

Grzegorz Dubiel



## WYSTĘPOWANIE GRZYBA *GIBELLULA LEIOPUS* (VUIL. EX MAUBL.) MAINS W BESKIDZIE ŚLĄSKIM

### The occurrence of fungus *Gibellula leiopus* (Vuil. ex Maubl.) Mains in the Beskid Śląski Mts

**ABSTRAKT:** W pracy przedstawiono obserwacje dotyczące występowania grzyba *Gibellula leiopus* będącego pasożytem pająków z terenu Beskidu Śląskiego, z okresu 2006-2014. Omówiono cechy morfologiczne oraz pozycję systematyczną gatunku oraz porównano go do najbliższego znanego gatunku siostrzanego – *Gibellula pulchra*.

**SŁOWA KLUCZOWE:** *Gibellula leiopus*, *Torubiella arachnophila*, grzyby patogenne dla pająków, Beskid Śląski

**ABSTRACT:** The paper presents the 2006-2014 observations on the occurrence of fungus *Gibellula leiopus* which parasitizes on spiders in the area of Beskid Śląski Mts. The species' morphological features and its systematic position were discussed and it was compared to its closer known sister species - *Gibellula pulchra*.

**KEY WORDS:** *Gibellula leiopus*, *Torubiella arachnophila*, fungi pathogenic to spiders, Beskid Śląski Mts

#### Wstęp

*Gibellula leiopus* (Vuil. ex Maubl.) Mains stanowi formę niedoskonałą (anamorfę) grzyba *Torubiella arachnophila* (J.R. Johnst.) Mains z rodziny *Clavicipitaceae* obejmującej liczne gatunki tworzące związki troficzne z bezkręgowcami, roślinami i grzybami. Badania molekularne wykazały, że rodzina *Clavicipitaceae* nie jest jednostką monofiletyczną (nie pochodzi od jednego wspólnego przodka) i spowodowały jej podział na trzy rodziny: *Clavicipitaceae* s.s., *Cordycypitace-*

*ae* i *Ophiocordycypitaceae* (Johnson 2006). Rodzaj *Torubiella* obejmuje obligatoryjne pasożyty, głównie pająków i czerwców, charakteryzujące się tworzeniem powierzchniowych owocników typu perytetcjum leżących na luźnej (subiculum) lub bardziej zwartej (stroma) warstwie strzępek (Kobayashi i Shimizu 1982). Z rodzajem tym związanych jest aż 9 form konidialnych (anamorf): *Gibellula*, *Granulomanus*, *Akanthomyces*, *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Pseudogibellula*, *Lecanicillium*, *Verticillium* i *Simplicillium*. *Gibellula*, *Granulomanus* i *Pseudogibellula*

tworzą formy doskonałe (teleomorfy) należące jedynie do rodzaju *Torubiella*. Pozostałe rodzaje związane są także z teleomorfami *Cordyceps* s.l. Różne gatunki opisane w oryginalnie jako „*Torubiella*” okazały się należeć do wszystkich trzech „nowych” rodzin w obrębie *Clavicipitaceae* s.l., czego konsekwencją było utworzenie dwóch nowych rodzajów: *Conoideocrella* i *Orbiocrella*. Gatunki tworzące anamorfe o charakterze *Gibellula* s.s. tworzą monofiletyczną grupę (klad) w obrębie rodziny *Clavicipitaceae* s.s., blisko spokrewnioną z gatunkami tworzącymi anamorfe *Akanthomyces* (Johnson 2006, Sung et al. 2007). W Polsce stwierdzono dotychczas występowanie dwóch gatunków z tego rodzaju: *Gibellula pulchra* oraz *Gibellula leiopus* (Bałazy 2004, Ruszkiewicz-Michalska et al. 2012). Ponadto spośród grzybów strzępkowych atakujących pająki w naszym kraju wymienić można *Lecanicillium tenuipes* (Petch) Zare & Gams na pająkach z rodzaju *Pholcus* w środowiskach synantropijnych oraz *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr., polifagiczny gatunek sporadycznie znajdujący się na martwych pająkach w wilgotnym środowisku (zbiory autora, dane nie opublikowane).

## Material i metody

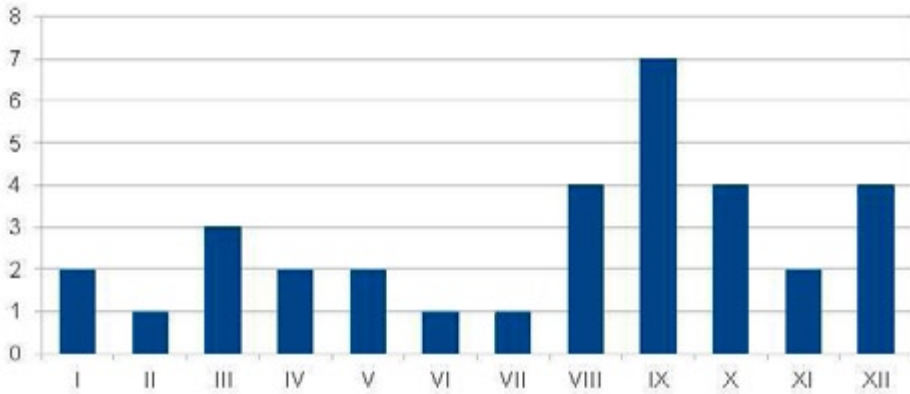
Analizowany materiał obejmuje wszystkie okazy pająków porażonych przez *Gibellula leiopus*, zebrane przez autora w latach 2006-2014 na terenie Beskidu Śląskiego. Dodatkowo otrzymano trzy okazy zebrane przez R. Rutkowskiego w Beskidzie Śląskim i Żywieckim, z których dwa należą do gatunku *Gibellula leiopus*, a jeden do gatunku *Gibellula pulchra*. Większość okazów została znaleziona w kompleksie leśnym Cygański Las koło Bielska-Białej Olszówki oraz w lesie porastającym stoki Równi koło Bystrej. Tereny te są regularnie penetrowane w ciągu całego roku przez autora w poszukiwaniu grzybów patogennych. Las ma charakter buczyny karpackiej *Dentario glandulosae-Fagetum* (Matuszkiewicz 2006). Dominującymi

gatunkami drzew są: buk *Fagus sylvatica*, jawor *Acer pseudoplatanus*, świerk *Picea abies*, modrzew *Larix decidua*. W ubogiej warstwie podszytu i runa rosną jeżyny *Rubus* sp., żywiec gruczołowaty *Dentaria glandulosa*, szaflwia lepka *Salvia glutinosa*, szczyr trwały *Mercurialis perennis*, podrzeń zębrowiec *Blechnum spicant* i szczawik zajęczy *Oxalis acetosella*.

Porażone pająki znajdujące się głównie na dolnej stronie leżących na ziemi kamieni i kawałków drewna. Większość okazów została zebrana na wysokości 500-600 m n.p.m. Najwyższe położone do tej pory stanowisko to Kotarz (ok 980 m n.p.m.). Grzyby były znajdujące się w ciągu całego roku (ryc. 1), przy czym liczba okazów znalezionych w poszczególnych latach różniła się znacząco (ryc. 2).

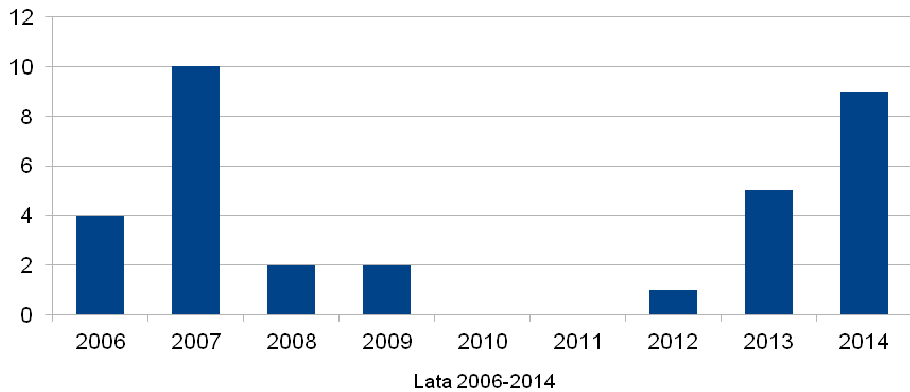
Znalezione okazy umieszczano pojedynczo w szczelnie zamkniętych próbkach. Po przeniesieniu do pomieszczenia drobne fragmenty grzybni z powierzchni oraz wnętrza ciała pająka umieszczano na szkiełku mikroskopowym i, po zabarwieniu błękitem metylowym, prowadzono obserwację w powiększeniu 10x100. Zdjęcia wykonano aparatem Sony Cyber-shot DSC-R1 bez stałego mocowania do okularu mikroskopu. Okazy niedojrzałe umieszczano w szalkach Petriego na warstwie wilgotnej bibuły i inkubowano w temperaturze pokojowej do czasu wykształcenia struktur umożliwiających identyfikację gatunku grzyba.

Eksperyment infekcyjny przeprowadzono na pająkach z gatunków *Coelotes terrestris* (Wider) i *Enoplognatha ovata* (Clerck) (po cztery okazy każdego z gatunków) zebranych w buczynie karpackiej na terenie Cygańskiego Lasu. Pająki hodowano pojedynczo w szalkach Petriego o średnicy 5 cm, z niewielką ilością gleby jako podłoża. Pokarm stanowiły drobne owady (głównie muchówki). Na pająki z grupy eksperymentalnej (dwa okazy *Coelotes* i dwa okazy *Enoplognatha*) naniesiono konidia *Gibellula leiopus* przy pomocy delikatnego pędzelka. Pozostałe cztery pająki stanowiły grupę



Ryc. 1. Liczba okazów *Gibellula leiopus* zebranych w poszczególnych miesiącach.

Fig. 1. Number of specimens of *Gibellula leiopus* collected in individual months.



Ryc. 2. Liczba okazów *Gibellula leiopus* zebranych w poszczególnych latach.

Fig. 2. Number of specimens of *Gibellula leiopus* collected in individual years.

kontrolną – bez kontaktu z konidiami grzyba. Hodowlę prowadzono w temperaturze pokojowej, z oświetleniem naturalnym światłem rozproszonym. Co najmniej dwa razy w tygodniu sprawdzano stan hodowli, usuwano resztki martwych owadów, w razie potrzeby zwilżano podłoże.

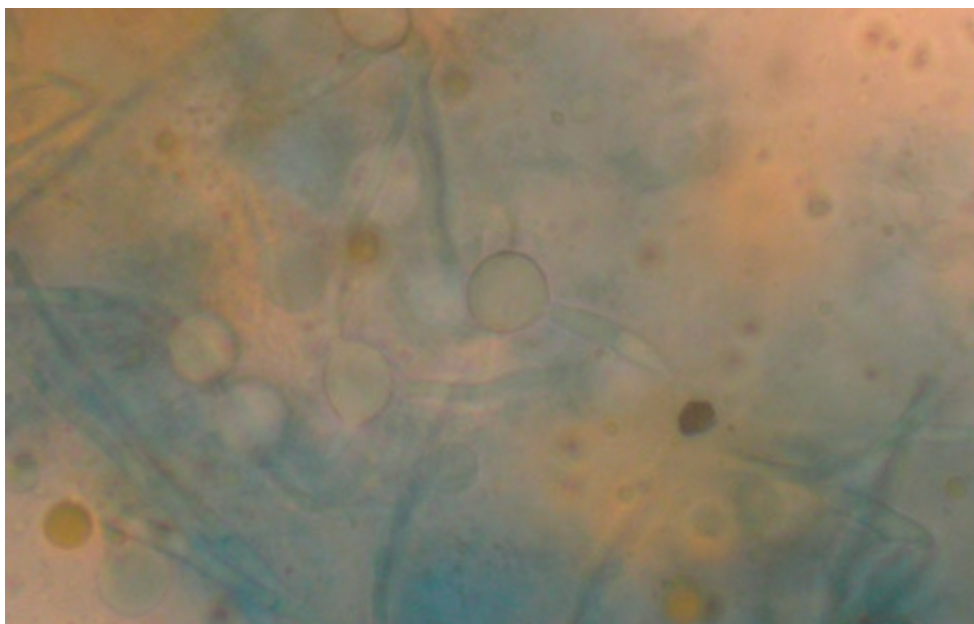
## Wyniki

W latach 2006 – 2014 pozyskano w sumie 33 okazy grzyba *Gibellula leiopus* i jeden okaz *Gibellula pulchra*. Wnętrze pająka porażonego przez *Gibellula leiopus* wypełnia septowana cienkościenna grzybnia o szerokości 1,5-2,5  $\mu\text{m}$ . W przebiegu strzępek oraz na ich zakończeniu widoczne są kuliste lub

owalne rozszerzenia o wymiarach 8-11 x 8-9  $\mu\text{m}$  i ścianie pogrubiałej do 1-1,5  $\mu\text{m}$  (fot. 1). Nie znaleziono opisu tych struktur w pracach innych autorów, nieznana też pozostaje ich funkcja. Jeden z okazów inkubowano przez kilka miesięcy w wilgotnej komorze aż doszło do rozłożenia ciała pająka przez pleśń oraz roztocza, w pozostałych resztkach nie udało się odnaleźć tych struktur, co zdaje się przeczyć tezie, że mogą one stanowić formę przetrwalników.

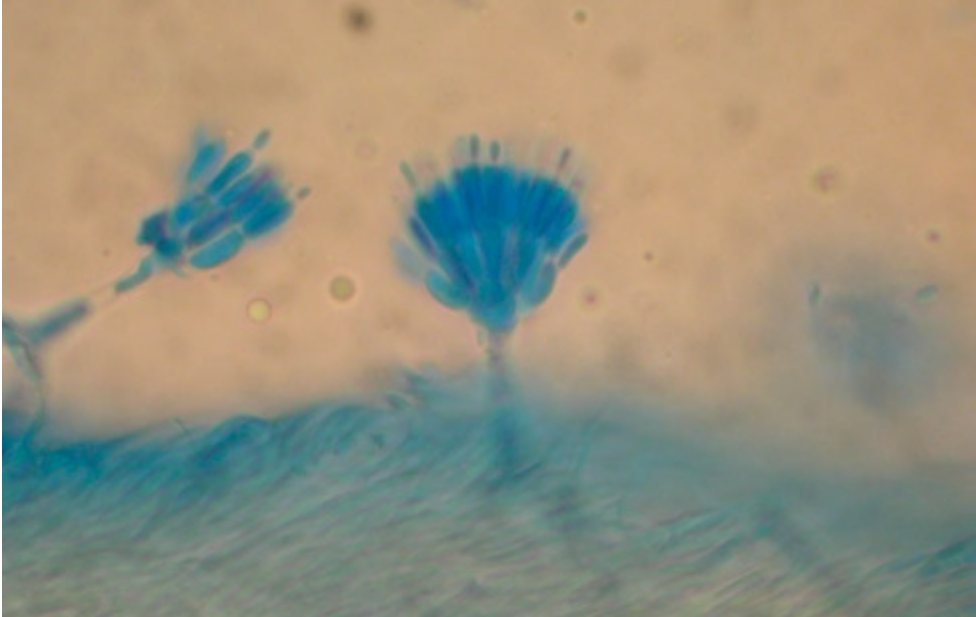
Ciało gospodarza pokryte jest grzybnią barwy białej do żółtawej, która tworzy zbitą warstwę otaczającą odwłok, natomiast silnie zesklebotowane części ciała (głowotułów, kończyny) pokryte są jedynie luźną warstwą strzępek. Strzępki są gładkościenne, septowane, o szerokości 2-2,5  $\mu\text{m}$ . Ze wszystkich części ciała pająka wyrastają różkowatego kształtu synnemy zbudowane z ułożonych +/- równolegle gładkościennych strzępek szerokości 2-2,5  $\mu\text{m}$ . W obwodowych częściach synnemy strzępki są grubsze, podzie-

lone przez przegrody na krótsze odcinki, a ich ściana jest pogrubiała i pokryta ziarnistościami. Z takich strzępek bocznie lub terminalnie wyrastają konidiofory wysokości 35-70  $\mu\text{m}$ , o ścianie gładkiej lub pokrytej ziarnistościami. Konidiofor zbudowany jest ze strzępki 15-25x 2-3  $\mu\text{m}$ , czasem podzielonej pojedynczą przegrodą, na końcu której znajduje się pęcherzykowata struktura o wymiarach 7-8x5-6  $\mu\text{m}$ , z której wyrastają metule 6-8x2,5-3  $\mu\text{m}$ , z których z kolei wyrastają komórki konidionośne (fialidy) 5-8x1,5-2  $\mu\text{m}$ . Metule i fialidy tworzą razem na szczycie konidioforu charakterystyczną "główkę" (fot. 2). Ten schemat budowy przypomina dobrze znaną strukturę konidioforów grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Konidia gładkie, cienkościenne, o wymiarach 2,5-3,5x1,2-1,5  $\mu\text{m}$  mają kształt eliptyczny, są nieco zaostrome na jednym końcu. Tworzone pojedynczo lub w krótkich łańcuszkach ulegających łatwo fragmentaryzacji.



Fot. 1. Kuliste struktury w przebiegu strzępek *Gibellula leiopus* we wnętrzu pająka. Fot. Grzegorz Dubiel.

Photo 1. Spherical structures in hyphae of *Gibellula leiopus* inside a spider. Photo by Grzegorz Dubiel.



Fot. 2. Konidiofory *Gibellula leiopus*. Barwienie błękitem metylenowym, powiększenie 10x100. Fot. Grzegorz Dubiel.

Photo 2. Conidiophores of *Gibellula leiopus*. Coloured with methylene blue; magnification 10x100. Photo by Grzegorz Dubiel.

Porażone pająki zwykle w całości pokryte są grzybnią i silnie zdeformowane, co utrudnia lub wręcz uniemożliwia identyfikację gospodarza (fot. 3). Sądząc po różnicach w wielkości oraz wyglądzie i zabarwieniu widocznych czasem elementów (np. kończyn) czy układzie oczu, porażeniu ulegają różne gatunki pająków. Okaz znaleziony przez R. Rutkowskiego na pniu świerka w Lipnicy Małej w styczniu 2013 roku należy prawdopodobnie do rodziny *Salticidae*. Pająki znajduwane pod kamieniami i kawałkami drewna często reprezentują gatunek *Coelotes terrestris*, co potwierdza też znalezienie okazu tego pająka na stosunkowo wczesnym etapie rozwoju grzyba – przed wytworzeniem synnem (fot. 4). W warunkach laboratoryjnych dwa pająki tego gatunku, na których powierzchnię naniesiono pędzelkiem konidia *Gibellula leiopus* uległy zakażeniu. Śmierć pająków nastąpiła około 28 i 47 dni

od kontaktu z konidiami, a w ciągu kilku następnych dni ciało pokryło się białą grzybnią i zaczęły tworzyć się synnemy. Dwa pająki z grupy kontrolnej nie wykazały objawów zakażenia i po 90 dniach hodowli zostały wypuszczone. Próby zakażenia pająków z gatunku *Enoplognatha ovata* nie powiodły się.

Podjęte próby uzyskania wzrostu grzyba *in vitro* nie przyniosły zadowalających rezultatów. Na agarze Sabourauda uzyskiwano jedynie skąpy wzrost białej niezarodnikującej grzybni. Problemy z uzyskaniem wzrostu grzyba na pożywkach były opisywane przez innych autorów (Samson i Evans 1973, Tze-an et al. 1997).

### Dyskusja

W Polsce stwierdzono dotychczas występowanie dwóch gatunków z rodzaju *Gibel-*



Fot. 3. *Gibellula leiopus* na niezidentyfikowanym gatunku pająka. Fot. Grzegorz Dubiel.  
Photo 3. *Gibellula leiopus* on an unidentified spider species. Photo by Grzegorz Dubiel.



Fot. 4. Wczesne stadium tworzenia grzybni zewnętrznej *Gibellula leiopus* na pająku *Coelotes terrestris*. Fot. Grzegorz Dubiel.  
Photo 4. Early stage of creating outer mycelium of *Gibellula leiopus* on the spider *Coelotes terrestris*. Photo by Grzegorz Dubiel.

*lula*: *Gibellula pulchra* i *G. leiopus*. *Gibellula pulchra* uważana jest za gatunek terenów mokradłowych i ekotonów wodno-lądowych (Bałazy 2004). Występuje często w znacznej liczbie okazów, stanowiąc wśród grzybów patogennych dla stawonogów w niektórych środowiskach gatunek współdominujący razem z *Beauveria bassiana* (Sosnowska et al. 2004). *Gibellula leiopus* znajduje się na łąkach i w runie leśnym. Oba gatunki mają zasięg ogólnosiwiatowy. *Gibellula pulchra* uważana jest za gatunek występujący częściej (Samson i Evans 1973, Santamaria i Girbal 1996). Różnice między *G. pulchra* i *G. leiopus* zostały zilustrowane w pracy S.S. Tzean (Tzean et al. 1997). *Gibellula pulchra* tworzy znacznie dłuższe (110-640  $\mu\text{m}$  długości) konidiofory niż *G. leiopus* (24-80  $\mu\text{m}$ ). Są one też u pierwszego gatunku znacznie wyraźniej ziarniste. Podstawowym gospodarzem *G. pulchra* wydają się być pająki z rodziny *Salticidae*. Znajduje się je najczęściej na pędach roślin, źdźbłach traw i turzyc lub na dolnej powierzchni liści. Okazy znajdują się są latem i jesienią.

Niemal wszystkie okazy z terenu Beskidu Śląskiego i Żywieckiego badane przez autora należą do gatunku *Gibellula leiopus*. Pomiędzy poszczególnymi okazami występują pewne różnice mikromorfologiczne – znajdują się okazy o konidioforach niemal zupełnie gładkich oraz o konidioforach wyraźnie pokrytych ziarnistością. Długość konidioforów nigdy jednak nie przekracza 80  $\mu\text{m}$  i można przypuszczać, że obserwowane różnice wynikają raczej ze stopnia ich dojrzałości. Można zresztą czasem zaobserwować konidiofory o różnym stopniu ziarnistości ściany w różnych miejscach tej samej synnemy.

Okaz znaleziony przez R. Rutkowskiego 07.06.2014 w okolicach Golezowa w Beskidzie Śląskim charakteryzuje się silnie ziarnistymi konidioforami o długości powyżej 100 mikrometrów. Makroskopowo różni się on od pozostałych okazów bardziej wysmukłymi synnemami mającymi tendencję

do zwijania się w trakcie wysychania (fot. 5). Okaz ten, jako jedyny, reprezentuje gatunek *Gibellula pulchra*. Możliwe, że przewaga *G. leiopus* w dotychczasowych zbiorach z terenu Beskidu wynika z poszukiwań w środowiskach nieodpowiednich dla *G. pulchra*, nie można też wykluczyć, że ten drugi gatunek preferuje tereny nizinne. Wyjaśnienie tej kwestii wymagałoby przeprowadzenia dalszych badań w bardziej zróżnicowanych środowiskach.

### Podsumowanie

W Polsce nie prowadzono dotychczas systematycznych badań dotyczących grzybów patogennych dla pająków, przez co liczba występujących gatunków, ich rozmieszczenie oraz wpływ na populacje gospodarzy pozostają nieznanne. Przedstawione obserwacje wskazują, że w Beskidzie Śląskim *Gibellula leiopus* występuje często i jest prawdopodobnie bardziej pospolita od części wzmiankowanej w literaturze *Gibellula pulchra*. Trudności w identyfikacji gatunków porażonych pająków powodują, że informacje dotyczące spektrum atakowanych żywicieli są skąpe. Z terenu Polski doniesiono o występowaniu *Gibellula leiopus* na pająku z rodziny *Linyphiidae* w Biebrzańskim Parku Narodowym (Ruszkiewicz-Michalska et al. 2012). Badania terenowe oraz eksperyment infekcyjny wskazują, że jednym z części atakowanych w Beskidzie gatunków jest *Coelotes terrestris* z rodziny *Amaurobiidae* podczas, gdy *Enoplognatha ovata* z rodziny *Theridiidae* wydaje się być niewrażliwy na zakażenie. Pająki te różnią się nie tylko pozycją systematyczną, ale także trybem życia – *Coelotes terrestris* znajduje się pod kamieniami i kawałkami drewna, podczas gdy *Enoplognatha ovata* spotykana jest na liściach drzew i krzewów.

Grzyby nie są jedynymi (i prawdopodobnie nie są najbardziej istotnymi) pasożytami pająków. W trakcie prowadzonych obserwacji



Fot. 5. *Gibellula pulchra* na niezidentyfikowanym gatunku pająka. Fot. R. Rutkowski.  
Photo 5. *Gibellula pulchra* on an unidentified spider species. Photo by R. Rutkowski.

znajdywano pająki porażone przez nicienie z rodziny *Mermithidae* oraz przez błonkówki z rodziny *Ichneumonidae*. W materiale obejmującym 300 pająków zebranych metodą czerpakowania na łąkach w Beskidzie takie pasożyty wewnętrzne lub zewnętrzne stwierdzono w trakcie sekcji w 1% przypadków (badania autora, dane nieopublikowane). Obserwacje te pozostają zgodne z danymi przedstawianymi w literaturze (Finch 2005). W Polsce występują także muchówki z pasażującej na pająkach rodziny *Acroceridae*,

których poszukiwania w Beskidzie jednak do tej pory się nie powiodły.

### Podziękowania

Serdecznie dziękuję Panu Ryszardowi Rutkowskiemu za przekazane okazy pająków. Dziękuję Pani Doktor Annie Kujawie oraz anonimowemu recenzentowi za pomoc i cenne wskazówki podczas pisania niniejszego artykułu.

### LITERATURA

- BAŁAZY S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. *Kosmos*. 53,1: 5-16.
- FINCH O.-D. 2005. The parasitoid complex and parasitoid-induced mortality of spiders (Aranaeae) in a Central European woodland. *Journal of Natural History* 39, 25: 2339-2354.
- JOHNSON D.M. 2006. Systematics of the Genus *Torrubiella*. A Thesis for the degree of Master of Science, Oregon State University.



- KOBAYASHI Y., SHIMIZU D. 1982. Monograph of the genus *Torrubiella*. Bull. Natn. Sci. Mus. Tokyo 8, 2: 43-78.
- MATUSZKIEWICZ W. 2006. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. PWN, Warszawa.
- RUSZKIEWICZ-MICHALSKA M., TKACZUK C., DYNOWSKA M., SUCHARZEWSKA E., SZKODZIK J., WRZOSEK M. 2012. Preliminary studies of fungi in the Biebrza National Park (NE Poland). I. Micromycetes. Acta Mycologica 47, 2: 213-234.
- SAMSON R.A., EVANS H.C. 1973. Notes on entomogenous fungi from Ghana. I. Genera *Gibellula* and *Pseudogibellula*. Acta Bot. Neerl. 22, 5: 522-528.
- SANTAMARIA S., GIRBAL J. 1996. *Gibellula pulchra* (Saccardo) Cavara, un fong patogen d'aranyes, a Catalunya. Orsis 11: 179-181.
- SOSNOWSKA D., BAŁAZY S., PRISHCHEPA L., MIKULSKAYA N. 2004. Biodiversity of arthropod pathogens in the Białowieża Forest. Journal of Plant Protection Research. 44, 4: 313-321.
- SUNG G.-H., HYWEL-JONES N. L., SUNG J.-M., LUANGSA-ARD J. J., SHRESTHA B., SPATAFORA J. W. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and clavicipitaceous fungi. Studies in Mycology 57: 5-59.
- TZEAN S.S., HSIEH L.S., WU W.J. 1997. The genus *Gibellula* on spiders in Taiwan. Mycologia 89, 2: 309-318.

### Summary

*Gibellula leiopus* constitutes an imperfect form (anamorph) of the fungus *Torrubiella arachnophila* of the *Clavicipitaceae* family and is a highly specialized spider parasite. In the years 2006-2014 in the area of Beskid Śląski Mts 33 specimens of the species were collected. The paralysed spiders were found on the bottoms of stones and pieces of wood in the undergrowth of Carpathian beech forest. A frequently attacked spider species is *Coelotes terrestris*, also sensitive to infection in laboratory conditions. Specimens of *Gibellula leiopus* were found all year round, though with varied frequency from year to year.

Adres autora:

Grzegorz Dubiel  
ul. Fałata 2d/2, 43-360 Bystra  
e-mail: gdubiel@o2.pl