

## Effectiveness of selected disinfectants in the control of pathogenic bacteria *Pseudomonas tolaasii*

## Skuteczność wybranych preparatów dezynfekcyjnych w zwalczaniu patogenicznej bakterii *Pseudomonas tolaasii*

Joanna Szumigaj-Tarnowska, Zbigniew Uliński, Czesław Ślusarski

### Summary

Effectiveness of disinfectants in the control of *Pseudomonas tolaasii* causing brown blotch of white button mushroom *Agaricus bisporus* was examined. The sensitivity of the pathogenic bacteria to four disinfectants characterized by different chemical composition, i.e. chloride dioxide, hydrogen peroxide and quaternary ammonium compounds, was assessed. Two disinfection methods: spray and dipping were used. Moreover, the efficiency of antibacterial commercial agents for the control of brown blotch in crop was investigated. The tested disinfectants revealed a high effectiveness in controlling bacteria. The method of disinfection influenced the values of antibacterial concentration. The agents containing hydrogen peroxide as well as quaternary ammonium compounds were more effective, when applied by the dipping method than by the spray method. Commercial agent consisting of sodium hypochlorite were the most efficient in the control of brown blotch in the mushroom crop. Hydrogen peroxide provided the lowest efficiency.

**Key words:** brown blotch, *Pseudomonas tolaasii*, *Agaricus bisporus*, control, bacterial disease

### Streszczenie

W pracy określono aktywność bakteriobójczą środków dezynfekcyjnych w stosunku do bakterii *Pseudomonas tolaasii* wywołującej rdzawą plamistość pieczarki *Agaricus bisporus*. Badania obejmowały ocenę wrażliwości bakterii na cztery środki dezynfekcyjne o różnym składzie chemicznym. Badano skuteczność dwutlenku chloru, nadtlenu wodoru oraz związku z grupy czwartorzędowych soli amonowych. Przeprowadzono dwie metody badań: metodę opryskową na płytkach Petriego oraz zanurzeniową z wykorzystaniem płytek kontaktowych typu Rodac. Na podstawie liczby kolonii wyrosłych na płytkach określano minimalne stężenie bakteriobójcze preparatów. Badano również skuteczność preparatów chemicznych w zwalczaniu plamistości bakteryjnej w warunkach uprawowych. Badane preparaty dezynfekcyjne charakteryzowały się wysoką skutecznością bakteriobójczą, przy czym metoda dezynfekcji miała wpływ na wartości stężeń bakteriobójczych. Wykazano, że metoda zanurzeniowa była skuteczniejsza niż opryskowa, w przypadku preparatów na bazie nadtlenu wodoru i czwartorzędowych soli amonowych. W warunkach uprawowych największą skutecznością charakteryzował się powszechnie stosowany preparat na bazie podchlorynu sodu. Nadtlenek wodoru wykazał najniższą skuteczność w ochronie pieczarki przed rdzawą plamistością.

**Słowa kluczowe:** rdzawa plamistość, *Pseudomonas tolaasii*, *Agaricus bisporus*, ochrona, choroby bakteryjne

Instytut Ogrodnictwa  
Samodzielna Pracownia Grzybów Uprawnych  
Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice  
joanna.tarnowska@inhort.pl

## Wstęp / Introduction

Patogeniczna bakteria *Pseudomonas tolaasii* Paine, wywołuje rdzawą plamistość zarówno u pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus*, jak i u pieczarki czterozarodnikowej *Agaricus bitorquis*. Bakteria ta jest również patogeniczna względem bocznika ostrygowatego *Pleurotus ostreatus* (Iacobellis 2011), a także grzybów shi-take *Lentinula edodes* (Tsuneda i wsp. 1995). Infekcje bakteryjne są jednymi z najczęstszych chorób grzybów, z uwagi na endemiczne występowanie bakterii w okrywie i kompoście pieczarkowym. Chorobę może wywołać niewielka liczba komórek bakterii, które w sprzyjających warunkach szybko namnażają się i powodują typowe objawy chorobowe (Wong i Preece 1982). Rdzawa plamistość może być przyczyną ubytku plonu owocników rzędu 10–40% (Fermor i Lynch 1988; Olivier i wsp. 1997). Choroba objawia się ciemnobrązowymi, wklęsłymi plamami na kapeluszach, a w przypadku silnej infekcji plamy pokrywają całą powierzchnię kapeluszy oraz trzonki grzybów (Wong i Preece 1980; Soler-Rivas i wsp. 2000). Porażone owocniki stają się lepkie i często ulegają zniekształceniom. Plamistości mogą rozwinąć się również na pieczarkach w warunkach chłodniczych. W profilaktyce chorób bakteryjnych najpopularniejsze są związki chlorowe, tj. dwutlenek chloru, kwas nadoctowy, ale także nadtlenek wodoru czy czwartorzędowe sole amonowe. Przez długie lata zabiegiem profilaktycznym w ochronie pieczarki przed chorobami bakteryjnymi była woda chlorowana podchlorynem sodu o stężeniu aktywnego chloru 50–250 mg/l (Royse i Wuest 1980; Szymański i wsp. 2000). Obecnie dąży się do ograniczenia stosowania środków chemicznych w trakcie wegetacji i przechowywania pieczarki, a jedyną metodą ochrony upraw grzybów przed bakteryjnymi patogenami jest profilaktyka i dezynfekcja zakładu.

Celem badań było określenie skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych w zwalczaniu rdzawej plamistości pieczarki. Badania obejmowały ocenę wrażliwości bakterii chorobotwórczych na cztery środki dezynfekcyjne o różnym składzie chemicznym. Ocenę prowadzono metodą opryskową na płytkach Petriego oraz zanurzeniową z wykorzystaniem płytek kontaktowych typu Rodac. Badano również skuteczność preparatów chemicznych w zwalczaniu plamistości bakteryjnej w warunkach uprawowych.

## Materiały i metody / Materials and methods

Aktywność bakteriobójczą środków dezynfekcyjnych (tab. 1) badano metodami: opryskową i zanurzeniową w temperaturze 20°C. Przeprowadzone badania miały na celu określenie skuteczności tych środków w warunkach uprawowych, stąd nie zastosowano neutralizatora substancji aktywnych. Do badań wykorzystano 24-godzinne hodowle bakterii *P. tolaasii* Paine LMG 2345, które hodowano w pożywce płynnej (Nutrient Agar).

Metoda opryskowa była prowadzona na płytkach Petriego. Hodowlę bakterii rozcieńczano w 0,85% roztworze NaCl do uzyskania stężenia komórek zawierającym się w przedziale od  $1 \times 10^3$  do  $5 \times 10^3$  jtk/ml. Zawiesinę bakterii наносono powierzchniowo na pożywkę agarową (Nutrient Agar) w ilości 0,1 ml i rozprowadzano sterylnym gładzikiem. Preparat dezynfekcyjny w ilości 0,5 ml o odpowiednim stężeniu наносono na płytkę po 15 minutach od momentu inokulacji pożywki. Po naniesieniu preparatów płytki pozostawiano otwarte w temperaturze 20°C przez 30 minut w sterylnych warunkach, celem odparowania środka dezynfekcyjnego. Inkubację bakterii prowadzono w temperaturze 23–24°C przez 48 godzin. Na podstawie liczby kolonii bakterii wyrosłych na płytkach określano minimalne stężenie bakteriobójcze preparatów.

Metoda zanurzeniowa polegała na sztucznym zainfekowaniu skrzynek przeznaczonych do zbioru pieczarek zawiesiną komórek bakterii, przygotowaną w 0,85% roztworze NaCl o koncentracji komórek zawierającej się w przedziale od  $1 \times 10^6$  do  $5 \times 10^6$  jtk/ml. Skrzynki po wyschnięciu zanurzano na 15 minut w roztworach środków dezynfekcyjnych o określonych stężeniach, a po wyjęciu z roztworów pozostawiano do ponownego wyschnięcia w temperaturze 20°C. Ocenę skuteczności preparatów prowadzono z wykorzystaniem płytek kontaktowych typu Rodac (o średnicy 55 mm) z pożywką selektywną dla rozwoju bakterii. Po otwarciu płytki, powierzchnię agaru dociskano przez 10 sekund do zainfekowanych powierzchni skrzynek, a następnie po zamknięciu umieszczano w cieplarni w temperaturze 23–24°C na 48 godzin. Na podstawie liczby kolonii bakterii wyrosłych na płytkach określano minimalne stężenie bakteriobójcze preparatów.

Tabela 1. Charakterystyka badanych preparatów dezynfekcyjnych  
Table 1. Characterization of tested disinfectants

| Preparat dezynfekcyjny<br>Disinfectant agent | Substancja aktywna<br>Active substance  | Zalecane stężenia preparatów<br>do dezynfekcji powierzchni<br>Recommended concentrations<br>of commercial products<br>to surface disinfection<br>[%] |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Armex 5                                      | 0,2 g/l chloride dioxide                | 10; 25                                                                                                                                               |
| Systematic                                   | 580 g/l hydrogen peroxide               | 1, 2, 4, 7, 10                                                                                                                                       |
| Huwa-San TR-50                               | 495 g/l hydrogen peroxide + silver ions | 2, 4, 7, 10, 15                                                                                                                                      |
| Q-150                                        | 15,4 g/100 g benzalkonium chloride      | 0,2                                                                                                                                                  |

Tabela 2. Preparaty bakteriobójcze wykorzystane w badaniach i stosowane stężenia  
Table 2. Antibacterial agents and their concentrations used in experiment

| Preparat bakteriobójczy<br>Antibacterial agent | Substancja aktywna<br>Active substance | Stosowane stężenie<br>Used concentration<br>[%] |
|------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Systematic                                     | 580 g /l hydrogen peroxide             | 2                                               |
| Dantol 040 SL                                  | 40 g/l hypochlorite sodium             | 1,3                                             |
| Armex 5                                        | 0,2 g/l chloride dioxide               | 2,5                                             |

Skuteczność preparatów bakteriobójczych, tj. Armex 5, Systematic i Dantol 040 SL, badano w stosunku do pieczarki rasy A15 w donicach wypełnionych podłożem przerośniętym grzybnia pieczarki (III fazy) w ilości 1,7 kg i ziemią okrywową o grubości 4 cm (pole powierzchni okrywy wynosiło 0,038 m<sup>2</sup>). Doświadczenie prowadzono w klimatyzowanych halach, podczas przerostu grzybni zapewniono temperaturę 22–23°C, stężenie dwutlenku węgla na poziomie 3000 mg/l i względną wilgotność powietrza 92–95%. Do dnia przeprowadzania szoku (tj. obniżenia temperatury do 17–18°C i stężenia dwutlenku węgla do 800 mg/l) uprawę codziennie podlewano wodą w ilości 1,5 l na m<sup>2</sup> okrywy. Uprawę zainfekowano w czasie szoku zawiesiną komórek bakterii *P. tolaasii* o koncentracji  $1 \times 10^4$  jtk/ml i  $1 \times 10^6$  jtk/ml w ilości 10 ml, co warunkowało uzyskanie około  $2,6 \times 10^6$  i  $2,6 \times 10^8$  komórek na m<sup>2</sup> okrywy. Następnego dnia uprawę podlano zawiesinami preparatów bakteriobójczych o stężeniu zalecanym przez producenta (tab. 2).

Na podstawie plonu pieczarek zdrowych i porażonych w pierwszym i drugim rzucie określono skuteczność działania preparatów. Różnice między średnimi porównywano testem Newmana-Keulsa przy  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Badane preparaty dezynfekcyjne zawierały różne substancje aktywne takie, jak: dwutlenek chloru, nadtlenuk wodoru oraz czwartorzędowe sole amoniowe.

Preparat Armex 5, którego substancją aktywną jest dwutlenek chloru, jest wykorzystywany do dezynfekcji poprzez oprysk bądź zanurzenie w stężeniu 10 i 25% w zależności od stopnia skażenia dezynfekowanej powierzchni. Skuteczność bakteriobójcza preparatu była zależna od zastosowanej metody dezynfekcyjnej. W metodzie opryskowej stężeniem bakteriobójczym było 50%, a w metodzie zanurzeniowej – 25% (tab. 3). Wyniki uzyskane w metodzie zanurzeniowej potwierdziły skuteczność preparatu Armex 5 w stężeniach zalecanych przez producenta. Wysoka aktywność dwutlenku chloru w ograniczaniu rozwoju bakterii patogenicznych dla pieczarki potwierdzona została również przez Solomon i wsp. (1991).

Preparaty Systematic i Huwa-San TR-50, zawierające jako substancję aktywną nadtlenuk wodoru, są przeznaczone do dezynfekcji poprzez oprysk i zanurzenie, odpowiednio, w stężeniach 4–10% i 4–15%. W metodzie opryskowej rozwój bakterii był zahamowany już przy stężeniu preparatów 0,5%. W metodzie zanurzeniowej środek Systematic wykazał aktywność bakteriobójczą przy

stężeniu 4%, natomiast Huwa-San TR-50 przy 2% (tab. 3). Uzyskane wyniki potwierdziły skuteczność badanych preparatów w stężeniach zalecanych przez producentów, przy czym wysokie wartości tych stężeń mają swoje uzasadnienie w różnej wrażliwości pozostałych grup patogenów na te środki. Wyższa skuteczność preparatu Huwa-San TR-50 w stosunku do Systematic w metodzie zanurzeniowej, pomimo niższej zawartości nadtlenuku wodoru, wynika najprawdopodobniej z obecności w składzie Huwa-San TR-50 jonów srebra. Wysoką aktywność bakteriobójczą w stosunku do *P. tolaasii* innego środka zawierającego nadtlenuk wodoru i koloidalne srebro wykazała również Todorović i wsp. (2012).

Preparat Q-150 na bazie czwartorzędowych soli amonowych (chlorek didecyldimetyloamoniowy) jest przeznaczony do dezynfekcji poprzez oprysk i zanurzenie w stężeniu 0,2%. W metodzie opryskowej stężeniem bakteriobójczym było 0,2%, natomiast w metodzie zanurzeniowej – 0,3% (tab. 3). Aktywność bakteriobójczą preparatu w stężeniu zalecanym przed producenta wykazano więc w metodzie opryskowej. Badaniem wrażliwości izolatów *P. tolaasii* na preparat na bazie chlorku didecyldimetyloamoniowego zajmowali się również Wong i Preece (1985b). Wykazali oni dużą skuteczność tej substancji w zwalczaniu bakterii w warunkach *in vitro*. Preparat nie był natomiast skuteczny, gdy komórki patogena zostały umieszczone w 10% roztworze ziemi okrywowej.

Wysoką skuteczność badanych preparatów w prezentowanej pracy można tłumaczyć długim czasem kontaktu środka z patogenem (15–30 minut) i temperaturą, w której przeprowadzono doświadczenie, tj. 20°C. Podobne obserwacje opisali Maćkowiak-Sochacka i Krawczyk (2010). Według tych autorów dezynfekcja przeprowadzona w temperaturze 4°C i skrócony czas kontaktu środka dezynfekcyjnego z bakteriami do 5 minut wpływa istotnie na zmniejszenie aktywności bakteriobójczej preparatów.

Skuteczność środków bakteriobójczych w zwalczaniu rdzawej plamistości badano również w warunkach uprawowych. Plon owocników w pierwszym rzucie był w zakresie 11,5–12,0 kg/m<sup>2</sup>. Zakażenie uprawy bakteriami *P. tolaasii* w liczbie  $2,6 \times 10^6$  komórek na m<sup>2</sup> okrywy wpłynęło istotnie na obniżenie plonu, który wynosił 8,7–8,9 kg/m<sup>2</sup> (tab. 4). Zastosowanie preparatów Dantol 040 SL oraz Armex 5 wpłynęło istotnie na zwiększenie masy owocników zdrowych i zmniejszenie liczby owocników porażonych. Preparat Systematic nie miał istotnego wpływu na zwiększenie plonu owocników zdrowych, natomiast zmniejszyła się istotnie masa owocników porażonych (tab. 4).

Tabela 3. Wzrost bakterii *P. tolaasii* w wyniku zastosowania preparatów dezynfekcyjnych  
 Table 3. Growth of *P. tolaasii* bacteria after the application of disinfectants

| Preparat – Agent | Stężenie preparatu<br>Product concentration<br>[%] | Metoda – Method   |                        |
|------------------|----------------------------------------------------|-------------------|------------------------|
|                  |                                                    | opryskowa – spray | zanurzeniowa – dipping |
| Armex            | 2,5                                                | 3**               | 3                      |
|                  | 5                                                  | 3                 | 2                      |
|                  | 10                                                 | 2                 | 1                      |
|                  | 25*                                                | 1                 | 0                      |
|                  | 50                                                 | 0                 | 0                      |
| Huwa-San TR-50   | 0,1                                                | 2                 | 2                      |
|                  | 0,25                                               | 1                 | 2                      |
|                  | 0,5                                                | 0                 | 1                      |
|                  | 1                                                  | 0                 | 1                      |
|                  | 2                                                  | 0                 | 0                      |
|                  | 4*                                                 | 0                 | 0                      |
|                  | 7                                                  | 0                 | 0                      |
| Systematic       | 0,1                                                | 2                 | 3                      |
|                  | 0,25                                               | 1                 | 3                      |
|                  | 0,5                                                | 0                 | 3                      |
|                  | 1                                                  | 0                 | 2                      |
|                  | 2                                                  | 0                 | 1                      |
|                  | 4*                                                 | 0                 | 0                      |
|                  | 7                                                  | 0                 | 0                      |
| Q-150            | 0,1                                                | 2                 | 2                      |
|                  | 0,2*                                               | 0                 | 1                      |
|                  | 0,3                                                | 0                 | 0                      |
|                  | 0,4                                                | 0                 | 0                      |

\* stężenie zalecane przez producenta – concentration recommended by manufacturer

\*\* 0 – brak wzrostu; 1 – pojedyncze kolonie (0–10); 2 – umiarkowana liczba kolonii (10–30); 3 – duża liczba kolonii (powyżej 30)  
 0 – no growth; 1 – single colonies (0–10); 2 – moderate number of colonies (10–30); 3 – large number of colonies (over by 30)

Tabela 4. Skuteczność działania preparatów bakteriobójczych w zwalczaniu bakteriozy pieczarki w pierwszym rzucie [plon owocników w kg/m<sup>2</sup>]

Table 4. Efficacy of antibacterial agents in the control of brown blotch of white button mushroom in the first flush [mushroom yield in kg/m<sup>2</sup>]

| Liczba komórek<br>[jtk/m <sup>2</sup> okrywy]<br>Number of cells<br>[cfu/m <sup>2</sup> casing] | Preparat – Agent                      |             |               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------|---------------|-----------|
|                                                                                                 | stan owocników<br>fruit bodies status | Systematic  | Dantol 040 SL | Armex 5   |
| Kontrola – Control                                                                              |                                       | 11,5 a* A** | 11,7 a A      | 12,0 a A  |
| 2,6 × 10 <sup>6</sup>                                                                           | zdrowe – healthy                      | 8,9 b A     | 8,7 b A       | 8,8 b A   |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 3,5 c A     | 4,0 c A       | 3,2 c A   |
| 2,6 × 10 <sup>6</sup> +<br>Preparat – Agent                                                     | zdrowe – healthy                      | 9,3 b A     | 11,5 a B      | 10,5 a AB |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 1,1 c A     | 0,8 d A       | 0,5 d A   |
| 2,6 × 10 <sup>8</sup>                                                                           | zdrowe – healthy                      | 0,8 b A     | 0,5 b A       | 0,8 b A   |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 10,5 a A    | 12,0 a A      | 11,5 a A  |
| 2,6 × 10 <sup>8</sup> +<br>Preparat – Agent                                                     | zdrowe – healthy                      | 0,9 b A     | 2,4 c B       | 1,3 b AB  |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 10,0 a A    | 10,3 a A      | 9,6 a A   |

\* średnie w kolumnach w obrębie poszczególnych kombinacji, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$  – means in columns, within a particular combinations, followed by the same letter do not differ significantly at  $\alpha = 0.05$

\*\* średnie w rzędach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$  – means within a row followed by the same letter do not differ significantly at  $\alpha = 0.05$

Tabela 5. Skuteczność działania preparatów bakteriobójczych w zwalczaniu bakteriozy pieczarki w drugim rzucie [plon owocników w kg/m<sup>2</sup>]Table 5. Efficacy of antibacterial agents in the control of brown blotch of white button mushroom in the first flush [mushroom yield in kg/m<sup>2</sup>]

| Liczba komórek<br>[jtk/m <sup>2</sup> okrywy]<br>Number of cells<br>[cfu/m <sup>2</sup> casing] | Preparat – Agent                      |            |               |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------|---------------|----------|
|                                                                                                 | stan owocników<br>fruit bodies status | Systematic | Dantol 040 SL | Armex 5  |
| Kontrola – Control                                                                              |                                       | 6,1 a* A** | 6,8 a A       | 7,5 a A  |
| 2,6 × 10 <sup>6</sup>                                                                           | zdrowe – healthy                      | 4,4 b A    | 3,6 b A       | 3,2 b A  |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 3,0 b      | 2,5 b A       | 4,4 b A  |
| 2,6 × 10 <sup>6</sup> +<br>Preparat – Agent                                                     | zdrowe – healthy                      | 4,4 b A    | 5,4 a A       | 3,5 b A  |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 2,5 b A    | 1,1 c B       | 3,1 b A  |
| 2,6 × 10 <sup>8</sup>                                                                           | zdrowe – healthy                      | 2,4 b A    | 1,4 d B       | 2,1 c AB |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 5,5 ab A   | 4,0 c A       | 4,8 b A  |
| 2,6 × 10 <sup>8</sup> +<br>Preparat – Agent                                                     | zdrowe – healthy                      | 2,0 b A    | 2,7 b A       | 1,9 c A  |
|                                                                                                 | porażone – infected                   | 3,9 b A    | 3,6 bc A      | 5,0 b A  |

\* średnie w kolumnach w obrębie poszczególnych kombinacji, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$  – means in columns, within a particular combinations, followed by the same letter do not differ significantly at  $\alpha = 0,05$

\*\* średnie w rzędach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$  – means within a row followed by the same letter do not differ significantly at  $\alpha = 0,05$

Zakażenie uprawy komórkami bakterii w ilości  $2,6 \times 10^8$  na m<sup>2</sup> okrywy, skutkowało istotnym obniżeniem plonu owocników zdrowych. W tym wariancie doświadczenia zebrano od 0,5 do 0,8 kg/m<sup>2</sup> owocników bez objawów chorobowych, natomiast plon owocników porażonych był w zakresie 10,5–12,0 kg/m<sup>2</sup> (tab. 4). Wykazano, że po zastosowaniu środka Dantol 040 SL nastąpiło istotne zwiększenie plonu owocników zdrowych, bo zebrano ich 2,4 kg/m<sup>2</sup>. Liczba owocników z objawami chorobowymi nie uległa natomiast istotnemu zmniejszeniu. Pozostałe preparaty nie miały wpływu na zwiększenie plonu pieczarek zdrowych (tab. 4).

Plon owocników w drugim rzucie był niższy niż w pierwszym, bowiem w próbach kontrolnych wynosił od 6,1 do 7,5 kg/m<sup>2</sup> (tab. 5). Zainfekowanie uprawy bakteriami w liczbie  $2,6 \times 10^6$  jtk/m<sup>2</sup> okrywy obniżyło istotnie plon owocników zdrowych do 3,2–4,4 kg/m<sup>2</sup>. Wykazano, że preparat Dantol 040 SL wpłynął istotnie na wzrost liczby grzybów nieporażonych (z 3,6 do 5,4 kg/m<sup>2</sup>) i obniżenie plonu owocników porażonych (z 2,5 na 1,1 kg/m<sup>2</sup>) (tab. 5). Pozostałe preparaty nie ograniczyły objawów choroby bakteryjnej.

Wyższa liczba komórek bakterii, tj.  $2,6 \times 10^8$  jtk/m<sup>2</sup> okrywy wpłynęła wyraźnie na obniżenie plonu owocników zdrowych, który był w zakresie 1,4–2,4 kg/m<sup>2</sup>. Plon owocników porażonych mieścił się w granicach 4,0–5,5 kg/m<sup>2</sup>. Stwierdzono nieistotne zwiększenie liczby owocników zdrowych w kombinacji, w której zastosowano środek Dantol 040 SL. W przypadku pozostałych preparatów nie stwierdzono efektywnego działania w zwalczaniu plamistości bakteryjnej (tab. 5).

Wykazano, że najwyższą skutecznością w hamowaniu rozwoju rdzawej plamistości charakteryzował się środek Dantol 040 SL w stężeniu zalecanym przed producenta (1,3%). Zakładając, że podchloryn sodu zawiera 14% aktywnego chloru, do okrywy wprowadzono aktywny chlor w stężeniu 72,8 mg/l. Wyniki innych badaczy mó-

wią, że rutynowe podlewanie uprawy wodą zawierającą aktywny chlor w stężeniu 100–200 mg/l skutecznie zapobiega wystąpieniu plamistości bakteryjnej (Ayers i Lambert 1955; Wong i Preece 1985a). Niższe stężenie aktywnego chloru jest skuteczne tylko w warunkach *in vitro* (Wong i Preece 1985a). W prezentowanej pracy nie wykazano całkowitego zahamowania choroby po zastosowaniu podchlorynu sodu. Przyczyną może być fakt, iż zabieg ochronny był przeprowadzony jeden raz. Można przypuszczać, że kilkukrotne dawkowanie preparatu przyniosłoby skuteczniejszy efekt i ograniczyłoby całkowicie plamistość bakteryjną. Ponadto Geels (1995) wykazał, że podchloryn sodu jest mało skuteczny, gdy stosowany jest jako jedyny środek ochronny. Z kolei badania Oh i wsp. (2000) wykazały, że stężenie 22,8 mg aktywnego chloru/l skutecznie hamowało rozwój *P. tolaasii* w uprawie boczniaka. Niska skuteczność nadtlenu wodoru, substancji wchodzącej w skład preparatu Systematic, w warunkach uprawowych może wynikać z jego szybkiego rozkładu w ziemi okrywowej (Petigara i wsp. 2002).

## Wnioski / Conclusions

1. Metoda dezynfekcji miała wpływ na aktywność bakteriobójczą preparatów dezynfekcyjnych.
2. Preparaty zawierające w składzie dwutlenek wodoru i czwartorzędowe sole amonowe wykazały wyższą skuteczność w metodzie opryskowej.
3. Badane środki dezynfekcyjne w stężeniach zalecanych przez producentów skutecznie hamowały rozwój bakterii w warunkach *in vitro*.
4. Najwyższą skuteczność *in vivo* w ochronie pieczarki przed rdzawą plamistością bakteryjną wykazał środek Dantol 040 SL.

## Literatura / References

- Ayers T.T., Lambert E.B. 1955. Controlling mushroom disease with chlorinated water. *Plant Dis. Rep.* 39: 829–836.
- Fermor T.R., Lynch J.M. 1988. Bacterial blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*: screening, isolation and characterization of bacteria antagonistic to the pathogen (*Pseudomonas tolaasii*). *J. Appl. Bacteriol.* 65: 179–187.
- Geels F.P. 1995. *Pseudomonas tolaasii* control by kasugamycin in cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Appl. Microbiol.* 79 (1): 38–42.
- Iacobellis N.S. 2011. Recent advances on bacterial diseases of cultivated mushrooms. p. 452–460. In: *Proc. 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. France, Arcachon, 4–7 October 2011, 577 pp.
- Maćkowiak-Sochacka A., Krawczyk K. 2010. Bakteriobójcza aktywność wybranych preparatów dezynfekcyjnych na różnych powierzchniach skażonych bakteriami *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 50 (4): 1806–1811.
- Oh S.J., Kim H.K., Kim H.K., Fermor T.R. 2000. Effect of sodium hypochlorite for controlling bacterial blotch on *Pleurotus ostreatus*. *Mycobiology* 28 (3): 123–126.
- Olivier J.M., Mamoun M., Munsch P. 1997. Standardization of the a method to asses mushroom blotch resistance in cultivated and wild *Agaricus bisporus* strains. *Can. J. Plant Pathol.* 19: 36–42.
- Petigara B.R., Blough N.V., Mignerey A.C. 2002. Mechanisms of hydrogen peroxide decomposition in soils. *Environ. Sci. Technol.* 36 (4): 639–645.
- Royse D.J., Wuest P.J. 1980. Mushroom brown blotch: effects of chlorinated water on disease intensity and bacterial populations in casing soil and on pilei. *Phytopathology* 70: 902–905.
- Soler-Rivas C., Arpin N., Olivier J.M., Wichers H.J. 2000. Discoloration and tyrosinase activity in *Agaricus bisporus* fruit bodies infected with various pathogens. *Mycol. Res.* 104 (3): 351–356.
- Solomon J.M., Beelman R.B., Bartley C.E. 1991. Addition of calcium chloride and stabilized chlorine dioxide to irrigation water to improve quality and shelf life of *Agaricus bisporus*. p. 695–701. In: *Proc. 13th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi*. Ireland, Dublin, 1–6 September 1991, 880 pp.
- Szymański J., Savage D., Głowacki J. 2000. Chlorine dioxide as new form chlorine for prophylaxis and controlling bacterial diseases and general disinfection at cultivated mushroom house. p. 255–256. In: *Proc. 15th Czech and Slovak Plant Protection Conference*. Czech Republic, Brno, 12–14 September 2000, 448 pp.
- Tsuneda A., Suyama K., Murakami S., Ohira I. 1995. Occurrence of *Pseudomonas tolaasii* on fruiting bodies of *Lentinula edodes* formed on *Quercus* logs. *Mycoscience* 36: 283–288.
- Todorović B., Milijasević-Marčić S., Potočnik I., Stepanović M., Rekanović E., Nikolić-Bujanović L., Cekerevac M. 2012. *In vitro* activity of antimicrobial agents against *Pseudomonas tolaasii*, pathogen of cultivated button mushroom. *J. Environ. Sci. Health B.* 47 (3): 175–179.
- Wong W.C., Preece T.F. 1980. *Pseudomonas tolaasi* in mushroom crops: A note on primary and secondary sources of the bacterium on a commercial farm in England. *J. Appl. Bacteriol.* 49: 305–314.
- Wong W.C., Preece T.F. 1982. *Pseudomonas tolaasii* in cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: numbers of the bacterium and symptom development on mushrooms grown in various environments after artificial inoculation. *J. Appl. Bacteriol.* 53: 87–96.
- Wong W.C., Preece T.F. 1985a. *Pseudomonas tolaasii* in cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: effects of sodium hypochlorite on the bacterium and on blotch disease severity. *J. Appl. Bacteriol.* 58: 259–267.
- Wong W.C., Preece T.F. 1985b. *Pseudomonas tolaasii* on mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: bactericidal effects of six disinfectants and their toxicity to mushrooms. *J. Appl. Bacteriol.* 58: 269–273.