

## Mikoflora nasion *Bellis perennis* i *Celosia cristata*

BARBARA ŁACICOWA, IRENA KIECANA, DANUTA PIĘTA

Katedra Fitopatologii i Techniki Ochrony Roślin, AR w Lublinie

Łacicowa B., Kiecana I., Pięta D.: (Department of Plant Pathology Academy of Agriculture, Akademicka 15, 20-934 Lublin, Poland). *Mycoflora of seeds of *Bellis perennis* and *Celosia cristata**. Acta Mycol. XXVII (1): 41-48, 1991-1992.

The seeds of *Bellis perennis* and *Celosia cristata* were investigated. Agar medium with nutrients was used to isolate the fungi. *Alternaria alternata* dominated among isolated fungi. The investigation showed that *Phoma exigua* was more pathogenic to *Bellis perennis*.

### WSTĘP

W piśmiennictwie fitopatologicznym brakuje opracowań dotyczących grzybów zasiedlających nasiona roślin ozdobnych. Badania takie są potrzebne, bowiem między innymi informują o zagrożeniu przez mikopatogeny roślin w warunkach ich uprawy. W wyniku przeprowadzonych badań nad mikoflorą nasion *Bellis perennis* L. i *Celosia cristata* L. wśród wyosobnionych grzybów znalazł się grzyb *Phoma exigua* Desm. Występuje on 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 ö w e l e r, 1967). Na liście jego żywicieli nie figurują *Celosia cristata* i *Bellis perennis*.

### MATERIAŁ I METODY

Próby nasion zebrano w latach 1985, 1986 i 1987. Reprezentowały one materiał siewny przekazywany na rynek krajowy przez Okręg. Centr. Nasienn. Ogrodn. i Szkółk. w Ożarowie Mazow. Co roku analizowano 1 000 nasion *Bellis perennis* oraz 500 *Celosia cristata*. Badano materiał siewny nie odkażany i odkażany powierzchniowo (0,5 min. w 50 % C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH i w takim samym czasie w 0,1 % HgCl<sub>2</sub>). Do wyosobnienia grzybów zastosowano metodę szalkową z zestaloną pożywką

mineralną (Ł a c i c o w a, 1970); na każdą szalkę wkładano po 10 nasion i przetrzymywano je do 10 dni w temp. 20-22°C. Do oznaczania grzybów wykorzystano monografie lub klucze, którymi posługiwano się przy badaniu mikoflory gleby (Ł a c i c o w a, 1977; B o e r e m a, H ö w e l e r, 1967; B o e r e m a, 1976).

W badaniach nad chorobotwórczością uwzględniono izolaty *Phoma exigua* wybrane losowo z wyosobnień tego grzyba w 1987 r. Izolat 2 uzyskano z nasion *Cyclamen persicum*, izolat 10 z nasion *Celosia cristata*, a izolat 19 z nasion *Bellis perennis*. W doświadczeniu nad wpływem wybranych izolatów *Phoma exigua* na wschody i zdrowotność siewek *Bellis perennis* i *Celosia cristata* zakażono nasiona nanosząc na ich powierzchnię otoczoną warstwą agarowej pożywki maltozowej (Extrait de malt bio Merieux) kroplę zawiesiny konidiów. Zawiesina zawierała  $3 \times 10^5$  zarodników w 1 ml jałowej wody destylowanej. Po 24 godzinach nasiona wkładano do doniczek z autoklawowaną ziemią ogrodową. Kontrolę stanowiły nasiona tylko otoczone warstwą pożywki maltozowej. Dla jednego gatunku rośliny doświadczenie obejmowało 4 obiekty, tj. 3 izolaty *Phoma exigua* i kontrolę. Dla jednego obiektu stosowano 4 powtórzenia, po 25 nasion. Doniczki z włożonymi nasionami przetrzymywano przez 21 dni w fitotronie, w temp. 22°C przy dwunastogodzinnym oświetleniu. Liczbę uzyskiwanych roślin z nasion ustalono po 10 i 21 dniach. W ostatnim dniu trwania doświadczenia oceniono również zdrowotność trzytygodniowych roślin *Bellis perennis* i *Celosia cristata*. Wpływ testowanych izolatów *Phoma exigua* na liczebność roślin oceniono za pomocą analizy wariancji ustalając istotność różnic według testu Duncana (O k t a b a, 1966).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Zabieg powierzchniowego odkażania chemicznego nasion *Celosia cristata* znacznie obniżył liczbę uzyskiwanych izolatów grzybów z rodzaju *Cladosporium* oraz podobnie zadziałał w przypadku *Bellis perennis* zmniejszając liczbę wyosobnień *Botrytis cinerea* (tab. 1, 2). Do często wyosobnianych grzybów z materiału siewnego obydwu gatunków roślin należała *Alternaria alternata*. W przypadku nasion celozji izolaty tego grzyba stanowiły 34 %, a w przypadku niełupek stokrotki — 29 % wyosobnień wszystkich grzybów (tab. 1 i 2). Omawiany grzyb nie ograniczał się do kontaminacji powierzchni nasion, ale nawiązywał ścisły kontakt z nimi, na co wskazywało wyosobnienie *A. alternata* z materiału siewnego odkażonego powierzchniowo. *A. alternata* uznaje się za nekrofita o tendencjach do pasożytnictwa warunkowego przy wysokiej wilgotności (P a t i l, S c h a s t r i, 1982), wskazane jest zatem dosuszenie nadmiernie wilgotnych nasion *Bellis perennis* i *Celosia cristata* przed składowaniem oraz przechowywanie pul nasiennych w warunkach małej wilgotności powietrza. Materiał siewny obydwu gatunków roślin zasiedlały liczne gatunki z rodzaju *Penicillium*, przy czym znacznie częściej wyosobniano te grzyby z niełupek *Bellis perennis* (12 %), aniżeli z nasion *Celosia cristata* (3 %).

Tabela 1 – Table 1

Grzyby wyosobnione z materiału siewnego *Celosia cristata*  
Fungi isolated from seeds of *Celosia cristata*

Gatunek Species	Liczba izolatów – Number of isolates						Ogólna liczba izolatów Altogether
	Nasiona odkażane Seeds disinfected			Nasiona nie odkażane Seeds undisinfected			
	1985	1986	1987	1985	1986	1987	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	9	82	28	54	203	37	413
<i>Aspergillus flavus</i> Link	3	–	–	–	–	–	3
<i>Aureobasidium boleyi</i> Sraque	1	–	–	–	–	–	1
<i>Botrytis cinerea</i> Persoon	–	–	–	–	–	5	5
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	–	13	1	17	86	79	196
<i>Cladosporium herbarum</i> Link ex Fr.	–	–	5	–	–	341	346
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehb. ex Schlecht	–	–	–	–	–	1	1
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	1	–	–	1	–	4	6
<i>Fusarium californicum</i> (W.G.Sm.) Sacc.	–	–	1	5	–	–	6
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	–	32	8	–	53	8	10
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	–	8	–	2	12	2	24
<i>Fusarium poae</i> (Peck.) Wollenw.	–	–	1	–	–	–	1
<i>Mucor flavus</i> Bainier	–	–	–	–	–	1	1
<i>Mucor griseo-cyanus</i> Hugon	–	–	–	–	–	3	3
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	–	–	1	–	–	2	3
<i>Penicillium cyclopium</i> West.	–	2	–	–	6	–	8
<i>Penicillium expansum</i> Link	–	–	–	2	–	–	2
<i>Penicillium fellutanum</i> Biourge	–	–	1	–	–	–	1
<i>Penicillium frequentans</i> West.	–	1	–	–	5	–	6
<i>Penicillium martensii</i> Biourge	–	–	2	–	–	2	4
<i>Penicillium notatum</i> West.	–	–	1	–	–	–	1
<i>Penicillium palitans</i> West.	–	–	–	–	–	2	2
<i>Penicillium thoma</i> Zaleski	–	–	–	–	–	12	12
<i>Phoma exigua</i> Desm.	–	–	53	–	–	–	53
<i>Trichothecium roseum</i> Link	–	2	1	–	3	–	6
Grzyby nie zarodnikujące (Fungi non sporulating)	3	–	–	3	–	1	7
Razem – Total	17	140	103	84	386	500	1212

Tabela 2 — Table 2

Grzyby wyosobnione z materiału siewnego *Bellis perennis*  
 Fungi isolated from seeds of *Bellis perennis*

Gatunek Species	Liczba izolatów — Number of isolates						Ogólna liczba izolatów Altogether
	Niełupki odkażane Mericarps disinfected			Niełupki nie odkażane Mericarps undisinfected			
	1985	1986	1987	1985	1986	1987	
<i>Acremoniella verrucosa</i> Tognini	—	—	—	—	—	6	6
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	25	40	103	123	148	195	632
<i>Aspergillus flavus</i> Wilhelm	—	—	—	—	3	—	3
<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm	—	—	1	—	—	1	2
<i>Aspergillus ustus</i> Thom et Church	—	—	—	—	2	—	2
<i>Botrytis cinerea</i> Persoon	—	4	—	3	12	21	40
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	—	—	—	—	5	—	5
<i>Cladosporium herbarum</i> Link ex Fr.	2	—	—	—	4	—	6
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	—	1	2	—	6	6	15
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Sm.) Sacc.	—	—	1	—	4	4	9
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	3	10	61	7	5	51	137
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	4	—	—	2	—	6	12
<i>Fusarium semitectum</i> Berk. et Rav.	14	—	—	3	—	—	17
<i>Mucor globosus</i> Fischer	—	—	—	3	—	—	3
<i>Mucor griseo-cyanus</i> Hugon	—	—	2	—	—	5	7
<i>Paecilomyces variotti</i> Bainier	—	—	—	—	—	1	1
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	6	1	—	71	10	—	88
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	—	—	—	—	2	—	2
<i>Penicillium duclauxi</i> Delacroix	—	—	—	—	—	2	2
<i>Penicillium martensii</i> Biourge	—	—	11	5	—	21	37
<i>Penicillium notatum</i> West.	—	—	—	—	—	24	24
<i>Penicillium politanus</i> West.	—	—	—	—	26	—	26
<i>Penicillium puberulum</i> Bainier	—	9	—	—	61	—	70
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oud.) Thom	—	1	—	—	1	—	2
<i>Penicillium urticae</i> Bainier	—	—	—	5	—	—	5
<i>Penicillium vermiculatum</i> Bangeard	1	—	—	—	—	—	1
<i>Phoma exigua</i> Desm.	39	73	495	19	16	247	889
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	27	—	—	3	3	—	33
<i>Stemphylium botryosum</i> Wallv.	—	1	—	—	2	—	3
<i>Stemphylium vesicarium</i> Wollv. Simsuas	12	—	—	4	—	—	16
<i>Trichoderma viride</i> Rifai	—	—	—	—	1	—	1
Grzyby nie zarodnikujące (Fungi non sporulating)	—	14	6	29	3	3	55
Razem — Total	125	154	682	277	320	587	2145

Wśród wyosobnionej mikoflory z materiału siewnego *Bellis perennis* domino- wało *Penicillium cyclopium* (tab. 2), odznaczające się silnymi właściwościami amylolytycznymi, proteolitycznymi i lipolitycznymi ( cyt. Łacicowa, 1979). Znacznie rzadziej od grzybów z rodzaju *Penicillium* materiał siewny obydwu gatunków roślin był zasiedlany przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Mucor*. Przedstawiciele trzech wymienionych rodzajów uznaje się za tzw. grzyby „przechowalniowe”, które w warunkach korzystnych dla swego rozwoju oddziałują destrukcyjnie na przechowywany materiał siewny (C h r i s t e n s e n, 1972).

Wśród grzybów wyosobnionych z materiału siewnego *Bellis perennis* i *Celosia cristata* brakuje patogenów wyspecjalizowanych do porażania gatunku rośliny, z nasion której zostały wyosobnione. Natomiast izolowano znane patogeny o charakterze polifagów. W przypadku materiału siewnego obydwu roślin do takich należały *Botrytis cinerea*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*. Tylko z niełupek *Bellis perennis* wyosobniono *Sclerotinia sclerotiorum* (tab. 1 i 2). Wśród wyosobnianych grzybów z materiału siewnego obydwu roślin zwraca uwagę uzyskiwany co roku gatunek *Fusarium equiseti* uznawany za wtórny kolonizator korzeni różnych roślin (T u m a n o w a, 1981). W monografii B o o t h ' a (1971) nie figurują formy *Fusarium oxysporum* zdolne do porażania *Bellis perennis* i *Celosia cristata*. Wyosobniane izolaty tego grzyba można więc uznać za należące do saprofitycznego gatunku *Fusarium oxysporum*. Na uwagę zasługuje coroczne wyosobnianie *Phoma exigua* z materiału siewnego *Bellis perennis*. Izolaty tego grzyba stanowiły 14 % (1985 r.), 18 % (1986 r.) i 58 % (1987 r.) wyosobnień wszystkich grzybów (tab. 2). Częstrze wyosobnianie *Phoma exigua* z nasion odkażonych powierzchniowo, aniżeli nie odkażanych świadczy o nawiązywaniu ścisłego kontaktu z tkankami. Ponadto bez zabiegu odkażania inne grzyby towarzyszące *Phoma exigua*, a ograniczające się tylko do zasiedlania powierzchni nasion, prawdopodobnie utrudniają mu wyrastanie na podłożu agarowym. Wymienione uwagi odnoszą się również do nasion *Celosia cristata*. *Phoma exigua* wyosobniono bowiem tylko z odkażonych nasion tej rośliny. Grzyb ten był izolowany jedynie z materiału siewnego zebranego w 1987 r., przy czym jego izolaty stanowiły 51 % wyosobnień wszystkich grzybów (tab. 1).

Zastosowana metoda w badaniach nad chorobotwórczością *Phoma exigua* dla *Bellis perennis* i *Celosia cristata* stworzyła możliwość do bezpośredniego kontaktu grzyba z powierzchnią materiału siewnego, a następnie z kielkami oraz korzeniami siewek. W przypadku *Bellis perennis* po zaaplikowaniu konidiów *Phoma exigua* izolatów 2, 10 i 19 uzyskano rośliny odpowiednio z 2,4 %, 16,8 % oraz 9,6 % analizowanych niełupek, a więc istotnie mniej, aniżeli w kombinacji kontrolnej (tab. 3). Bez względu na pochodzenie izolatu *Phoma exigua* rośliny uzyskiwane z zakażonego materiału siewnego nie różniły się między sobą wzrostem i rozwojem, natomiast były o połowę mniejsze od roślin z kombinacji kontrolnej (ryc. 1). Ponadto na korzeniach siewek wyrosłych ze sztucznie zakażonych nasion zauważalne były jasnobrunatne plamy, zwłaszcza na dolnych odcinkach. Analiza mikologiczna upoważniła do uznania *Phoma exigua* za przyczynę objawów chorobowych.

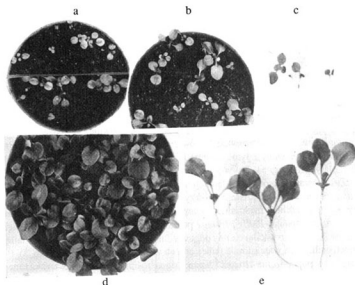
Tabela 3 - Table 3

Wpływ sztucznego zakażenia materiału siewnego *Phoma exigua* na liczebność roślin *Bellis perennis* - (A) i *Celosia cristata* - (B)

The influence of artificial infection of seeds *Phoma exigua* on number of plants *Bellis perennis* - (A) and *Celosia cristata* - (B)

Kombinacja doświadczenia Experiment combination	Średni procent Percentage mean		Odchylenie standardowe Standard deviation	
	A	B	A	B
Kontrola - Control	67,2 c	79,2 b	5,22	3,35
<i>Phoma exigua</i> izolat 2	2,4 a	65,6 ab	3,58	17,34
<i>Phoma exigua</i> izolat 10	16,8 b	48,8 a	12,78	19,06
<i>Phoma exigua</i> izolat 19	9,6 ab	75,2 b	3,58	5,93
Średni błąd - Standard error	7,35	13,33	-	-
Najmniejsza istotna różnica - LSD (0,05)	13,31	24,14	-	-

Liczby oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$   
Number marked with the same letters do not differ with  $P \leq 0,05$



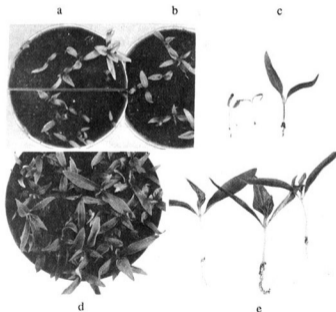
Ryc. 1. Trzytygodniowe rośliny *Bellis perennis*  
Three weeks old plants of *Bellis perennis*

a, b, c - wyrosłe z nasion sztucznie zakażonych izolatami *Phoma exigua* (nr. 2, 10, 19); d, e - bez sztucznego zakażenia  
a, b, c - grown from seeds artificially infected by the isolates of *Phoma exigua* (No. 2, 10, 19); d, e - seeds not infected

Uzyskane wyniki upoważniają do wnioskowania, że *Phoma exigua* hamuje kiełkowanie nasion i wzrost siewek, a porażenie roślin ujawnia się nekrozą korzeni.

Wyobnienie *Phoma exigua* z materiału siewnego *Bellis perennis* pozyskiwanego z trzech lat zbioru, świadczy o obecności tego grzyba na plantacjach nasiennych w różnych okresach wegetacji. Ponieważ *Bellis perennis* jest rośliną uprawianą w dwuletnim cyklu, a więc przy obecności patogena, są narażone na zakażenie wzrastające rośliny przez dwa kolejne okresy wegetacji. W przypadku *Bellis perennis* materiał siewny odgrywa szczególną rolę jako źródło infekcji *Phoma exigua* dla pozyskiwanych z niego roślin.

Badania nad chorobotwórczością *Phoma exigua* dla *Celosia cristata* wykazały istotnie hamujące oddziaływanie tego grzyba na kiełkowanie nasion tylko w kombinacji doświadczenia z izolatem 10, a więc pochodzącym z nasion tej rośliny (tab. 3). Większość roślin z tej kombinacji doświadczenia wykazywała zahamowany wzrost i obecność nekrotycznych plam na końcach korzeni (ryc. 2).



Ryc. 2. Trzytygodniowe rośliny *Celosia cristata*  
Three weeks old plant *Celosia cristata*

a, b, c – wyrosłe z nasion sztucznie zakażonych izolatami *Phoma exigua* (nr. 2, 10, 19); d, e – bez sztucznego zakażenia  
a, b, c – grow from seeds artificially infected by the isolates of *Phoma exigua* (No. 2, 10, 19); d, e – seeds not infected

Analiza mikologiczna upoważniła do uznania *Phoma exigua* za przyczynę objawów. Ponieważ cykl uprawy celozji na nasiona odbywa się w inspektach lub na stelażach, stąd możliwość zapewnienia roślinom dobrej zdrowotności przez zaprawianie chemiczne eliminujące *Phoma exigua* z nasion oraz podłoża. Skutecznym do likwidacji porażenia materiału siewnego *Bellis perennis* i *Celosia cristata* okazał się Penncozeb 80 WP (Łacicowa, Pięta, 1988).

#### LITERATURA

- Booth C., 1971. The Genus *Fusarium*. C. M. I. Kew, England.
- Boerema G. H., Howeler L. H., 1967. *Phoma exigua* Desm. and its varieties. *Persoonia* 5: 15-28.
- Boerema G. H., 1976. The *Phoma* species studied in culture by Dr R. W. G. Dennis. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 67: 289-319.
- Christensen C. M., 1972. Mikoflora and seed deterioration. [In:] Viability of seeds. Roberts E. H., Chapman and Hall Ltd. London, 59-93.
- Łacicowa B., 1970. Badania szczepów *Helminthosporium sorokinianum* (= *H. sativum*) oraz odporność odmian jęczmienia jarego na ten czynnik chorobotwórczy. *Acta Mycol.* VI: 187-248.
- Łacicowa B., 1977. Badania zbiorowisk grzybów w glebie spod uprawy lnu porażonego przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* (Bolley) Snyder et Hansen. *Rocz. Nauk Roln., Seria E*, 7: 15-28.
- Łacicowa B., 1978. Penicyljoza tulipana powodowana przez *Penicillium cycloptium* West. *Rocz. Nauk Roln., Seria E*, 8: 65-80.
- Łacicowa B., Pięta D., 1988. Skuteczność zaprawiania fungicydami nasion niektórych gatunków kwiatów. *Rocz. Nauk Roln. Seria E*, 18: 179-189.
- Oktaba W., 1966. Elementy statystyki matematycznej i metody doświadczalnictwa. Warszawa.
- Patil M., Shastri N. V., 1982. Effect of various carbon and nitrogen sources on extracellular production of proteases by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. *India J. Microbiol.*, 22: 115-122.
- Tumanowa T. D., 1981. Osnownyje i otoricznyje wozbuditeli kornewoj gnili w wostocznych rajonach Orenburskoj oblasti i ich charakteristika. *Trudy Latv. Sielskochaz. Akad.*, 188: 57-61.