie z pól uprawnych *M. anisopliae*, natomiast w glebie łąkowej w zbliżonym nasileniu wystąpiły *I. fumosorosea* i *B. bassiana*. W glebach z trwałych użytków zielonych odnotowano najbogatszy skład gatunkowy grzybów entomopatogenicznych.
3. Oceniając łącznie występowanie wszystkich gatunków grzybów owadobójczych w analizowanych siedliskach, największe zagęszczenie jednostek tworzących kolonie tych grzybów oznaczono w próbach gleb pobranych z małoobszarowych pól uprawnych.
4. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że typ siedliska miał istotny wpływ na zagęszczenie jednostek infekcyjnych (CFU) poszczególnych gatunków grzybów owadobójczych w glebie.

Literatura / References

Augustyniak-Kram A., Kram K.J. 2012. Entomopathogenic fungi as an important natural regulator of insect outbreaks in forest (Review). p. 265–294. In: "Forest Ecosystem- More Than Just Trees" (J.A. Blanco, Y.-H. Lo, eds.). InTech, Rijeka, 464 pp.

Augustyniak-Kram A., Mazurkiewicz I., Kram K.J., Uss G. 2013. Struktura gatunkowa grzybów owadobójczych w glebie rezerwatu Jata. Sylwan 157 (8): 572–577.

Bajan C., Kmitowa K. 1997. Thirty years studies on entomopathogenic fungi in the Institute of Ecology PAS. Polish Ecological Studies 23 (3–4): 133–154.

Bajan C., Kmitowa K., Mierzejewska E., Popowska-Nowak E., Miętkiewski R., Górski R., Miętkiewska Z., Głowacka B. 1995. Występowanie grzybów owadobójczych w ściółce i glebie borów sosnowych w gradiencie skażenia środowiska leśnego. Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, Seria B, 24: 87–97.

Bałazy S. 1997. Diversity of entomopathogenic fungi in agricultural landscapes of Poland and France. p. 101–111. In: "Ecological Management of Countryside in Poland and France" (L. Ryszkowski, S. Wicherek, eds.). Research Centre for Agricultural and Forest Environment, Polish Academy of Sciences, Poznań, 127 pp.

Bałazy S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. Kosmos 53 (1): 5–16.

Bałazy S., Cysewski R. 2003. Różnorodność grzybów entomopatogenicznych na obszarach chronionych. s. 113–142. W: „Bory Tucholskie. II. Zasoby i ich ochrona" (K. Gwoździński, red.). Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź.

Bing D.S., Xing Z.L. 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. Applied Soil Ecology 39: 100–108.

Fiedler Ż., Sosnowska D. 2011. Wpływ wybranych fungicydów na wzrost i zarodnikowanie grzybów owadobójczych. [The influence of fungicides on the growth and sporulation of entomopathogenic fungi]. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 52 (2): 911–915.

Gaugler R. 1988. Ecological consideration in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. Agriculture, Ecosystems & Environment 24: 351–360.

Gondek K., Ropek D. 2007. Wybrane właściwości gleby pod trwałym użytkiem zielonym oraz aktywność owadobójczych nicieni i grzybów. Acta Agrophysica 10 (2): 327–340.

Karg J., Bałazy S. 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. [Effect of landscape structure on the occurrence of agrophagous pests and their antagonists]. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 49 (3): 1015–1034.

Keller S., Kessler P., Schweizer C. 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol 48: 307–319.

Krysa A., Ropek D., Kuźniar T. 2012. Występowanie grzybów owadobójczych w zależności od pory roku w wybranym ekologicznym gospodarstwie rolnym. Journal of Agricultural Engineering Research 57 (3): 226–230.

Maranhão E.A.A., Santiago-Alvarez C. 2003. Occurrence of entomopathogenic fungi in soils from different parts of Spain. IOBC/WPRS Bulletin 26 (1): 59–62.

Medo J., Cagáň Ľ. 2011. Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. Biological Control 59 (2): 200–208.

Miętkiewski R., Tkaczuk C., Żurek M., Bałazy S. 1991. Występowanie entomopatogennych grzybów w glebie ornej, leśnej oraz ściółce. Roczniki Nauk Rolniczych, Seria E – Ochrona Roślin 21 (1/2): 61–68.

Miętkiewski R., Tkaczuk C., Badowska-Czubik T. 1992. Entomogenous fungi isolated from strawberry plantations soil infested by *Otiorrhynchus ovatus* L. Roczniki Nauk Rolniczych, Seria E – Ochrona Roślin 22 (1/2): 39–46.

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. Mycological Research 111: 947–966.

Ropek D., Krysa A., Rola A., Frączek K. 2014. Antagonistyczny wpływ *Trichoderma viride* na grzyby owadobójcze *Baeuveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae* w warunkach *in vitro*. Polish Journal of Agronomy 16: 57–63.

Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. [Progress in research and the use of pathogenic fungi in integrated plant protection]. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 53 (4): 747–750.

Steenberg T. 1995. Natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with focus on infectivity to *Sitona* species and other insects in lucerne. Ph.D. Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.

Strasser H., Forrer A., Schinner F. 1996. Development of media fort the selective isolation and maintenance of virulence of *Baeuveria brongniartii*. p. 125–130. In: "Microbiol Control of Soil Dwelling Pests" (T.A. Jackson, T.R. Glare, eds.). AgResearch, Lincoln, New Zeland.

Sun B.D., Liu X.Z. 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. Applied Soil Ecology 39: 100–108.

Świeżyńska H., Górnaś E. 1976. Owadobójcze grzyby na niektórych gatunkach boreczników (Hymenoptera: Diprionidea) w latach 1971–1975. Sylwan 8: 47–56.

Tarasco E., de Bievre C., Papierok B., Poliseno M., Triggiani O. 1997. Occurrence of entomopathogenic fungi in soils in Southern Italy. Entomologia, Bari, 31: 157–166.

Tarasco E., Poliseno M. 2005. Preliminary survey on the occurrence of entomopathogenic nematodes and fungi in Albanian soils. IOBC/WPRS Bulletin 28 (3): 165–168.

Tkaczuk C. 2008. Występowanie i potencjał infekcyjny grzybów owadobójczych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych w krajobrazie rolniczym. [Occurrence and infective potential of entomopathogenic fungi in the soils of agrocenoses and semi-natural habitats in agricultural landscape]. Rozprawa Naukowa nr 94. Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce, 160 ss.

Tkaczuk C., Król A., Majchrowska-Safaryan A., Niecewicz Ł. 2014. The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from fields cultivated in a conventional and organic system. Journal of Ecological Engineering 15 (4): 137–144.

Tkaczuk C., Krzyczkowski T., Wegensteiner R. 2012. The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from mid-field woodlots and adjacent small-scale arable fields. Acta Mycologica 47 (2): 191–202.

Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Miętkiewski R. 2013. Wpływ wybranych fungicydów oraz wyciągów glebowych na wzrost owadobójczego grzyba *Metarhizium anisopliae*. [The influence of selected fungicides and soil extracts on the growth of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*]. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 53 (4): 751–756.

Tkaczuk C., Miętkiewski R. 1998. Mycoses of pine sawfly (*Diprion pini* L.) during hibernation period in relation to entomopathogenic fungi occurring in soil and litter. Folia Forestalia Polonica, Serie A – Forestry 40: 26–32.

Vänninen I. 1996. Distribution and occurrence of four entomopatogenic fungi in Finland: Effect of geographical location, habitat type and soil type. Mycological Research 100: 93–101.

Vänninen I., Tyni-Juslin J., Hokkanen H.M.T. 2000. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils. Biocontrol 45: 201–222.

Zimmermann G. 1986. *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of Applied Entomology 102: 213–215.