

WSPÓLDZIAŁANIE GRZYBÓW *FOMES FOMENTARIUS* (L. EX FR.)
KICKX I *PIPTOPORUS BETULINUS* (BULL. EX FR.) P. KARST.
IN VITRO

Andrzej W. Kundzewicz

Katedra Ochrony Drewna SGGW w Warszawie

Badano stosunki biotyczne pomiędzy ksylobiontami brzoź: *Fomes fomentarius* i *Piptoporus betulinus* w zależności od warunków środowiska wzrostu: temperatury w zakresie 15-30°C, wilgotności względnej powietrza od 58 do 100% i odczynu podłoża od 3,17 do 9,54 pH. Określano aktywność celulolityczną i lignolityczną w pojedynczych i mieszanych hodowlach tych grzybów.

WSTĘP

Badania wzajemnych związków pomiędzy grzybami rozkładającymi drewno sięgają początków naszego wieku. Harder [3, 4] badając *in vitro* 10 gatunków grzybów określił, które z nich w mieszanych kulturach przerastają swego partnera, które wstrzymują, a które całkowicie przerywają swój wzrost. Na wzrost i aktywność grzybów zasiedlających drewno mogą wpływać warunki otoczenia, głównie temperatura i wilgotność drewna [2, 5, 9]. Wyjaśnienia wymaga określenie wzajemnych związków pomiędzy współdziałającymi grzybami w różnych warunkach otoczenia. Podjęte badania miały na celu określenie wpływu różnych warunków rozwoju grzybów na stosunki biotyczne na przykładzie dwóch pospolitych ksylobiontów pni brzoź, jakimi są *Fomes fomentarius* (L. ex Fr.) Kickx. i *Piptoporus betulinus* (Bull. ex Fr.) P. Karst. Job i Keller [6] badali ubytki masy, zmiany chemiczne i mikromorfologiczne drewna świerka rozkładanego przez 12 tygodni przez grzyby z rodzaju *Hemenochaete* w temperaturach 20, 25 i 30°C. Pomimo pewnych różnic w ubytkach masy i aktywności lignolitycznej, obserwacje wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego wykazały, że model rozkładu i mechanizm inwazyjny strzępek były niezależne od temperatury.

W prezentowanych badaniach podjęto problem określenia różnic aktywności celulolitycznej i lignolitycznej w pojedynczych i mieszanych kulturach tych grzybów.

MATERIAŁY I METODY

Badania stosunków biotycznych w zależności od warunków środowiska wzrostu przeprowadzono hodując równolegle jedno- i dwuorganizmowe kolonie grzybów na pożywce agarowo-brzeczkowej w pyłkach Petriego. Na wysterylizowaną pożywkę kładziono inokulum grzybów *F. fomentarius* i *P. betulinus* o średnicy 6 mm na środku – w hodowlach jednoorganizmowych i przy obrzeżach płytek – w hodowlach dwuorganizmowych. Doświadczenie wykonano w 8 powtórzeniach. Oceny wpływu temperatury i wilgotności względnej powietrza dokonano po 7 i 14 dniach, mierząc wzrost linearny grzybni w kierunku wyznaczonym przez linie łączące inokula obu gatunków.

Określenie wpływu temperatury przeprowadzono inkubując płytki bez dostępu światła, przy wilgotności względnej powietrza 90%, w temperaturach 15, 20, 25 i 130°C.

Dla określenia wpływu wilgotności względnej powietrza inkubowano płytki Petriego w ekcykatorach, umieszczonych w termostatach bez dostępu światła, przy stałej temperaturze 25°C. Odpowiednie wilgotności 58%, 76% i 86% otrzymano poprzez wprowadzenie do dolnych części ekcykatorów roztworów nasyconych z osadem dennym NaBr, NaCl i KCl [8]. Wilgotność względną powietrza 100% uzyskano przez wlanie do dolnej części ekcykatora wody destylowanej.

Badanie wpływu odczynu podłoża przeprowadzono dodając do pożywki 1 NaOH lub 0,1 n KCl. Poprzez zbuforowanie uzyskano pożywki o odczynach pH=3,17, 3,79, 5,12, 5,98, 6,94, 7,88, 8,85 i 9,54. Płytki inkubowano w termostatach, bez dostępu światła, w temperaturze 25°C, przy wilgotności względnej powietrza ok. 90%. Ocena przeprowadzono mierząc wzrost linearny w chwili, gdy kolonie grzybów w hodowlach kontrolnych zajmowały całą powierzchnię płytki.

Badanie właściwości celulolitycznych przeprowadzono określając ilościową zawartość cukrów redukcyjnych, których źródłem była sól sodowa karboksymetylocelulozy. Prowadzono hodowlę pojedynczych kultur grzybów *F. fomentarius* i *P. betulinus* i kultur mieszanych w 8 powtórzeniach, na płynnej pożywce, w temperaturze 25°C, przy wilgotności względnej powietrza ok. 90% przez 28 dni. Określano ilość cukrów redukcyjnych, stosując metodę kolorymetryczną [7]. Pomiar absorbancji przesączonej pożywki prowadzono na kolorymetrze Spekol 10.

Badanie właściwości lignolitycznych przeprowadzono testem Baven-damma [1]. Pojedyncze i mieszane hodowle grzybów *F. fomentarius* i *P. betulinus* inkubowano do chwili styku obu gatunków w kulturze mieszanej. Następnie płytki umieszczono w parach 0,1% guajakolu na okres 24 godzin. Brunatne przebarwienie pożywki wskazywało na obecność eg-zolaktazy.

WYNIKI I WNIOSKI

W temperaturach 20 i 25°C obserwowano taki sam wzrost obu kolonii po 14 dniach od inkubacji (tab. 1), po 7 dniach taki sam wzrost osiągnęły kultury grzybów hodowane w 25°C; w temp. 20°C większy wzrost wykazał grzyb *P. betulinus* – 40 mm, w stosunku do 34 mm wzrostu grzyba *F. fomentarius*. W temperaturze 15°C przeważał grzyb *P. betulinus*, natomiast w temp. 30°C zdecydowanie dominował *F. fomentarius* – 61 mm po 14 dniach, przy 12 mm wzroście grzyba *P. betulinus*.

Tabela 1

Wpływ temperatury na rozwój hodowli dwuorganizmowej
Influence of temperature on growth of double colonies of fungi

Badany gatunek grzyba Investigated fungus	Towarzyszający gatunek Associated fungus	Okres inkubacji w dobach Incubation period (days)	Średnica kolonii w mm Diameters of colonies (mm)			
			Temperatura w °C Temperature in °C			
			15	20	25	30
<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Piptoporus betulinus</i>	7	22	34	45	46
		14	32	45	45	61
<i>Piptoporus betulinus</i>	<i>Fomes fomentarius</i>	7	30	40	45	11
		14	43	45	45	12

Zmiana wilgotności względnej powietrza nie wpływała wyraźnie na linearny układ wzrostu pomiędzy badanymi grzybami (tab. 2). Zarówno po 7, jak i po 14 dniach hodowli, przy wszystkich wilgotnościach, wzrost liniowy grzyba *P. betulinus* osiągnął większe wartości niż grzyba *F. fomentarius*. Przy wilgotności względnej powietrza 100% różnice te były nieznacznie większe, niż przy wilgotnościach niższych (58 i 76%).

Tabela 2

Wpływ wilgotności względnej na rozwój hodowli dwuorganizmowych
Influence of relative air humidity on growth of double colonies of fungi

Badany gatunek grzyba Investigated fungus	Towarzyszający gatunek Associated fungus	Okres inkubacji w dobach Incubation period (days)	Średnica kolonii w mm Diameters of colonies (mm)			
			Temperatura w °C Temperature in °C			
			15	20	25	30
<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Piptoporus betulinus</i>	7	36	36	31	28
		14	43	41	37	40
<i>Piptoporus betulinus</i>	<i>Fomes fomentarius</i>	7	38	40	41	36
		14	47	49	53	50

Tabela 3

Wpływ odczynu pożywki na rozwój hodowli dwuorganizmowych
Influence of pH-value on growth of double colonies of fungi

Badany gatunek grzyba Investigated fungus	Towarzyszący gatunek grzyba Associated fungus	Średnica kolonii w mm Diameters of colonies (mm)							
		pH podłoża pH - value							
		3,17	3,79	5,12	5,98	6,94	7,88	8,85	9,59
<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Piptoporus betulinus</i>	7	31	51	51	38	36	40	4
<i>Piptoporus betulinus</i>	<i>Fomes fomentarius</i>	49	59	39	39	52	52	50	4

Oceniając przebieg hodowli dwuorganizmowych stwierdzono, że na podłożu obojętnym i alkalicznym zarówno grzyb *F. fomentarius* jak i *P. betulinus* rosły dobrze (tab. 3). Na pożywkach o pH 5,12 i 5,98, lepszy wzrost obserwowano u grzyba *F. fomentarius*. W pozostałych sześciu przypadkach dominował *P. betulinus*. W środowisku kwaśnym, przewaga była bardzo wyraźna, zwłaszcza przy odczynie pożywki 3,17, gdzie średnica kolonii tego grzyba wynosiła 49 mm, w stosunku do zaledwie 7 mm średnicy kolonii grzyba *F. fomentarius*. Zawartość cukrów redukcyjnych określała poziom aktywności celulolitycz-

Tabela 4

Aktywność celulolityczna w pojedynczych kulturach i kulturze mieszanej
Cellulolytic activity in single and mixed cultures

Gatunek grzyba Fungi species	Zawartość glukozy mg/m ³ Glucose contents mg/m ³
<i>F. fomentarius</i>	279
<i>P. betulinus</i>	310
<i>F. fomentarius</i> – <i>P. betulinus</i>	298

nej. Zarówno w pojedynczych kulturach, jak i w kulturach mieszanych nastąpił rozkład pochodnej celulozy – soli sodowej karboksymetylocelulozy do glukozy. Najwyższą aktywność celulolityczną stwierdzono w pojedynczych hodowlach grzyba *P. betulinus* (tab. 4). Hodowle mieszane wykazały pośrednią aktywność, najmniejszą zaś ilość glukozy zawiera pożywka z pojedynczą kulturą grzyba *F. fomentarius*.

Obecność egzolaktozy obserwowano w pojedynczych kulturach grzyba *F. fomentarius*. Brunatne zabarwienie pożywki wystąpiło najintensywniej na obrzeżach grzybni. Test B a v e n d a m m a [1] wykazał brak obecności egzolaktozy w grzybni grzyba *Piptoporus betulinus*. W hodowlach mieszanych przy styku kolonii grzybów nie została ujawniona laktaza, którą w pojedynczych

hodowlach *F. fomentarius* wydzielał na całym obwodzie grzybni. Obecność egzolaktazy obserwowano jedynie na brzegach grzybni *F. fomentarius* oddalonych od kultury *P. betulinus*. Nastąpiła więc inaktywacja laktazy grzyba *F. fomentarius* przez grzyb *F. betulinus* przy bezpośrednim kontakcie kolonii obu gatunków.

Praca wpłynęła do Redakcji w kwietniu 1993 r.

LITERATURA

1. Bevendamm W.: Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. Z. Pflanzenkrankh., 1928, 38, 257.
2. Eggins H. O. W., Malik K. A., Sharp R. F.: Some techniques of investigate the colonization of cellulosis and substrates. In: Biodeterior. of Mat, Elsevier, London, 1968, 120-130.
3. Harder R.: Beiträge zur Kenntnis von *Xylaria hypoxylon* (Lin.) Naturwiss. Z. f. Forst-u Landwirtsch., 1909, 7.
4. Harder R.: Über das Verhalten von Basidiomycetes und Ascomycetes in Mischkulturen. Naturwiss. Z. f. Forst-u Landwirtsch., 1911, 9, 3.
5. Henningsson B.: Physiology of fungi attacking birch and aspen pulpwood. Stud. For. Suec., 1967, 52, 1-54.
6. Job D. J., Keller J.: Degradation of wood by species of Hymenochaete: differences in response to temperature. Mycologia Helvetica, 1988, 3, (2), 239-253.
7. Meibaum-Katzellenbogen W., Mochnacka J.: Kurs praktyczny biochemii. 1966, Warszawa.
8. Schneider A.: Neue Diagrammeezur Bestimmung der relativen Luftfeuchtigkeit über gesättigten wässrigen Salzlösungen und wässrigen Schwefelsäurelösungen bei verschiedenen Temperaturen. Holz als Roh- u. Werkstoff, 1960, 18, (7), 269-272.
9. Tichy V.: Vyznam synergismu a antagonismu pri rozkladu dreva houbami. Drev. vysk., 1975, 20, (1), 37-57.

INTERACTION BETWEEN *FOMES FOMENTARIUS* (LEX FR.) KICKX AND *PIPTOPORUS BETULINUS* (BULL. EX FR.) P. KARST. IN VITRO

Summary

Biotic interaction between xylobionts of birch: *Fomes fomentarius* and *Piptoporus betulinus* were investigated, depending on the environmental conditions of growth. The conditions studied were: temperature (in the range of 15-30°C), relative air humidity (58 to 100%) and the pH-value (3.17 to 9.54). A significant influence of temperature and a minor influence of relative air humidity was found. Surprisingly strong buffering properties of the fungus *P. betulinus* were discovered. Similar diameters of colonies of fungi were observed for the range of conditions from acidic (pH=3.2) to alkaline (9.6). Poor tolerance to strongly acidic pH was found for *F. fomentarius*. Cellulolytic and lignolytic activity in single to mixed cultures was determined.

Adres autora:
Dr inż. Andrzej W. Kundzewicz
Katedra Ochrony Drewna SGGW
ul. Rakowiecka 26/30
02-528 Warszawa