
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. XXIII(1)

SECTIO EEE

2013

Katedra Ochrony i Kwarantanny Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. St. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin
e-mail: agnieszka.piwoni@up.lublin.pl

AGNIESZKA PIWONI

**Grzyby występujące na cebulach szafirka armeńskiego
(*Muscari armeniacum*) uprawianego w okolicach Puław**

Fungi occurring on the bulbs of grape hyacinth (*Muscari armeniacum*) grown near Puławy

Streszczenie. Badania przeprowadzono w latach 2009–2011 na gatunku szafirka armeńskiego (*M. armeniacum*) oraz jego odmianie o podwójnych kwiatach ‘Blue Spike’, uprawianych na plantacji o powierzchni ok. 2 arów w okolicy Puław. Ocenę zdrowotności cebul przeprowadzono po ich wykopaniu, pobierając z losowo wybranej skrzynki 100 bulw i oceniając ich stopień porażenia w 5-stopniowej skali. Bulwy wykazujące objawy chorobowe poddano analizie mykologicznej w laboratorium Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Wskaźniki porażenia cebul *M. armeniacum* wahały się od 2,75 do 3,75, zaś *M. armeniacum* ‘Blue Spike’ od 5,25 do 9,75. Wśród grzybów izolowanych z chorych bulw dominowały gatunki: *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum* i *Fusarium oxysporum*. Ten ostatni gatunek izolowano częściej z bulw odmiany ‘Blue Spike’. Na zewnętrznych łuskach cebul, z których wyizolowano gatunek *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum*, stwierdzono lekko zagłębione, brunatne plamy o ciemniejszym brzegu oraz zielonkawy nalot grzybni i zarodnikowania. Na cebulach, z których izolowano *F. oxysporum*, zaobserwowano spękania łusek i suchą zgniliznę piętki oraz mokrą zgniliznę wewnętrzną, postępującą od szyjki i piętki wraz z mumifikacją znekrotyzowanych tkanek. Inne gatunki grzybów rzadziej izolowane z bulw szafirka to: *Geotrichum candidum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* i grzyby należące do rodzaju *Trichoderma*.

Słowa kluczowe: szafirek armeński, cebule, grzyby, wskaźnik porażenia

WSTĘP

Wśród roślin drobnocebulowych reprodukowanych w Holandii szafirki zajmują pierwsze miejsce. Największe są plantacje szafirka armeńskiego – *Muscari armeniacum* Lechtlin ex Baker. W Polsce szafirki zasługują na większe rozpowszechnienie zarówno w uprawie polowej, jak i pod osłonami [Krause 2005].

Cykl uprawowy roślin cebulowych jest jednocześnie okresem, kiedy rozwija się wiele chorób. W glebie dochodzi do porażenia patogenami, które znajdują się w podłożu lub przenoszone są wraz z cebulami w formie zarodników lub sklerocjów. Dla gatunków

zimujących w gruncie okresem szczególnego zagrożenia jest jesień, gdy w czasie ukorzeniania się cebul dochodzi do infekcji systemu korzeniowego i piętek cebul przez *Fusarium oxysporum* [Skrzypczak 1995]. Duże straty może spowodować zgnilizna pędzłakowa (penicilioza), wywoływana przez grzyby z rodzaju *Penicillium*. Łuski cebul porażonych przez te patogeny są twarde, suche, a później gąbczaste. Atakowane są najczęściej cebule uszkodzone podczas zbioru, czyszczenia i sortowania [Krause 2005].

Badania przeprowadzono w latach 2009–2011 na gatunku szafirka armeńskiego (*M. armeniacum*) oraz jego odmianie o podwójnych kwiatach 'Blue Spike', uprawianych na plantacji o powierzchni ok. 2 arów, w miejscowości Wojszyn.

Celem badań było określenie stopnia porażenia odmian, identyfikacja izolowanych grzybów oraz powiązanie objawów chorobowych z izolowanymi gatunkami grzybów.

MATERIAŁ I METODY

Ocenę zdrowotności cebul przeprowadzono po ich wykopaniu, pobierając z losowo wybranej skrzynki 100 cebul i oceniając ich stopień porażenia w 5-stopniowej skali:

- 0 – brak objawów porażenia
- 1 – ślady porażenia – zmiany chorobowe obejmujące do 10% powierzchni
- 2 – porażenie słabe – zmiany chorobowe na 11–25% powierzchni
- 3 – porażenie średnie – zmiany chorobowe na 26–50% powierzchni
- 4 – porażenie silne – zmiany chorobowe obejmujące ponad 50% powierzchni.

Następnie obliczano stopień porażenia poszczególnych odmian wg wzoru Townsenda-Heubergera [Borecki 1984]:

$$P = \frac{\sum_{k=0}^{k=\max} (n_k \cdot K)}{N \cdot K_{\max}} \cdot 100$$

gdzie:

P – stopień porażenia

N – liczba prób w powtórzeniu

K – klasa porażenia

K_{\max} – najwyższa klasa porażenia

n_k – liczba prób, dla których klasa porażenia wynosiła K.

Następnie próbę losową, którą stanowiło po 10 cebul szafirka armeńskiego i jego odmiany wykazujących zmiany chorobowe, poddano analizie mykologicznej w laboratorium Katedry Ochrony i Kwarantanny Roślin UP w Lublinie. Pobrane z pogranicza tkanki chorej i zdrowej fragmenty cebul umieszczono w ażurowych woreczkach, a następnie płukano przez 20 minut pod bieżącą wodą w celu usunięcia zanieczyszczeń. Wstępnie oczyszczony materiał odkażano przez 1 minutę w 10% podchlorynie sodu, a następnie płukano trzykrotnie po 3 minuty w sterylnej wodzie destylowanej. Z odkażonego materiału skalpelem wycinano kilkumilimetrowe fragmenty, które umieszczano we wcześniej przygotowanych szalkach Petriego z agarem ziemniaczano-glukozowym PDA (Difco). 10 fragmentów z każdej cebuli wyłożono do jednej szalki. Pożywka była sterylizowana w autoklawie, pod ciśnieniem 0,1 MPa, przez 20 minut. Szkło laborato-

ryjne i szalki sterylizowano przed każdym użyciem w suszarce, w temperaturze 180°C, przez 3 godziny, według zaleceń Fassatiovej [1983].

Materiał badawczy z szafirka armeńskiego i jego odmiany został wyłożony do dziesięciu szalek z pożywką PDA. Następnie szalki umieszczono w termostacie, w temperaturze 20°C, w celu inkubacji przez siedem dni. Wyrosłe kolonie grzybów zostały odszczone w sterylnych warunkach na przygotowane wcześniej w probówkach skosy z pożywką PDA oraz inkubowane w takich samych warunkach jak szalki Petriego. Grzyby z rodzaju *Penicillium*, w celu ich oznaczenia, hodowano na pożywkach selektywnych: maltozowej i Czapek-Dox, zaś grzyby z rodzaju *Fusarium* – na pożywce SNA (Synthetic Nutrient Poor Agar).

Wyrosłe kolonie grzybów oznaczano na podstawie kluczy i monografii: Raper i in. [1968], Rifai [1969], Domsch i Gams [1970], Booth [1971], Barnett i Hunter [1972], Booth [1977], Domsch i in. [1980], Kwaśna i in. [1991], Ramirez [1982], zaś aktualne nazewnictwo gatunków określono według Index Fungorum [2012].

WYNIKI I DYSKUSJA

W badanym okresie wskaźniki porażenia cebul *M. armeniacum* wahały się od 2,75 do 3,75, zaś *M. armeniacum* 'Blue Spike' od 5,25 do 9,75. W latach 2010–2011 były one statystycznie istotnie wyższe dla odmiany 'Blue Spike'. Wśród izolowanych z cebul gatunków grzybów dominowały: *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum* Dierckx oraz *Fusarium oxysporum* Schltdl. Ten ostatni gatunek był liczniej izolowany z cebul odmiany 'Blue Spike'. W 2010 roku, kiedy wskaźnik porażenia cebul tej odmiany był najwyższy, grzyb ten stanowił 70,3% uzyskanych izolatów, natomiast w 2009 roku, kiedy odmiana wykazywała najniższy wskaźnik porażenia cebul, udział tego gatunku wśród izolowanych grzybów wyniósł jedynie 7,7% (tab. 1).

Na cebulach, z których izolowano *F. oxysporum*, zaobserwowano spękania łusek i suchą zgniliznę piętki oraz mokrą zgniliznę wewnętrzną, postępującą od szyjki i piętki wraz z mumifikacją znekrotyzowanych tkanek. Sprawcą był grzyb glebowy; niektóre jego formy nie zostały dotychczas sklasyfikowane jako formy specjalne ze względu na brak dostatecznych danych fitopatologicznych [Boerema i in. 1988]. Gabarkiewicz i in. [1995] podają, że w przypadku fuzariozy roślin drobnocebulowych nadziemne organy roślin przedwcześnie żółkną i zamierają, a po wydobyciu cebul można zaobserwować zgniliznę tkanek spichrzowych wraz z cielistym nalotem grzybni. W czasie przechowywania porażone cebule gniją i ulegają mumifikacji. Podobne objawy zaobserwowano na badanych cebulach szafirka.

Jak uważa Skrzypczak [1995], do infekcji piątek i korzeni dochodzi w czasie ukończenia, po posadzeniu, a infekcjom sprzyjają wysoka wilgotność gleby oraz okresy ciepłej pogody. Podobnie korzystne warunki do rozwoju *F. oxysporum* – wzrost temperatury i wilgotności gleby – występują po kwitnieniu, w okresie zamierania organów nadziemnych. Grzyb może przetrwać w zakażonym podłożu przez wiele lat (4–6) w postaci zarodników przetrwalnikowych oraz na resztkach cebul i korzeni, jednak najczęściej przenosi się wraz z porażonymi cebulami. Temperatura podłoża powyżej 15°C sprzyja gwałtownemu rozwojowi choroby [Skrzypczak 1993, 1996].

Tabela 1. Grzyby wyizolowane z cebul szafirka armeńskiego w latach 2009–2011

Table 1. Fungi isolated from the bulbs of grape hyacinth in the years 2009–2011

Gatunek/ Odmiana Species/ Variety	Gatunek grzyba Fungus species	2009			2010			2011			2009–2011	
		Liczba izolatów No. of isolates	%	Wskaźnik porażenia Disease index	Liczba izolatów No. of isolates	%	Wskaźnik porażenia Disease index	Liczba izolatów No. of isolates	%	Wskaźnik porażenia Disease index	Liczba izolatów No. of isolates	Wskaźnik porażenia Disease index
<i>Muscari armeniacum</i>	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	-	-		21	22,1		-	-		21	
	<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	-	-		-	-		10	7,6		10	
	<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.	1	1,1		19	20,0		38	28,8		58	
	<i>Geotrichum candidum</i> Link	-	-		3	3,2		-	-		3	
	<i>Penicillium hirsutum</i> var. <i>hirsutum</i> Dierckx	80	92,0	2,75 a*	51	53,7	3,75 b	83	62,9	3,50 b	214	3,33 b
	<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link	-	-		1	1,0		-	-		1	
	<i>Trichoderma viride</i> Pers.	6	6,9		-	-		-	-		6	
	<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bainier	-	-		-	-		1	0,7		1	
	<i>Muscari armeniacum</i> 'Blue Spike'	<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	-	-		-	-		7	7,2		7
<i>Geotrichum candidum</i> Link		21	17,9		-	-		10	10,3		31	
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.		9	7,7	5,25 a	64	70,3	9,75 a	24	24,7	8,25 a	97	7,75 a
<i>Penicillium hirsutum</i> var. <i>hirsutum</i> Dierckx		87	74,4		27	29,7		54	55,7		168	
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bainier		-	-		-	-		2	2,1		2	

* Średnie w kolumnach w obrębie roku badań oznaczone tą samą literą oznaczają brak statystycznej istotności przy poziomie $p = 0,05$ w teście Duncana
Means in columns in the same research year followed by the same letters are not significantly different at the level $p = 0.05$ in Duncan's test

Najliczniej izolowanym z cebul szafirka gatunkiem był *P. hirsutum* var. *hirsutum*, którego izolaty w poszczególnych latach badań stanowiły w przypadku *M. armeniacum* od 53,7 do 92% wyosobnień, zaś w przypadku odmiany 'Blue Spike' od 29,7 do 74,4%. Najliczniej grzyb ten izolowano z cebul szafirka w 2009 roku, jednak wartości wskaźników porażenia były wtedy najniższe (tab. 1).

Na cebulach, z których izolowano *P. hirsutum* var. *hirsutum*, zaobserwowano na powierzchni łusek lekko zagłębione, brunatne plamy o ciemniejszym brzegu oraz zielonkawy nalot grzybni i zarodnikowania. Grzyb ten rozwija się na powierzchni cebul oraz wnika poprzez uszkodzenia do wnętrza tkanek zapasonośnych [Skrzypczak 1996]. Jak podają Boerema i in. [1988], jest to gatunek najczęściej występujący na cebulach roślin z rodziny liliowatych i zwykle nie poraża cebul zdrowych, może natomiast wnikać do cebul uszkodzonych mechanicznie i powodować zgniliznę przechowalności. Przy wydłużonym okresie przechowywania infekowane są wyrastające wierzchołki korzeni oraz następuje zgnilizna tkanek w ich bezpośrednim sąsiedztwie. Po posadzeniu cebul następuje dalszy rozwój choroby, co może doprowadzić do zamierania roślin w okresie wegetacji [Gabarkiewicz i in. 1995].

Pozostałe gatunki grzybów występujące na badanych cebulach szafirka armeńskiego to: *Geotrichum candidum* Link, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aspergillus niger* Tiegh. oraz grzyby z rodzaju *Trichoderma* (tab. 1). Mogły one rozwinąć się na uszkodzonych lub obumarłych tkankach, wcześniej zasiedlonych przez inne gatunki.

Jakkolwiek *Trichoderma viride* Pers. jest znanym antagonistą i nadpasożytem wielu grzybów chorobotwórczych i cebul roślin ozdobnych, występuje zwykle jako saprotrof, może infekować uszkodzone i zasychające korzenie pędzonych tulipanów, powodując zamieranie wierzchołków liści wskutek wydzielania toksycznych metabolitów [Boerema i in. 1988].

Geotrichum candidum to grzyb pospolicie występujący w glebie oraz na materiale roślinnym, w tym na przechowywanych owocach i warzywach, powodujący ich gnicie [Domsch i in. 1980].

Grzyby z rodzaju *Alternaria* rozwijają się doskonale na resztkach obumarłych roślin, do kiełkowania zarodników potrzebują jednak nieznacznej ilości wody. Wszystkie gatunki z rodzaju *Alternaria* rozwijają się w szerokim zakresie temperatury, okresy suszy mogą przetrwać dzięki wieczornej i porannej rosie [Rotem 1994]. Występowanie wymienionych gatunków na cebulach szafirka mogło przyczynić się do dalszej nekrotyzacji tkanek uszkodzonych przez gatunki patogeniczne, a w konsekwencji zmniejszać zdrowotność przechowywanych cebul.

WNIOSKI

Z cebul badanych odmian szafirka najliczniej izolowano *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum*, który powoduje peniciliozę cebul. Drugim pod względem liczebności uzyskanych izolatów był *Fusarium oxysporum* – sprawca zgnilizny fuzaryjnej cebul.

W latach 2010–2011 silniej porażone były cebule odmiany 'Blue Spike' niż gatunku szafirka armeńskiego, co mogło wiązać się z liczniejszym występowaniem na tej odmianie grzyba *Fusarium oxysporum*.

PIŚMIENNICTWO

- Barnett H.L., Hunter B., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, 1–241.
- Boerema G.H., Hamers M.E.C., 1988. Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Series 3a: Fungi on bulbs: Liliaceae. Neth. J. Pl. Path. 94, Suppl. 1, 1–32.
- Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. CMI, Kew, Surrey, England.
- Booth C., 1977. *Fusarium* Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. CMI, Kew, Surrey, England.
- Borecki Z., 1984. Fungicydy stosowane w ochronie roślin. PWN, Warszawa, 47–48.
- Domsch K.H., Gams W., 1970. Pilze aus Agrarböden. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T., 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.
- Fassiatova O., 1983. Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Gabarkiewicz R., Labanowski G., Orlikowski L., Saniewska A., Skrzypczak C., Soika G., 1995. Ochrona ozdobnych roślin cebulowych. Wydawnictwo Plantpress, Kraków.
- Index Fungorum 2012. On line: <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>
- Krause J., 2005. Uprawa szafirków w polu (cz. I). On line: <http://www.ho.haslo.pl/article.php?id=2255>
- Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P., 1991. Grzyby (*Mycota*), t. XXII, Sierpik (*Fusarium*), PAN, Warszawa, Kraków.
- Ramirez C., 1982. Manual and Atlas of the *Penicillia*. Esvier Biomedical Press., Amsterdam, New York and London.
- Raper K.B., Thom Ch., Fennel D.J., 1968. Manual of the *Penicillia*. Hafner Publ. Company, New York and London.
- Rifai M.A., 1969. A revision of the Genus *Trichoderma*. CMI Kew, Surrey, England.
- Rotem J., 1994. The Genus *Alternaria*. Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press, Minnesota.
- Skrzypczak C., 1993. Choroby cebulowych roślin ozdobnych w Polsce. Nowe tendencje w ochronie cebulowych roślin ozdobnych. ISiK Skierniewice, 3–6.
- Skrzypczak C., 1995. Problem chorób grzybowych na plantacjach ozdobnych roślin cebulowych. Biuletyn Informacyjny SPORC, ISiK Skierniewice, 2, 58–60.
- Skrzypczak C., 1996. Ochrona pędzonych roślin cebulowych przed chorobami grzybowymi. Biuletyn Informacyjny SPORC, ISiK Skierniewice, 4, 26–28.

Summary. The research study was carried out in the years 2009–2011 on grape hyacinth (*Muscari armeniacum* Lechtlin ex Baker) and his double-flowered cultivar – ‘Blue Spike’, grown on plantation of 2 ar area near Puławy. The healthiness of bulbs was estimated after digging by taking out 100 bulbs from randomly chosen case and assessing their disease index according to 5-degree scale. Subsequently, bulbs showing disease symptoms were taken for mycological analysis in laboratory of University of Life Sciences in Lublin. In the research time bulb disease index values of *M. armeniacum* ranged from 2.75 to 3.75 but *M. armeniacum* cultivar ‘Blue Spike’ from 5.25 to 9.75. Among fungi isolated from diseased bulbs, species: *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum* and *Fusarium oxysporum* dominated. The latter species was isolated more frequently from the

bulbs of 'Blue Spike' cultivar. On the bulbs, from which species *Penicillium hirsutum* var. *hirsutum* was isolated, on the outer scales were observed slightly sunken, brown lesions with darker margin covered with green rash of mycelium and fungus sporulation. On the bulbs, from which *F. oxysporum* was isolated, there were observed cracking of scales, dry rot of scale base and inner soft rot of bulbs progressing from bulb neck and scale base resulting in mumification of necrotic tissue. Another fungi species less frequently isolated from bulbs of grape hyacinth were: *Geotrichum candidum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* and fungi belonging to genus *Trichoderma*.

Key words: *Muscari armeniacum*, bulbs, fungi, disease index