

PATOGENICZNOŚĆ GRZYBÓW Z RODZAJU *Fusarium* DLA MELISY LEKARSKIEJ (*Melissa officinalis* L.)

Ewa Zalewska, Zofia Machowicz-Stefaniak

Akademia Rolnicza w Lublinie

Streszczenie. Celem pracy było określenie patogeniczności izolatów *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* wyizolowanych z różnych gatunków ziół dla melisy lekarskiej. Przeprowadzono trzy różne testy patogeniczności. W warunkach laboratoryjnych określono oddziaływanie płynów pohodowlanych i wodnej zawiesiny konidiów *Fusarium* spp. na zdolność kiełkowania rozłupków melisy lekarskiej. Oddziaływanie *Fusarium* spp. na wschody i zdrowotność siewek przebadano w komorze klimatyzacyjnej, przy zastosowaniu metody infekcji przez zakażoną glebę. Izolaty badanych gatunków, bez względu na ich pochodzenie, powodowały nekrozę kielków i korzeni roślin. Spośród stosowanych metod sztucznej infekcji najszybszą ocenę patogeniczności izolatów *Fusarium* spp. dla melisy lekarskiej zapewnia metoda z użyciem płynów pohodowlanych. Badane izolaty *Fusarium* spp. uznano za patogeniczne dla melisy lekarskiej na podstawie pozytywnych testów patogeniczności oraz ich częstego izolowania z rozłupków, korzeni i podstawy pędów zamierających roślin na plantacjach produkcyjnych.

Słowa kluczowe: *Melissa officinalis* L., *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, testy patogeniczności

WSTĘP

Melissa officinalis jest wieloletnią rośliną przyprawowo-lecniczą uprawianą w południowo-wschodniej Polsce. Mimo właściwości leczniczych substancji czynnych pozyskiwanych z melisy lekarskiej, znane jest występowanie objawów chorobowych na roślinach w uprawie [Machowicz-Stefaniak i in. 2002a].

Do obniżenia jakości surowca zielarskiego, a także wzrostu i rozwoju roślin przyczynia się wieloletnia uprawa ziół na tym samym stanowisku lub uprawa różnych gatunków ziół po sobie, co wzmaga nagromadzenie się materiału infekcyjnego w środowisku glebowym. Grzyby z rodzaju *Fusarium*, przeżywające w glebie w postaci saprotroficznej grzybni i chlamydospor [Nelson i in. 1983], są powszechnymi patogenami wielu

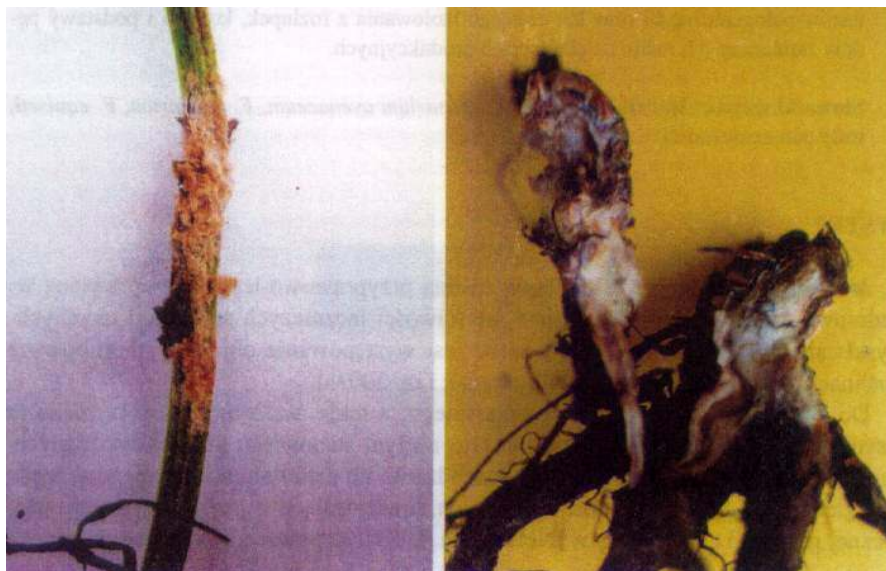
Adres do korespondencji – Corresponding author: Ewa Zalewska, Zofia Machowicz-Stefaniak, Katedra Fitopatologii Akademii Rolniczej w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, e-mail: zalewska@agros.ar.lublin.pl, machow@agros.ar.lublin.pl

gatunków ziół w różnych krajach europejskich [Reuveni 1982, Filoda i in. 1998, Machowicz-Stefaniak i in. 2002a, 2002b, Zimowska i Machowicz-Stefaniak 2004].

W ostatnich latach stwierdzono występowanie *Fusarium* spp. na różnych organach, a zwłaszcza na podstawie pędów melisy lekarskiej [Machowicz-Stefaniak i in. 2002a]. Do najczęściej notowanych należały gatunki *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc., *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht. emend. Syd. et Hans. i *F. subglutinans* (Wollenw. et Reinking) Nelson, Toussoun et Marasas comb. nov. Często izolowanie *Fusarium* spp. z ziół oraz wykazana wcześniej ich patogeniczność dla tymianku właściwego [Machowicz-Stefaniak i Zalewska 2004] zasugerowały potrzebę wykonania podobnych badań z uwzględnieniem rozłupki i siewek melisy lekarskiej.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach uwzględniono po 3 izolaty *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* wybrane losowo spośród populacji *Fusarium* spp. uzyskanych w latach 1998–2001 z zamierających roślin melisy lekarskiej (fot. 1), tymianku właściwego, kminku zwyczajnego i dziurawca zwyczajnego. Były to te same izolaty, których patogeniczność przebadano wcześniej dla rozłupki i siewek tymianku właściwego [Machowicz-Stefaniak i Zalewska 2004]. Materiał siewny melisy lekarskiej użyty w doświadczeniach otrzymano z Zielarskiej Stacji Nasiennej w Bydgoszczy.



Fot. 1. *Fusarium* spp. na łodydze (a) i na podstawie pędów (b) dwuletnich roślin melisy lekarskiej
Phot. 1. *Fusarium* spp. on stem (a) and on the base of stems (b) of two-years-old lemon balm plant

W testach patogeniczności uwzględniono oddziaływanie płynów pochodowlanych uzyskanych w wyniku hodowli *Fusarium* spp. na pożywce PDB (Difco) wg metody Mishra i Behr (1976) oraz wodnej zawiesiny infekcyjnej zawierającej $3 \cdot 10^5$ zarodników *Fusarium* spp. w 1 ml sterylnej wody destylowanej na zdolność kiełkowania rozłupki melisy lekarskiej. Oddziaływanie *Fusarium* spp. na wschody i zdrowotność siewek melisy przeprowadzono przy zastosowaniu sztucznej infekcji rozłupki przez zakażoną glebę według Nolla. Doświadczenia prowadzono w sposób dokładnie opisany w pracy Machowicz-Stefaniak i Zalewskiej [2004].

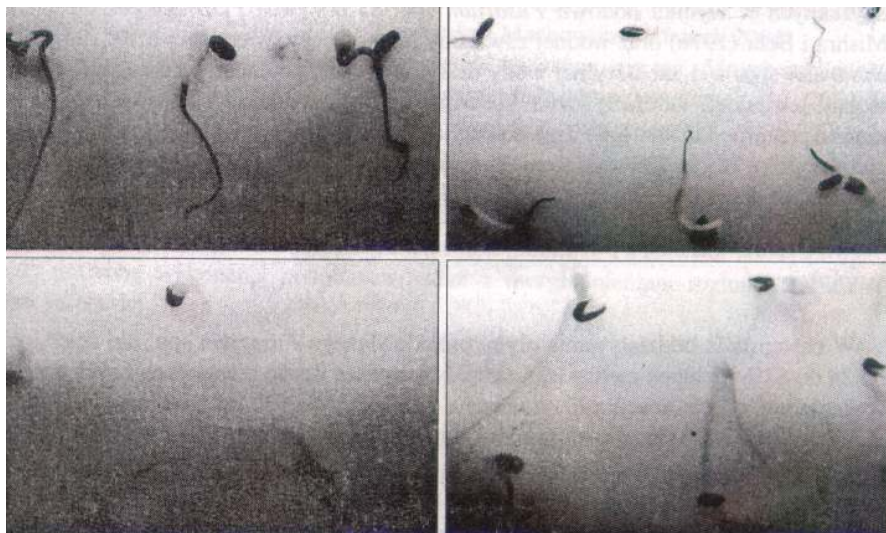
WYNIKI

W następstwie oddziaływania płynu pochodowlanego *Fusarium* spp. nie kiełkowało od 24 do 62% rozłupki melisy lekarskiej. Największą liczbę nieskiełkowanych rozłupki stwierdzono w kombinacji z *F. culmorum*, *F. avenaceum* i *F. equiseti* (tab. 1). Rozłupki te przerosnięte były strzępkami grzybni, a na ich powierzchni występowały sporodochia i zarodniki konidialne badanych gatunków *Fusarium* spp. Rozłupki melisy, które kiełkowały, wykazywały po 2–5 dniach kontaktu z płynem pochodowlanym silną nekrozę kiełków (fot. 2). Istotnie wyższą, w porównaniu z kontrolą, liczbę kiełków z nekrozą stwierdzono w wyniku oddziaływania płynu pochodowlanego izolatu T 50 *F. culmorum* oraz izolatu M 4975 *F. avenaceum*, uzyskanych wcześniej z chorych roślin melisy lekarskiej. Izolaty *F. avenaceum* uzyskane z tymianku właściwego i z kminku zwyczajnego powodowały nekrozę kiełków melisy lekarskiej w stopniu nieróżniącym się istotnie w porównaniu z kontrolą. Znaczną liczbę kiełków z nekrozą stwierdzono także w wyniku oddziaływania płynu pochodowlanego *F. equiseti*, zwłaszcza izolatu M 1366,

Tabela 1. Oddziaływanie płynu pochodowlanego *Fusarium* spp. na kiełkowanie rozłupki melisy lekarskiej (*Melissa officinalis* L.)

Table 1. Effect of *Fusarium* spp. post-culture liquid on the germinations of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) schizocarps

Gatunek grzyba Fungus species	Liczba = % badanych nasion Numbers = % of studied seeds	Observacja po 9 dniach Observation 9 days after incubation			
		rozłupki niekiełkujące non-germinated schizocarps	rozłupki skiełkowane germinate schizocarps	kiełki z nekrozą shoots with necrosis	
<i>Fusarium avenaceum</i>	isolate K455	100	35 abc	65	34 ab
	isolate M 4975	100	48 abc	52	52 b
	isolate T 5093	100	62 c	38	38 ab
<i>Fusarium culmorum</i>	isolate T 50	100	43 abc	57	55 b
	isolate T 46	100	57 bc	43	21 ab
	isolate T 147	100	58 bc	42	33 ab
<i>Fusarium equiseti</i>	isolate D1125	100	32 ab	68	22 ab
	isolate M 1366	100	24 a	76	47 ab
	isolate T 23	100	32 ab	68	36 ab
Kontrola – Control	100	20 a	80	0 a	
Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie Values marked with the same letter not differ			NIR = 48,5036		NIR = 28,74656



Fot. 2. Nekroza kielków melisy lekarskiej w wyniku sztucznej infekcji rozłupek zawiesina zarodników: a – *Fusarium avenaceum*, b – *F. culmorum*, c – *F. equiseti*, d – kontrola
 Phot 2. The necrosis of lemon balm shoots after artificial inoculation of schizocarps with water suspension of conidia: a – *Fusarium avenaceum*, b – *F. culmorum*, c – *F. equiseti*, d – control

Tabela 2. Wpływ sztucznej infekcji wodną zawiesiną konidiów *Fusarium* spp. na kiełkowanie rozłupki melisy lekarskiej (*Melissa officinalis* L.)

Table 2. Effect of artificial infection with water suspension of *Fusarium* spp. conidia on the germinations of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) schizocarps

Gatunek grzyba Fungus species	Liczba = % badanych nasion Numbers = % of studied seeds	Observacja po 9 dniach Observation 9 days after incubation			Reizolacja grzyba Reisolation of fungi	
		rozłupki nie- kiełkujące non-germinated schizocarps	rozłupki skieł- kowane germinate schizocarps	kiełki z nekrozą shoots with necrosis		
<i>Fusarium avenaceum</i>	isolate K455	100	13 a	87	22 a	68
	isolate M 4975	100	9 a	91	91 c	90
	isolate T 5093	100	12 a	88	88 c	82
<i>Fusarium culmorum</i>	isolate T 50	100	13 a	87	78 bc	70
	isolate T 46	100	18 a	82	55 b	84
	isolate T 147	100	28 a	72	72 bc	56
<i>Fusarium equiseti</i>	isolate D1125	100	11 a	89	7 a	23
	isolate M 1366	100	13 a	87	8 a	49
	isolate T 23	100	17 a	83	15 a	22
Kontrola –Control	100	12 a	88	2 a	0	
Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie Values marked with the same letter not differ			NIR = 29,68932		NIR = 19,57828	

lecz uzyskane wartości nie różniły się istotnie od wartości kontrolnej (tab. 1). Mimo powodowania przez poszczególne izolaty badanych gatunków grzybów nekrozy różnej liczby kielków melisy lekarskiej, porównywane wartości nie różniły się istotnie. W kombinacji kontrolnej nie stwierdzono kielków wykazujących objawy nekrozy.

W wyniku sztucznej infekcji wodną zawiesiną konidiów badanych gatunków grzybów nie skiełkowało od 9 do 28% rozłupek, do 9. dnia obserwacji (tab. 2). Wartości te nie różniły się istotnie od liczby nieskiełkowanych rozłupek w kombinacji kontrolnej. Jednakże u rozłupek, które skiełkowały, już po 3 dniach obserwowano nekrozę kielków. Po 9 dniach kiełki w wyniku kontaktu z izolatami M 4975 i T 5093 *F. avenaceum* oraz T 147 *F. culmorum* w 100% uległy nekrozie. Liczba kielków z nekrozą w kombinacji ze sztuczną infekcją trzema izolatami *F. culmorum* i dwoma izolatami *F. avenaceum* była istotnie większa w porównaniu z kontrolą oraz w porównaniu z kombinacją uwzględniającą izolaty *F. equiseti*. Ze wszystkich znekrotyzowanych kielków i nieskiełkujących rozłupek reizolowano masowo kultury *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* o cechach makroskopowych i mikroskopowych odpowiadających cechom kultur użytych do sztucznej infekcji (tab. 2).

Tabela 3. Wpływ *Fusarium* spp. na wschody melisy lekarskiej (*Melissa officinalis* L.)
Table 3. Effect of *Fusarium* spp. on the shooting up of lemon balm (*Melissa officinalis* L.)

Gatunek grzyba Fungus species	Liczba (%) zakażanych rozłupek Numbers (%) of inoculated schi- zocarps	Obserwacja po 20 dniach Observation after 20 days		Reizolacja grzyba Reisolation of fungi
		liczba (%) wscho- dów number (%) of seedlings	liczba (%) rozłupek niekieł- kujących number (%) of non-germinated schizocarps	
<i>Fusarium avenaceum</i> Isolate M 4975	50 (100)	18 (36) a	32 (64) b	41
<i>Fusarium culmorum</i> Isolate T 46	50 (100)	26 (52) ab	24 (48) ab	38
<i>Fusarium equiseti</i> Isolate M 1366	50 (100)	24 (48) a	26 (52) b	28
Kontrola Control	50 (100)	41 (82) b	8 (18) a	0
Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie Values marked with the same letter not differ			NIR = 15,9733	

W wyniku oddziaływania *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* na wschody i zdrowotność siewek melisy lekarskiej poprzez zakażoną glebę, siewki uzyskano odpowiednio z 36%, 52% i 48% rozłupek. Liczba uzyskanych siewek w kombinacji z *F. avenaceum* i *F. equiseti* była istotnie mniejsza niż w kombinacji kontrolnej, gdzie uzyskano 82% wschodów (tab. 3). Siewki uzyskane w doświadczeniu z *Fusarium* spp., w porównaniu z kombinacją kontrolną, miały zahamowany wzrost, zredukowany system korzeniowy z nekrotycznymi plamami na powierzchni oraz nie tworzyły liści. Analiza mikologiczna nieskiełkowanych rozłupek i siewek z nekrozą wykazała ich zasiedlanie przez *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* (tab. 3).

DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonych badań udokumentowały zdolność testowanych izolatów *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. equiseti* do hamowania kiełkowania rozłupki oraz wschodów i wzrostu siewek melisy lekarskiej. Symptodem porażenia była, podobnie jak w przypadku tymianku właściwego, nekroza kielków i korzeni roślin. Znaczna szkodliwość dla melisy lekarskiej izolatów *Fusarium* spp., niezależnie od pochodzenia, wynika niewątpliwie z ich polifagicznego charakteru pasożytnictwa [Reuveni 1982, Nelson i in. 1983, Łacicowa i in. 1991, Machowicz-Stefaniak i Zalewska 2004]. W przypadku *F. avenaceum* dała się zauważyć największa szkodliwość dla melisy lekarskiej izolatu uzyskanego pierwotnie z tej właśnie rośliny. Gatunki *F. avenaceum* i *F. culmorum* okazały się w testach laboratoryjnych, podobnie jak w przypadku tymianku właściwego, bardziej patogeniczne dla melisy lekarskiej niż *F. equiseti* [Machowicz-Stefaniak i Zalewska 2004]. Po dłuższym oddziaływaniu grzybów na rozłupki melisy lekarskiej, co miało miejsce przy sztucznej infekcji przez zakażoną glebę, różnice w patogeniczności testowanych gatunków nie były istotne.

Wydaje się, że z zastosowanych trzech metod testowania patogeniczności izolatów *Fusarium* spp. dla melisy lekarskiej najodpowiedniejszą, podobnie jak w przypadku tymianku właściwego, okazała się metoda z użyciem płynów pochodzących. Dzięki obecności fitotoksycznych metabolitów grzybów z rodzaju *Fusarium* w płynach pochodzących [Wojciechowski i in. 1995, Kiecana i in. 2002] pozwala ona na najszybszą ocenę patogeniczności *Fusarium* spp. dla materiału siewnego melisy lekarskiej.

Do uznania badanych gatunków z rodzaju *Fusarium* za patogeniczne dla melisy lekarskiej upoważniają pozytywne wyniki testów patogeniczności oraz częste wyosabnianie tych grzybów z materiału siewnego, z korzeni i podstawy pędów zamierających roślin na plantacjach polowych [Machowicz-Stefaniak i Zimowska 2000, Machowicz-Stefaniak i in. 2002a].

PIŚMIENNICTWO

- Filoda G., Kwaśna H., Mikołajewicz M., 1998. Występowanie grzybów z rodzaju *Fusarium* na roślinach leczniczych i przyprawowych. *Herba Pol.* 44, 3, 173–178.
- Kiecana I., Mielniczuk E., Kaczmarek Z., Kostecki M., Goliński P., 2002. Scab response and moniliformin accumulation in kernels of oat genotypes inoculated with *Fusarium avenaceum* in Poland. *Eur. J. Plant. Pathol.* 108, 245–251.
- Łacicowa B., Kiecana I., Pięta D., 1991. Mikoflora materiału siewnego roślin ozdobnych. Cz. I. Mikoflora materiału siewnego cynii (*Zinnia elegans* L.) i groszku pachnącego (*Lathyrus odoratus* L.). *Pr. Inst. Sad. i Kwiac.*, s. B, 16, 109–116.
- Machowicz-Stefaniak Z., Zimowska B., 2000. Grzyby przenoszone przez materiał siewny roślin zielarskich. *Acta Agrobot.* 53, 2, 25–38.
- Machowicz-Stefaniak Z., Zalewska E., Zimowska B., 2002a. Fungi Colonizing various Organs of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Cultivated in South-East Poland. *Proc. 6th Conf. EFPP 2002, Prague. Plant Protection Sci.* 38 (Special Issue 2), 353–356.

- Machowicz-Stefaniak Z., Zimowska B., Zalewska E., 2002b. Grzyby zasiedlające różne organy tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.) uprawianego na Lubelszczyźnie. *Acta Arobot.* 55, 1, 185–197.
- Machowicz-Stefaniak Z., Zalewska E., 2004. Patogeniczność grzybów z rodzaju *Fusarium* dla tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.). *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 3(1), 115–123.
- Mishra C. B. P., Behr L., 1976. Der Einfluss von Kulturfiltraten von *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc. *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. und *Fusarium nivale* (Fr.) Ces. *Griphosphoeria nivalis* Müller et v. Arx auf die Keimung des Weizen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.* 12, 373–377.
- Nelson P. E., Toussoun T. A., Marasas W. F. O., 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pensylv. St. Univ. Press. University Park and London.
- Reuveni R., 1982. *Fusarium equiseti* – a new cause of cumin spice plant wilt in Israel. *Plant Dis.* 66, 498–499.
- Wojciechowski S., Wiśniewska H., Chełkowski J., 1996. Influence of *Fusarium culmorum* infection and its metabolite deoxynivalenol on membranes stability in barley seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 18, (1), 3–6.
- Zimowska B., Machowicz-Stefaniak Z., 2004. Grzyby zagrażające uprawie dziurawca zwyczajnego (*Hypericum perforatum* L.) uprawianego w województwie lubelskim. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus.* 3(1), 61–74.

PATHOGENICITY OF *Fusarium* spp. TO LEMON BALM (*Melissa officinalis* L.)

Abstract. The aim of the present work was to determine the pathogenicity of *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti* isolates, obtained from various species of herbs, to lemon balm. Three different tests of pathogenicity were carried out. The effects of *Fusarium* spp. post-culture liquids and water suspension of conidia on germination of lemon balm schizocarps were studied in laboratory conditions. The effect of *Fusarium* spp. on shooting up and healthiness of seedlings was carried out in climatic chamber conditions using the method with infested soil. All the isolates of fungi species studied caused necrosis of shoots and roots, regardless of their origins. From among three methods of artificial infection used, the method with *Fusarium* spp. post-culture liquids secured a fast estimation of pathogenicity the fungi isolates to lemon balm. The studied isolates of *Fusarium* spp. were recognized as pathogenic to lemon balm on the base of positive results in pathogenicity tests and on the base of their earlier isolation from different organs: schizocarps, roots and the bases of stems, taken from the plantations of lemon balm.

Key words: *Melissa officinalis* L., *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, pathogenicity test

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 18.05.2004