

Mikoflora nasion *Cyclamen persicum* Mill. i chorobotwórczość *Phoma exigua* Desm. dla tej rośliny

BARBARA LACICOWA, IRENA KIECANA, DANUTA PIĘTA

Katedra Fitopatologii i Techniki Ochrony Roślin AR w Lublinie, Akademicka 15, 20-934 Lublin

Lacicowa B., Kiecana I., Pięta D.: (Department of Plant Pathology Agricultural University, Akademicka 15, 20-934 Lublin, Poland). *Mycoflora of Cyclamen persicum* Mill. Seeds and pathogenicity of *Phoma exigua* Desm. for this plant. *Acta Mycol.* XXVI(2): 25-32, 1990.

The investigation showed that *Phoma exigua* colonizes seed tissues. This fungus inhibits and delays seed germination and causes necrosis of roots, stems and leaves of *Cyclamen persicum* seedlings.

WSTĘP

W piśmiennictwie fitopatologicznym spotyka się informacje na temat mikoflory nasion roślin rolniczych i ogrodniczych, natomiast brakuje opracowań dotyczących grzybów zasiedlających nasiona roślin ozdobnych. W ramach cyklu badań dotyczących zasygnalizowanego problemu obiektem były nasiona *Cyclamen persicum*. Powodzenie uprawy tej rośliny ozdobnej w dużym stopniu zależy od jakości materiału siewnego. Nawet stosując do wysiewu nasiona zdrowe i wykazujące wysokie wskaźniki biologiczne, w produkcji cyklamenu uwzględnia się o 1/3 nasion więcej od planowanej liczby roślin (K o r o h o d a, 1972). W wyniku przeprowadzonych badań nad mikoflorą nasion *Cyclamen persicum* wśród wyosobnionych grzybów znalazł się gatunek *Phoma exigua* Desm. Fakt izolowania go z nasion cyklamenu i innych gatunków roślin należących do *Primulaceae* (Boerema, Howeler, 1967) nakłonił do przeprowadzenia badań nad chorobotwórczością tego grzyba w stosunku do *Cyclamen persicum*.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach mikoflory uwzględniono 16 prób nasion ze zbioru w latach 1985-1987. Próby otrzymywano z Okręgowej Centrali Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa w Ożarowie Mazowieckim. Do wyosobniania grzybów z nasion

zastosowano metodę szalkową używając jako podłoża pożywki mineralnej (Ł a c i c o w a, 1970). Z każdej próby wykładano po 100 nasion nie odkażanych i 100 nasion odkażanych (1 min. w 50 % C₂H₅OH i 1 min. w 0,1 % HgCl₂). Na szalkę Petriego wykładano 10 nasion. Szalki z wyłożonymi nasionami przetrzymywano do 10 dni w temp. 20-22°C. Do oznaczania grzybów wykorzystano opracowania monograficzne lub klucze, którymi posługiwano się przy badaniu mikoflory gleby (Ł a c i c o w a, 1977) oraz publikacje B o e r e m y i H o w e l e r a (1967) i B o e r e m y (1976).

W 1988 roku w badaniach nad chorobotwórczością uwzględniono po jednym izolacie *Phoma exigua* wybranym losowo z wysochniętego grzyba przy okazji obecnie prezentowanych badań mikoflory nasion *Cyclamen persicum* (izolat 2) oraz przy okazji badań *Celosia cristata* (izolat 10) i *Bellis perennis* (izolat 19), zasygnalizowanych już wcześniej (Ł a c i c o w a, K i e c a n a, 1988).

Pierwszą serię badań nad wpływem wybranych izolatów *Phoma exigua* na kiełkowanie nasion *Cyclamen persicum* przeprowadzono metodą szalkową (Ł a c i c o w a, 1970) do określania wirulencji szczepów *Helminthosporium sorokinianum*. W drugiej serii nad wpływem *Phoma exigua* na kiełkowanie nasion i zdrowotność siewek wykorzystano metodę przydatną do badań chorobotwórczości niektórych grzybów dla *Saintpaulia ionantha* (Ł a c i c o w a, S u ł e k, 1977).

Do doniczek z autoklawowaną ziemią ogrodową i wprowadzonym do niej materiałem infekcyjnym analizowanych szczepów *Phoma exigua* wysiewano nasiona i wysadzano siewki. Wybrano takie siewki, które wytworzyły już bulwy. Rośliny do doświadczenia wazonowego uzyskano z nasion odkażonych przez jednogodzinne moczenie w 0,5 % fungicydzie Penncozeb 80 WP i wysianych do autoklawowanej ziemi. Każda kombinacja doświadczenia obejmowała 4 obiekty, tj. 3 izolaty *Phoma exigua* i kontrolę. Zawiesina infekcyjna zawierała 3 x 10⁵ zarodników w 1 ml wody.

W przypadku metody szalkowej kontrolę stanowiły nasiona bez naniesionej na powierzchnię zawiesiny zarodników *Phoma exigua*, natomiast w doświadczeniu doniczkowym, w serii kontrolnej, nasiona wysiewano lub siewki wysadzano do podłoża bez materiału infekcyjnego badanego grzyba.

Dla jednego obiektu stosowano 4 powtórzenia, każde po 25 nasion lub siewek. Zgodnie z zaleceniami (C h m i e l, 1984) stworzono optymalne warunki do kiełkowania nasion i wzrostu roślin *Cyclamen persicum*. Kiełkowanie badano po 21, 30 i 42 dniach od wysiewu, a liczebność i zdrowotność roślin po 14 i 28 dniach od wysadzenia siewek.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

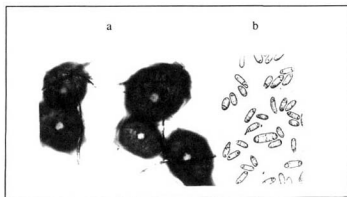
W wyniku analizy mikologicznej z badanych nasion *Cyclamen persicum* uzyskano kultury należące do 19 gatunków grzybów (tab. 1). Co roku często wyosobnianymi grzybami okazały się *Alternaria alternata* i *Penicillium cyclopium*. W przypadku nasion wyprodukowanych w 1985 roku uzyskiwano często jeszcze *Penicillium martensii*, a wśród grzybów wyrosłych z nasion ze zbioru w 1987 roku dominował gatunek *Phoma exigua* (tab. 1). Z wyjątkiem *P. exigua* zabieg powierzchniowego odkażania nasion *Cyclamen persicum* znacznie obniżył liczbę uzyskiwanych izolatów grzybów, względnie całkowicie wyeliminował niektóre gatunki, a wśród nich *Botrytis cinerea* i *Fusarium equiseti* (tab. 1). Fakt ten wskazuje, że większość zarodników grzybów nawiązujących kontakt z nasionami *Cyclamen persicum* ogranicza się tylko do kontaminacji okrywy.

Tabela 1 - Table 1

Grzyby wyosobnione z nasion *Cyclamen persicum*
Fungi isolated from seeds *Cyclamen persicum*

Species	Liczba izolatów - Number of isolates						Razem Together		Ogółem Total
	odkażanych disinfected			nie odkazanych not disinfected			odkażane disinfected		
	1985	1986	1987	1985	1986	1987	tak yes	nie not	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	3	5	2	37	3	3	10	43	53
<i>Arachniotus citrinus</i> Massee Salmon	1	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Aspergillus ustus</i> (Bain.) Thom. Church	3	0	0	6	0	0	3	6	9
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	0	0	0	0	0	41	0	41	41
<i>Chaetomium indicum</i> Corda	8	0	0	3	1	0	8	4	12
<i>Chaetomium sphaerale</i> Chivers	1	4	0	0	0	0	5	0	5
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	0	0	0	0	0	2	0	2	2
<i>Cladosporium herbarum</i> Link: Fr.	1	3	0	0	10	4	4	14	18
<i>Cladosporium macrocarpum</i> Preuss	1	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	0	0	0	29	8	2	0	3	39
<i>Penicillium cyclopium</i> West.	0	12	0	49	22	16	12	8	99
<i>Penicillium frequentans</i> West.	0	5	0	0	9	0	5	9	14
<i>Penicillium granulosum</i> Bain.	0	0	0	0	0	4	0	4	4
<i>Penicillium martensii</i> Biourge	6	0	0	58	0	8	6	6	72
<i>Penicillium pastii</i> Bain.	0	0	0	4	0	0	0	4	4
<i>Phoma exigua</i> Desm.	0	0	197	0	0	0	197	0	197
<i>Spicaria violacea</i> Abbott	3	5	0	0	8	0	8	8	16
<i>Stachybotrys atra</i> Corda	0	0	0	2	0	0	0	2	2
<i>Trichothecium roseum</i> Link	0	0	0	0	6	0	0	6	6
Grzyby nie zarodnikujące (non sporulating)	4	4	5	3	13	0	13	16	29
Razem - Total	31	38	204	191	80	80	273	351	624

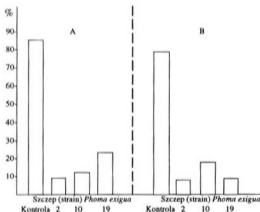
Uwzględniając aspekt fitopatogeniczny, to z wyosobnionych grzybów za chorobotwórczy dla cyklamenu można uznać *Botrytis cinerea*; jest on polifagiem o uznanej szkodliwości dla różnych gatunków roślin ozdobnych (Ł a c i c o w a, K i e c a n a, 1988). Izolowanie *Phoma exigua* tylko z nasion odkażanych wskazuje na nawiązywanie przez ten grzyb ścisłego kontaktu z tkankami. Wiadomo, że o zasiedleniu nasion przez określony gatunek grzyba decyduje obecność materiału infekcyjnego w otoczeniu roślin oraz warunki temperatury i wilgotności w czasie tworzenia się, dojrzewania i zbioru nasion. W warunkach klimatycznych Polski cały cykl uprawy cyklamenu, od wysiewu do pełni kwitnienia i owocowania, przebiega w szklarni względnie w inspekcie. Możliwość prowadzenia w takich warunkach uprawy starannych zabiegów pielęgnacyjnych oraz prawidłowej ochrony przed chorobami zapewniają roślinom dobrą zdrowotność. Ponadto nasiona *Cyclamen persicum* od zawiązania się do całkowitego dojrzewania są chronione przed zakażeniem przez torebki nasienne. Wymienione czynniki prawdopodobnie sprawiają, że skład gatunkowy i ilościowy mikoflory zasiedlającej nasiona *Cyclamen persicum* jest znacznie uboższy od mikoflory innych gatunków roślin ozdobnych uprawianych na nasiona w warunkach polowych (Ł a c i c o w a, K i e c a n a, 1988). Zgodność cech mikroskopowych z opisem podanym przez B o e r e m e i H o w e l e r (1967) upoważniło do uznania wyosobnionych izolatów, reprezentujących rodzaj *Phoma*, za populację *Phoma exigua* Desm. (ryc. 1).



Ryc. 1. *Phoma exigua*

a - pyknidia (pycnidia); b - pyknospory (pycnospores)

Bez względu na pochodzenie izolatów i zastosowane metody badań, dzięki którym stworzono warunki do bezpośredniego kontaktu *Phoma exigua* z okrywą nasienną lub kiełkowania nasion w obecności grzyba wprowadzonego do podłoża, uzyskano podobne wyniki. Nasiona zaczęły kiełkować po 30 dniach i proces ten trwał do 42 dni. Po tym czasie w przypadku doświadczenia szalkowego, zależnie od analizowanego izolatu, kiełkowało od 8 do 24 % nasion, a w kombinacji z wprowadzeniem *Phoma exigua* do podłoża od 10 do 20 % nasion (ryc. 2). W kombinacjach kontrolnych już po 21 dniach uzyskano siewki z 80 do 85 % nasion (ryc. 2). Przez następne dni trwania doświadczenia liczba kiełkujących nasion nie zwiększyła się, a siewki rozpoczęły tworzenie bulw. Uzyskane wyniki upoważniają do wnioskowania, że kontakt *Phoma exigua* nie tylko hamuje, ale również opóźnia kiełkowanie nasion *Cyclamen persicum*.



Ryc. 2. Wpływ *Phoma exigua* na kiełkowanie nasion *Cyclamen persicum*
Influence of *Phoma exigua* on seed germination of *Cyclamen persicum*

A - kiełkowanie po 42 dniach nasion sztucznie zakażonych przez *Phoma exigua*

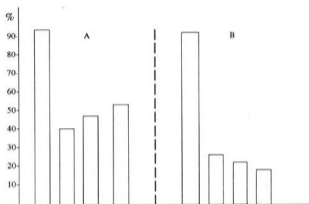
germination of seeds artificially infected with *Phoma exigua* after 42 days

B - kiełkowanie po 42 dniach nasion wysianych do ziemi zakażonej przez *Phoma exigua*

germination of seeds sown in soil infected with *Phoma exigua*

Phoma exigua okazał się również szkodliwy dla siewek wysadzonych do zakażonego podłoża. W badanych warunkach prowokacyjnych, zależnie od izolatu, zmniejszało od 70 do 80 % roślin (ryc. 3) a te, które utrzymały się przy życiu z powodu znekrotyzowanych tkanek łodygi i liści, nie rokowały dalszego wzrostu (ryc. 4).

Badania makroskopowe organów podziemnych takich roślin wykazywały nekrozę korzeni, natomiast na bulwach zmiany chorobowe nie wystąpiły. Analiza mikologiczna porażonych organów upoważniła do uznania *Phoma exigua* za przyczynę uszkodzeń.



Ryc. 3. Liczebność roślin *Cyclamen persicum* po 14 dniach (A) i po 28 dniach (B) od posadzenia do ziemi zakażonej *Phoma exigua*

Number of *Cyclamen persicum* plants after 14 days (A) and 28 days of growth (B) in soil infected with *Phoma exigua*



Ryc. 4. Siewki *Cyclamen persicum* z wazonów z ziemią zakażoną *Phoma exigua* (A) i siewki kontrolne (B)
Seedlings of *Cyclamen persicum* from pots with soil infected with *Phoma exigua* (A) and control seedlings (B)

Okazało się, że podjęcie badań nad rolą *Phoma exigua* w stosunku do *Cyclamen persicum* było bardzo celowe. Ustalona po ich przeprowadzeniu szkodliwość dla *C. persicum* wskazuje na potrzebę wprowadzenia *Phoma exigua* na listę patogenów tej rośliny. Ponadto w programowaniu ochrony w omawianym przypadku koniecznym zabiegiem powinno być odkażanie nasion. Skuteczne do likwidacji porażenia nasion cyklamenu przez *P. exigua* okazały się fungicydy: 0,4% Sandofan M; 0,2 % Sportak EC; 0,5 % Penncozeb 80 WP (Ł a c i c o w a, P i ę t a, 1988). *Phoma exigua* występuje często w glebie na obumarłym materiale roślinnym, przy czym, jako polifag poraża rośliny należące do 42 rodzin (B o e r e m a, H o w e l e r, 1967). Wg B o e r e m y (1976) opisano jego odmiany przystosowane do porażania poszczególnych gatunków roślin jak: *Linum usitatissimum*, *Sambucus nigra*, *Solanum tuberosum* i *Vinca* sp. Różne pochodzenie i podobna szkodliwość dla *Cyclamen persicum* obecnie badanych izolatów wskazują, że należały one do polifagicznego gatunku *Phoma exigua*. W sposobie zwalczania omawianego patogena należy uwzględnić, poza nasionami, również jego związek z glebą w warunkach naturalnych (B o e r e m a, H o w e l e r, 1967) i możliwość występowania na resztkach pozbiorowych w ziemi inspektowej oraz innych podłożach stosowanych do uprawy roślin ozdobnych.

LITERATURA

- B o e r e m a G. H., H o w e l e r L. H., 1967. *Phoma exigua* Desm. and its varieties. Persoonia 5: 15-28.
- B o e r e m a G. H., 1976. The *Phoma* species studied in culture by Dr R.W.G. Dennis. Trans. Br. Mycol. Soc. 67: 289-319.
- C h m i e l H., 1984. Uprawa roślin ozdobnych. PWRiL, Warszawa, pp. 884.
- K o r o h o d a J., 1972. Produkcja nasion roślin ozdobnych. PWRiL, Warszawa.
- Ł a c i c o w a B., 1970. Badania szczepów *Helmintosporium sorokinianum* (= *H. sativum*) oraz odporności odmian jęczmienia jarego na ten czynnik chorobotwórczy. Acta Mycol. VI: 187-248.
- Ł a c i c o w a B., 1977. Badania zbiorowisk grzybów w glebie spod uprawy lnu porażonego przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* (Bolley) Snyder et Hansen. Roczn. Nauk. Roln., Ser. E, 7: 15-28.
- Ł a c i c o w a B., S u l e k D., 1977. Grzyby powodujące zgniliznę korzeni *Saintpaulia ionantha* Wendl. Acta Mycol. 13: 219-227.
- Ł a c i c o w a B., K i e c a n a L., 1988. Fitopatogeniczne grzyby zasiedlające nasiona niektórych gatunków roślin ozdobnych. IV Ogólnop. Zjazd Kwic., Skierniewice.
- Ł a c i c o w a B., P i ę t a D., 1988. Skuteczność zaprawiania fungicydami nasion niektórych gatunków kwiatów Roczn. Nauk. Roln., Ser. E, 18 (w druku).

SUMMARY

The seeds of *Cyclamen persicum* harvested in 1985-1987 were investigated. Every year *Alternaria alternata*, *Penicillium* sp. and in 1987 *Phoma exigua*, were isolated most frequently. The isolates of *Phoma exigua* obtained from *Cyclamen persicum*, *Celosia cristata* and *Bellis perennis* seeds were

used in the investigations on pathogenicity. The experiment was carried out by methods enabling a direct contact between *Phoma exigua* and the seed coat, and seed germination and the growth of plants in the presence of this fungus were observed. The investigations showed, that *Phoma exigua* colonizes seed tissues, inhibits and delays germination and causes necrosis of roots, stems and leaves of *Cyclamen persicum* seedlings.