

Próby eliminacji *Oidiodendron maius* Barron z podłoża grzybni pieczarkowej

WANDA RUDNICKA-JEZIERSKA, EWA RUTKOWSKA

Instytut Botaniki Uniwersytetu Warszawskiego

Rudnicka-Jezierska W., Rutkowska E.: (Institute of Botany, Warsaw University, Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa, Poland). *Attempts to eliminate Oidiodendron maius Barron from the substrate of Agaricus cultures.* Acta Mycol. 14 (1, 2): 119-133. 1978.

Among fungi which destroy *Agaricus* mycelium *Oidiodendron maius* Barron turned out to be most dangerous. Several simple experiments aimed at limiting its expansion were performed.

WSTĘP

W latach 1972/1973 w jednej z wytwórni grzybni pieczarek produkcja grzybni *Agaricus bisporus* (Lge.) Sing. zaczęła gwałtownie spadać. Przypuszczano, że powodem tego zjawiska były masowo rozwijające się wraz z grzybnią pieczarek grzyby mikroskopowe. Kultury grzybni pieczarkowej były zakażane szybko rosnącymi i bardzo ekspansywnymi gatunkami, które musiały wpływać na ograniczenie produkcji. Zajęto się więc rozpoznaniem sprawców tego zjawiska i przeprowadzono badania nad ich biologią, aby ustalić metody ograniczające ich wzrost lub umożliwiające całkowite wyeliminowanie z materiału produkcyjnego.

Z podłoża, na którym hodowano grzybnię pieczarkową (odpowiednio spreparowane ziarna pszenicy lub kompost), wyizolowano 17 gatunków grzybów (tab. 1). Grzyby izolowano z podłoża przenosząc łyżeczką dentystryczną losowo pobrane próby z zakażonego podłoża na szalki z pożywką Martina. Zarodniki z wyrosłych kolonii przenoszono w warunkach sterylnych na szalki z pożywką Czapka.

Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że najczęściej występującym grzybem był *Oidiodendron maius*. Na 100 przebadanych cylindrów 96 było zakażonych jego grzybnią.

Wymienione w tabeli 1 grzyby próbowano wyeliminować z podłoża laboratoryjnie, przez oplukiwanie wodą porażonych grzybami ziarniaków pszenicy, a następnie odkażanie przez 10 s 50% alkoholem etylowym oraz 0,1% roztworem sublimatu. Po tym zabiegu ziarniaki płukano trzykrotnie wodą destylowaną.

Tabela 1 — Table 1

Grzyby wyizolowane z podłoża grzybni pieczarkowej mącznej
Fungi isolated from the substrate of *Agaricus* mycelium

Gatunek — Species		
	testowy test	testowany tested
<i>Alternaria tenuis</i> Nees ex Fr.	+	
<i>Aspergillus sydowi</i> (Bain. et Sart.) Thom et Church	+	
<i>A. tamarii</i> Kita	+	
<i>Fusarium avanaceum</i> (Fr.) Sacc.		
<i>F. oxysporum</i> Schlecht.ex Fr.		
<i>Monilia sitophila</i> (Mont.) Sacc.		
<i>Oidiodendron maius</i> Barron		×
<i>Pachybasium hamatum</i> (Bon.) Sacc.		
<i>Paecilomyces varioti</i> Bain.		
<i>Penicillium claviforme</i> Bain.	+	
<i>P. lividum</i> Westl.		
<i>P. nigricans</i> (Bain.) Thom		
<i>P. miczynskii</i> Zal.	+	
<i>P. soppi</i> Zal.	+	
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehr.	+	
<i>Sepedonium chrysospermum</i> (Bull.) Fr.	+	
<i>Trichoderma lignorum</i> (Tode) Harz	+	

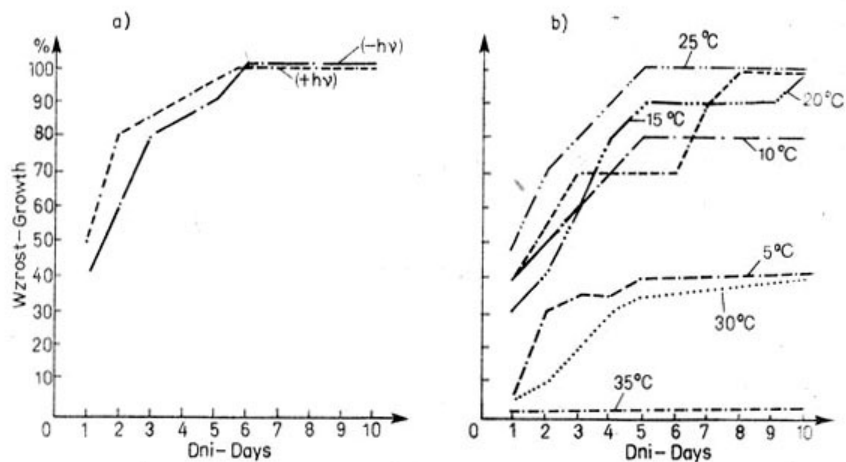
Metoda ta, stosowana przez niektórych fitopatologów (Truszkowska, Moroniowa 1960; Czaplńska 1966), w niniejszej pracy nieco zmodyfikowana, okazała się skuteczna przy eliminacji z podłoża wszystkich wyizolowanych grzybów poza *Oidiodendron maius*. Po przeprowadzeniu opisywanych kąpeli grzybni tego gatunku nadal rozwijała się, a zarodniki kiełkowały normalnie. Z tego też względu oraz z uwagi na częste występowanie tego grzyba i jego ekspansywność zajęto się nim szczególnie. Niniejsza praca przedstawia wyniki doświadczeń przeprowadzonych na grzybni *O. maius*. Eksperymenty miały na celu ustalenie wpływu światła, temperatury, podłoża, odczynu środowiska oraz następujących związków chemicznych: związków powierzchniowo czynnych (proszku IXI, E,

Javox, plynu Skrzat), francuskiego środka grzybobójczego Benlate, formaliny, fenolu, kilku witamin (B, C, E, PP), HCl, NaOH, NaCl oraz siarki na rozwój i biologię tego grzyba. Badano również stosunki biotyczne panujące między grzybnią *O. maius* a grzybnią każdego częściej spotykanego gatunku wśród wyizolowanych grzybów.

DOŚWIADCZENIA

Temperatura i światło

W celu poznania wpływu warunków termicznych i świetlnych na *Oidiodendron maius* prześlędzono rozwój jego grzybni doświadczalnej, hodowanej w temperaturze 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C, oraz w pomieszczeniu zaciemnionym i w komorze oświetlonej światłem białym w temperaturze pokojowej (20°C) — seria kontrolna. Hodowle prowadzono w termostacie ogrzewanym płaszczem wodnym.

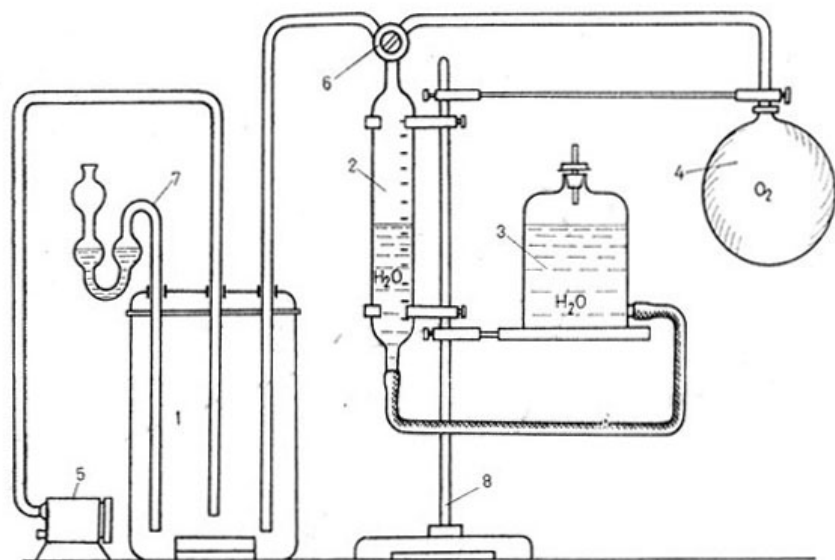


Ryc. 1. Wzrost grzybni *O. maius* (w %)
 a — regulowany oświetleniem; b — temperaturą
 Growth of the mycelium of *O. maius* (in %)
 a — regulated by light; b — by temperature

O ile światło nie wywarło zasadniczego znaczenia na przebieg wzrostu *O. maius* (ryc. 1a), o tyle temperatura okazała się ważnym czynnikiem w tym procesie. Wpływała ona dość gwałtownie na rozwój grzybni i jej zarodnikowanie. Najszybciej grzybnia rozwijała się w temperaturze 15—25°C (ryc. 1b).

Tlen

Podczas trwania badań zaobserwowano specyficzne rozmieszczenie strzępek *O. maius* na szalce z pożywką. Grzybnia obrastała przede wszystkim boczne ściany szalki Petriego, pozostawiając nie zarosniętą jej część centralną. Podobny układ i wzrost strzępek obserwowano w cylindrach. Nasuwało się przypuszczenie, że badany grzyb należy do organizmów tlenolubnych i zasiedla te części naczyń, do których dostęp powietrza jest największy. W celu sprawdzenia tej hipotezy wykonano doświadczenie z tlenem, stosując aparaturę złożoną z komory prób, pipety pomiarowej, zbiornika wody wytłaczającej gaz, zbiornika gazu oraz pompy do przewietrzania komory prób (ryc. 2).



Ryc. 2. Schemat aparatury regulującej zawartość tlenu w atmosferze komory prób
1 — komora prób, 2 — pipeta pomiarowa, 3 — zbiornik wody wytłaczającej tlen, 4 — zbiornik tlenu, 5 — pompa do przewietrzania komory prób, 6 — zawór dwudrożny, 7 — rurka zamykająca kontrolna, 8 — statyw

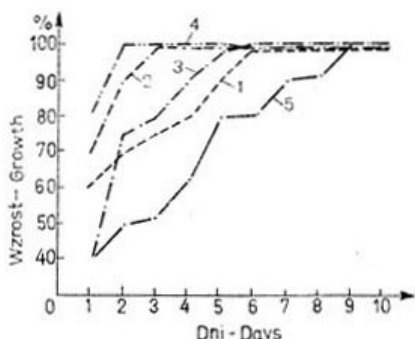
Diagram of the apparatus regulating the oxygen content in the atmosphere of the sample chamber

1 — sample chamber, 2 — sample pipette, 3 — container of water pressing out oxygen, 4 — container with oxygen, 5 — pump for airing sample chamber, 6 — two-way valv, 7 — closing controltube, 8 — holder

Do komory wkładano szalki z grzybnią *O. maius*. Po przedmuchianiu komory prób powietrzem, dostarczono do jej wnętrza odmierzoną ilość czystego tlenu (21, 42, 63, 84 i 100% O_2 w atmosferze).

Stwierdzono, że grzybnia *O. maius* najszybciej rozrasta się przy cztero-

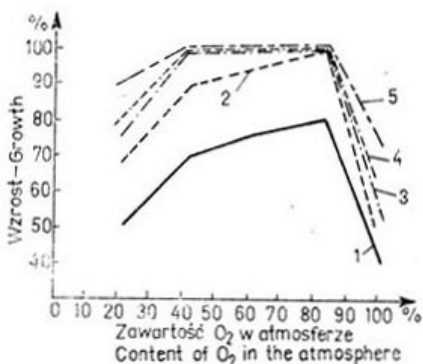
krotnie zwiększonej ilości tlenu w komorze prób w stosunku do ilości tlenu w powietrzu (ryc. 3). Konidia pochodzące z grzybni rosnącej w atmosferze 84% O_2 były niezwykle liczne, kuliste i bardzo drobne (1-1,5 μm śr.) w stosunku do zarodników z serii kontrolnej. Nieco większe zarodniki (2 μm śr.) zaobserwowano przy 63% O_2 w atmosferze; występowały one jednak w mniejszej ilości w porównaniu z kolonią poprzednią. Przy 42% O_2 w atmosferze grzybnia *O. maius* wytwarzała zarodniki elipsoidalne (2,5-3 \times 2-5 μm) i w jeszcze mniejszej ilości w stosunku do opisaney wyżej kolonii (84% O_2). Przy 21% O_2 zaobserwowano zróżnicowanie konidiów na makro- i mikro-



Ryc. 3. Wzrost grzybni *O. maius* (w %) regulowany procentową zawartością tlenu w atmosferze w czasie 10 dni trwania eksperymentu

Growth of *O. maius* mycelium (in %) regulated by the percent content of oxygen in the atmosphere during the 10 days of duration of the experiment

1 - 21% O_2 , 2 - 42% O_2 , 3 - 63% O_2 , 4 - 84% O_2 , 5 - 100% O_2



Ryc. 4. Wzrost grzybni *O. maius* (w %) przy zmiennej zawartości tlenu w powietrzu w czasie każdego z pięciu kolejnych (1, 2, 3, 4, 5) dni hodowlanych

Growth of *O. maius* mycelium (in %) with changing content of oxygen in the air during each of the 5 subsequent culture days

Tabela 2 — Table 2

Ocena stosunków biotycznych między grzybami testowymi a grzybem testowym
 Evaluation of the biotic relationships between test fungi and the tested fungus

Grzyb testowy Test fungus	Kolejny dzień hodowli Successive day of culture										Uwagi Comments	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<i>Alternaria tenuis</i>	--	--	--	-1	-1	0	+1	+1	+1	+1		Grzybnia rozwija się nieznacznie szybciej — The mycelium develops slightly faster
<i>Aspergillus sydowi</i>	--	--	0	0	+1	+1	+1	+1	+1	+1		Wzrost strzępek silniejszy — Stronger growth of the hyphal
<i>Aspergillus tamarii</i>	--	--	+1	+1	+2	+3	+3	+3	+3	+3		Całkowita dominacja grzybni; zahamowanie wzrostu <i>A. tamarii</i> — Full dominance of mycelium; inhibition of <i>A. tamarii</i> growth
<i>Penicillium claviforme</i>	--	--	0	0	-1	-1	-3	-3	-3	-3		Zahamowanie wzrostu; szybszy rozwój <i>P. claviforme</i> — Inhibition of growth; faster development of <i>P. claviforme</i>
<i>Penicillium miczynskii</i>	--	--	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1		Ograniczenie wzrostu — Limitation of growth
<i>Penicillium soppi</i>	--	--	+1	+2	+3	+3	+3	+3	+3	+3		Całkowita dominacja <i>P. soppi</i> — Full dominance of <i>P. soppi</i>
<i>Rhizopus nigricans</i>	--	--	0	0	0	0	-2	-3	-3	-3		Wzrost grzybni <i>R. nigricans</i> — Growth of <i>R. nigricans</i> mycelium
<i>Sepedonium chrysospermum</i>	--	--	-1	-1	-1	-2	-3	-3	-3	-3		Ograniczenie rozwoju przez szybciej rosnące <i>S. chrysospermum</i> — Limitation of development by foster growing <i>S. chrysospermum</i>
<i>Trichoderma lignorum</i>	--	--	-1	-2	-3	-3	-3	-3	-3	-3		Całkowita dominacja grzybni <i>T. lignorum</i> — Full dominance of <i>T. lignorum</i> mycelium

konidia, co nie zachodziło w innych warunkach. Mikrokonidia hodowane w wiszącej kropli kiełkowały szybciej o 3-4 godz w stosunku do makrokonidiów.

O. maius w atmosferze czystego tlenu nie rozwijał się dobrze. Grzybnie wzrastającą przy 100% O₂ cechowało najwolniejsze tempo wzrostu w stosunku do pozostałych kultur oraz skąpe zarodnikowanie. Konidia były drobne (1-1,5 μm śr.) i kuliste. Wyniki tej serii doświadczenia wymagają jeszcze powtórzeń. Przypuszcza się, że niedobór azotu ma niekorzystny wpływ na rozwój grzybni *O. maius*.

Wzajemne stosunki biotyczne

Inokulum badanego grzyba wprowadzono na pożywkę w centrum szalki. W odległości 1 cm zaszczipiano grzybnie jednego z dziewięciu częścię spotykanych gatunków (tab. 2). Utworzono w ten sposób dziewięć par grzybów, w których zawsze *O. maius* występował jako stały partner. W ocenie stosunków biotycznych między grzybniami posłużono się trzystopniową skalą M a n k i (1961): +3, +2, +1, 0, -1, -2, -3, według której *O. maius* nazywany jest grzybem testowanym, pozostałe gatunki grzybami testowymi. Wartości ujemne skali oznaczają dominację grzyba testowego nad testowanym.

W wyniku doświadczeń okazało się, że wzrost grzybni *O. maius* był szczególnie silnie hamowany przez *Penicillium soppi* oraz *Trichoderma lignorum* (tab. 2). *Penicillium claviforme*, *P. miczynski*, *Rhizopus nigricans* i *Sepedonium chrysospermum* rosły szybciej niż *O. maius*, lecz nie tłumili w tak silnym stopniu rozwoju grzyba testowanego. Grzybnia *Oidiodendron maius* dominowała nad grzybnia *Aspergillus tamarii* czy *A. sydowii* oraz *Alternaria tenuis*, przy czym *Aspergillus tamarii* okazał się grzybem najbardziej tłumionym w rozwoju przez grzyb testowany.

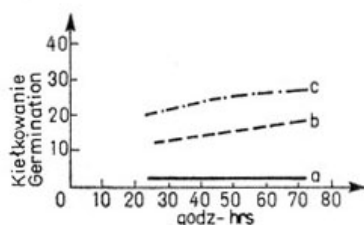
Podłoże

Ponieważ nawóz koński stanowi najlepsze podłoże do hodowli grzybni pieczarkowej, postanowiono zbadać czy jest on również korzystnym podłożem dla *Oidiodendron maius*.

Z kultury wyjściowej *O. maius* pobierano pincetą strzępki grzybni wraz z zarodnikami i umieszczano je w krystalizatorach wypełnionych wodą destylowaną (seria kontrolna), przesączem wodnego roztworu nawozu o znanym stężeniu (0,5 kg/1 l wody dest.), po czym przeprowadzano obserwacje po 24, 48, 72 godzinach od chwili założenia hodowli. Próbkę do obserwacji mikroskopowych pobierano z każdego krystalizatora losowo, kropłomierzem

o znanej objętości kropli (0,05 ml), a następnie liczono widoczne w polu widzenia konidia z rostkami.

Najszybciej kiełkowały konidia znajdujące się w wodzie destylowanej, następnie pochodzące z kultur roztworu nawozu końskiego, najpóźniej zaś z kultur roztworu krowiego (ryc. 5).



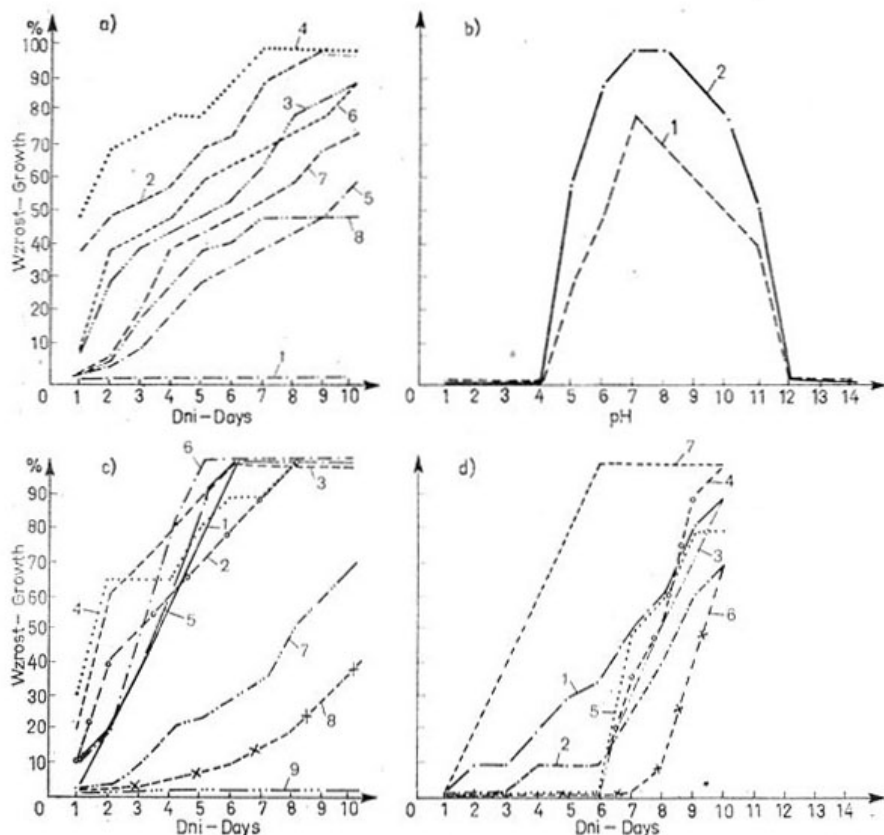
Ryc. 5. Kiełkowanie konidiów *O. maius* (w %) w wodnym roztworze nawozu krowiego (a), w wodnym roztworze nawozu końskiego (b) oraz w wodzie destylowanej — seria kontrolna (c), w czasie 24-72 godzin. Każdy pomiar naniesiony na wykres stanowi średnią z wyników 10 prób

Germination of *O. maius* conidia (in %) in an aqueous solution of cow manure (a), aqueous solution of horse manure (b) and in distilled water — control series (c), during 24-72 hours. Each measurement placed on the graph is the mean of the results of 10 samples

Należy dodać, że odczyn roztworu nawozu końskiego był lekko zasadowy (pH 7,5), a wody destylowanej nieco kwaśny (pH 5-5,6). Początkowe etapy rozwoju konidiów najlepiej przebiegały w środowisku najuboższym edaficznie, o pH 5-5,6, co może świadczyć o niewielkich wymaganiach badanego grzyba w odniesieniu do zasobności siedliska w momencie kiełkowania.

Aby sprawdzić do jakiego stopnia odczyn środowiska wywiera wpływ na dalszy rozwój strzępek, założono hodowlę grzybni *O. maius* na pożywkach o różnych stężeniach jonów wodorowych. Odczyn pożywki w przedziale pH 1-3 regulowano 1 M H_2SO_4 . Przy pH 4-6 do otrzymania odpowiedniego odczynu użyto buforu octanowego (Brzeski, Kaniuga 1968), należącego do buforów słabo kwaśnych. Odczyn środowiska w przedziale pH 6-8 utrzymywano dzięki odpowiednio dozowanym ilościom buforu fosforanowego. Środowisko o pH 8-14 miało odczyn kontrolowany przez 1 M NaOH.

W miarę starzenia się kultury *O. maius* stawał się zdolny do rozwoju w szerokim przedziale pH 4-12 (ryc. 6a). Optimum dla wzrostu jego strzępek stanowi pH 6-9 (ryc. 6b), chociaż w początkowych dniach rozwoju obserwuje się lekko przyspieszony wzrost w środowisku słabo kwaśnym. W miarę starzenia się kultur daje się zauważyć przyspieszenie wzrostu przy pH obojętnym lub lekko zasadowym.

Ryc. 6. Wzrost grzybni *O. maius* (w %)

a — regulowany odczynem środowiska: 1-8 — pH wzrastające o od 4-11; b — przy zmiennym pH: 1 — w 5, 2 — w 10 dniu hodowli; c — po uprzednich kąpielach zarodników w 5% formalinie trwających: 1 — 10 s, 2 — 20 s, 3 — 30, 40 s, 4 — 50 s, 5 — seria kontrolna, 6 — 1 min, 7 — 2 min, 8 — 3 min, 9 — 5, 6 min; d — po uprzednich kąpielach zarodników w 1% fenolu trwających: 1 — 10 s, 2 — 20 s, 3 — 30 s, 4 — 40 s, 5 — 50 s, 6 — 1 min, 7 — seria kontrolna nie poddana żadnym kąpielom

Growth of *O. maius* mycelium (in %)

a — regulated by pH of the medium: 1-8 — pH 4-11; b — with changing pH: 1 — on the 5th, 2 — on the 10th day of culture; c — after previous immersion of the spores in 5% formalin for: 1 — 10 s, 2 — 20 s, 3 — 30, 40 s, 4 — 50 s, 5 — control series which did not undergo immersion, 6 — 1 min, 7 — 2 min, 8 — 3 min, 9 — 5, 6 min; d — after previous baths of the spores lasting: 1 — 10 s, 2 — 20 s, 3 — 30 s, 4 — 40 s, 5 — 50 s, 6 — 1 min, 7 — control series which did not undergo immersion

CZYNNIKI CHEMICZNE I ICH DZIAŁANIE

Detergenty. (Proszek E, IXI, Javox, plyn Skrzat). W poszukiwaniu środków pozwalających na szybkie i łatwe eliminowanie *O. maius* z pomieszczeń produkcyjnych i podłoża grzybni pieczarkowej zwrócono uwa-

gę na detergenty. Związki te mają poszukiwane cechy środka dezynfekcyjnego, których stosowanie nie wymaga precyzyjnej aparatury. Są one ponadto tanie i łatwo dostępne. W celu poznania ich działania na badany gatunek przeprowadzono doświadczenia z proszkami E, IXI, Jawox i z płynem Skrzat. Do wody dodawano wykalibrowaną pipetą odpowiedni detergent w ilości 0,5-1 g/l lub 0,5 ml/l. Detergenty suche stosowano do dezynfekcji po uprzednim sporządzaniu z nich wodnych roztworów o znanym stężeniu i kontrolowanym odczynie. Skutki działania detergentów na grzybnię oceniano mierząc efekty przeprowadzonej tymi środkami dezynfekcji całych pomieszczeń laboratoryjnych oraz zanieczyszczonych strzępkami naczyń używanych w produkcji.

Po starannym zmyciu powierzchni i naczyń laboratoryjnych roztworami wodnymi detergentów nie zaobserwowano zmian w rozwoju *O. maius*. Również liczba zakażeń kultur inokulum pieczarkowego przez grzybnię tego gatunku nie zmniejszyła się.

W dalszym toku badań przeprowadzono kąpiele ziarnistego podłoża przeznaczonego dla grzybni pieczarkowej w roztworach wodnych wymienionych detergentów, które rozprowadzano w wodzie wodociągowej (0,5 g lub 0,5 ml na 1 l wody). Ziarniaki zanurzano na 20-40 s w roztworze wodnym danego detergentu.

Metoda ta pozwoliła na skuteczne usunięcie wielu grzybów groźnych w produkcji, nie spowodowała jednak zabicia zarodników *O. maius*. Po dłuższych kąpielach ziarniaki traciły swą wartość jako podłoże dla hodowanego grzyba. Grzybnia pieczarkowa szczepiona na takim podłożu rosła bardzo wolno. Opóźnienie w jej rozwoju — w stosunku do grzybni pochodzącej w serii kontrolnej — dochodziło do 4—6 dni. W tym czasie nie zniszczone zarodniki *O. maius* kielkowały. Rozwijająca się grzybnia zarastała podłoże i hamowała rozwój materiału produkcyjnego.

Trzecia grupa doświadczeń z detergentami miała na celu ustalenie bezpośredniego ich wpływu na strzępki *O. maius*. W tym celu grzybnię badanego gatunku szczepiono na pożywcę, do której uprzednio dodano określoną ilość detergentu (0,5 g lub 0,5 ml detergentu na 1 l wody wodociągowej), a następnie zwiększono te dawki w pożywcę do 1 g lub 1 ml detergentu na 1 l wody.

Wszystkie detergenty dodawane do podłoża wpływały w pewnym stopniu na zwolnienie wzrostu strzępek badanego gatunku. Nie było to jednak działanie niszczące i silne, lecz słabo hamujące wzrost grzybni. Proszek E działał silniej na *O. maius* niż inne detergenty. Wpływał on zarówno na tempo wzrostu grzybni, które obniżał, jak i na morfologię strzępek. Strzępki pod jego wpływem stawały się krótsze, nie rozgałęziały się tak silnie jak strzępki pochodzące z grzybni kontrolnej, nie tworzyły także znamienych

dla tego gatunku esowatych wygięć, a ich boczne odgałęzienia były proste, krótkie i rozdęte. Konidia przybierały kształty beczulkowate i stawały się bardziej grubościennie niż zarodniki serii kontrolnej.

B e n l a t e. Benlate, francuski środek grzybobójczy, jest estrem metylowym kwasu 1(butylo-carbomylo)-2-benzyni-dezolocarbaminowego, zawierającym 50% substancji aktywnej. Ten rozpuszczalny w wodzie i znany ze skutecznego zapobiegania infekcjom grzybowym związek zadawano do pożywki w postaci granulek (1 g/10 ml pożywki) i badano jego bezpośredni wpływ na strzępki i zarodnikowanie *O. maius*.

Benlate działał bardzo łagodnie. Pod jego wpływem strzępki grzyba zmieniały jeszcze nieco swoją morfologię: strzępki konidiotwórcze skracaly się; cechowała je zredukowana ilość odgałęzień oraz znacznie obniżona obfitość zarodnikowania w porównaniu ze strzępkami serii kontrolnej. Przeniesione na pożywkę bez Benlate kielkowały z 3-4-dniowym opóźnieniem w stosunku do konidiów z serii kontrolnej. Po czterokrotnym pasażowaniu strzępek i konidiów pochodzących pierwotnie z kultur z Benlate na podłoże wolne od tego związku, następował stopniowy powrót morfologii grzyba do formy wyjściowej.

F o r m a l i n a była stosowana w postaci 5% roztworu wodnego. Strzępki *O. maius* wraz z konidiami, pochodzące z jednej kultury wyjściowej, kąpano w tym roztworze przez 10, 20, 30, 40, 50 s oraz przez 1, 2, 3, 4, 5, 6 min. Po tym czasie (kontrolowanym stoperem) strzępki przenoszono z formaliny na szalki z pożywką i obserwowano rozwój grzybni przez 10 dni. Szybkość wzrostu grzybni z serii doświadczalnej porównywano z szybkością wzrostu serii kontrolnej.

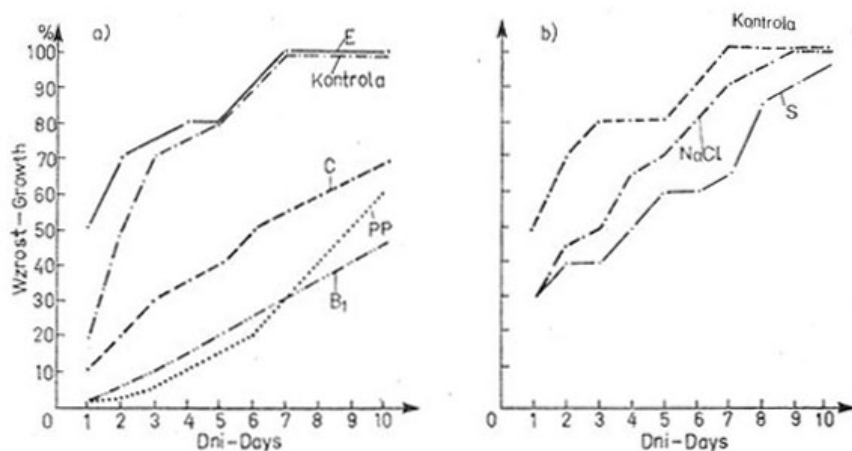
Strzępki i konidia, w zależności od długości okresu kąpieli w formalinie, wykazywały różną aktywność (ryc. 6c). Kąpiele trwające 10-60 s nie powodowały niszczenia struktury konidiów i nie zabijały ich. Nieznaczne uszkodzenie ścian konidiów wpływało w pewnym stopniu stymulująco na ich kielkowanie. Strzępki rosły nawet szybciej niż strzępki serii kontrolnej. Kąpiel zarodników przez 10-30 s działała wyjątkowo korzystnie na ich aktywność kielkowania. Obserwowano u nich rostki najwcześniej ze wszystkich badanych w tym doświadczeniu konidiów, a strzępki wyróżniały się przyspieszonym wzrostem. Przy kąpielach trwających 1-6 min zarodniki wykazywały niski stopień skielkowania, ponieważ formalina niszczyła ich strukturę wewnętrzną.

F e n o l zastosowano w postaci 1% roztworu wodnego. Zanurzano w nim — postępując podobnie jak w przypadku formaliny — strzępki grzybni *O. maius* wraz z konidiami, pochodzące z jednej kultury wyjściowej, następnie przenoszono je na szalki z pożywką, obserwując rozwój grzybni.

Po krótkich kąpielach w roztworze fenolu, trwających 10, 20, 30 s, konidia nie uległy zniszczeniu, a tempo wzrostu grzybni nie zostało zahamowane. Kąpiele strzępek i zarodników *O. maius* w fenolu trwające dłużej (40-50 s) miały hamujący wpływ na wzrost grzybni do 4-5 dnia hodowli. Po tym okresie wzrost strzępek przebiegał normalnie. Od szóstego dnia hodowli strzępki serii kontrolnej i doświadczalnej rozwijały się w jednakowym tempie.

Fenol, pomimo słabszego stężenia niż stosowana w doświadczeniu formalina, w większym stopniu hamował rozwój grzybni *O. maius* (ryc. 6d).

Witaminy. Zbadano działanie kilku witamin (B_1 , C, E, PP) na rozwój i zarodnikowanie grzybni *O. maius*. W tym celu do zastygającej pożywki dodawano jednakową ilość witaminy (0,05 g/10 ml pożywki) w postaci wodnego roztworu bądź mieszaniny wodnej. Naważkę (w przypadku suchego ekstraktu) lub kapsułkę wodnego roztworu witaminy, o znanej objętości i ilości zawartego w niej związku, rozpuszczono bądź rozprowadzono w znanej objętości wody destylowanej. Po uzyskaniu pożądanego stężenia, wykalibrowaną pipetą wprowadzano roztwór witaminy na szalkę. Przenoszono tam również określoną, jednakową ilość pożywki, o kontrolowanej temperaturze, po czym dokładnie mieszano obie substancje. Po zastygnięciu podłoża szczepiono grzybnię *O. maius* i śledzono oddziaływanie każdej z witamin na rozwój strzępek oraz ich zarodnikowanie.



Ryc. 7. Wzrost grzybni *O. maius* (w %)

a — uzależniony obecnością witamin; b — przy obecności S i NaCl w podłożu

Growth of mycelium of *O. maius* (in %)

a — dependent on the presence of vitamins; b — with the presence of S and NaCl in the medium

Witaminy B₁, C oraz PP powodowały hamowanie wzrostu, natomiast obecność witaminy E była obojętna dla przebiegu rozwoju *O. maius* (ryc. 7a).

Chlorek sodu i siarka, ze względu na ogólną dostępność oraz niską cenę, mogłyby stać się poszukiwanymi środkami hamującymi rozwój grzyba *O. maius*. Poza wymienionymi zaletami spełniają jeszcze jeden ważny warunek — w ograniczonej ilości nie szkodzą zdrowiu ludzkiemu.

W czasie trwania doświadczeń badano zależność między obecnością NaCl lub S w pożywce a tempem rozwoju strzępek.

Sporządzono 0,9% roztwór wodny NaCl, który wprowadzono do półstałej pożywki (0,1 ml/10 ml pożywki), szczepiono grzyb, po czym obserwowano wzrost jego strzępek. Siarkę natomiast wprowadzano na szalki w postaci mieszaniny wodnej (10 g ch.cz. siarki/1 l wody dest.) w ilości 0,1/10 ml pożywki. Przed zestaleniem podłoża starannie mieszano całość. Ze względu na znikome oddziaływanie siarki na strzępki grzyba w podanej wyżej ilości, doświadczenie powtórzono zwiększając jej ilość w naważce wyjściowej (do 100 g/1 l wody dest.), a następnie pobrano do każdej szalki po 0,5 ml mieszaniny/10 ml pożywki.

Chlorek sodu hamował wzrost grzybni *O. maius* w pierwszych dniach hodowli (ryc. 7b). Obniżenie tempa wzrostu grzybni najsilniej zaznaczało się między drugim a piątym dniem hodowli, lecz po tym okresie zanikało. W 10 dniu hodowli badana grzybnia, na którą działał chlorek sodu, osiągała ten sam stopień rozprzestrzenienia co grzybnia pochodząca z serii kontrolnej.

Siarka, podobnie jak i chlorek sodu, obniżała tempo wzrostu grzybni. Jej działanie hamujące wzrost przejawiało się do siódmego dnia hodowli, po czym całkowicie ustawało.

PODSUMOWANIE

Oidiodendron maius należy do grupy grzybów o bardzo małych wymaganiach życiowych. Zdolność do rozwoju w środowisku o znikomych zasobach pokarmowych sprzyja ekspansywności tego gatunku.

W wyniku doświadczeń stwierdzono, że badany grzyb najlepiej rozwija się w temperaturze 25°C, chociaż jest zdolny do wzrostu w szerokim jej zakresie (5-35°C). Obecność tlenu sprzyja tworzeniu zarodników. Grzyb ten jest gatunkiem wybitnie tlenolubnym, lecz brak dostępu tlenu nie niszczy go. Światło nie ma specjalnego znaczenia w prawidłowym przebiegu rozwoju grzybni, lecz stymuluje tworzenie się konidiów. Badany gatunek cechuje poza tym wytrzymałość na zmiany wartości pH. Optymalną wartością odczynu dla *O. maius* jest pH 6-9. W początkowym okresie rozwoju grzyb

ten preferował środowisko lekko kwaśne i ciepłe, w miarę jednak wzrostu najszybciej rozwijał się również w środowisku ciepłym, lecz słabo alkalicznym.

Szybkie tempo wzrostu w różnych warunkach, wytwarzanie licznych, lekkich, szybko kiełkujących zarodników i zdolność przystosowawcza do warunków otoczenia umożliwiają w krótkim czasie całkowite opanowanie przez niego hał produkcyjnych.

Obserwacje nad stosunkami biotecznymi pozwoliły na stwierdzenie dobrego wzrostu grzybni *O. maius* w obecności prawie wszystkich gatunków wyizolowanych z podłoża grzybni pieczarkowej. Jedynie *Trichoderma lignorum* i *Penicillium soppi* hamowały wzrost strzępek *O. maius*.

Po uzyskaniu orientacyjnych danych dotyczących biologii *O. maius* zajęto się wyszukaniem metod pozwalających na eliminację grzybni badanego gatunku z podłoża.

Metoda kąpieli ziarnistego podłoża nie zdała egzaminu. Pozwoliła na usunięcie z niego wielu zarodników grzybów z wyjątkiem *O. maius*. Ziarniaki poddawane tym kąpielom traciły ponadto swą wartość jako podłoże dla grzybni pieczarkowej; obserwowano opóźnienia w rozwoju grzybni matecznej prowadzonej na odkażanym w ten sposób podłożu.

Proszek E, najskuteczniej działający detergent, nie może być stosowany do zwalczania grzybni *O. maius*, ponieważ wpływa szkodliwie na grzybnię pieczarkową. Jego działanie na strzępki *O. maius* ogranicza się do zmian w ich morfologii, bez innych śladów niszczenia.

Benlate, stosowany z powodzeniem w uprawach jako grzybobójczy środek, nie nadaje się do niszczenia strzępek *O. maius*. Mimo dużego stężenia środek ten, podobnie jak i detergenty, nie zabijał grzybni, lecz jedynie w niewielkim stopniu ograniczał jej żywotność. Zmiany w morfologii strzępek, jakie zachodziły pod jego wpływem, nie były trwałe.

Witaminy zbyt słabo oddziaływały na strzępki *O. maius*.

Formalina w niskim stężeniu przyspieszała kiełkowanie zarodników *O. maius*, a w wyższym — niszczyła ich strukturę wewnętrzną. Stosowana w pieczarkarniach metoda wyjalawiania formaliną skrzyń używanych w hodowli stwarzała szansę jedynie kilkusekundowego zetknięcia się konidiów z tym związkami. Dawało to wyjątkową szansę pobudzenia kiełkowania zarodników. Podobnie działał fenol. Trwające do 1 min kąpiele zarodników w 1% roztworze wodnym fenolu wpływały również korzystnie na kiełkowanie zarodników. Fenol i formalina mogą znaleźć zastosowanie przy eliminacji *O. maius* z podłoża tylko wtedy, gdy czas ich działania będzie trwał ponad 5 min, tj. gdy uszkodzą one strukturę zarodników.

NaCl i S, ze względu na krótkotrwałość swego działania, nie mogą znaleźć zastosowania jako środki eliminujące grzybnię *O. maius* z podłoża. Można jedynie zalecić dodawanie ich do podłoża w celach profilaktycznych,

w czasie uprawy pieczarek, ze względu na ich działanie hamujące rozwój grzybni *O. maius*.

Wykonane doświadczenia wykazały niewielką przydatność stosowanych substancji w walce z grzybem, ponieważ obecność inwazyjnego gatunku była spowodowana infekcją z powietrza, a częste przewietrzanie hal produkcyjnych — niezbędne do prowadzenia kultur grzybni pieczarkowej — sprzyjało rozwojowi uciążliwego saprofita.

LITERATURA

- Brzeski W., Kaniuga Z., 1968, *Praktikum z biochemii*, Warszawa.
Czaplińska S., 1966, *Acta Mycol.* 2: 203—216.
Mańka K., Błońska A., i inni, 1961, *Pr. nauk. Inst. Ochr. Rośl.* 3: 145—231.
Truszkowska W., Moroniowa H., 1960, *Acta Soc. Bot. Pol.* 29(3): 456—482.
Truszkowska W., 1967, *Acta Mycol.* 3: 163—176.