

Interakcje biotyczne *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. z grzybami najczęściej występującymi w jego hodowlach

LUKASZ BRODZIAK

Instytut Ochrony Lasu i Drewna SGGW—Akademia Rolnicza w Warszawie

Brodziak Ł.: (Institute of Forest and Wood Protection, Warsaw Agricultural University, Rakowiecka 26/30, 02-528 Warszawa, Poland). *Biotic interactions of Lentinus edodes* (Berk.) Sing. with fungi which occur the most frequently in its cultures. Acta Mycol. 16(2): 195-201, 1980.

The interaction of the examined fungi was measured as the degree of encirclement of fungal colonies in two-organism cultures, the width of the inhibition zone and the evaluation single species cultures. Three species strongly limited the growth of *Lentinus edodes* colonies. In the other cases this fungus dominated due to intensive growth of the mycelium.

Podjęte w kraju prace nad introdukcją twardziaka shiitake, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing., jako źródła surowca dla przemysłu spożywczego i farmaceutycznego wymagają poznania reakcji tego grzyba na inne organizmy (Brodziak 1978). Szczególnie łatwo o infekcję przez niepożądane gatunki w hodowlach prowadzonych na rozdrobnionych podłożach organicznych. Zараżenie może tu nastąpić dwiema drogami: przez niedostateczną sterylizację substratu oraz drogą powietrzną. Obecność obcych gatunków grzybów może wywierać wpływ na przebieg hodowli, termin owocowania i wysokość plonów (Hashioka i in. 1961 a, b 1964; Komatsu 1968 a, b; Arita 1971). Oddziaływanie to jest wynikiem bądź rozkładania podłoża przez te organizmy, co pociąga za sobą uszczuplenie bazy pokarmowej, bądź ich działania biotycznego. Problem ten był przedmiotem dość licznych badań, w których stwierdzono antagonistyczne działanie wielu gatunków grzybów z rodzajów: *Gliocladium*, *Cephalosporium*, *Didymocladium*, *Acremonium*, *Pachybasium*, *Phialophora*, *Diatrype* i *Trichoderma* (Nishikado i in. 1942, 1943; Iwade i in. 1952; Takita 1964-1965; Komatsu, Hashioka 1964 a, b, 1966; Hashioka, Fukita 1969; Komatsu 1969, 1970, 1975, 1976; Ohira 1974; Komatsu, Iida 1969).

Celem pracy było zbadanie wzajemnych oddziaływań pomiędzy *Lentinus edodes* a grzybami wyizolowanymi z jego hodowli prowadzonych w warunkach polskich. Poznanie reakcji biotycznych oraz znajomość

stopnia tych oddziaływań będzie pomocne przy zakładaniu i prowadzeniu hodowli, a także w ich ochronie przed działaniem niepożądanych mikroorganizmów.

MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Badanie reakcji biotycznych *L. edodes* przeprowadzono w stosunku do 14 grzybów występujących najczęściej jako zanieczyszczenia w hodowlach wazonowych prowadzonych przez autora: *Aspergillus flavus* Link., *A. niger* T., *A. amstelodami* (Mang.) Thom. et Church., *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis cinerea* Pers., *Chaetomium globosum* Kze., *Fusarium graminearum* Schw., *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schw.) Ditm., *Paecilomyces varioti* Bain., *Penicillium cyclopium* West., *P. brevi-compactum* Dier., *Stemphylium piriforme* Bon., *Stachybotrys atra* Corda, *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. Czyste kultury wymienionych grzybów pochodziły z kolekcji Zakładu Fitopatologii Leśnej i Konserwacji Drewna SGGW—AR.

W celu zbadania reakcji biotycznych *L. edodes* z tymi gatunkami, założono hodowlę dwuorganizmową w płytkach Petriego na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Ponadto dla każdego gatunku założono hodowlę jednoorganizmową jako kontrolę. Poszczególne warianty doświadczenia wykonano w pięciu powtórzeniach. Naczynia umieszczono w termostacie w temperaturze 25°C, wilgotności względnej powietrza 80-90%, bez dostępu światła. Po 10 dniach wzrostu oceniono wzajemne oddziaływanie na siebie badanych grzybów stosując kryteria podane przez Mańkę w jego metodzie szeregów biotycznych (Mańka 1976):

- obydwie kolonie spotykają się wzdłuż linii prostej 0
- kolonia badanego grzyba styka się z kolonią *L.edodes* wzdłuż linii lekko krzywej, tak że otacza mniej niż 1/3 jego kolonii -1
- kolonia badanego grzyba spotyka się z kolonią *L.edodes* wzdłuż linii krzywej tak, że otacza przynajmniej 1/3, lecz mniej niż 1/2 jego kolonii -2
- kolonia badanego grzyba styka się z kolonią *L.edodes* wzdłuż linii krzywej tak, że otacza co najmniej 1/2, lecz mniej niż 2/3 jego kolonii -3
- kolonia badanego grzyba styka się z kolonią *L.edodes* wzdłuż linii krzywej tak, że otacza 2/3 lub więcej jego kolonii -4
- każdy milimetr strefy inhibicyjnej między obydwiema koloniami, jeżeli spowodowany jest działaniem kolonii gatunku badanego -1
- kolonia *L.edodes* co najmniej 1/2, lecz mniej niż o 2/3 mniejsza od jego kolonii kontrolnej -2

- kolonia *L.edodes* co najmniej o 2/3 mniejsza niż jego kontrolna kolonia, lecz niezupełnie rozwinięta -3
 — kolonia *L.edodes* zupełnie nierozwinięta -4

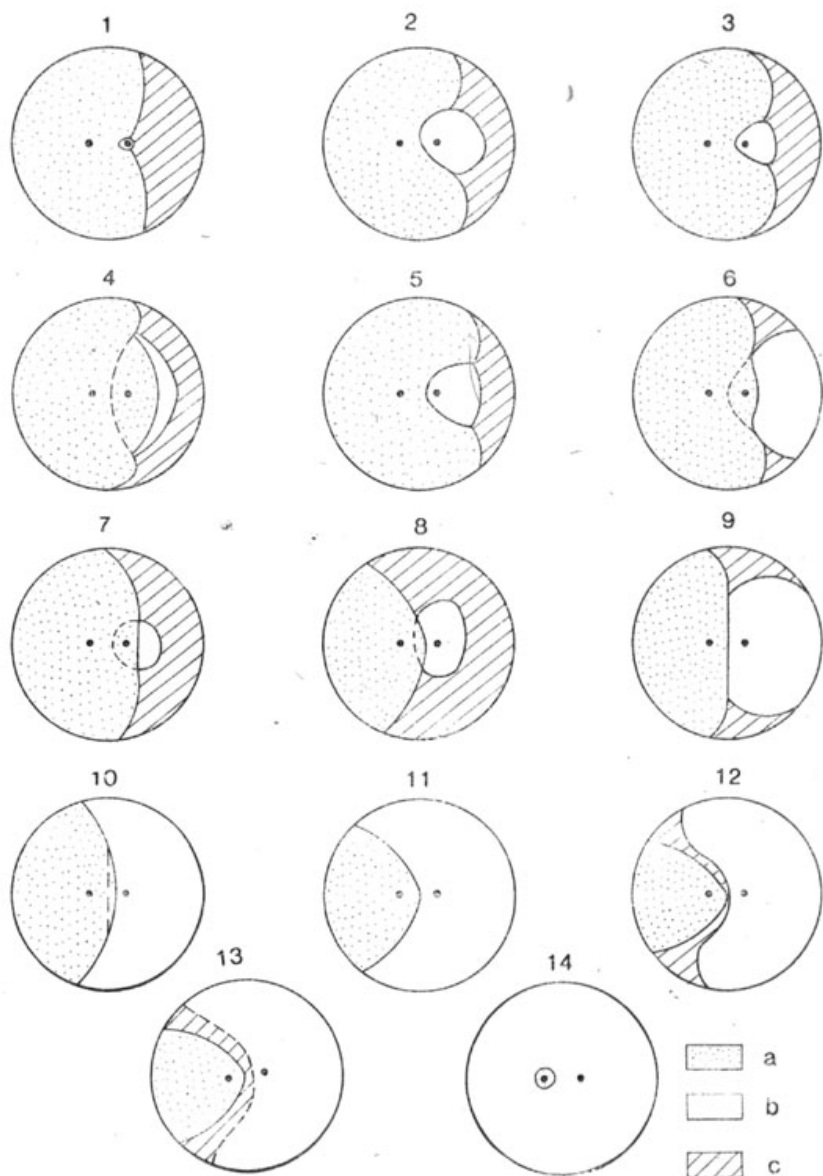
Jeżeli sytuacje w kulturach dwuorganizmowych są odwrotne aniżeli przedstawione w powyższej skali, oceny zachowują tę samą wartość, lecz ze znakiem przeciwnym. Dodatnie wartości ocen oznaczają więc ograniczający wpływ *L.edodes* na badane gatunki, zaś wartości ujemne wyrażają wpływ sprzyjający. Algebraiczna suma wszystkich uzyskanych ocen punktowych daje tzw. indywidualny efekt biotyczny badanych gatunków grzybów.

WYNIKI BADAŃ

Uzyskane wyniki wykazały (tab. 1 i rys. 1), że *L.edodes* jest gatunkiem dominującym w stosunku do większości badanych grzybów. Do-

Tabela 1—Table 1
 Oddziaływanie biotyczne *Lentinus edodes* i badanych gatunków grzybów
 Biotic interaction of *Lentinus edodes* and the examined fungal species

Gatunek Species	Stopień oddziaływania biotycznego Degree of biotic interaction			
	wg oceny hodowli dwuorganizmowej evaluation based on two organism culture	wg oceny szerokości strefy inhibicyjnej evaluation based on with of inhibition zone	wg oceny hodowli jednoorganizmowej evaluation based on single organism culture	indywidualny efekt biotyczny individual biotic effect
<i>Penicillium cyclopium</i>	+4	0	+2	+6
<i>Paecilomyces varioti</i>	+3	0	+2	+5
<i>Stachybotrys atra</i>	+3	0	+2	+5
<i>Stemphylium piriforme</i>	+1	0	+3	+4
<i>Penicillium brevi-compactum</i>	+3	0	+1	+4
<i>Aspergillus niger</i>	+1	0	+2	+3
<i>Aspergillus amstelodami</i>	0	0	+2	+2
<i>Myrothecium verrucaria</i>	0	0	+1	+1
<i>Alternaria alternata</i>	0	0	+1	+1
<i>Chaetomium globosum</i>	0	0	-1	-1
<i>Botrytis cinerea</i>	-3	0	-1	-4
<i>Aspergillus flavus</i>	-2	-1	-2	-5
<i>Fusarium graminearum</i>	-3	-2	-2	-7
<i>Trichoderma viride</i>	-4	0	-4	-8



Rys. 1. Oddziaływanie biotyczne *L. edodes* na badane gatunki grzybów
 Biotic interaction of *L. edodes* with the examined fungal species

a — *L. edodes*; b — pozostałe gatunki (remaining species); c — pożywka mezarosnięta (not overgrown medium)

1 — *Penicillium cyclopium*, 2 — *Paecilomyces varioti*, 3 — *Stachybotrys atra*, 4 — *Stemphylium piriforme*, 5 — *Penicillium brevi-compactum*, 6 — *Aspergillus niger*, 7 — *A. amstelodami*, 8 — *Myrothecium verrucaria*, 9 — *Alternaria alternata*, 10 — *Chaetomium globosum*, 11 — *Botrytis cinerea*, 12 — *Aspergillus flavus*, 13 — *Fusarium graminearum*, 14 — *Trichoderma viride*

tyczyło to następujących gatunków: *Penicillium cyclopium*, *Paecilomyces varioti*, *Stachybotrys atra*, *Stemphylium piriforme*, *Penicillium brevi-compactum*, *Aspergillus niger*, *A. amstelodami*, *Myrothecium verrucaria* i *Alternaria alternata*. Jednakże zakres oddziaływania *Lentinus edodes* na wymienione gatunki nie był jednakowy. Różnice dotyczyły zarówno stopnia wzajemnego otaczania się kolonii grzybów w hodowlach dwuorganizmowych (od +1 do +4), jak również zmniejszania tempa wzrostu kolonii grzybni badanych gatunków pod wpływem *L.edodes* (od +1 do +3). W przypadkach gdy *L.edodes* występował jako gatunek dominujący, nie obserwowano powstawania stref inhibicyjnych pomiędzy koloniami rozwijających się grzybni w kulturach dwugatunkowych. Wartość indywidualnych efektów biotycznych tych gatunków, będąca algebraiczną sumą ocen cząstkowych, także była niejednakowa i zawierała się w granicach od +1 do +6. Pozostałe badane gatunki oddziaływały ujemnie na *L.edodes*. Tylko nieznaczne ograniczenie wzrostu kolonii *L.edodes* spowodowało *Chaetomium globosum* (-1). Natomiast *Botrytis cinerea*, *Aspergillus flavus* i *Fusarium graminearum* wykazywały silne działanie biotyczne, będące efektem zarówno szybszego wzrostu ich grzybni, co przejawiało się w otaczaniu kolonii grzybni twardziaka w hodowlach dwuorganizmowych, jak również poważnego zmniejszenia tempa wzrostu jego grzybni. U dwu ostatnich gatunków stwierdzono ponadto obecność stref inhibicyjnych pomiędzy koloniami rozwijających się grzybni. Jednakże największe działanie ograniczające w stosunku do *L.edodes* wykazywał grzyb *Trichoderma viride*. Ponieważ w hodowli dwuorganizmowej nastąpiło całkowite zahamowanie wzrostu grzybni twardziaka shiitake, należy go uważać za najgroźniejszego wroga w tych hodowlach *L.edodes*.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wzajemnego oddziaływania *Lentinus edodes* i 14 gatunków innych grzybów z klas *Ascomycetes* i *Deuteromycetes* wykazały jego znaczną przewagę biotyczną nad większością z badanych gatunków. Posiada to duże znaczenie w praktyce hodowli shiitake. Niektóre testowane gatunki wpływały ograniczająco na wzrost grzybni *L.edodes*. Przejawem tego działania było otaczanie kolonii *L.edodes* w hodowlach dwuorganizmowych, zmniejszenie tempa wzrostu grzybni, jak również wytwarzanie strefy inhibicyjnej pomiędzy koloniami rozwijających się grzybni. Największym oddziaływaniem antagonistycznym odznaczała się *Trichoderma viride*. Jest to potwierdzeniem wyników uzyskanych przez Hashioka i in. (1961 a, b), Hashioka, Komatsu (1964) i Komatsu (1968 a, b). Reakcje niektórych grzybów wystę-

pujących w hodowlach w warunkach polskich są podobne do wyników uzyskanych przez autorów japońskich. Istniejące pewne niebezpieczeństwo utrudniania hodowli *L.edodes* w naszym kraju przez oddziaływanie grzybów antagonistycznych może być zmniejszone drogą stosowania selektywnie działających fungicydów systemicznych (Matsumoto, Takita 1963; Arita 1963; Yau-teh, Nakamura 1975).

STRESZCZENIE

Przeprowadzono badania reakcji biotycznych *L.edodes* w stosunku do 14 gatunków grzybów występujących najczęściej jako zanieczyszczenia w jego hodowlach. Wzajemne oddziaływanie badanych grzybów oceniano stosując kryteria: stopnia otaczania się kolonii grzybni w hodowlach dwuorganizmowych, szerokości strefy inhibicyjnej oraz oceny hodowli jednogatunkowych (Mańka, 1976).

Uzyskane wyniki wykazały, że niektóre gatunki oddziaływały ujemnie na *L.edodes*. Silne ograniczenie wzrostu jego kolonii spowodowały: *Botrytis cinerea*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum* i *Trichoderma viride*. Jednakże w stosunku do większości testowanych grzybów *L.edodes* był gatunkiem dominującym. Dotyczyło to gatunków: *Penicillium cylopium*, *Paecilomyces varioti*, *Stachybotrys atra*, *Stemphylium piriforme*, *Penicillium brevi-compactum*, *Aspergillus niger*, *A. amstelodami*, *Myrothecium verrucaria* i *Alternaria alternata*. Przewaga *L.edodes* wynikała z bardziej intensywnego wzrostu grzybni.

LITERATURA

- Arita I.: 1963, A preliminary assay for the residual effect of the different organic fungicidal substances against *Trichoderma viride* the major enemy in Shiitake-mushroom cultivation. Rept. Tottori Mycol. Inst. 3: 19-24.
- Arita I., 1971, *Hypocrea* species causing failure of Shiitake—*L. edodes*. I. Rept. Tottori Mycol. Inst. 9: 36-53.
- Brodziak L., 1980, Wybrane aspekty biologii *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. w warunkach polskich. Acta Mycol. 16(1).
- Hashioka Y., Fukita T., 1969, Ultrastructural observations on mycoparasitism of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Acremonium* to phytopathogenic fungi. Rept. Tottori Mycol. Inst. 7: 8-18.
- Hashioka Y., Komatsu M., 1964, *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inhabiting *Hymenomyces*. III. Rept. Tottori Mycol. Inst. 4: 1-5.
- Hashioka Y., Komatsu M., Arita I., 1961a, *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inhabiting *Hymenomyces*. I. Rept. Tottori Mycol. Inst., 1: 1-6.
- Hashioka Y., Ishikawa H., Komatsu M., Arita I., 1961b, *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inhabiting *Hymenomyces*. II. Rept. Tottori Mycol. Inst., 1: 9-18.
- Iwade I., Fukuzumi T., Yanagawa R., 1952, Studies on antagonism of Shiitake—*Cortinellus edodes* (Berk.) Sawada, against wood-rotting fungi. Bull. Tokyo Univ. For. 43: 111-126.
- Komatsu M., 1968a, *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inha-

- biting *Hymenomyces*. VII. Rept. Tottori Mycol. Inst. 6: 18-28; — 1968 b, ditto, VIII, *ibid.*, 6: 29-42; — 1969, ditto, X, *ibid.*, 7: 28-50.
- Komatsu M., 1970, Mycoantagonists to Shiitake-mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. inside bed-logs. I. Rept. Tottori Mycol. Inst. 8: 1-10.
- Komatsu M., 1975, Antifungal activity of *Hypocrea*, and *Trichoderma* occurring on the bed-logs of Shiitake-mushroom, *L. edodes* (Berk.) Sing. *ibid.*, 12: 189-190.
- Komatsu M., 1976, Studies of *Hypocrea* *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to Shiitake, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *ibid.*, 13: 113.
- Komatsu M., Hashioka Y., 1964 a, *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inhabiting *Hymenomyces*. IV. *ibid.*, 4: 6-10; — 1964 b, V, *ibid.*, 4: 11-18; — 1966, VI, *ibid.*, 5: 1-11.
- Komatsu M., Inada S., 1969, ditto, IX, *ibid.* 7: 19-26.
- Mańka K., 1976, Nowa, mikrobiologiczna metoda badania środowiska leśnego. *Folia Forestalia Polonica* 22: 39-48.
- Matsumoto Y., Takita H., 1963, Field trials on the fungicidal protection of bed-logs from the invading fungi injurious to Shiitake-mushroom. Rept. Tottori Mycol. Inst. 3: 25-42.
- Nishikado Y., Kimura K., Miyawaki Y., 1942, Studies on the effect of kinds of tree in culture medium upon the growth of *Cortinellus berkeleyanus*. I. Ber. Ohara Inst. Landwirt. Forsch., 9: 39-60.
- Nishikado Y., Miyawaki Y., 1943, On the relation of temperature and light to the development of sporophores in *Cortinellus berkeleyanus*, Ber. Ohara Inst. Landwirt. Forsch. 9: 230-237.
- Ohira I., 1974, Competition between *Diatrype stigma* (Hoffm. ex Fr.) Fr. and *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Rept. Tottori Mycol. Inst. 11: 42-49.
- Takita H., 1964-65, Propagation of the injurious fungi of *Lentinus edodes* bedlogs on soil. I. *ibid.*, 4: 53-57.
- Yau-teh F., Nakamura K., 1975, Experiments on the chemical control (benomyl wattle powder) for *Trichoderma* spp. of Shiitake mushroom, (*Lentinus edodes*). Bull. Exp. For. Tokyo Univ. Agric. Techn. 12: 83-90.