PROGRESS IN PLANT PROTECTION
62 (3): 167–173, 2022
eISSN 2084-4883

DOI: 10.14199/ppp-2022-019
Published online: 15.07.2022

Received: 28.03.2022 / Accepted: 25.05.2022

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wpływ ilości wody użytej do nawodnienia okrywy na rozwój chorób bakteryjnych pieczarki

The effect of amount of water used to irrigate casing soil on the development of bacterial diseases of the white button mushrooms

Joanna Szumigaj-Tarnowska[A]*, Zbigniew Uliński

Streszczenie

Najczęściej pojawiającymi się chorobami bakteryjnymi pieczarki są plamistość brunatna wywoływana przez *Pseudomonas tolaasii* i plamistość imbirowa wywoływana przez *Pseudomonas 'gingeri'*. Ochrona przed infekcjami bakteryjnymi polega między innymi na zapewnieniu odpowiedniego mikroklimatu w hali uprawowej. Celem badań była ocena nasilenia objawów plamistości bakteryjnych w zależności od ilości wody podlewającej uprawę. Uprawę zainfekowano zawiesiną komórek bakterii w ilości warunkującej uzyskanie około $2,6 \times 10^7$ oraz $2,6 \times 10^8$ komórek na m^2 okrywy. Uprawę podlewano wodą w ustalonej ilości, tj. 7, 10 i 14 litrów na m^2 przed pierwszym rzutem oraz 6, 8 i 10 litrów przed drugim rzutem. Ilość wody podlewającej miała istotny wpływ na nasilenie plamistości imbirowej powodowanej przez *P. 'gingeri'*, zwłaszcza w pierwszym rzucie owocników. Plon owocników porażonych był istotnie wyższy w uprawie podlewanej największą ilością wody niż w pozostałych wariantach doświadczenia. W przypadku *P. tolaasii* obserwowano jedynie zwiększoną nieistotnie statystycznie ilość grzybów porażonych w uprawie, gdzie zastosowano najwyższą ilość wody podlewającej. Wyznaczona zależność nasilenia objawów chorobowych od ilości wody użytej do nawodnienia okrywy była wysoko lub umiarkowanie skorelowana ze sobą. Wykazano, że odpowiednio przeprowadzony zabieg podlewania wpływa na ograniczanie rozwoju plamistości bakteryjnych na owocnikach pieczarki.

Słowa kluczowe: *Agaricus bisporus*, choroby bakteryjne, pieczarka, warunki uprawy, zwalczanie chorób

Abstract

The most common bacterial diseases of mushrooms are the brown blotch caused by *Pseudomonas tolaasii* and the ginger blotch caused by *Pseudomonas 'gingeri'*. Protection against bacterial infections consists in ensuring an appropriate microclimate in the cultivation rooms. The aim of the study was to assess the severity of bacterial blotch symptoms depending on the amount of irrigating water of mushroom cultivation. The crop was infected with a suspension of bacterial cells as equivalent to the application of 2.6×10^7 and 2.6×10^8 cells per 1 m^2 of casing surface. The crop was watered in a fixed amount, i.e. 7, 10 and 14 litres per m^2 of casing before the first flush and 6, 8 and 10 litres before the second flush. It was found that the amount of water had a significant impact on the severity of ginger blotch, especially in the first flush. The yield of infected mushrooms was significantly higher in the cultivation watered with the highest amount of water than in the other variants of the experiment. In the case of *P. tolaasii* statistically insignificant amount of infected mushrooms was observed in the cultivation with the highest amount of irrigating water. The severity of disease symptoms and the amount of water used to irrigate casing soil were highly or moderately correlated with each. It has been shown that a properly conducted watering treatment reduces the development of bacterial blotches on mushrooms.

Key words: *Agaricus bisporus*, bacterial blotch, button mushroom, crop conditions, control diseases

Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
*corresponding author: joanna.tarnowska@inhort.pl
ORCID: [A]0000-0001-6737-2464

Wstęp / Introduction

Pieczarka, jeden z najczęściej uprawianych grzybów na świecie, jest podatna na szereg infekcji bakteryjnych i grzybowych. Wśród bakterii patogenicznych najczęściej spotykane są gatunki z rodzaju *Pseudomonas*. Szacuje się, że około 90% bakterii występujących na strzępkach grzybni pieczarki i około 50% ogólnej puli bakterii w okrywie to rodzaj *Pseudomonas*. Bakterie w produkcji grzybów odgrywają też ważną rolę, między innymi w trakcie kompostowania surowców do podłoża pieczarki kontrolują sukcesję mikroorganizmów w pryzmie, co skutkuje modyfikacją złożonych substancji organicznych (słomy i kurzaka) i tworzeniem przyswajalnego oraz selektywnego podłoża dla rozwoju grzybni pieczarki. Bakterie pełnią też istotną funkcję w procesie powstawania zawiązków owocników grzybów (Gill 1995; Fletcher i Gaze 2008). Infekcje bakteryjne pieczarki są przyczyną strat plonu uprawowego, zarówno o charakterze ilościowym, jak i jakościowym. Objawy plamistości bakteryjnej pieczarki, tj. nieregularne ciemnobrązowe, brunatne i wklęsłe plamy na kapeluszach grzybów, po raz pierwszy opisał Tolaas w 1915 roku (Tolaas 1915). Przyczyną tych symptomów jest bakteria *Pseudomonas tolaasii* Paine, wywołująca plamistość brunatną (Paine 1919). Drugą chorobą bakteryjną pieczarki jest plamistość imbirowa, wywoływana przez *Pseudomonas 'gingeri'* (Preece i Wong 1982), objawiająca się żółtobrązowymi plamami, które w miarę rozwoju zmieniają barwę na ciemnorudą. Zmiany na kapeluszach są powierzchniowe, przeważnie na ich obrzeżach i nie tworzą wgłębień (Wong i wsp. 1982). Źródłem występowania bakterii patogenicznych może być okrywa torfowa (Geijn 1981; Soler-Rivas i wsp. 1999). Ponadto udowodniono, że komórki bakterii mogą być przenoszone na rękach, butach czy sprzęcie używanym w pieczarkarni (Wong i Preece 1980).

Obecnie dąży się do ograniczenia stosowania środków ochrony roślin w uprawie pieczarki, a jedyną metodą ochrony upraw przed bakteryjnymi patogenami jest profilaktyka, wysoka higiena i dezynfekcja pieczarkarni (Soler-Rivas i wsp. 1999). W zapobieganiu chorobom bakteryjnym ma znaczenie zachowanie odpowiedniego mikroklimatu w hali uprawowej oraz właściwe postępowanie podczas zabiegów podlewania. Istnieją bowiem doniesienia, że przyczyną infekcji bakteryjnych jest nadmierna wilgotność i wysoka temperatura w hali (Osdaghi i wsp. 2019). Określenie przyczyn rozwoju chorób bakteryjnych w uprawie pieczarki stwarza ciągle wiele trudności. Badania przeprowadzone w ramach tej pracy mają na celu pogłębienie wiedzy z tego tematu.

Celem badań była ocena wpływu ilości wody podlewającej uprawę na nasilenie objawów chorobowych i rozwój plamistości bakteryjnych wywoływanych przez *P. tolaasii* i *P. 'gingeri'*.

Materiały i metody / Materials and methods

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem bakterii *P. tolaasii* Paine LMG 2345 z belgijskiej kolekcji BCCM (Belgian Coordinated Collections of Microorganisms) oraz *P. 'gingeri'*, szczepu wyizolowanego z pieczarki z objawami plamistości imbirowej. Porażoną tkankę pieczarki wykładano na pożywkę mikrobiologiczną, a po 24 godzinach przeprowadzano posiew redukcyjny, w celu uzyskania czystych kultur bakteryjnych. Jako szczep referencyjny wykorzystano bakterię *P. 'gingeri'* Preece & Wong LMG 5327. Stopień wirulencji bakterii względem pieczarki ustalono na podstawie testów patogeniczności, a izolat wywołujący objawy plamistości poddano dalszym testom biochemicznym. Testy te obejmowały: barwienie bakterii metodą Grama (Beveridge 2001), zdolność do wytwarzania fluoryzującego pigmentu (King i wsp. 1954) oraz rodzaj metabolizmu glukozy (Hugh i Leifson 1953). Sprawdzano aktywność oksydazy, katalazy, zdolność bakterii do hydrolizy żelatyny i skrobi, rozkładu azotanów, pobierania węgla z cytrynianu (Lelliot i wsp. 1966). Przynależność gatunkową bakterii *P. 'gingeri'* potwierdzono na podstawie badań biochemicznych i molekularnych (Buchanan i Gibbons 1974; Szumigaj-Tarnowska i wsp. 2010).

Doświadczenie uprawowe prowadzono w donicach wypełnionych podłożem przerośniętym grzybnią pieczarki (III fazy) w ilości 1,7 kg i ziemią okrywową o grubości 4 cm. Uprawę prowadzono w klimatyzowanych halach, podczas przerostu grzybni zapewniono temperaturę 22–23°C, stężenie dwutlenku węgla 3000 mg/l i względną wilgotność powietrza 89−90%. W trzecim dniu po nałożeniu okrywy, uprawę zakażono zawiesiną komórek bakterii w ilości 10 ml o gęstości 1×10^5 i 1×10^6 jtk/ml (Wong i Preece 1982). Do przygotowania zawiesiny komórek użyto 24-godzinną hodowlę bakterii w pożywce płynnej, której rozcieńczenia przygotowano w 0,85% roztworze soli fizjologicznej. Pole powierzchni okrywy wynosiło 0,038 m^2, zatem po zainfekowaniu okrywy uzyskano $2,6 \times 10^7$ i $2,6 \times 10^8$ komórek bakterii na 1 m^2 okrywy. Po 7 dniach, gdy grzybnia przerosła okrywę, obniżono temperaturę w hali do 18°C i stężenie dwutlenku węgla do 800 mg/l. Uprawę przez 5 dni podlewano wodą. Ilość wody użytej wyznaczono na podstawie ilości podłoża na m^2 i jego wilgotności. Optymalną ilością wody jest około 20 litrów na m^2 przy założeniu, że na m^2 jest około 90 kg podłoża o wilgotności 64%. Założono trzy warianty doświadczenia, różniące się ilością wody podlewającej, tj. wariant I – 7, II – 10 (optymalna ilość wody) i III – 14 litrów na m^2 przed pierwszym rzutem oraz wariant I – 6, II – 8 i III – 10 litrów przed drugim rzutem.

Doświadczenie miało charakter dwuczynnikowy (pierwszym czynnikiem była liczba komórek bakterii, a drugim ilość wody podlewającej) i przeprowadzono je dwukrotnie w 4 powtórzeniach. W pierwszym i drugim rzucie owocników obliczono plon grzybów zdrowych i porażonych. Uzyskane

wyniki opracowano metodą analizy wariancji dwuczynnikowej. Różnice między średnimi z prób kontrolnych i badanych porównywano testem Newmana-Keulsa przy α = 0,05.

Ponadto obliczono nasilenie występowania objawów chorobowych w pierwszym i drugim rzucie pieczarki jako stosunek plonu owocników porażonych do całkowitego plonu uzyskanego w danej kombinacji według wzoru:

$$NC\ (\%) = (Poc / Pc) \times 100\%,$$

gdzie: Poc – plon owocników chorych, Pc – plon całkowity (plon owocników zdrowych i chorych).

Określono również korelację między nasileniem objawów chorobowych a ilością wody podlewającej oraz wyznaczono współczynnik korelacji Persona (r) między uzyskanymi danymi.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W pracy badano wpływ ilości wody podlewającej na nasilenie objawów chorób bakteryjnych w uprawie pieczarki. W tabeli 1. przedstawiono wyniki plonu owocników zdrowych i chorych w uprawie infekowanej różną liczbą komórek bakterii *P. tolaasii* i podlewanej różną ilością wody. Wyniki obejmują plon z pierwszego i drugiego rzutu owocników. W uprawie zainfekowanej liczbą komórek bakterii 1×10^5 jtk/ml ($2,6 \times 10^7$ komórek na m^2) nie stwierdzono wpływu ilości wody podlewającej na nasilenie objawów plamistości. Całkowity plon owocników porażonych we wszystkich wariantach uprawy z różną ilością wody był porównywalny w obu przeprowadzonych doświadczeniach. Natomiast w przypadku zainfekowania uprawy wyższą liczbą komórek bakterii w uprawie podlewanej 14 litrami wody na m^2 przed pierwszym rzutem uzyskano nieznacznie wyższy plon owocników chorych.

Na podstawie wyznaczonej krzywej regresji i współczynnika Pearsona, tj. zależności stopnia nasilenia objawów od ilości wody podlewającej uprawę, stwierdzono wysoką korelację (r = 0,72) między danymi w pierwszym doświadczeniu (rys. 1) i umiarkowaną (r = 0,33) w drugim doświadczeniu (rys. 2). W zależności od liczby komórek bakterii i ilości wody podlewającej nasilenie choroby bakteryjnej w pierwszym doświadczeniu (rys. 1) wynosiło od 21,5% do 36,1% dla I wariantu, od 27,6% do 38,2% (II wariant

Tabela 1. Wpływ ilości wody podlewającej uprawę na rozwój plamistości bakteryjnej w pierwszym i drugim rzucie w uprawie zainfekowanej różną liczbą komórek *Pseudomonas tolaasii*

Table 1. Effect of irrigating water on the development of bacterial blotch in first and second flush of crop infected by different number of *Pseudomonas tolaasii* cells

Liczba komórek bakterii na m^2 Number of bacteria cells per m^2	Średni plon − Average yield [kg/0,038 m^2]									
		1 rzut – 1st flush			2 rzut – 2nd flush			suma – total		
	1 doświadczenie − experiment 1									
	wariant uprawy* crop variant	H_0	H	I	H_0	H	I	H_0	H	I
$2,6 \times 10^7$	I	446,2 A	367,7 B	95,1 A	334,0 A	143,4 A	97,8 A	780,2 A	490,1 A	192,9 A
	II	466,5 A	322,7 B	123,1 A	342,0 A	148,0 A	105,2 A	808,5 A	470,7 A	228,3 A
	III	455,0 A	434,0 A	112,5 A	304,7 A	162,0 A	102,4 A	759,7 A	596,0 A	214,4 A
$2,6 \times 10^8$	I	446,2 A	302,5 A	138,2 B	334,0 A	140,2 A	115,8 A	780,2 A	442,7 A	254,0 A
	II	466,5 A	278,8 A	141,5 B	342,0 A	158,5 A	119,5 A	808,5 A	437,3 A	261,0 A
	III	455,0 A	343,5 A	183,5 A	304,7 A	188,7 A	140,5 A	759,7 A	532,2 A	324,0 A
	2 doświadczenie − experiment 2									
$2,6 \times 10^7$	I	371,7 A	207,0 A	151,5 A	283,2 A	110,4 B	86,5 B	654,9 A	317,4 A	238,0 A
	II	368,7 A	262,3 A	181,1 A	264,0 A	115,2 B	101,6 AB	632,7 A	377,5 A	282,7 A
	III	409,8 A	257,8 A	196,5 A	300,0 A	214,5 A	126,6 A	709,8 A	472,3 A	323,1 A
$2,6 \times 10^8$	I	371,7 A	109,6 A	233,2 B	283,2 A	98,2 A	88,5 B	654,9 A	207,8 A	321,7 A
	II	368,7 A	159,2 A	280,4 AB	264,0 A	109,1 A	148,9 A	632,7 A	268,3 A	426,3 A
	III	409,8 A	122,8 A	334,4 A	300,0 A	127,3 A	127,1 A	709,8 A	250,1 A	461,5 A

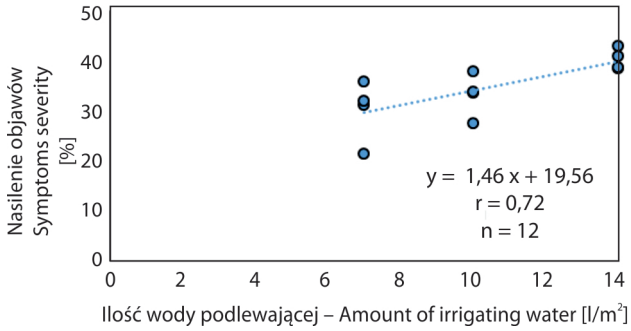
*ilość wody podlewającej I – 7, II – 10, III – 14 litrów na m^2 przed pierwszym rzutem oraz I – 6, II – 8, III – 10 litrów przed drugim rzutem – amount of water I – 7, II – 10, III – 14 litres per m^2 before first flush and I – 6, II – 8, III – 10 litres before second flush

H_0 – plon owocników w uprawie kontrolnej, nieinfekowanej – yield of mushrooms in the control crop, no infected

H – plon owocników zdrowych – yield of healthy mushrooms

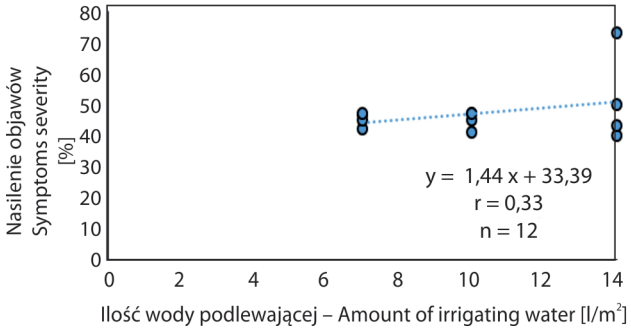
I – plon owocników porażonych – yield of infected mushrooms

A, B, C − średnie w kolumnach w obrębie liczby komórek bakterii dla danego doświadczenia oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy α = 0,05 − means in the columns within the number of bacteria cells in a particular experiment followed by the same letter are not significantly different at α = 0.05



Rys. 1. Nasilenie objawów chorobowych wywołanych przez *Pseudomonas tolaasii* w zależności od ilości wody podlewającej (doświadczenie 1)

Fig. 1. Symptoms severity caused by *Pseudomonas tolaasii* depending on amount of irrigating water (experiment 1)



Rys. 2. Nasilenie objawów chorobowych wywołanych przez *Pseudomonas tolaasii* w zależności od ilości wody podlewającej (doświadczenie 2)

Fig. 2. Symptoms severity caused by *Pseudomonas tolaasii* depending on amount of irrigating water (experiment 2)

Tabela 2. Wpływ ilości wody podlewającej uprawę na rozwój plamistości bakteryjnej w pierwszym i drugim rzucie w uprawie zainfekowanej różną liczbą komórek *Pseudomonas 'gingeri'*

Table 2. Effect of irrigating water on the development of bacterial blotch in first and second flush of crop infected by different number of *Pseudomonas 'gingeri'* cells

Liczba komórek bakterii na m² Number of bacteria cells per m²		Średni plon – Average yield [kg/0,038 m²]								
		1 rzut – 1st flush			2 rzut – 2nd flush			suma – total		
		1 doświadczenie – experiment 1								
	wariant uprawy* crop variant	H_0	H	I	H_0	H	I	H_0	H	I
2,6 × 10⁷	I	446,2 A	428,5 A	36,7 B	334,0 A	336,2 A	0,0 B	780,2 A	764,7 A	36,7 B
	II	466,5 A	434,7 A	24,0 B	342,0 A	329,5 A	0,0 B	808,5 A	764,2 A	24,0 B
	III	455,0 A	426,5 A	106,7 A	304,7 A	281,7 A	54,5 A	759,7 A	708,2 A	161,2 A
2,6 × 10⁸	I	446,2 A	408,6 A	88,4 B	334,0 A	246,0 A	68,5 A	780,2 A	654,6 A	156,9 B
	II	466,5 A	397,5 A	81,3 B	342,0 A	214,5 A	67,5 A	808,5 A	612,0 A	148,8 B
	III	455,0 A	157,5 B	253,7 A	304,7 A	141,5 A	74,7 A	759,7 A	299,0 B	328,4 A
	2 doświadczenie – experiment 2									
2,6 × 10⁷	I	371,7 A	234,9 A	80,8 B	283,2 A	159,2 B	61,5 A	654,9A	394,1 A	142,3 A
	II	368,7 A	247,8 A	105,1 AB	264,0 A	251,5 A	36,4 A	632,7 A	499,3 A	141,5 A
	III	409,8 A	282,9 A	179,8 A	300,0 A	182,4 B	63,6 A	709,8 A	456,3 A	243,4 A
2,6 × 10⁸	I	371,7A	201,8 A	128,6 B	283,2 A	148,5 B	98,9 A	654,9 A	350,3 A	227,5 A
	II	368,7 A	250,9 A	135,8 B	264,0 A	235,1 A	91,3 A	632,7 A	486,0 A	227,1 A
	III	409,8 A	239,0 A	221,9 A	300,0 A	230,2 A	107,4 A	709,8 A	469,2 A	309,3 A

*ilość wody podlewającej I – 7, II – 10, III – 14 litrów na m² przed pierwszym rzutem oraz I – 6, II – 8, III – 10 litrów przed drugim rzutem – amount of water I – 7, II – 10, III – 14 litres per m² before first flush and I – 6, II – 8, III – 10 litres before second flush

H_0 – plon owocników w uprawie kontrolnej, nieinfekowanej – yield of mushrooms in the control crop, no infected

H – plon owocników zdrowych – yield of healthy mushrooms

I – plon owocników porażonych – yield of infected mushrooms

A, B, C – średnie w kolumnach w obrębie liczby komórek bakterii dla danego doświadczenia oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy α = 0,05 – means in the columns within the number of bacteria cells in a particular experiment followed by the same letter are not significantly different at α = 0.05

doświadczenia) i od 38,5% do 42,7% (III wariant). Plon owocników porażonych w obu rzutach był porównywalny (tab. 1).

W drugim doświadczeniu nasilenie choroby w zależności od badanych parametrów wynosiło 42,3–46,9% (I wariant), 40,8–48,8% (II wariant) i 40,3–73,3%

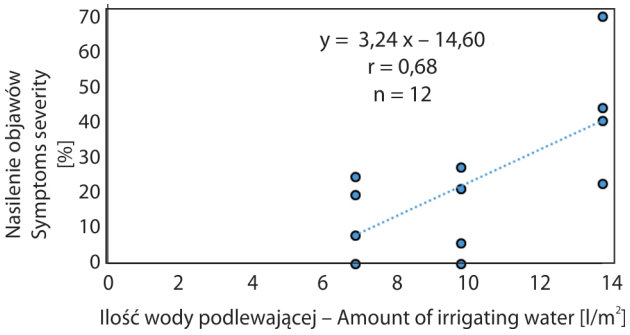
(III wariant) (rys. 2). Plon owocników porażonych był większy w pierwszym rzucie niż w drugim, zwłaszcza w przypadku większej liczby komórek bakterii w okrywie (tab. 1).

W tabeli 2. przedstawiono wyniki plonu owocników zdrowych i chorych z pierwszego i drugiego rzutu owocników w uprawie infekowanej różną liczbą komórek bakterii *P. 'gingeri'* i podlewanej różną ilością wody.

W pierwszym doświadczeniu, w uprawie podlewanej największą ilością wody stwierdzono istotnie wyższy plon owocników porażonych niż w pozostałych dwóch wariantach, niezależnie od liczby komórek bakterii wprowadzonych do okrywy. W drugim doświadczeniu sumaryczny plon owocników z objawami chorobowymi był również najwyższy w uprawie podlewanej największą ilością wody (przy obu stężeniach komórek bakterii), ale uzyskane wyniki nie były istotne statystycznie.

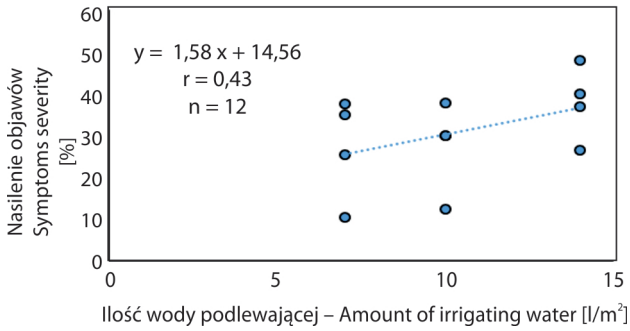
Wyznaczona krzywa zależności stopnia nasilenia objawów od ilości wody podlewającej uprawę potwierdziła wysoką korelację (r = 0,68) między danymi uzyskanymi w pierwszym doświadczeniu (rys. 3) i umiarkowaną (r = 0,43) w drugim doświadczeniu (rys. 4). Nasilenie objawów chorobowych w pierwszym doświadczeniu wynosiło od 0% do 24% dla I i II wariantu oraz od 20% do 61,7% (III wariant) w zależności od liczby komórek bakterii *P.'gingeri'* i rzutu owocników (tab. 2). W drugim doświadczeniu nasilenie choroby wynosiło od 10% do 37,8% (I i II wariant) oraz od 26,6% do 48% w III wariancie uprawy. Plon owocników porażonych był istotnie wyższy w pierwszym rzucie przy największej ilości wody podlewającej w obu doświadczeniach.

Przeprowadzone badania wykazały, że na nasilenie objawów chorób bakteryjnych miał wpływ etap cyklu uprawowego, ilość wody podlewającej oraz gatunek bakterii. Navarro i wsp. (2018) również badali stopień nasilenia chorób bakteryjnych w zależności od etapu cyklu uprawowego. W pierwszym rzucie uzyskali od 5 do 15% pieczarek z objawami plamistości, a w drugim ponad 25%. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy są zgodne z obserwacjami uzyskanymi przez Oliviera i wsp. (1997), którzy wykazali, że objawy bakterioz były najsilniejsze w pierwszym rzucie, zaś w drugim i trzecim objawy choroby słabły. Navarro i wsp. (2018) potwierdzili też, że rozwój chorób bakteryjnych uzależniony jest od wielu czynników i przebiega różnie w zależności od warunków uprawowych, natomiast Soler-Rivas i wsp. (1997, 1999) wykazali różnice w przebiegu bakterioz w zależności od odmiany pieczarki. Według Royse i Wuest (1980) za pojawienie się plamistości na owocniku nie zawsze są odpowiedzialne bakterie patogeniczne występujące w okrywie, ale duży wpływ na rozwój objawów mają też warunki klimatyczne w hali uprawowej. Wykazali oni także, że liczba bakterii w okrywie nie była skorelowana z nasileniem się objawów chorobowych. Wyniki te są odmienne od uzyskanych w niniejszej pracy, gdzie ilość owocników porażonych przy liczbie komórek bakterii 1×10^5 jtk/ml wprowadzonych do okrywy była niższa niż przy liczbie 1×10^6 jtk/ml. Różnice w plonie owocników porażonych były najbardziej zauważalne w uprawach infekowanych różną liczbą komórek bakterii i przy największej ilości wody użytej do podlewania. Wyniki te są zgodne z wynikami Wonga i Preece (1982) oraz Navarro i wsp. (2018), którzy wykazali, że zwiększona ilość wody wprowadzona do okrywy jest przyczyną większego nasilenia objawów bakteryjnej plamistości. Podobne obserwacje zostały opisane przez Geels i wsp. (1994), którzy badali wpływ zabiegu podlewania uprawy na rozwój bakteriozy wywoływanej przez *Pseudomonas agarici*. Wong i Preece (1982) badali dodatkowo ilość bakterii na powierzchni kapeluszy grzybów w zależności od ilości wody wprowadzonej do okrywy w trakcie prowadzenia uprawy. Wykazali, że w kombinacjach, do których wprowadzono zwiększoną ilość wody, liczba wykrywanych bakterii była istotnie wyższa niż w pozostałych kombinacjach. Zatem sprzyjające warunki, jak między innymi zwiększona wilgotność okrywy są przyczyną namna-



Rys. 3. Nasilenie objawów chorobowych wywołanych przez *Pseudomonas 'gingeri'* w zależności od ilości wody podlewającej (doświadczenie 1)

Fig. 3. Symptoms severity caused by *Pseudomonas 'gingeri'* depending on amount of irrigating water (experiment 1)



Rys. 4. Nasilenie objawów chorobowych wywołanych przez *Pseudomonas 'gingeri'* w zależności od ilości wody podlewającej (doświadczenie 2)

Fig. 4. Symptoms severity caused by *Pseudomonas 'gingeri'* depending on amount of irrigating water (experiment 2)

żania się patogenicznych bakterii, co prowadzi do powstawania zmian chorobowych na owocnikach pieczarki (Wong i Preece 1982; Osdaghi i wsp. 2019). W prezentowanej pracy potwierdzono, że stopień nasilenia objawów choroby zależał od wprowadzonej liczby komórek bakterii, ale tylko w przypadku zwiększonej ilości wody użytej do podlewania. Tak więc współdziałanie tych dwóch czynników przyczyniło się do rozwoju plamistości na owocnikach.

Spośród metod ochrony pieczarki przed chorobami bakteryjnymi wymienia się między innymi sterowanie mikroklimatem w hali uprawowej, tj. zachowanie odpowiedniej wilgotności względnej powietrza, temperatury i stężenia dwutlenku węgla. W okrywie pieczarkowej występują zarówno bakterie korzystne dla wzrostu pieczarki, między innymi *Pseudomonas putida*, zatem warunki w uprawie powinny sprzyjać namnażaniu się tych szczepów, ale z drugiej strony warunki uprawowe i dostępność substancji organicznych w substracie pieczarkowym sprzyjają też rozwojowi gatunków patogenicznych (Fletcher i Gaze 2008; Osdaghi i wsp. 2019). Z uwagi na brak środków ochrony upraw pieczarki przed bakteriozami, należy kontrolować mikroklimat w hali, ale także przeprowadzać wszelkie zabiegi agrotechniczne tak, aby zminimalizować ryzyko infekcji bakteryjnych. Przeprowadzone badania wykazały, że zabieg podlewania ma wpływ na nasilenie objawów chorób bakteryjnych w uprawie pieczarki.

Wnioski / Conclusions

1. Nasilenie objawów plamistości imbirowej pieczarki wywoływanej przez *P. 'gingeri'* zależało od ilości wody podlewającej uprawę. Zwiększona ilość wody użytej do nawadniania wpłynęła istotnie na plon owocników porażonych.
2. Nasilenie plamistości brunatnej wywoływanej przez *P. tolaasii* nie było zależne od ilości wody podlewającej uprawę, jednakże uzyskano stosunkowo wysoką korelację nasilenia objawów chorobowych od wody użytej do podlewania uprawy.
3. Badania wskazują, że odpowiednio przeprowadzony zabieg podlewania może wpłynąć na ograniczanie pojawienia się plamistości bakteryjnych na owocnikach pieczarki.

Finansowanie / Funding

Badania przeprowadzono w ramach tematu statutowego numer 4.4.3 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura / References

Beveridge T. 2001. Use of the Gram stain in microbiology. Biotechnic & Histochemistry 76 (3): 111–118. DOI: 10.1080/bih.76.3.111.118

Buchanan R.E., Gibbons N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1246 ss.

Fletcher J.T., Gaze R.H. 2008. Mushroom Pest and Disease Control: A Colour Handbook. Manson Publishing LTD, London, UK, 192 ss. DOI: 10.1201/b15139

Geels F.P., Hesen L.P.W., Griensven van L.J.D. 1994. Brown discolouration of mushrooms caused by *Pseudomonas agarici*. Journal of Phytopathology 140 (3): 249–259. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1994.tb04814.x

Geijn van de J. 1981. Bacterial diseases in practice. Mushroom Journal 102: 197–199.

Gill W.M. 1995. Bacterial diseases of *Agaricus* mushrooms. Reports of the Tottori Mycological Institute 33: 34–55.

Hugh R., Leifson E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. Journal of Bacteriology 66 (1): 24–26. DOI: 10.1128/jb.66.1.24-26.1953

King E.O., Ward K., Raney D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44 (2): 301–307.

Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C. 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. Journal of Applied Bacteriology 29 (3): 470–489. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1966.tb03499.x

Navarro M.J., Gea F.J., Gonzalez A.J. 2018. Identification, incidence and control of bacterial blotch disease in mushroom crops by management of environmental conditions. Scientia Horticulturae 229: 10–18. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.10.023

Olivier J.M., Mamoun M., Munsch P. 1997. Standardization of the a method to assess mushroom blotch resistance in cultivated and wild *Agaricus bisporus* strains. Canadian Journal of Plant Pathology 19 (1): 36–42. DOI: 10.1080/07060669709500569

Osdaghi E., Martins S.J., Ramos-Sepulveda L., Viera F.R., Pecchia J.A., Beyer D.M., Bell T.H., Yang Y., Hockett K.L., Bull C.T. 2019. 100 Years since Tolaas: bacterial blotch of mushrooms in the 21st century. Plant Disease 103 (11): 2714–2732. DOI: 10.1094/PDIS-03-19-0589-FE

Paine S.G. 1919. Studies in bacteriosis. II. A brown blotch disease of cultivated mushrooms. Annals of Applied Biology 5 (3–4): 206–219. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1919.tb05291.x

Preece T.F., Wong W.C. 1982. Quantitative and scanning electron microscope observations on the attachment of *Pseudomonas tolaasii* and other bacteria to the surface of *Agaricus bisporus*. Physiological Plant Pathology 21 (2): 251–257. DOI: 10.1016/0048-4059(82)90043-1

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 (9): 902–905.

Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H.J. 1997. Activation of tyrosinase in *Agaricus bisporus* strains following infection by *Pseudomonas tolaasii* or treatments with a tolaasin-containing preparation. Mycological Research 101 (3): 375–382. DOI: 10.1017/S0953756296002729

Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H.J. 1999. Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. FEMS Microbiology Review 23 (5): 591–614. DOI: 10.1111/j.1574-6976.1999.tb00415.x

Szumigaj-Tarnowska J., Oskiera M., Szymański J. 2010. *Pseudomonas gingeri* - sprawca plamistości bakteryjnej pieczarki. [*Pseudomonas gingeri* - the causative agent of bacterial blotch of mushrooms]. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 554: 239–244.

Tolaas A.G. 1915. A bacterial disease of cultivated mushrooms. Phytopathology 5: 51–54.

Wong W.C., Fletcher J.T., Unsworth B.A., Preece T.F. 1982. A note on ginger blotch, a new bacterial disease of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Journal of Applied Bacteriology 52 (1): 43–48. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1982.tb04371.x

Wong W.C., Preece T.F. 1980. *Pseudomonas tolaasii* in mushroom crops: a note on primary and secondary sources of the bacterium on a commercial farm in England. Journal of Applied Bacteriology 49 (2): 305–314. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1980.tb05129.x

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. Journal of Applied Bacteriology 53 (1): 87–96. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1982.tb04737.x