

Mikroskopinių grybų įvairovė pažeistų augalų, augančių Kauno botanikos sodo kolekcijose, rizosferoje

Antanina Stankevičienė, Vilija Snieškienė

Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodas, Ž. E. Žilibero g. 6, 46324 Kaunas;
el. paštas: a.stankevicene@bs.vdu.lt

Albinas Lugauskas

Chemijos institutas, A. Goštauto g. 9, Vilnius

Anotacija

2006–2009 m. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode iš ekspozicijose ir kolekcijose auginamų augalų su pažeista antžemine dalimi rizosferos buvo išskirtos ir identifikuotos 62 mikroskopinių grybų rūšys, priklausančios 26 gentims, 5 šeimoms, 4 eilėms, 3 klasėms bei 3 skyriams. Tarp identifikuotų grybų buvo potencialūs augalų šaknų puvinių ir vytulių sukėlėjai, priklausantys trims gentims: *Fusarium* (*Fusarium gibbosum*, *F. heterosporum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme* ir *F. solani*) bei *Phoma exiqua*, *Sclerotinia fuckeliana*. Tai ir pablogino tirtų augalų fitosanitarinę būklę.

Reikšminiai žodžiai: mikroskopiniai grybai, dekoratyvieji augalai, rizosfera, Kauno botanikos sodas.

ĮVADAS

Botanikos sodams vykdant augalų introdukciją ir aklimatizaciją, iškyla nuolat kaupiamų ir gausinamų augalų kolekcijų išlaikymo problema. Čia svarbu palaikyti gerą fitosanitarinę būklę. Augalų būklė daugiausia priklauso nuo mikrobiologinių procesų, vykstančių jų aplinkoje, o ypač nuo rizosferoje funkcionuojančių mikroskopinių grybų (Bolen, 1979).

Augalų rizosfera yra dinamiška daugelio parametrų, sąlygojančių biotos populiacijų struktūrą, įvairovę ir mikrobiologinių bendrijų aktyvumą, aplinka. Iš kitos pusės, patogeninės mikrobiotos pobūdis

priklauso nuo augalo būklės (Синадский и др., 1990). Mikrobiotos tyrimai, atliekami su natūraliomis sąlygomis augančių augalų rizosfera, yra svarbūs kaupiant duomenis apie aplinkoje funkcionuojančias mikroskopinių grybų rūšis, kurios paveikia augalų vystymąsi bei jų būklę (Jankevičius ir kt., 2007). Todėl gamtoje nuolat funkcionuojančių mikroskopinių grybų rūšių pažinimas, jų funkcinų savybių tyrimas, santykių su kitais organizmais nustatymas ir jų veiklos reguliavimo galimybių paieška yra svarbi mokslinė ir praktinė problema (Lugauskas, 2003).

Tyrimo tikslas – identifikuoti mikroskopinių grybų įvairovę sergančių dekoratyvinių augalų, augančių Kauno botanikos sode, rizosferoje.

METODIKA

Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode (2006–2009 m.) buvo tirti augalų rizosferos mikroskopiniai grybai iš 6 genčių, 11 rūšių augalų su antžeminės dalies pažeidimais: *Abies balsamea* (L.) Mill., *Picea* sp., *Dahlia* sp., *Thuja* sp., *Paeonia lactiflora* ‘Virgilijus’, ‘Darius ir Girėnas’ ir *Rhododendron* (6 rūšys): *R. brachicarpum* G. Don., *R. fortunei* ssp. *discolor* (Franch.) Chamberl., *R. maximum* L., *R. micranthum* Turcz., *R. wiltonii* Hemsl, *Rhododendron* sp.

Rizosferos mikologinis tyrimas buvo atliekamas serijinio praskiedimo metodu. Vienas bandinys buvo gaunamas specialiu grąžtu paimant substratą iš keturių rizosferos vietų. Iš gerai sumaišyto pavyzdžio buvo atsveriamas 10 g substrato ir, subėrus į kolbą su 100 ml sterilaus distiliuoto vandens, turinys intensyviai purtomas 10 min., paskui serijinio praskiedimo būdu buvo atskiedžiamas iki 1:10 000, tada 1 ml suspensijos supilama į *Petri* lėkštelę. Po to sukamuoju judesiu išsklaidomas ir užpilamas 10 ml agarizuota ir iki 40 °C atšaldyta alaus misos terpe (pH_{KCl} 6,0). Sėjama buvo trimis pakartojimais. Pasėliai inkubuoti termostate 26±2 °C temperatūroje 7 paras.

Mikroskopinių grybų kolonijos buvo išgrynintos iki monokultūros ir rūšys identifikuotos pagal kultūrinius ir morfologinius požymius šviešinės mikroskopijos metodu. Grybų rūšys identifikuotos, vadovaujantis

M. B. Ellis (1976), J. W. Carmichael ir kt. (1980), K. H. Domsch ir kt. (1980), E. Kiffer ir M. Morelet (2000) pateiktomis metodikomis. Grybai sistemiskai išdėstyti, remiantis P. M. Kirk ir kt. (2001) sistema; aprašyti pagal: <http://www.indexfungorum.org/Index.htm>.

REZULTATAI

Tyrimo metu išskirta ir identifikuota 62 rūšys grybų, priklausančių 26 gentims, 5 šeimoms, 4 eilėms, 3 klasėms bei 3 skyriams. Remiantis P. M. Kirk ir kt. (2001) grybų karalystės suskirstymo sistema, toliau pateikiamas identifikuotų grybų rūšių sąrašas, nurodant jų priklausomybę aukštesniam taksonominiam rangui (genčiai, šeimai, eilei, klasei, skyriui). Taip pat nurodomas augalas šeimininkas, kurio rizosferoje aptiktas mikroskopinis grybas (1 lentelė).

Didžiąją daugumą identifikuotų izoliatų sudarė anamorfiniai grybai (*Anamorphic fungi*) – 20 genčių, 54 rūšys, kurie, remiantis P. M. Kirk ir kt. (2001) grybų karalystės suskirstymo sistema, yra išskiriami kaip atskira grupė, nepriklausanti jokiai taksonominiam rangui.

Didžiausia įvairovė pasižymėjo *Penicillium* genčiai priklausantys grybai – išskirtos 22 rūšys. Tarp šių kosmopolitų, paplitusių Lietuvos sukultūrintuose dirvožemiuose (Lugauskas, 1988), neaptikta tik balzaminio kėnio (*Abies balsamea*) rizosferoje. Pastarąjį galėjo pažeisti *Botryotinia fuckeliana*, kuri dominavo tarp išskirtų iš šio augalo rizosferos grybų (aptikimo dažnis 40 %).

Iš rododendro (*Rhododendron maximum*) išskirti dviejų rūšių patogenai, priklausantys *Fusarium* genčiai (1 lentelė), be to, antagonistinėmis savybėmis pasižymintys *Trichoderma* genties grybai. Iš rododendrų (*Rhododendron* sp. ir *R. micranthum*) buvo išskirti *Phoma exiqa*, kuris ir galėjo pažeisti augalus. Intensyvus medienos ardytojas *Mortierella alpina* buvo išskirtas skirtingu laiku iš dviejų rododendro rūšių. Visų tirtų rododendrų rizosferoje buvo aptikta didžiausia įvairovė mikroskopinių grybų (pavyzdyje nuo 7 iki 11 rūšių), palyginti su kitais tirtais augalais. Mažiausia įvairovė pasižymėjo tujos (*Thuja* sp.) ir balzaminio kėnio rizosfera – išskirta po 2-3 rūšis, o aptikti grybai negalėjo turėti neigiamų pasekmių šiems augalams.

Eglės (*Picea* sp.) rizosferoje buvo aptikti *Fusarium gibbosum*, nors jo aptikimo dažnis buvo labai žemas (apie 1 %), neigiamą poveikį galėjo sustiprinti *Acremonium roseum*, kuris pažeidžia šaknis kartu su kitais grybais. Kita rūšis, priklausanti *Acremonium* genčiai (*A. strictum*) buvo aptikta ir jurgino (*Dahlia* sp.) rizosferoje greta *Fusarium moniliforme* ir *F. oxysporum*, ir tik apie 1 % buvo išskirta antagonisto *Trichoderma harzianum*. Ištyrus eglės šakutę, joje patogenų nebuvo aptikta.

1 lentelė. Mikroskopinių grybų rūšių įvairovė dekoratyvinių augalų (^A – *Abies balsamea*, ^{Pc} – *Picea* sp., ^D – *Dahlia* sp., ^P – *Paeonia lactiflora*, ^R – *Rhododendron* spp., ^T – *Thuja* sp.) rizosferoje

Table 1. Microscopic fungi species diversity in a rhizosphere of ornamental plants (^A – *Abies balsamea*, ^{Pc} – *Picea* sp., ^D – *Dahlia* sp., ^P – *Paeonia lactiflora*, ^R – *Rhododendron* spp., ^T – *Thuja* sp.)

SKYRIUS, KLASĖ, eilė, šeima: gentis, rūšis / DIVISION, CLASS, Range, Family: Genus, Species.
ASCOMYCOTA, ASCOMYCETES, Onygenales, Arthrodermataceae: <i>Arthroderma tuberculatum</i> Kuehn ^R . Leontiales, Sclerotinaceae: <i>Botryotinia fuckeliana</i> (de Bary) Whetzel (sin. <i>Sclerotinia fuckeliana</i> ^A).
OOMYCOTA, OOMYCETES, Pythiales, Pythiaceae: <i>Pythium</i> sp. ^R
ZYGOMYCOTA, ZYGOMYCETES, Mucorales, Mortierellaceae: <i>Mortierella alpina</i> Peyronel ^R , <i>M. elongata</i> Linnem. ^R , <i>M. hyalina</i> (Hartz) W. Gams ^R . Umbolopsidaceae: <i>Umbelopsis isabellina</i> (Oudem) W. Gams ^R .
Mucoraceae <i>Mucor plumbeus</i> Bonord. ^{D, R} , <i>M. racemosus</i> Fresen. ^T , <i>M. hiemalis</i> var. <i>silvaticus</i> (Hagem) Schipper ^D .
ANAMORPHIC FUNGI:
<i>Acremonium roseum</i> Petch ^{Pc} , <i>A. strictum</i> W. Gams ^D . <i>Aspergillus clavus</i> Desm ^R , <i>A. puniceus</i> Kwon Chung et Fennell ^{Pc, P} , <i>A. terreuseus</i> Thom ^R , <i>A. ustus</i> Thom & Church ^R . <i>Aureobasidium pululans</i> var. <i>pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud ^D . <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i> (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams ^R . <i>Exophiala exophialae</i> (de Hooq) de Hooq ^D . <i>Fusarium gibbosum</i> Appel et Wolenw. ^{Pc} , <i>F. heterosporum</i> Nees et T. Nees ^R , <i>F. oxysporum</i> Schldt. ^P , <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc. ^R <i>Geomyces pannorum</i> (Link) Sigler & J. W. Carmich. ^R <i>Giberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw (sin. <i>F. moniliforme</i> J. Cheld.) ^{D, R} . <i>Gliomastix murorum</i> var. <i>murorum</i> (Corda) S. Hughes (sin. <i>Acremonium murorum</i>) ^R . <i>Hyalodendron lignicola</i> Diddens ^D .

Myceliophthora vellerea (Sacc. et Speg.) Oorschot^{D, R}.
Oidiodendron echinulatum G. L. Barron^R, *O. griseum* G. L. Barron^R.
Paecilomyces carneus (Duché & R. Heim) A. H. S. Br. & G. Sm.^R *Penicillium adametzii* K.M. Zalessky^R, *P. albicans* Bainier^R, *P. album* Sopp.^R, *P. atramentosum* Thom^{Pc}, *P. aurantiogriseum* (Westling) Frisvad & Fennell^A, *P. brevicompactum* Dierckx^R, *P. canescens* Scop^{Pc, R, P}, *P. capsulatum* Raper & Fennell^{R, P}, *P. chrysogenum* var. *chrysogenum* Thom^R, *P. corylophyllum* Dierckx^{Pc}, *P. diversum* Raper & Fennell^R, *P. expansum* Link^{P, T}, *P. funiculosum* Thom^{Pc, R}, *P. godlewskii* K. M. Zalessky^R, *P. lanosum* Westling^R, *P. implicatum* Biourge^R, *P. ochrochloron* Biourge^R, *P. palitans* Westling^R, *P. pupurogenum* Stoll^{Pc, D, R}, *P. roseum* Cooke^D, *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom^R, *P. verrucosum* Dierckx^R, *Penicillium* sp.^{R, P}. *Phoma exiqua* Sacc.^R
Papulaspora immersa Hotson^R.
Sporotrihum cerebriforme G. A. de Vries & Kleine Natrop^R, *S. olivaceum* Pers.^R
Trichoderma hamatum (Bonord.) Bainier^{Pc}, *T. harzianum* Rifai^{D, R}, *T. polysporum* (Link) Rifai^R, *T. viride* Pers.^R.
Trichosporiella cerebriiformis (G. A. de Vries et Kleine Nastop) W. Gams^R.
Verticillium albo-atrum Reinke & Berthold^R.

Dauguma *Pythium* genčiai priklausančių grybų patogenų yra daugelio dekoratyvinių augalų patogenai. Neapibūdinti iki rūšies *Pythium* genties grybai buvo išskirti iš *Rhododendron wiltonii* rizosferos šalia kitų kosmopolitų.

Puikiojo bijūno (*Paeonia lactiflora*) veislių ‘Virgilijus’ ir ‘Darius ir Girėnas’ blogos fitosanitarinės būklės priežastis galėjo būti rizosferoje funkcionuojantis patogenas *Fusarium oxysporum*. Iš jurgino rizosferos buvo išskirta daug bakterijų, bet jų identifikacija nebuvo šio darbo tikslas.

Augalams, kurių rizosferoje funkcionavo augalų destruktijos procesuose aktyviai dalyvaujantys *Penicillium expansum*, *P. funiculosum*, *P. lanosum* ir *P. corylophyllum*, taip pat galėjo turėti neigiamos įtakos (1 lentelė). Iš viso tyrimo metu išskirta 5 rūšys grybų, potencialių augalų patogenų iš *Fusarium* genties. Jų neaptikta *Abies balsamea* ir *Thuja* sp. rizosferoje. Antagonistinėmis savybėmis pasižymintys *Trichoderma* genties grybai buvo aptikti trijų tirtų augalų rizosferoje (1 lentelė).

IŠVADOS

1. 2006–2009 m. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode iš kolekcijose auginamų augalų su pažeista antžemine dalimi

rizosferos išskirti ir identifikuoti 62 rūšių mikroskopiniai grybai, priklausantys 26 gentims, 5 šeimoms, 4 eilėms, 3 klasėms bei 3 skyriams. Didžiąją daugumą identifikuotų izoliatų sudarė anamorfiniai grybai (*Anamorphic fungi*) – 20 genčių, 54 rūšys, tarp kurių dominavo *Penicillium* genties grybai (22 rūšių).

2. Iš rizosferos buvo išskirti potencialūs augalų šaknų puvinių ir vytulių sukėlėjai iš *Fusarium* genties (*Fusarium gibbosum*, *F. heterosporum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme* ir *F. solani*) bei *Phoma exiua*, *Sclerotinia fuckeliana*.

LITERATŪRA

- BOLEN, G. J. 1979. *Soil borne plant pathogens*. London-New York-San Francisco, 262 p.
- CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, J. L.; SIGLER, L. 1980. *Genera of Hyphomycetes*. Alberta.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. 1980. *Compendium of soil fungi*, vol. 1, London, Acad. Press, 859 p.
- ELLIS, M. B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, 365 p. ISBN 0 85198 365 0.
- <http://www.indexfungorum.org/Index.htm>.
- JANKEVIČIUS, K.; LUŽINAS, R. 2007. Mikroorganizmai ir aplinka. *Žvilgsnis į mikroorganizmų pasaulį*. Vilnius, p. 40–48. ISBN 978-9986-03-611-1.
- KIFFER, E.; MORELET, M. 2000. *The deuteromycetes. Mitosporic fungi. Classification and genera keys*. USA, 250 p. ISBN 1-57808-068-1.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALGES, J. A. 2001. *Ainsworth et Bisby's dictionary of the fungi 9th ed*. CAB International. Walingford, UK, 655 p.
- LUGAUSKAS, A. 2003. Natūraliomis aplinkos sąlygomis egzistuojančių mikromicetų įvairovės tyrimai. *Lietuvos biologinė įvairovė (būklė, struktūra, apsauga)*. Vilnius, p. 47–48.
- СИНАДСКИЙ, Ю. В.; КОЗАРЖЕВСКАЯ, Э. Ф.; МУХИНА, Л. Н. *Болезни и вредители растений-интродуцентов*. Москва: Наука, 1990, 591 с.
- ЛУГАУСКАС, А. 1988. *Микромицеты окультуренных почв Литовской ССР*. Вильнюс, Мокслас, 261 с.

THE DIVERSITY OF MICROSCOPIC FUNGI IN THE RHIZOSPHERE OF
INJURED PLANTS, GROWING IN COLLECTIONS OF KAUNAS BOTANICAL
GARDEN

A. Stankevičienė, A. Lugauskas, V. Snieškienė

S u m m a r y

During 2006-2009 the investigations were carried about the rhizosphere of decorative plants there were identified 62 fungal species belonging to 26 genera, 5 families, 4 ranges, 3 classes and 3 divisions. There were isolated causative agents of the plants root rots from *Fusarium* genus (*Fusarium gibbosum*, *F. heterosporium*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*) and *Phoma exiqa*, *Sclerotinia fuckeliana*.

Keywords: microscopic fungi, decorative plants, rhizosphere, Kaunas Botanical Garden