

Katedra Ochrony Roślin, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. S. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin<sup>1</sup>  
Katedra Roślin Ozdobnych i Architektury Krajobrazu, Wydział Ogrodnictwa i Architektury  
Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin<sup>2</sup>  
e-mail: ewa.krol@up.lublin.pl

EWA KRÓL<sup>1</sup>, DANUTA KOZAK<sup>2</sup>, MARZENA PARZYMIES<sup>2</sup>,  
BARBARA MARCINEK<sup>2</sup>, ALICJA ŚWISTOWSKA<sup>2</sup>

**Mikroorganizmy zasiedlające kultury *in vitro*  
gloriozy (*Gloriosa rothschildiana* O'Brien)  
i czosnków ozdobnych (*Allium* L.)**

---

Microorganisms colonizing *in vitro* culture of *Gloriosa rothschildiana* O'Brien  
and *Allium* L.

**Streszczenie.** Podczas mikrorozmnażania roślin ozdobnych obserwowano zanieczyszczenia pożywki oraz mikrobulw gloriozy i mikropędów czosnków. W celu poznania mikroorganizmów zagrażających kulturom *in vitro* przeprowadzono identyfikację grzybów i bakterii na podstawie cech morfologicznych oraz wybranych testów fizjologicznych i biochemicznych. W przypadku bakterii przeprowadzono także testy patogeniczności, aby w pełni ocenić ich szkodliwość. Okazało się, że najczęściej izolowano niepatogeniczne bakterie, wśród których dominowały Gram-ujemne należące do rodzajów *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* i *Erwinia*. Jednak 5 pektolitycznych izolatów *Erwinia* (*Pectobacterium*) wyizolowanych z mikropędów czosnków uznano za patogeniczne, bowiem powodowały zgniliznę pędów badanych taksonów tej rośliny. Do najczęściej izolowanych grzybów należały gatunki z rodzajów *Sarocladium*, *Penicillium*, *Talaromyces* i *Cladosporium*, które powszechnie występują w przyrodzie jako saprotrofy.

**Słowa kluczowe:** zanieczyszczenia bakteryjne i grzybowe, kultury *in vitro*, identyfikacja, rośliny ozdobne

WSTĘP

Skuteczność rozmnażania *in vitro* zależy od czystości materiału roślinnego. Mogą ją obniżać liczne zakażenia powodowane najczęściej przez grzyby, bakterie, wirusy i roztocza. Źródłem pochodzenia patogenów w kulturach *in vitro* jest materiał inicjalny,

uaktywnienie się patogenów endogennych oraz nieprzestrzeganie zasad higieny podczas pasażowania [Debergh i Maene 1981, Debergh i Vanderschaeghe 1990, Leifert i in. 1994, Wojtania i in. 2005, Orlikowska i Zawadzka 2006, Casselles 2012, Moreno-Vázquez i in. 2014]. Mikroorganizmy wniesione z materiałem inicjalnym ujawniają się w pierwszym pasażu lub przeżywają w stanie utajonym w tkankach i stają się widoczne w późniejszych pasażach. Wszystkie rodzaje zakażeń spowodowanych przez mikroorganizmy rosnące na pożywkach mikrobiologicznych są niepożądane, a część z nich bywa przyczyną znacznych ekonomicznych strat w komercyjnych laboratoriach kultur *in vitro* [George 1993, Reed i in. 1998, Leifert 2000, Altan i in. 2010]. W stadium stabilizacji eksplantatów ujawnia się ok. 50–70% drobnoustrojów wniesionych z eksplantatami inicjalnymi. Natomiast w stadium namnażania tkanek może się ujawnić reszta, która wraz z zanieczyszczeniami wtórnymi stanowi 15–30% przyczyn niepowodzeń [George 1993, Zenkteler 2009]. Szczególnie trudne do odkażenia są organy podziemne: bulwy [Custers i Bergervoet 1994, Altan i in. 2010] i cebule [Kim i De Hertogh 1997, Sochacki i Orlikowska 1997, 2005, Ziv i Lilien-Kipnis 2000, Hidayat 2005].

Celem pracy było poznanie mikroorganizmów zakażających kultury *in vitro* gloriozy w fazie formowania i wzrostu bulw oraz kultury czosnków ozdobnych w czasie namnażania pędów, ponieważ kultury innych gatunków uprawianych w tym samym czasie i w takich samych warunkach były wizualnie czyste.

#### MATERIAŁ I METODY

W badaniach uwzględniono 10 wybranych losowo kolb z zakażoną pożywką i mikrobulwami gloriozy (*Gloriosa rothschildiana* O'Brien) oraz 40 probówek z zakażoną pożywką i pędami czosnków ozdobnych następujących taksonów: *Allium neapolitanum* Cirillo (czosnek neapolitański), *Allium roseum* L. (czosnek różowy), *Allium karataviense* Regel 'Iwory Queen' (czosnek karatawski) oraz *Allium aflatanense* 'Purple Sensation'. Do badań pobrano wszystkie zaobserwowane kolonie grzybów oraz izolaty bakterii reprezentujące różne grupy morfologiczne i pochodzące zarówno z gloriozy, jak i z każdego badanego taksonu czosnku. Kolonie grzybów i bakterii zasiedlających badany materiał przeszczepiono na skosy PDA (bioMerieux), następnie inkubowano w termostacie w temperaturze 22°C, a po doprowadzeniu do kultur aksenicznych oznaczono do gatunku. Identyfikację grzybów przeprowadzono na podstawie kluczy i monografii [Ellis 1971, Sutton 1980, Watanabe 2010, Guarro i in. 2012, Marcinkowska 2012], a ich nazwy podano wg aktualnego statusu taksonomicznego gatunków [Index Fungorum]. Bakterie oznaczono na podstawie testów biochemicznych i fizjologicznych wg Bradbury [1988] oraz Lelliot i in. [1966]. Dla izolatów bakterii wykonano także testy patogeniczności na zdrowych mikrobulwkach gloriozy i pędach czosnku, zgodnie z regułami Kocha, w celu sprawdzenia ewentualnych patogenicznych właściwości bakterii w stosunku do tych organów. W tym celu wykonano inokulację odkażonych powierzchniowo bulwek o średnicy 10 mm i pędów czosnku (1 min. w 50% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH i 3 × 3 min w sterylnej wodzie destylowanej). Komórki bakterii pobrane ze wzrostu 24-godzinnej kolonii nanoszono eż zarówno na nakłute (wariant I), jak i nienakłute organy (wariant II). W każdej

kombinacji doświadczenia użyto po 9 bulwek i pędów (3 × 3 powtórzenia) dla każdego izolatu bakterii. Materiał roślinny inkubowano w termostacie w temperaturze 24°C. Po 24–48 h hodowli sprawdzano efekt inokulacji.

#### WYNIKI I DYSKUSJA

Spośród grzybów zasiedlających pożywkę i mikrobulwy gloriozy uzyskano 23 izolaty reprezentujące 7 gatunków. Dominowały grzyby z rodzajów: *Sarocladium* sp., *Talaromyces* sp., *Cladosporium* sp. i *Penicillium* sp. W obrębie rodzajów: *Clonostachys* sp., *Fusarium* sp. i *Alternaria* sp. uzyskano pojedyncze izolaty (tab. 1).

Tabela 1. Grzyby kolonizujące pożywkę i mikrobulwy gloriozy (*Gloriosa rothschildiana* O'Brien) na etapie formowania bulw z pędów namnożonych *in vitro*

Table 1. Fungi colonizing medium and microtubers of *Gloriosa rothschildiana* O'Brien at the stage of tuber formation from shoots obtained *in vitro*

Gatunek grzyba Fungi species	Liczba izolatów Number of isolates
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	1
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	5
<i>Clonostachys rosea</i> (Link) Schroers, Samuels, Seifert et W. Gams	1
<i>Fusarium fujikuroi</i> Nirenberg	1
<i>Penicillium expansum</i> Link.	5
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb.	7
<i>Talaromyces funiculosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvald et Seifert	3
Razem/ Total	23

Wśród badanych izolatów bakterii 16 stanowiło grupę Gram-ujemnych, a 2 izolaty były Gram-dodatnie (tab. 2). Przeprowadzone testy pozwoliły ustalić, że mikrobulwy gloriozy i pożywka kolonizowane były przez różne rodzaje bakterii, wśród których dominowały izolaty *Pseudomonas* spp. (tab. 2). Izolaty bakterii tworzące różowe kolonie nie zostały zidentyfikowane ze względu na brak wzrostu lub bardzo słaby wzrost na użytych do testowania podłożach hodowlanych. Okazało się ponadto, że badane izolaty bakterii nie wykazywały patogenicznych właściwości wobec mikrobulw gloriozy, bowiem w obu wariantach doświadczenia naniesione bakterie rozwijały się na ich powierzchni, nie powodując nekrozy lub gnicia tkanek.

Z pożywki i mikropędów czosnku ozdobnego uzyskano 15 izolatów grzybów, reprezentujących 5 gatunków. Najliczniej (7 izolatów) występował gatunek *Penicillium expansum*, natomiast w przypadku *Sarocladium kiliense*, *Alternaria alternata*, drożdży i *Cladosporium macrocarpum* uzyskano odpowiednio 3, 2, 2 i 1 izolat grzyba (tab. 3).

Tabela 2. Charakterystyka bakterii izolowanych z mikrobulw gloriozy (*Gloriosa rothschildiana* O'Brien) uzyskanych z pędów namnożonych *in vitro*

Table 2. Characteristics of bacteria isolated from microtubers of *Gloriosa rothschildiana* O'Brien obtained from shoots *in vitro*

Nr izolatu No of isolate	Kolor kolonii Colony colour	Barwienie Grama Gram staining (3% KOH)	Tworzenie przetrwalników Spores forming	Fluorescencja na King B Fluorescence on King B	Oksydaza Oxidase	O/F metabolizm O/F metabolism	Dihydroliza argininy Arginine dihydrolysis	Redukcja azotanów Nitrates reduction	Levan	Test pektolityczny Pectolytic test	Wynik identyfikacji Identification result
1–2	kremowo-biały creamy-white	+	+	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	–	<i>Bacillus</i> sp.
3–5	biały white	–	nt.*	+	+	O	+	+	+	–	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
6–8	kremowo-biały creamy-white	–	nt.	–	+	O	–	–	–	–	<i>Pseudomonas</i> spp.
9–11	kremowo-biały creamy-white	–	nt.	–	–	O/F	+	+	–	–	<i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> , <i>Erwinia cypripedii</i>
12–14	szaro-biały grey-white	–	nt.	–	–	O/F	–	+	–	–	<i>Erwinia</i> spp.
15–16	żółtawy yellowish	–	nt.	–	–	O/F	–	+	–	–	<i>Pantoea agglomerans</i>
17–18	różowy pink	–	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	Nie oznaczono Not marked

\*nt. – nie testowano/ not tested

Tabela 3. Grzyby kolonizujące pożywkę i mikropędy czosnków ozdobnych (*Allium* L.)  
 Table 3. Fungi colonizing medium and microshoots of ornamental alliums (*Allium* L.)

Gatunek grzyba Fungi species	Liczba izolatów Number of isolates
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	2
<i>Cladosporium macrocarpum</i> Preuss.	1
<i>Penicillium expansum</i> Link.	7
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb.	3
Drożdże	2
Razem/ Total	15

Wszystkie wyizolowane z hodowli *Allium* L. bakterie były Gram-ujemne. Przeprowadzone testy wykazały, że najliczniej występowały izolaty *Pseudomonas fluorescens* oraz bakterie z rodzajów *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* lub *Erwinia cypripedii* (tab. 4). Z fragmentów roślin czosnku należącego do *Allium karataviense* 'Ivory Queen' i *A. roseum* uzyskano także izolaty *Erwinia* sp. (obecnie *Pectobacterium*) z grupy powodujących miękkie zgnilizny. Okazało się, że tylko izolaty bakterii pektolitycznych były zdolne do powodowania zgnilizny zarówno pędów zranionych, jak i niezranionych wszystkich taksonów czosnku.

Wśród grzybów i bakterii najczęściej zakażających kultury gloriozy oraz czosnków znalazły się gatunki znane z występowania w kulturach *in vitro* [Brunner i in. 1995, Kowalik i Reby 2002, Reby i Kowalik 2003, Oduyayo i in. 2004, 2007, Orlikowska i Zawadzka 2006, Altan i in. 2010, Casselles 2012, Msogoya i in. 2012, Helay i in. 2014, Moreno-Vázquez i in. 2014]. Ich obecność w trakcie mikrorozmnażania wynika zapewne z częstego zasiedlania roślin w warunkach naturalnych. Zarówno grzyby, jak i bakterie mogą rozwijać się na powierzchni roślin, w przestrzeniach międzykomórkowych, a także wewnątrz komórek, czasami w sposób latentny, co sprzyja wnoszeniu mikroorganizmów do kultur *in vitro* wraz z eksplantatami inicjalnymi [Wojtania i in. 2005, Orlikowska i Zawadzka 2006, Moreno-Vázquez i in. 2014]. Ponadto uważa się, że powszechne bytowanie tych mikroorganizmów w powietrzu laboratoryjnym stwarza dogodne warunki do zakażeń w czasie rozlewania pożywki i pasażowania [Kowalik i Reby 2002, Reby i Kowalik 2003].

Większość grzybów i bakterii izolowanych w obecnych badaniach stanowiły gatunki saprotroficzne, powszechnie występujące w przyrodzie. Jednak zdaniem wielu autorów obecność mikroorganizmów, zarówno patogenicznych, jak i niepatogenicznych, a nawet pożytecznych, jest w kulturach roślinnych niepożądana [Orlikowska i Zawadzka 2006, Moreno-Vázquez i in. 2014]. Wynika to z faktu, że w trakcie masowego rozmnażania obniżają wydajność namnażania, ukorzeniania lub regeneracji przybyszowej, a niektóre z nich mogą ujawnić patogeniczne właściwości po przeniesieniu roślin do szklarni lub na pole [Wojtania i in. 2005, Orlikowska i Zawadzka 2006]. Zdaniem Msogoya i in. [2012] niektóre gatunki z rodzaju *Aspergillus* niszczą komórki roślinne mimo braku patogenicznych uzdolnień, produkują bowiem toksyczne metabolity.

Tabela 4. Charakterystyka bakterii izolowanych z pożywki i mikropędów czosnków ozdobnych (*Allium* L.) na etapie namnażania pędów  
 Table 4. Characteristics of bacteria isolated from the medium and microshoots of ornamental alliums (*Allium* L.) in shoot multiplication stage

Nr izolatu No of isolate	Kolor kolonii Colony colour	Barwienie Grama (3% KOH) Gram staining (3% KOH)	Fluorescencja na King B Fluorescence on King B	Oksydaza Oxidase	O/F metabolizm O/F metabolism	Dihydroliza argininy Arginine dihydrolysis	Redukcja azotanów Nitrates reduction	Levan	Test pektolityczny Pectolytic test	Wynik identyfikacji Identification result
1–9	biały white	–	+	+	O	+	+	+	–	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
10–14	kremowo-biały creamy-white	–	–	–	O/F	+	+	–	–	<i>Enterobacter,</i> <i>Citrobacter,</i> <i>Klebsiella,</i> <i>Erwinia cypripedii</i>
15–19	szaro-biały gray-white	–	–	–	O/F	–	+	–	+	<i>Erwinia*</i>
20–21	żółtawy yellowish	–	–	–	O/F	–	+	–	–	<i>Pantoea agglomerans</i>

\* z grupy powodujących mokre zgnilizny/ from the group causing wet rot

Wśród zakażeń pożywki oraz fragmentów gloriozy i czosnków w kulturach *in vitro* dominowały zakażenia powodowane przez bakterie, co wskazuje na większą szkodliwość tej grupy mikroorganizmów w badanych warunkach doświadczenia. Pojawienie się w czasie mikrorozmnażania izolatów bakterii z rodzaju *Erwinia* spp. (*Pectobacterium*) i *Pseudomonas* spp. z grupy fluoryzujących, wśród których znajdują się gatunki patogeniczne o silnych właściwościach pektolitycznych, mogło sugerować ich znaczną szkodliwość dla materiału roślinnego [Bradbury 1988, Orlikowska i Zawadzka 2006]. Jednak wobec braku nekroz i gnicia inokulowanych w prezentowanych badaniach mikrobulw gloriozy należy uznać izolaty tych bakterii za niepatogeniczne, a jedynie kolonizujące badany materiał i utrudniające proces mikrorozmnażania. Jednocześnie stwierdzone występowanie bakterii pektolitycznych w kulturach czosnków potwierdziło szkodliwość *Erwinia* sp. (*Pectobacterium*) dla tej rośliny, co wykazano także we wcześniejszych badaniach [Bogatko i Sobiczewski 1989, Kuropatwa i in. 1997].

Pojawiające się w czasie mikrorozmnażania gloriozy różowe kolonie bakterii mogły reprezentować gatunek *Methylobacterium mesophilicum*, bowiem gatunek ten należy do metylotrofów fakultatywnych, które nie tworzą kolonii na typowych pożywkach bakterijskich [Orlikowska i Zawadzka 2006].

#### WNIOSKI

1. Większość grzybów i bakterii zasiedlających mikrobulwy gloriozy, mikropędy czosnku oraz pożywkę reprezentowało saprotroficzne rodzaje, powszechnie występujące w przyrodzie.

2. Dominacja bakterii wśród mikroorganizmów zanieczyszczających kultury *in vitro* wskazuje na ich większą szkodliwość, zwłaszcza że pektolityczne izolaty *Pectobacterium* należą do patogenów wielu gatunków roślin.

#### PIŚMIENNICTWO

- Altan F., Burun B., Sahin N., 2010. Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *Afr. J. Biotechnol.* 9(7), 991–995.
- Bogatko J., Sobiszewski P., 1989. Bacterial soft rot of hyacinth and trials of its control. *Proc. of the 7<sup>th</sup> Intern. Conf. of Plant Pathology*. W: Z. Klement (red.), *Plant pathogenic bacteria*, Budapest, 801–805.
- Bradbury J.F., 1988. Identification of cultivable bacteria from plants and plant tissue cultures by use of simple classical methods. *Acta Hort.* 25, 27–37.
- Brunner I., Echegaray A., Rubluo A., 1995. Isolation and characterization of bacterial contaminants from *Dieffenbachia amoena* Bull, *Anthurium andreaeanum* Linden and *Spathiphyllum* sp. Shoot cultured *in vitro*. *Sci. Hortic.* 62, 103–111.
- Casselles A.C., 2012. Pathogen and biological contamination management in plant tissue culture: phytopathogens, *in vitro* pathogens and *vivo* pests. *Methods Mol. Biol.* 877, 57–80.
- Custers J.B.M., Bergervoet J.H.W., 1994. Micropropagation of glorioza: Towards a practical protocol. *Sci. Hortic.* 57, 323–334.
- Debergh P.C., Maene L.J., 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci. Hortic.* 14, 335–345.

- Debergh P.C., Vanderschaeghe A., 1990. Mass propagation of *in vitro* plantlets. *Chron. Hortic.* 30(1), 1–2.
- Ellis M.B. 1971. *Dematiaceae, Hyphomycetes*. Com. Myc. Inst., Kew, Surrey, England, 608 ss.
- George E.F., 1993. Plant propagation by tissue culture. Part 1. The technology. Exegetics Ltd., Basingstoke, UK.
- Guarro J., Gené J., Stchigel A.M., Figueras M.J., 2012. Atlas of soil Ascomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 485 ss.
- Helaly M.N., El-Metwally M.A., El-Hoseiny H., Omar S.A., El-Sheery N.I., 2014. Effect of nanoparticles on biological contamination of *in vitro* cultures and organic regeneration of banana. *Aust. J. Crop Sci.* 8(4), 612–624.
- Hidayat M., 2005. *In vitro* plant regeneration and bulblet formation of shallots (*Allium ascalonicum* L.) ‘Sumenep’. *Acta Hortic.* 688, 251–257.
- Index Fungorum, www.indexfungorum.org.
- Kim K.W., De Hertogh A., 1997. Tissue culture of ornamental flowering bulbs (Geophytes). *Hortic. Rev.* 18, 87–169.
- Kowalik M., Reby E., 2002. Zakażenia powodowane przez bakterie na roślinach sadowniczych w kulturach *in vitro*. *Zesz. Nauk. AR Krak.* 388(82), 139–142.
- Kuropatwa E., Machowicz-Stefaniak Z., Nurzyńska-Wierdak R., Zalewska E., 1997. The study of pathogenicity of bacterial isolates from garlic (*Allium sativum* L.) bulbs. *Phytopathol. Pol.* 13, 39–47.
- Leifert C., 2000. Quality assurance systems for plant cell and tissue culture; the problem of latent persistence of bacterial pathogens and *Agrobacterium*-based transformation vector systems. *Acta Hortic.* 530, 87–92.
- Leifert C., Morris C.E., Waites W.M., 1994. Ecology of microbiological saprophytes and pathogens in tissue cultures and field-grown plants: reason for contamination problems *in vitro*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13(2), 139–189.
- Lelliot R.A., Billing E., Hayward A.C., 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonas. *J. App. Bacteriol.* 28, 470–489.
- Marcinkowska J. 2012. Oznaczanie rodzajów grzybów *sensu lato* ważnych w fitopatologii. PWRiL, Warszawa, 508 ss.
- Moreno-Vázquez S., Larranaga N., Uberhuága E.C., Bolacel Braga E.J., Perez-Luiz C., 2014. Bacterial contamination of *in vitro* plant cultures: confounding effects on somaclonal variation and detection of contamination in plant tissues. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 119(3), 533–541.
- Msogoya T., Kanyagha H., Mutigitu J., Kulebelwa M., Mamiro D., 2012. Identification and management of microbial contaminants of banana *in vitro* cultures. *J. Appl. Biosci.* 55, 3987–3994.
- Odutayo O.I., Amusa N.A., Okutade O.O., Ogunsanwo Y.R., 2007. Determination of the sources of microbial contaminants of cultured plant tissues. *Plant Pathol. J.* 6(1), 77–81.
- Odutayo O.I., Oso R.T., Akinyemi B.O., Amusa N.A., 2004. Microbial contaminants of cultured *Hibiscus cannabinus* and *Telfaria occidentalis* tissues. *Afr. J. Biotechnol.* 3(9), 473–476.
- Orlikowska T., Zawadzka M. 2006. Bakterie w kulturach tkanek roślinnych *in vitro*. *Biotechnologia* 4(75), 64–77.
- Reby E., Kowalik M., 2003. Microbiological analysis of air in the *in vitro* cultures laboratories. *Folia Hortic.* 15(2), 211–216.
- Reed B.M., Mentzer J., Tanprasert P., Yu X., 1998. Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 52, 67–70.
- Sochacki D., Orlikowska T., 1997. Inicjacja kultur narcyza z różnych eksplantatów. *Zesz. Nauk. AR Krak.* 318(50), 199–202.



- Sochacki D., Orlikowska T., 2005. The factors influencing micropropagation of *Narcissus*. *Acta Hort.* 673, 669–673.
- Sutton B.C., 1980. *Coleomycetes*, fungi imperfecti with picnidia, acervuli and stroma. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, 696.
- Watanabe T., 2010. Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species. 3rd edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, 404 ss.
- Wojtania A., Puławska J., Gabryszewska E., 2005. Identification and elimination of bacterial contaminants from *Pelargonium* tissue cultures. *J. Fruit Orn. Plant Res.* 13, 101–108.
- Zenkter E., 2009. Drobnoustroje endogenne i biotyżacja. W: Malepszy S. (red.), *Biotechnologia roślin*. PWN, Warszawa, rozdz. 6, 54–75.
- Ziv M., Lilien-Kipnis H., 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. *Plant Cell Rep.* 19, 845–850.

**Źródło finansowania.** Badania były finansowane przez MNiSW w ramach działalności statutowej Katedry Roślin Ozdobnych, Dendrologii i Architektury Krajobrazu UP w Lublinie.

**Summary.** Contaminations of the gloriosa microtubers and allium microshoots as well as the medium were observed during the micropropagation. In order to recognize microorganisms that threaten *in vitro* cultures, identification of fungi and bacteria was carried out on the basis of morphological characteristics and selected physiological and biochemical tests. In case of bacteria, tests of pathogenicity were also conducted to fully assess their harmfulness. It was found out that the most commonly isolated were non-pathogenic Gram-negative bacteria species of the *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* and *Erwinia* strains. However, 5 pectolytic isolates from allium microshoots were found to be pathogenic as they caused the rot of garlic shoots of all the studied plant taxa. *Sarocladium*, *Penicillium*, *Talaromyces* and *Cladosporium* were the most frequently isolated fungi, which are commonly found in nature as saprotrophs.

**Key words:** bacterial and fungal contamination, *in vitro* cultures, identification, ornamental plants

Otrzymano/ Received: 6.07.2017  
Zaakceptowano/ Accepted: 16.01.2018