

Grzyby zasiedlające nasiona stewarcji pseudokameliiwatej (*Stewartia pseudocamellia* Max.) oraz ich chorobotwórczość

HALINA KURZAWIŃSKA¹, PIOTR MURAS²

¹Katedra Ochrony Roślin, Akademia Rolnicza w Krakowie, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

²Katedra Roślin Ozdobnych, Akademia Rolnicza w Krakowie,

Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

Department of Plant Protection, Agricultural University of Cracow,

Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków, Poland

Department of Ornamental Plants, Agricultural University of Cracow,

Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków, Poland

Fungi isolated from *Stewartia pseudocamellia* Max. seeds and their pathogenesis

(Otrzymano: 06.04.2005)

Summary

The aim of studies was to determine typical composition of fungi occurring on seeds of *Stewartia pseudocamellia*. The studies conducted on 100 disinfected and 100 nondisinfected seeds of these plants. Isolates of *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Cylindrocarpon radiclecola* and *Rhizoctonia solani* were characterized by pathogenicity towards the investigated *Stewartia pseudocamellia*. In the laboratory experiment, 204 isolations of microorganisms were obtained that belonged to 20 species and form of fungi and bacteria. Among fungi there were both of parasite (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*) and typical saprophytic (*Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Epicoccum* spp., *Mucor* spp.). The dominant fungus on seeds was *Alternaria alternata*. Among the investigated isolates only one isolate (R₄) *Rhizoctonia solani*, was strongly pathogenic, isolates (A₁) *Alternaria alternata* were weakly pathogenic to seedlings of *Stewartia pseudocamellia*.

Key words: microorganisms, seeds, pathogenicity, seedlings, *Stewartia pseudocamellia*

WSTĘP

Wśród drzew i krzewów uprawianych w Polsce stewarcje należą do mało znanych i niedocenianych gatunków. Do ich dużych walorów dekoracyjnych należą: ozdobne

kwiaty, nietypowa pora kwitnienia (koniec czerwca do sierpnia), oryginalna kora oraz atrakcyjne jesienne przebarwienie liści na kolor czerwony lub pomarańczowy (Muras, 1996; Tumilowicz, 2001).

Rozmnażanie stewarcji z nasion nie jest trudne. Jednak biorąc pod uwagę niską żywotność nasion krajowych (gatunek introdukowany z innej strefy klimatycznej), oraz długi okres stratyfikacji (Muras, 2000), mogą one ulec zainfekowaniu przez grzyby lub bakterie.

Z nasionami może przenosić się wiele patogenów roślin. Zakażenie nasion prowadzi nie tylko do obniżenia zdolności ich kiełkowania, ale też w wyniku wysiewu zarazonych nasion patogeny przenoszone są na rozwijające się rośliny, obniżając ich wartość. W dostępnej literaturze zarówno krajowej jak i zagranicznej brak opracowań dotyczących mikroorganizmów zasiedlających nasiona stewarcji. Dlatego też podjęto badania w celu określenia składu gatunkowego grzybów występujących na nasionach stewarcji pseudokameliiowatej oraz określenia chorobotwórczości *Alternaria alternata*, *Cylindrocarpon radicolica*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* w stosunku do siewek tej rośliny.

MATERIAŁ I METODY

Ze względu na niedostępność nasion stewarcji pseudokameliiowatej (*Stewartia pseudocamellia* Max.) w handlu, badania wykonano na materiale pochodzącym z kolekcji dr Murasa w Tomaszkowicach – Pogórze Wielickie. Badania przeprowadzono na 100 nasionach stewarcji pseudokameliiowatej dezynfekowanych i 100 niedezynfekowanych. Nasiona moczo w sterylnej wodzie destylowanej, następnie dezynfekowano w 75% roztworze alkoholu etylowego przez 1 minutę i jeszcze raz płukano w sterylnej wodzie destylowanej. Po osuszeniu nasion w sterylnej bibule, wykładano je po 5 sztuk na zestalonej w płytkach Petriego pożywce PDA. Inkubacja odbywała się w temperaturze pokojowej. Wyrósłe kolnie odszczepiano sukcesywnie na skosy, również z pożywką PDA. Wyizolowane grzyby identyfikowano przy pomocy kluczy mikologicznych i opracowań monograficznych (Both, 1971; Domsch i in., 1980; Ramirez, 1982; Nelson i in., 1983). Częstotliwość występowania poszczególnych mikroorganizmów określano na podstawie liczby uzyskanych izolatów danego mikroorganizmu, którą wyrażono w procentach w odniesieniu do ogólnej liczby izolatów, przyjętej za 100%.

Badania patogeniczności *Alternaria alternata* (A₁), *Cylindrocarpon radicolica* (C₂), *Fusarium oxysporum* (F₃) i *Rhizoctonia solani* (R₄) w stosunku do siewek stewarcji pseudokameliiowatej przeprowadzono w warunkach szklarniowych w pięciu powtórzeniach dla każdej kombinacji. W jednym powtórzeniu użyto 5 siewek stewarcji czyli w sumie jedna kombinacja obejmowała 25 roślin. Czternastodniowe kultury wymieniowych grzybów uprzednio roztarte w moździerzu ze sterylnym piaskiem kwarcowym, wprowadzono do sterylnej substratu składającego się z ziemi, piasku

i otrąb pszennych. Po trzech tygodniach inkubacji w temperaturze 20°C substrat został przerośnięty grzybnią.

Zdezynfekowane plastikowe doniczki napełniono torfem (1/3 objętości doniczki), następnie wkładano przerośnięty grzybnią substrat, w którym umieszczano zdrowe siewki stewartcji. Wzrost i rozwój roślin odbywał się w temp 23–25°C. Rośliny regularnie podlewano i dokonywano wizualnej oceny ich zdrowotności.

Po dziewięciu tygodniach od założenia doświadczenia wykonano analizę stanu zdrowotnego systemu korzeniowego siewek według skali:

Stopień porażenia	Opis objawów
0	Brak objawów obecności patogena w tkance roślinnej, roślina dobrze wykształcona
1	Pojedyncze korzenie zbrązowiałe (mniej niż 10% ogólnej liczby korzeni), brak przebarwień na przekroju poprzecznym szyjki korzeniowej
2	Obecne korzenie o brunatnym przebarwieniu (11–15% ogólnej liczby korzeni), szyjka korzeniowa na przekroju poprzecznym z widocznymi przebarwieniami (do 5%)
3	Obecne korzenie o brunatnym przebarwieniu (powyżej 15% ogólnej liczby korzeni), szyjka korzeniowa na przekroju poprzecznym z widocznymi przebarwieniami (powyżej 5%)
4	Całkowite zamieranie systemu korzeniowego, rozkład tkanki roślinnej w obrębie całego systemu korzeniowego

Wyniki porównano z kontrolą zawierającą substrat niezakażony. Dla każdej kombinacji obliczono procent i średni stopień porażenia systemu korzeniowego stewartcji.

WYNIKI

W wyniku przeprowadzonych badań laboratoryjnych wyosobniono 204 izolaty mikroorganizmów należących do 20 gatunków i form grzybów oraz bakterie (Tab. 1). Dominował gatunek *Alternaria alternata*, który stanowił 16,6% ogółu grzybów izolowanych z nasion dezynfekowanych i 9,0% z niedezynfekowanych (Tab.1). Do grupy dominantów, stanowiących 53,4% ogółu grzybów zasiedlających dezynfekowane nasiona stewartcji pseudokameliiowatej poza wymienionym wyżej należały: *Cladosporium cladosporioides* (10%), *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpon radicolica*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* (każdy po 6,7%). Natomiast z nasion niedezynfekowanych do grupy dominantów, stanowiących 51,8% ogółu grzybów, należały: *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium spp.* (każdy po 8,3%), *Aspergillus spp.* (7,6%), *Botrytis cinerea*, *Epicoccum purpurascens*, *Mucor spp.* (każdy po 6,2%) – Tab. 1.

Tabela 1
 Mikroorganizmy występujące na nasionach stewartcji pseudokameliiowatej
 Table 1
 Microorganisms occurring on seeds of *Stewartia pseudocamellia*

Gatunek grzyba Fungus species	Nasiona dezynfekowane Disinfected seeds		Nasiona niedezynfekowane Nondisinfected seeds	
	Liczba izolatów Number of isolates	Udział procentowy Percentage contribution	Liczba izolatów Number of isolates	Udział procentowy Percentage contribution
<i>Acronium kiliense</i> Grutz	1	1,7	4	2,8
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	10	16,6	13	9,0
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire	2	3,3	6	4,2
<i>Aspergillus</i> spp.	3	5,0	11	7,6
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	4	6,7	9	6,2
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	6	10,0	12	8,3
<i>Cylindrocarpon radicum</i> Wollenweber	4	6,7	6	4,2
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht.	2	3,3	9	6,2
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	1	1,7	3	2,1
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Smith) Sacc.	2	3,3	4	2,8
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.	4	6,7	6	4,2
<i>Mucor</i> spp.	–	–	9	6,2
<i>Penicillium</i> spp.	2	3,3	12	8,3
<i>Pestalotiopsis sydowniana</i> (Bres.) Sutton	3	5,0	5	3,5
<i>Phoma</i> spp.	2	3,3	4	2,8
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	4	6,7	6	4,2
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	2	3,3	2	1,4
<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.) Link	–	–	6	4,2
<i>Ulocladium consortiale</i> (Thüm.) E. Simmons	1	1,7	2	1,4
Fungi not sporulating	3	5,0	6	4,2
Bacteria	4	6,7	9	6,2
Total	60	100,0	144	100,0

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, iż powierzchniowa dezynfekcja etanolem o stężeniu 75% wpływała ograniczająco na liczbę grzybów na powierzchni nasion stewartcji pseudokameliiowej.

Badane grzyby okazały się wysoce patogeniczne w stosunku do siewek stewartcji. Najbardziej patogenicznie działał izolat (R₄) *Rhizoctonia solani* – system korzeniowy siewek porażony był w 90%, a średni stopień w 4-stopniowej skali wyniósł 3,8. Izolat (C₂) *Cylindrocarpon radicicola* porażał system korzeniowy w 73%, natomiast średni stopień porażenia wyniósł 3,2. Spośród badanych grzybów najslabiej patogenicznie działał izolat (A₁) *Alternaria alternata* – Tab. 2.

Tabela 2
Porażenie systemu korzeniowego siewek stewartcji pseudokameliiowej

Table 2
Root system infection of the seedlings of *Stewartia pseudocamellia*

Kombinacja Treatment	Procentowe porażenie systemu korzeniowego Percentage of root system infection	Średni stopień porażenia w skali Average degree of the infection on the scale
<i>Rhizoctonia solani</i> (R ₄)	90	3,8
<i>Cylindrocarpon radicicola</i> (C ₂)	75	3,2
<i>Fusarium oxysporum</i> (F ₃)	50	2,6
<i>Alternaria alternata</i> (A ₁)	25	1,0
Kontrola Control	0	0

DYSKUSJA

Wśród grzybów izolowanych z dezynfekowanych nasion stewartcji pseudokameliiowej przeważały gatunki zaliczane do patogenicznych dla roślin. Stanowiły one 55% uzyskanych wyosobnień. Były to gatunki rodzajów: *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* i *Rhizoctonia*. Pozostałe gatunki rodzajów *Aspergillus*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Mucor* uznano za saprotrofy. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach inni autorzy (Pięta i Łabuda, 1990; Filipowicz i Sońta, 2000).

Grzybem dominującym zarówno na nasionach dezynfekowanych jak i niedezynfekowanych była *Alternaria alternata*. Fakt ten znalazł potwierdzenie w pracach licznych autorów (Kućmierz i Cerek, 1990; Kolasińska, 2000; Kurzawińska i Gajda, 2001). Autorzy wskazują, że może on spowodować osłabienie zdolności kiełkowania nasion lub być sprawcą zgorzeli siewek. Neergaard (1979) podaje, że *Alternaria alternata* nie tylko kontaminuje nasiona, ale może wrastać do perykarpu.

Spośród grzybów rodzaju *Fusarium* dominował gatunek *F. oxysporum*. Przypisuje się mu wywoływanie więdnięcia – zgorzeli naczyń i zgorzeli siewek (Pięta, 1988). Natomiast mniej licznie zasiedlały nasiona stewartcji *F. culmorum* i *F. avenaceum*. Gatunek *F. culmorum* może być przyczyną zgorzeli przedwzrostowej i powzrostowej (Pięta, 1988). Ponadto, jak podaje Orlikowski (2000), oprócz grzybów rodzaju *Phytophthora*, więdnięcie i zamieranie ozdobnych krzewów liściastych mogą powodować również *F. avenaceum* i *F. oxysporum*. Według wymienionego autora *F. avenaceum* zakaża korzenie i szyjkę korzeniową, natomiast grzyb *F. oxysporum* niszczy wiązki przewodzące.

Izolowanie dość dużej liczby kolonii bakterii z nasion niedezynfekowanych i dezynfekowanych pozwala przypuszczać, że bakterie zasiedlają nasiona zewnątrz i wewnątrz i mogą zagrażać kiełkującym nasionom. Znalazło to potwierdzenie w pracy Kućmierz i Cerek (1990).

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że powierzchniowa dezynfekcja nasion wpłynęła ograniczająco na liczbę kolonii mikroorganizmów.

Wyniki uzyskane z przeprowadzonych doświadczeń szklarniowych wskazują na zróżnicowany stopień patogeniczności grzybów w stosunku do siewek stewartcji pseudokameliiowatej. Najbardziej patogenicznie działał izolat *Rhizoctonia solani*. Spowodował on zamieranie siewek stewartcji, a system korzeniowy roślin zgnił całkowicie. Najmniejszą chorobotwórczość w stosunku do siewek stewartcji wykazały izolaty *Alternaria alternata* i *Fusarium oxysporum*. Również Mazur (1990) w swoich badaniach wykazał mniejszą chorobotwórczość grzybów rodzaju *Fusarium*.

Problem zdrowotności materiału siewnego jest bardzo ważny, bowiem wysiew nasion zdrowych decyduje o prawidłowym rozwoju roślin.

LITERATURA

- Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. Comm. Mycol. Instit. Kew, Surrey, England, pp. 237.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H., 1980. Compendium of soil fungi. Acad. Press, London, pp. 859.
- Filipowicz A., Sońta A., 2000. Grzyby zasiedlające nasiona trzech odmian fasoli wielokwiatowej (*Phaseolus coccineus* L.) uprawianej w monokulturze. Zesz. Nauk. Akad. Rol. im. H. Kołłątaja, Krak., 364, Ses. Nauk. 71: 315–318.
- Kolasińska K., 2000. Wybrane cechy wartości siewnej nasion grochu i bobiku. [W:] Warsztaty nasienne, AR w Krakowie 14–17 lutego: 113–116.
- Kućmierz J., Cerek A., 1990. Mikroflora nasion bratka ogrodowego (*Viola wittrockiana* Gams.) oraz wpływ izolowanych grzybów na wschody i zgorzel siewek. Phytopath. Pol., 11: 385–394.
- Kurzawińska H., Gajda I., 2001. Grzyby zasiedlające nasiona maciejki dwurogiej (*Matthiola bicornis* DC). Zesz. Nauk. Akad. Rol. im. H. Kołłątaja, Krak., 381, Ogrod. 24: 71–75.

- Mazur S., 1990. Patogeniczność wybranych gatunków grzybów dla cebulek czosnku pospolitego (*Alium sativum* L.). *Phytopath. Pol.*, 11: 406–416.
- Muras P., 1996. *Stewartia pseudocamellia* Max. – próba selekcji nowych atrakcyjnych form ogrodowych. [W:] Zjazd Członków Sekcji Dendrologicznej PTB w Szczecinie, 3–5 września 1996. Red. A. Stachak. PTB, Szczecin: 25–29.
- Muras P., 2000. *Stewartia pseudocamellia* Max. – ocena kwitnienia populacji krzewów w latach 1995-1999. [W:] Materiały z Konferencji – Nowe technologie w szkółkarstwie ozdobnym Poznań – Kórnik 8-9.09.2000: 88 – 91.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., 1983. *Fusarium* species. The Pennsylvania State University Press. University Park and London, pp. 193.
- Neergaard P., 1979. Seed pathology. Macmillan Press LTD, London, pp. 839.
- Orlikowski L.B., 2000. Najgroźniejsze patogeny w szkółkarstwie roślin ozdobnych. *Sylwan* 4: 155–159.
- Pięta D., 1988. Mikozyzy występujące w uprawach fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) i podatność różnych odmian na porażenie przez niektóre grzyby. *AR Lublin, Rozpr. Nauk.* 111.
- Pięta D., Łabuda H., 1990. The seed mycoflora of the runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Folia Hort.*, 2/2: 63–75.
- Ramirez C., 1982. Manual and atlas of the *Penicillia*. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, New York, Oxford, pp. 874.
- Tumiłowicz J., 2001. Dotychczasowe wyniki uprawy azjatyckich gatunków z rodzaju *Stewartia* L. w Polsce. *Rocz. Dendrol.* 49: 149–157.
- Tylikowska K., 2000. Zdrowotność nasion roślin uprawnych. [W:] Warsztaty nasienne, AR w Krakowie 14-17 lutego: 36–43.

Streszczenie

Badania przeprowadzono na materiale pochodzącym z kolekcji dr Murasa w Tomaszkowicach – Pogórze Wielickie. Badano 100 nasion stewarcji pseudokameliowatej dezynfekowanych i 100 niedezynfekowanych. Badania patogeniczności izolatów grzybów: *Alternaria alternata*, *Cylindocarpon radicolola*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* w stosunku do siewek stewarcji pseudokameliowatej przeprowadzono w warunkach szklarniowych w pięciu powtórzeniach dla każdej kombinacji. W wyniku przeprowadzonych badań laboratoryjnych wyosobniono 204 izolaty mikroorganizmów należących do 20 gatunków i form grzybów oraz bakterie. Wśród grzybów izolowanych z dezynfekowanych nasion stewarcji przeważały gatunki zaliczane do patogennych dla roślin. Były to gatunki rodzajów: *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* i *Rhizoctonia*. Wyniki uzyskane z przeprowadzonych doświadczeń szklarniowych wskazują na zróżnicowany stopień patogeniczności grzybów w stosunku do siewek stewarcji pseudokameliowatej. Najbardziej patogennie działał izolat *Rhizoctonia solani*. Najmniejszą chorobotwórczość w stosunku do siewek stewarcji wykazał izolat *Alternaria alternata*.

VACAT