

TADEUSZ GLASER

NOWE DLA FLORY POLSKIEJ DROBNOUSTROJE CHOROBOTWÓRCZE NA GOŹDZIKACH SZKLARNIOWYCH

WSTĘP

Wśród licznych chorób goździków szklarniowych jedno z czołowych miejsc zajmują wędnięcia pasożytnicze. Z uwagi na duże straty wywoływane przez nie na plantacjach i z powodu zupełnego braku rozeznania w etiologii tych chorób w naszych warunkach, autor przeprowadził w latach 1961—1966 obszerne badania nad tym problemem w oparciu o materiały zebrane w 13 gospodarstwach ogrodniczych zachodniej Polski (Glaser, 1966). Z otrzymanych wyników, mogących zainteresować botaników, na uwagę zasługują trzy nowe dla warunków polskich patogeny znalezione w badanym terenie, wywołujące na goździkach choroby naczyniowe i prowadzące do wędnięcia i zamierania roślin. Morfologii i fizjologii tych patogenów poświęcono niniejszy artykuł.

Z historycznego przeglądu badań nad pasożytniczymi wędnięciami goździków podanego przez Hellmersa (1958, 1960) i Hantschkego (1961) wynika, że pierwszymi stwierdzonymi sprawcami tych chorób były grzyby z rodzaju *Fusarium*. Odkryli je Sturgis w roku 1897 w Ameryce i w tym samym prawie czasie Mangin we Francji. Grzyby te nie zostały jednak przez żadnego z tych autorów ściśle zidentyfikowane. Dopiero parę lat później uczynili to Prillieux i Delacroix stwierdzając, że chodzi tu o gatunek *Fusarium dianthi*. Od tego czasu różne gatunki z rodzaju *Fusarium* były sygnalizowane na goździkach z 22 krajów, na wszystkich prawie kontynentach świata (Hellmers, 1960). Do najczęściej spośród wymienianych w literaturze należały: *Fusarium oxysporum* Schl. f. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans. jako sprawca choroby naczyniowej (Baker, 1957, Hellmers, 1958 i 1960, Moreau, 1957), oraz *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. i *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. (Andreucci, 1959, Ebben, 1958, Hellmers, 1960, Moreau, 1957, Moreau, 1964, Nelson, 1960, Pape, 1964), powodujące zgnilizny podstawy łodyg.

Dalszym etapem na drodze badań nad etiologią było odkrycie przez Wollenwebera (Hellmers, 1958) w roku 1929 nowej choroby naczyniowej goździków powodowanej przez grzyb *Verticillium cinerescens* Wr. W roku 1940 van Beyma

(Hellmers, 1958) przenosi ten grzyb do rodzaju *Phialophora* i nadaje mu nazwę gatunkową *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma. Choć różni autorzy (Hantschke, 1961, Hellmers, 1958) wysuwają zastrzeżenia co do przynależności systematycznej tego patogena, do dziś figuruje on w literaturze pod tą nazwą, a niekiedy, zwłaszcza w pracach anglosaskich, jest używana jeszcze pierwotna nazwa nadana mu przez Wollenwebera. Choroby wywoływane przez *Phialophora cinerescens* były notowane w Anglii (Ebben, 1961), Niemczech (Hantschke, 1961), Holandii (Scholten, 1962), Francji (Moreau, 1957), Danii, Norwegii i Szwecji (Hellmers, 1958), Włoszech (Bestagno, 1960), Ameryce Północnej (Nillson i Dimock, 1964) i Nowej Zelandii (Robinson, 1963).

W roku 1941 Jones (1941) znajduje na goździkach pierwszą chorobę naczyniową, wywołwaną przez bakterię. Rok później Burkholder (1942) oznacza czynnik sprawczy tej choroby i nadaje mu nazwę *Phytomonas caryophylli*, a następnie wspólnie ze Starrem przenoszą bakterię do rodzaju *Pseudomonas* i nadają jej nazwę gatunkową *Pseudomonas caryophylli* (Burk.) Starr et Burk. Dane w literaturze wskazują, że bakteria ta ma duże znaczenie w Ameryce (Dickey i Nelson, 1964, Holtzman i Thomas, 1953, Nelson i Dickey, 1963). W Europie była dotychczas stwierdzona w niedużych ilościach w Szwecji, Niemczech, Holandii i Danii (Hantschke, 1961, Hellmers, 1958) oraz Szwajcarii (Stapp, 1958) i Francji (Lemattre i Tramier, 1965).

W roku 1951 wystąpiła w Holandii nowa naczyniowa choroba bakteryjna na goździkach szklarniowych. Bakker i Scholten (1955) podali pierwotnie, że była powodowana przez *Pseudomonas caryophylli*. Podobną chorobę stwierdził w następnym roku Lelliott (1956) w Anglii i podał, że wywołuje ją szczep *Erwinia chrysanthemii* Burk. Hellmers (1958) na podstawie gruntownych badań porównawczych izolatów holenderskich, angielskich i własnych duńskich udowodnił, że we wszystkich trzech przypadkach chodziło o tę samą bakterię i nazwał ją ostatecznie *Pectobacterium parthenii* Starr var. *dianthicola* Hellm. Poza Holandią, Anglią i Danią bakterię tę notowano w późniejszym czasie także w Szwecji (Nillson, 1962), Niemczech (Hantschke, 1961) i Ameryce Północnej (Tammen, Nelson i Dickey, 1964).

Oprócz wyżej wymienionych patogenów można w literaturze spotkać doniesienia z różnych krajów o występowaniu w większym lub mniejszym nasileniu jeszcze innych czynników chorobotwórczych powodujących więdnienia goździków jak: *Rhizoctonia solani* K. (Moreau, 1957, Pape, 1964, Wager, 1960), *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. (Moreau, 1957, Wager, 1960), *Phytophthora palmivora* Butl. (Andreucci, 1960), *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Andreucci, 1960, Wager 1960), *Alternaria* sp. i *Pleospora* sp. (Bestagno, 1960) oraz *Alternaria dianthi* Stev. et Hall. (Moreau, 1957).

W badaniach własnych (Glaser, 1966) przeprowadzonych w 13 gospodarstwach ogrodniczych na terenie zachodniej Polski stwierdzono, że więdnienia goździków szklarniowych powodowały następujące bakterie i grzyby:

Pectobacterium parthenii Starr. var. *dianthicola* Hellm.

Pseudomonas caryophylli (Burk.) Starr et Burk.

Phialophora cinerescens (Wr.) van Beyma

Fusarium culmorum (Sm.) Sacc.

Fusarium avenaceum (Fr.) Sacc.

Fusarium anguioides Sherb.

Pierwsze trzy patogeny powodowały choroby naczyniowe i nie były dotychczas w Polsce notowane. Można je przeto uznać za nowe czynniki chorobotwórcze goździków szklarniowych i nowe gatunki botaniczne dla warunków polskich. Grzyby z rodzaju *Fusarium* wywoływały zgnilizny podstawy łodyg i nie były w naszych warunkach nowe, ponieważ ich występowanie stwierdzono już na różnych roślinach uprawnych (Zaleski i współpr., 1959, Zelany, 1959). Na goździkach jednak dotąd ich w Polsce nie notowano.

OPIS NOWYCH DLA WARUNKÓW POLSKICH PATOGENÓW GOŹDZIKÓW
Pectobacterium parthenii var. *dianthicola*

Patogen ten należał do najczęstszych sprawców wędnięcia goździków i występował we wszystkich 13 badanych gospodarstwach ogrodniczych, powodując od 60 do 90% ogólnej ilości wypadów na plantacjach.

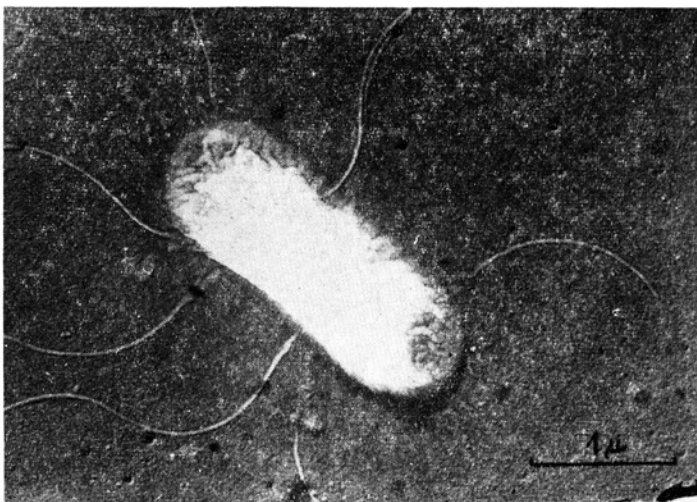
Bakterie badano pod mikroskopem elektronowym i optycznym. Były one pałeczkowate, na obu końcach zaokrąglone, proste, okółorzęskowe (ryc. 1), pojedyncze, w parach lub niekiedy połączone w dość długie łańcuszki (ryc. 2). Na komórkach bakteryjnych stwierdzono od 1 do 13 rzęsek. Długość komórek wynosiła 0,8—3,4 μ , a szerokość 0,5—0,8 μ .

Na agarze ziemniaczano-glukozowym w temperaturze 26—27° C bakteria rozwijała się dobrze, tworząc już po 24 godzinach okrągławe, brudnobiałe, lśniące kolonie o średnicy około 2 mm. Po 2—3 dniach kolonie przybierały kolor jasnobrązowo-żółty, który przechodził później w bardziej intensywnie brązowy, poczynając od nieco wypukłego środka i błędąc ku brzegom. Po dalszych paru dniach brzegi koloni ulegały płatowatemu rozczłonkowaniu, a po 8—10 dniach silnemu postrzępieniu (ryc. 3). Żywotność bakterii na agarze ziemniaczano-glukozowym wynosiła około 2 miesiące. Kultury posiadały charakterystyczny zapach mydlin.

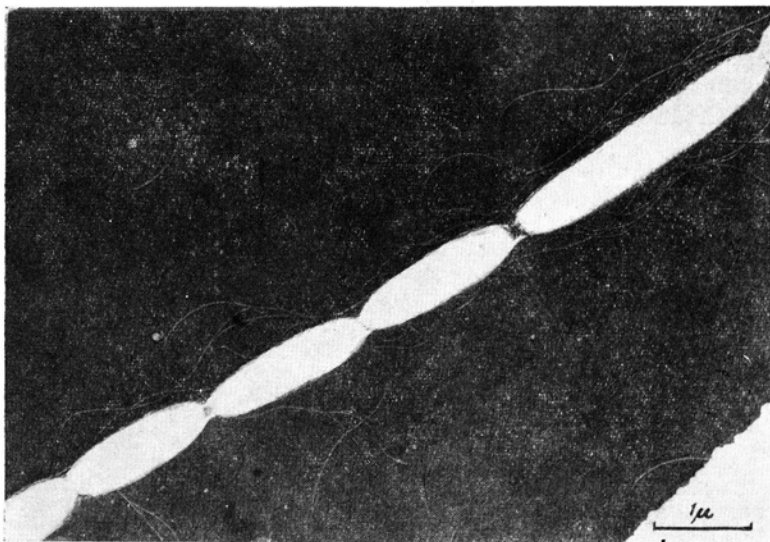
Zachowanie się bakterii badano również na agarze mięsno-peptonowym, bulionie odżywczym, żelatynie mięsno-peptonowej, agarze Endo i sterylnej ziemi ogrodniczej. Żelatyna uległa całkowitemu rozpuszczeniu po 15—20 dniach, a bulion odżywczy zmętnieniu po 24—48 godzinach. Rozwój na pozostałych podłożach był stwierdzony.

Najlepszy rozwój bakterii notowano przy temperaturze 24—28°, a przy 39—41° C wzrostu nie stwierdzono. Bakterie ginęły w ciągu 10 minut przy temperaturze 48—50° (termiczny punkt śmierci).

Badania nad zdolnością bakterii do fermentowania węglowodanów, alkoholi i glukozydów (metoda Hellmersa, 1958) wykazały, że arabinoza, glukoza, galaktoza, mannoza, fruktoza, sacharoza, rafinoza, mannitol i salicyna ulegały fermentacji po 2, ksyloza po 5, ramnoza, inulina i etanol po 10, glicerol po 13 i laktoza po 20 dniach. Fermentacji pod wpływem bakterii nie uległy: maltoza, dekstryna, skrobia,

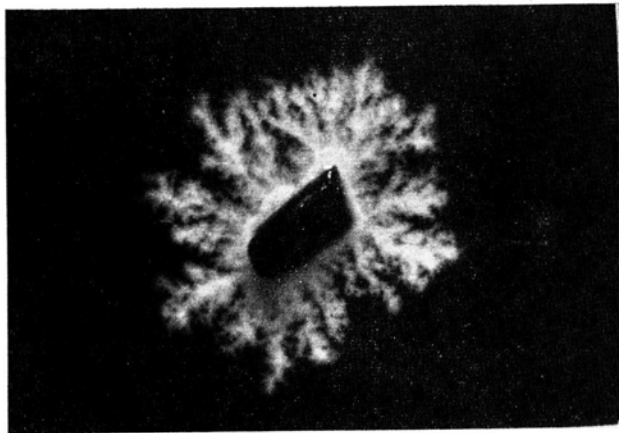


Rys. 1. Bakteria *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* sfotografowana pod mikroskopem elektronowym. Powiększenie 30.000×



Rys. 2. Komórki bakterii *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* zespolone w łańcuszek. Fotografia spod mikroskopu elektronowego. Powiększenie 19.000×

erytritol, sorbitol i dulcitol. Gaz był wytwarzany w pożywce z arabinozą, ksylozą, glukozą, galaktozą, mannozą, fruktozą, sacharozą, rafinozą (słabo), mannitolem, salicyną (słabo) i inuliną. Bakteria fermentowała również sole kwasów organicznych jak: octan i malonian sodu po 5, cytrynian i winian sodu po 7—8 dniach. Mleczan amonu nie uległ alkalizacji.



Rys. 3. Ośmiodniowa kolonia bakterii *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* wyrosła na agarze ziemniaczano-glukozowym z kawałka porażonej nią łydgi goździka. Powiększenie 3×

Hydroliza skrobi pod wpływem bakterii nie następowała. Słaby rozwój bakterii w pożywce Fermiego był dostrzegalny po 3 dniach. Próba na amoniak przeprowadzona metodą Izraelskiego (1962) była pozytywna. Siarkowodór tworzył się na bulionie odżywczym zawierającym 1 i 5% peptonu oraz w wodzie peptonowej po 3—7 dniach. Wzrostu na bulionie odżywczym z 5% dodatkiem NaCl nie obserwowano. Redukcja azotanów na azotyny następowała po 24 godzinach. Tworzenie się indolu w pożywce z tryptofanem obserwowano po 3 dniach. Test z czerwienią metylową na pożywce Clarka był po 2—3 dniach pozytywny, po 6—7 dniach negatywny, a reakcja Voges-Proskauera na tym samym podłożu stale pozytywna. Reakcja Grama była negatywna. Badano także wpływ bakterii na neutralne mleko lakmusowe.

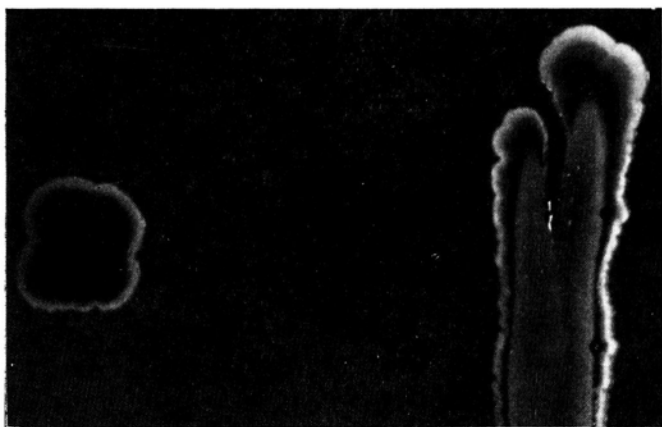
Cechy morfologiczne badanej bakterii jak i wyniki podanych reakcji fizjologicznych były w ogólnym zarysie zgodne z odnośnymi danymi w oryginalnej diagnozie *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* podanej przez Hellmersa (1958).

Pseudomonas caryophylli

Bakteria występowała tylko w jednym z 13 badanych gospodarstw i to w śladowych ilościach. W badaniach morfologiczno-fizjologicznych posługiwano się analitycznymi metodami jak przy *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* z tym, że program tych badań dostosowano do oryginalnej diagnozy gatunku podanej



Rys. 4. Bakteria *Pseudomonas caryophylli* sfotografowana pod mikroskopem elektronowym. Strzałki wskazują rzęski biegunowe. Powiększenie 18.000×



Rys. 5. Ośmiodniowe kolonie bakterii *Pseudomonas caryophylli* na agarze ziemniaczano-glukozowym. Powiększenie 3×

przez Burkholdera (1942) i częściowo do opisu bakterii przedstawionego przez Hellmersa (1958).

Komórki bakterii były pałeczkowate, przeważnie lekko łukowato zgięte, na końcach zaokrąglone, urzęsione najczęściej na jednym, rzadziej na obu biegunach. Liczba rzęsek u badanych osobników wahała się w granicach od 1 do 4 sztuk. Długość komórek wynosiła 1,1—3,0 μ , a szerokość 0,4—0,8 μ (ryc. 4).

Na agarze ziemniaczano-glukozowym kolonie bakterii były widoczne po 48 godzinach od chwili wykonania posiewów. Były one błyszczące, lekko wypukłe

i posiadały kolor brudnobiały do kremowego. Po 2—3 dniach zaczęły przybierać od środka barwę brązową, która po upływie dalszych 2—3 dób stała się czekoladowo-brunatna. Brzeg kolonii w tym stadium był lekko falisty i pozostawał brudnobiały (ryc. 5). Żywołność bakterii na podłożu wynosiła około 4 tygodni.

Rozwój bakterii na agarze mięsno-peptonowym był słaby, a żywotność nie była tu dłuższa niż 8—10 dni. Na bulionie odżywczym zmętnienie podłoża następowało już po 24 godzinach, ale swoje maksimum osiągnęło dopiero po 3—4 dniach. Żelatyna mięsno-peptonowa uległa słabemu rozpuszczeniu tylko pod wpływem jednego z dwu badanych izolatów bakterii. Żywołność patogena w sterylnej ziemi ogrodniczej wynosiła około 8 miesięcy.

Optimum temperatury dla rozwoju bakterii wynosiło 29—32° C, maksimum 45—46° C. Termiczna śmierć bakterii następowała w ciągu 10 minut w temperaturze 52—54° C.

Spśród badanych węglowodanów, alkoholi i glukozydów fermentacji pod wpływem bakterii uległa glukoza, fruktoza, ksyloza, galaktoza, mannoza i sacharoza po 6, arabinoza i rafinoza po 10—12, glicerol po 20 dniach, a laktoza i maltoza dopiero po 4 tygodniach i to w słabym tylko stopniu. Fermentacji nie uległa salicyna, dekstryna i inulina. Wytwarzania gazu przez bakterie nie stwierdzono w obecności żadnego z badanych związków.

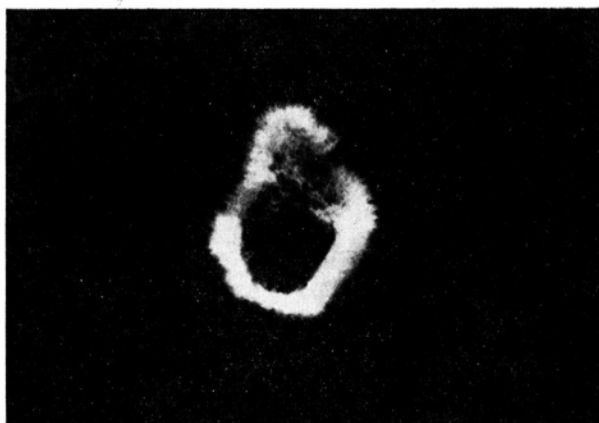
Próby na hydrolizę skrobi i tworzenie siarkowodoru przez bakterię były negatywne. Amoniak wytwarzał się po paru dniach. Redukcja azotanów na azotyny w pożywce mineralnej Rupp'a i Jonsona (Izrailski, 1962) następowała po 24 godzinach, a w bulionie odżywczym po kilku dniach. Bakteria nie tworzyła indolu. Testy z czerwienią metylową i Voges-Proskauera były po 3 dniach negatywne. Reakcja Grama dała rezultat ujemny. Neutralne mleko lakmusowe po 10 dniach przybrało kolor szaro-niebieski. Peptonizację mleka w wierzchniej jego warstwie stwierdzono po 4 tygodniach.

Cechy morfologiczne i fizjologiczne badanej bakterii były zgodne z opisami patogena w pracach Burkholdera (1942) i Hellmersa (1958).

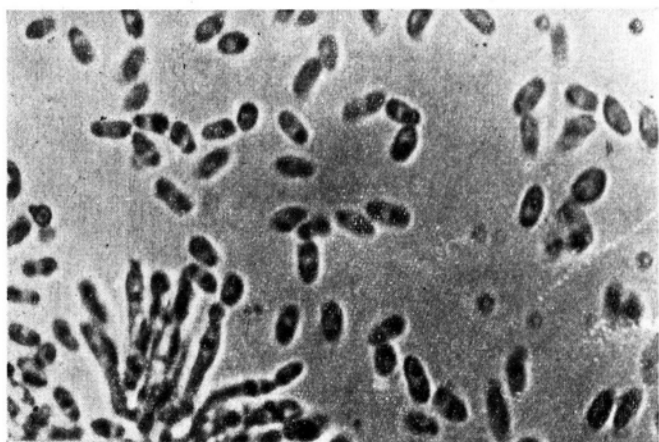
Phialophora cinerescens

Grzyb występował w 10 spośród 13 badanych gospodarstw, ale tylko w jednym zakładzie był dominującym czynnikiem chorobotwórczym na goździkach, powodując w nim 73% ogólnej ilości wypadków. Jego obecność w większości pozostałych gospodarstw napawa jednak obawą, że i tam dojdzie on do większego głosu, ponieważ znajduje w naszym klimacie dogodne warunki rozwojowe i szybko się rozprzestrzenia.

Kolonie grzyba otrzymywano bardzo łatwo przez wyłożenie kawałków porażonych nim łodyg goździków na agar ziemniaczano-glukozowy. Po 3—4 dniach zaczynała wyrastać z nich biała grzybnia. Po tygodniu, zachowując biały kolor, kolonie przybierały wygląd najeżony, a niekiedy nawet delikatnie szorstkawy (ryc. 6). Później grzybnia powietrzna, poczynając od środka kolonii, zmieniała



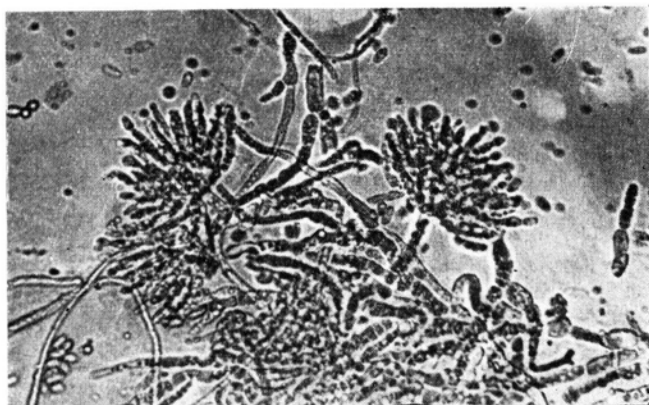
Rys. 6. Siedmiodniowa kolonia grzyba *Phialophora cinerescens* wyrosła na agarze ziemniaczano-glukozowym z kawałka porażonej nim łydgi goździka. Powiększenie 3×



Rys. 7. Szczyty trzonek konidialnych i zarodniki grzyba *Phialophora cinerescens*. Powiększenie 1200×

barwę na popielatą do ciemnoszarej, a jej struktura stawała się bardziej waciasta do filcowatej. Wzrost grzybni był bardzo powolny i średnica kolonii po 10 dniach w temperaturze pokojowej (20—22° C) nie przekraczała zwykle 10 mm. Pod koloniami pożywka ulegała mlecznemu przebarwieniu.

Wytwarzanie zarodników konidialnych następowało prawie równocześnie z rozpoczętym wzrostem grzybni. Z początku bezbarwne, później lekko zadymione, owalne, eliptyczne lub cylindryczne zarodniki z 2 pęcherzykami na obu końcach komórek (ryc. 7), tworzyły się na szczytach fialid umieszczonych w wachlarzowato-pędzłowatych skupieniach, na pojedynczych lub kilkakrotnie rozgałęzionych trzonkach konidialnych wyrastających z grzybni (ryc. 8). Dwu- i trzypiętrowe konidiofory upodabniały grzyb nieco do rodzaju *Penicillium*. Na strzępkach grzybni



Rys. 8. Grzybnia i wachlarzowate skupienia trzonków konidialnych grzyba *Phialophora cinerescens*. Powiększenie około 300×

występowały niekiedy okrągławe lub owalne bezbarwne zgrubienia, przypominające swym wyglądem chlamidospory. Na podstawie pomiarów 100 zarodników ustalono, że ich długość wynosiła 2,5—7, μ , a szerokość 1,5—3 μ .

Wszystkie opisane cechy morfologiczne grzyba były zgodne z jego opisami w literaturze (Hellmers, 1958, Hantschke, 1961).

Blizsze dane o metodyce prowadzonych badań, objawach chorobowych powodowanych przez opisane patogeny na goździkach szklarniowych i możliwościach zwalczania pasożytów podane są w pracy autora (Glaser, 1966) i licznej na ten temat literaturze obcojęzycznej podanej niżej.

LITERATURA

- Andreucci E., 1959. Indagini su una grave alterazione del Garofano prodotta da *Fusarium roseum* (Lk.) Snyder et Hansen. RAM, Vol. 38, str. 602.
- Andreucci E., 1960. Le malattie crittogamiche del Garofano nella zona di Pescia. RAM, Vol. 39, str. 472.
- Baker R., 1957. The height of invasion of two pathogens in carnations stems. Phytopath. (Abstr.), Vol. 47, str. 516.
- Bestagno G., 1960. La disintezione cou «Vapam» del suolo destinato a garofaneto. RAM, Vol. 39, str. 315.
- Burkholder W. H., 1942. Three bacterial plant pathogens: *Phytomonas caryophylli* sp. n., *Phytomonas alliicola* sp. n., *Phytomonas manihotis* (Arthand-Berthet-Bondar) Viegas. Phytopath., Vol. 32, str. 141—149.
- Dickey R. S., Nelson P. E., 1964. *Pseudomonas caryophylli* in Carnation. I. Relation of soil temperature to symptom expression. Phytopath., Vol. 53, str. 1237—1238.
- Ebben M. H., 1958. Annual Report, 1956. Glasshouse Crops Research Institute. RAM, Vol. 37, str. 634.
- Ebben M. H., 1959. Annual Report, 1957. Glasshouse Crops Research Institute. RAM, Vol. 38, str. 290.
- Glaser T., 1966. Etiologia i możliwości zwalczania wędnięcia goździków szklarniowych. Roczn. WSR w Poznaniu, XXXI (1966), str. 3—73.

- Hantschke D., 1961. Untersuchungen über Welkekrankheiten der Edelnelke in Deutschland und ihre Erreger. *Phytopath. Z.*, Band 43, str. 113—168.
- Hellmers E., 1958. Four wilt diseases of perpetual-flowering Carnations in Denmark. *Dansk Bot. Arkiv.*, Bind 18, nr 2, str. 1—200.
- Hellmers E., 1960. Nellikens rodhalsfusariose og hvidkarfusariose som arsager til nedvisning af drivhusnelliker. *Horticultura*, Vol. 14, str. 89—128.
- Holtzman O. V., Thomas W. D., 1953. Studies on the wilt of carnations caused by *Pseudomonas caryophylli*. *Phytopath.*, Vol. 43, str. 587.
- Izraïlski W., 1962. Bakteryjne choroby roślin. PWRiL, Warszawa.
- Jones L. K., 1941. Bacterial wilt of carnation. *Phytopath.*, Vol. 31, str. 199.
- Lelliott R. A., 1956. Slow wilt of carnations caused by a species of *Erwinia*. *Plant Path.*, Vol. 5, nr. 1, str. 19—24.
- Lemattre M. M., Tramier R., 1965. Une maladie bacterienne de l'Oeillet nouvelle pour la France. *RAM*, Vol. 44, str. 208.
- Moreau M., 1957. Le dépérissement des Oeillets. *Encyclopedie Mycologique*, XXX, édit. Lechevalier, Paris, str. 1—309.
- Moreau M., 1964. Recherche systématique du *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma dans les tissus de Caryophyllacées expérimentalement infectées. *Acad. D'Agric. De France*, Extr. du procès-verbal de la Séance du 12 Juin 1963, str. 862—865.
- Nelson P. E., Dickey R. S., 1963. Reaction of twentyone commercial Carnation varieties to *Pseudomonas caryophylli*. *Phytopath.*, Vol. 53, str. 320—324.
- Nillson G. I., 1962. A severy of Carnation diseases in south Sweden. *RAM*, Vol. 41, str. 524.
- Nillson G. I., Dimock A. W., 1964. *Phialophora* wilt of Carnation. A potential threat to Carnation in N. Y. State. *RAM*, Vol. 43, str. 480.
- Pape H., 1964. Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen und ihre Bekämpfung. Verl. P. Parey, Berlin-Hamburg.
- Robinson J. A., 1963. Wilt and dieback of the Carnation in New Zealand. *RAM*, Vol. 42, str. 26.
- Scholten G., 1962. Nouvelles recherches sur les maladies des Oeilletes en Hollande. *Adv. in Horticulture and thier Applicat.*, Vol. II, Pergamon Press, Oxford-London-N. York-Paris, str. 500—505.
- Stapp C., 1958. Pflanzenpathogene Bakterien. Verl. P. Parey, Berlin-Hamburg.
- Tammen J., Nelson P. E., Dickey R. S., 1964. A Carnation disease resembling bacterial slow wilt or stunt. *Phytopath.*, Vol. 54, str. 610—611.
- Wager V. A., 1960. Carnation are susceptible to many diseases. *RAM*, Vol. 39, str. 174.
- Zaleski K., Błaszczak W., Glaser T., 1959. Badania nad biologią i chorobotwórczością 4 gatunków *Fusarium* z łubinów i 4 szczepów *Rhizoctonia solani* oraz próby ich zwalczania w warunkach szklarniowych. *Pozn. Tow. Przyj. Nauk, Prace Kom. Nauk Roln. i Leśn.*, Tom V, zes. 7, str. 3—62.
- Zelany A., 1959. Grzyby z rodzaju *Fusarium* występujące na nasionach konopi oraz ich patogeniczność. *Biul. Inst. Ochr. Roślin, Poznań*, str. 103—115.