

## NOWE ASPEKTY BADAŃ NAD PLAMISTOŚCIĄ BAKTERYJNĄ PIECZARKI (*Agaricus bisporus*)

### NEW RESEARCH ASPECTS OF THE BACTERIAL BLOTCH OF THE WHITE BOTTON MUSHROOM (*Agaricus bisporus*)

**Joanna Szumigaj-Tarnowska, Jan Szymański**

Instytut Warzywnictwa im. Emila Chroboczka w Skierniewicach

e-mail: joanna.szumigaj@iwarz.pl

#### WSTĘP

Bakterie odgrywają ważną rolę w uprawie pieczarek. Są przede wszystkim odpowiedzialne za fermentację podłoża pieczarkowego, rozkład złożonych substancji, które stają się dzięki temu przyswajalne dla grzybni, tym samym stwarzając dogodne warunki dla jej rozwoju. Pełnią także ważną funkcję w procesie powstawania zawiązków owocników grzybów. Według danych literaturowych około 90% bakterii występujących na strzępkach grzybni to rodzaj *Pseudomonas*, natomiast w okrywie ten rodzaj występuje blisko w 50% ogólnej puli bakterii. Duża powszechność występowania bakterii wiąże się z pojawieniem się wśród nich gatunków i szczepów patogenicznych dla pieczarki (Fletcher 1979; Gandy 1967). Porażenie pieczarki przez chorobotwórcze bakterie prowadzi często do utraty ponad 10% plonu, a w przypadku szczególnie wrażliwych odmian nawet do 50% (Fermor i Lynch 1988). Straty uprawowe określa się dwójako, z jednej strony odczuwa się straty w ilości zbieranych grzybów, a z drugiej - zebrane pieczarki są gorszej jakości (gorsze właściwości organoleptyczne i morfologiczne). Ochrona przed chorobami bakteryjnymi ma więc duże znaczenie ekonomiczne (Fletcher 1979).

Objawy infekcji bakteryjnej pieczarki po raz pierwszy opisał Tolaas w 1915 roku (Tolaas 1915). Charakterystyczne dla tej choroby są nieregularne ciemnobrązowe, brunatne, wklęsłe plamy na kapeluszach, a w przypadku ostrego porażenia również na trzonach grzybów. Stąd nazwa choroby jest określana jako plamistość bakteryjna (*ang.* bacterial blotch) lub plamistość brunatna (Gandy 1967). Plamy obserwuje się na powierzchni owocników, które w miarę rozwoju choroby powiększają się i wreszcie pokrywają całą powierzchnię owocnika. Objawy chorobowe mogą pojawić się w każdym stadium rozwojowym grzybów uprawnych. Jeśli zostaną porażone młode owocniki, a infekcja bakteryjna będzie miała groźny przebieg, grzyby nie rozwiną się prawidłowo (powstaną ciemne trzonki oraz śliskie, małe owocniki). Wystąpienie choroby na poje-

dynczych owocnikach wiąże się z jej szybkim rozprzestrzenieniem na pozostałe w całej hali uprawowej (Geijn 1981; Gill 1995).

Czynnikiem sprawczym opisywanych symptomów jest bakteria *Pseudomonas tolaasii* Paine, a nie jak sądzono pierwotnie *P. fluorescens*. Różnice między tymi gatunkami dotyczą reakcji redukcji azotanów oraz rozkładu skrobi (Paine 1919). Za wywołanie plam na owocnikach odpowiedzialna jest toksyna wydzielana przez patogeniczne bakterie, która aktywuje działanie tyrozynazy. Aktywność tego enzymu rośnie wraz ze wzrostem stężenia toksyny (Soler-Rivas i in. 1999a i b).

Przyczynami rozwoju plamistości bakteryjnej są przede wszystkim: nadmierna wilgotność (powyżej 85%) w hali uprawowej, woda na owocnikach oraz wysoka temperatura (powyżej 17°C). Ważne jest odpowiednie postępowanie podczas podlewania uprawy, gdyż pozostawienie przez długi czas wody na owocnikach sprzyja rozwojowi choroby. Przed infekcją bakteryjną powinno uchronić szybkie osuszenie owocników w ciągu dwóch godzin. Warunki klimatyczne mają również wpływ na rozwój infekcji. Między innymi podczas ciepłego lata i jesieni, kiedy wilgotność powietrza jest wysoka, choroby bakteryjne są szczególnie dokuczliwe (Fermor i Lynch 1988; Geijn 1981).

Bakterie na owocniki dostają się z okrywy podczas podlewania, lecz również podczas wzrostu, kiedy małe zawiązki owocników znajdują się jeszcze w kontakcie z okrywą. Patogen jest również bardzo łatwo przenoszony na rękach, butach i sprzęcie pracowników, którzy mają kontakt z zainfekowaną pieczarkarnią. *P. tolaasi* występuje w powietrzu porażonych hal, ale również w pomieszczeniach gdzie nie stwierdza się objawów chorobowych. Najwyraźniej przyczyną występowania patogena w tych pomieszczeniach są cząsteczki kurzu przenoszące komórki bakterii. Szybka detekcja i identyfikacja patogena jest ważnym elementem w profilaktyce pieczarki. Lee i in. (2002) opracowali skuteczną metodę detekcji *P. tolaasii*. Wykorzystując dwie pary specyficznych primerów w reakcji wewnętrznego PCR (*ang.* nested PCR) przeprowadzili amplifikację DNA interesującego gatunku bakterii. Zastosowanie tej reakcji zwiększyło 1000 krotnie wykrycie *P. tolaasii* niż w przypadku przeprowadzenia zwykłej reakcji PCR. Wykazali, że w mieszaninie komórek bakterii, zawierającej, różne szczepy *Pseudomonas* spp. w ilości 10 000 krotnie wyższej niż ilość komórek *P. tolaasi*, w reakcji nested PCR równie skutecznie wykrywano patogena.

Godfrey i in. (2001) wykazali, że plamistości pieczarki mogą wywoływać różne szczepy *Pseudomonas* spp. Identyfikacja molekularna bakterii izolowanych z porażonych pieczarek potwierdziła, że 33 izolaty należały do grupy *P. fluorescens*. Oprócz znanych gatunków bakterii

patogenicznych, tj. *P. tolaasi*, *P. gingerii* i *P. reactans*, zidentyfikowano szereg innych gatunków z rodzaju *Pseudomonas* wywołujących plamistość pieczarki.

Choroba bakteryjna pieczarki powoduje morfologiczne zmiany w tkankach porażonych grzybów (Dyki i in. 1993; Szymański i Świętosławski 1994). Cole i Skellerup (1986) wykazali, że wewnętrzna struktura tkanki pieczarki w pierwszym stadium zainfekowania przez *P. tolaasii* ulega dezorganizacji, następuje rozdzielanie strzępek znajdujących się w sąsiedztwie atakujących bakterii. Centralna wakuola ulega redukcji lub całkowitemu zanikowi, a system transportu przez ściany jest zaburzony w wyniku zniszczenia błony komórkowej. Dalszy rozwój infekcji prowadzi do całkowitej dezorganizacji wnętrza strzępki, w którym akumulują się ciemne, gęste substancje, z resztkami cytoplazmy. Wykazano, że zniszczenie wnętrza komórki wywołuje toksyna wytwarzana przez patogena (Murata i in. 1998; Soler i in. 2000). Według Bassarello i in. (2004) *P. tolaasii* wytwarza pięć innych toksyn, które odpowiadają za rozwój choroby bakteryjnej. Lo Cantore i in. (2006) wykazali, że toksyny i białka wytwarzane przez chorobotwórcze bakterie powodują lizę komórek pieczarki na skutek szoku osmotycznego za pośrednictwem powstania por w membranie komórki.

W profilaktyce chorób bakteryjnych pieczarek najpowszechniej stosowane są związki chlorowe, np. chlorowana woda podchlorynem sodu i dwutlenkiem chloru, kwas nadoctowy, a także związki czwartorzędowych soli amoniowych. Ważne jest umiejętne dawkowanie środków chlorowych, gdyż nadmiar chloru jest dla uprawy zdecydowanie niekorzystny i przyczynia się do uszkodzenia owocników. Natomiast zbyt małe stężenie preparatu nie działa dezynfekująco, a dodatkowo może systematycznie uodparniać czynnik chorobotwórczy (Szymański i in. 2000; Szymański i Szudyga 2004).

Wiele badań prowadzi się nad poszukiwaniem szczepów antagonicznych do bakterii chorobotwórczych. Tsukamoto i in. (2002) wyizolowali szczepy bakterii (*Mycetocola tolaasinivorans*, *Mycetocola lacteus*, *Acinetobacter* sp., *Pedobacter* sp., *Bacillus pumilus*, *Sphingobacterium multivorum*) z dziko rosnących grzybów m.in. bocznika ostrygowatego, gąsówki fioletowawej, lejkówki buławotrzonowej, czernidłaka gromadnego, które hamowały rozwój plamistości bakteryjnej. Wykazano, że te bakterie, podobnie jak *P. tolaasii*, przylegają do strzępek grzybni i mogą być doskonałym czynnikiem biologicznym w zwalczaniu chorób bakteryjnych. Mechanizm działania wyizolowanych mikroorganizmów polegał na detoksyfikacji toksyny wydzielanej przez *P. tolaasii*. Badania Sahin (2005) wykazały ponadto, że niektóre szczepy *Streptomyces* spp.

hamują rozwój tego patogena. Parret i in. (2005) z bakterii *Pseudomonas* sp. wyizolowali bakteriocynę o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, która działa hamująco na rozwój *P. tolaasii*.

Znaczenie w ochronie pieczarki przed chorobami bakteryjnymi mają olejki eteryczne i wyciągi roślinne. Soler-Rivas i in. (2006) wykazali, że dodatek oleju z oliwek w ilości 10% do uprawy boczniaka łyżkowatego *Pleurotus pulmonarius* hamuje rozwój objawów wywoływanych przez *P. tolaasii*. Właściwości bakteriobójcze miał 4-metylo-katechol oraz katechol (związki obecne w wodzie otrzymanej podczas produkcji oleju z oliwek). Sokovic i Griensven (2006) przebadali między innymi olejki z rumianku pospolitego, mięty pieprzowej, lebidki pospolitej, bazylii pospolitej, tymianku właściwego, szałwii lekarskiej oraz ich składników jako inhibitory wzrostu patogenów pieczarki. Największą i najszerzą aktywność wykazał olejek z lebidki pospolitej. Według Dawoud i Eweis (2006) wyciągi z szałwii czerwonej oraz cytryny zwyczajnej mogą również przyczynić się do zwalczania bakterii chorobotwórczych w uprawie pieczarki.

Rozwój i nasilenie objawów choroby bezpośrednio zależą od stężenia komórek patogena w okrywie (Gandy 1967; Wong i Preece 1980). Komórki *P. tolaasii* mogą być przenoszone wraz z prądami powietrza z pomieszczeń zainfekowanych do nowych, czystych hal. Muchówki i roztoce mają również udział w przenoszeniu źródła porażenia. Organizmy te są odpowiedzialne za rozwój choroby w drugim i trzecim rzucie owocników. W zależności od źródła porażenia, pieczarka może zostać zainfekowana w różnym stadium rozwoju oraz różną liczbą komórek bakteryjnych (Szumigaj i Szymański 2009). Celem badań było określenie nasilenia objawów chorobowych i przebiegu rozwoju plamistości bakteryjnej wywoływanej przez *Pseudomonas tolaasii* w zależności od terminu porażenia i liczby komórek bakterii.

#### MATERIAŁY I METODY

Badania prowadzono z wykorzystaniem szczepu *Pseudomonas tolaasii* Paine LMG 2345 w warunkach *in vivo* w stosunku do pieczarki odmiany A15 w donicach wypełnionych podłożem przerośniętym grzybnią 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>). Uprawę prowadzono w klimatyzowanych halach, podczas przerostu grzybni zapewniono temperaturę 22-23°C, stężenie dwutlenku węgla 3000 mg·dm<sup>-3</sup> i względną wilgotność powietrza 92-95%. Do dnia przeprowadzania szoku (tj. obniżenia temperatury do 17-18°C i stężenia dwutlenku węgla do 800

mg·dm<sup>-3</sup>) uprawę codziennie podlewano wodą, zapewniając 1,5 L na 1m<sup>2</sup> okrywy.

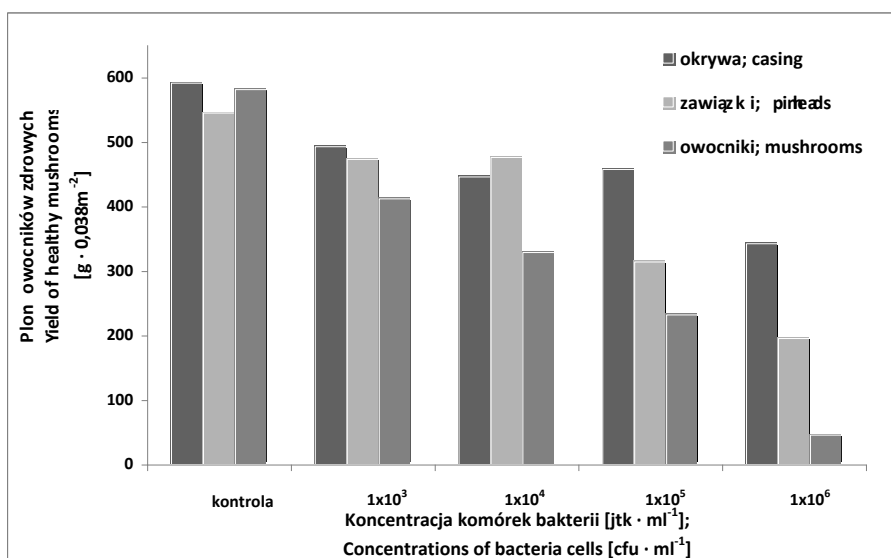
Uprawę pieczarki sztucznie zakażano zawiesiną komórek bakterii o objętości 10 ml zaraz po nałożeniu okrywy, w fazie tworzenia związków oraz tworzenia owocników (owocniki o wielkości 6-8 mm). Do przygotowania zawiesiny komórek użyto 24 godzinną hodowlę bakterii w pożywce płynnej, którą rozcieńczono do gęstości 1x10<sup>3</sup>, 1x10<sup>4</sup>, 1x10<sup>5</sup>, 1x10<sup>6</sup> jtk·ml<sup>-1</sup> (Wong i Preece, 1982). Wystąpienie plamistości określano w pierwszym i drugim rzucie pieczarki. Na podstawie plonu pieczarek zdrowych i porażonych obliczano stopień natężenia choroby bakteryjnej w zależności od terminu porażenia i wielkości inoculum infekcyjnego. Różnice między średnimi z prób kontrolnych i badanych porównywano testem Newmana-Keulsa przy  $\alpha=0,05$ .

#### WYNIKI I DYSKUSJA

Na podstawie uzyskanego plonu pieczarek zdrowych i z objawami plamistości (ciemnobrązowe, głębokie plamy na kapeluszach) określono stopień nasilenia choroby w zależności od terminu porażenia i wielkości inoculum infekcyjnego. W I rzucie plon owocników zdrowych ulegał zmniejszeniu w miarę zwiększania stężenia inoculum infekcyjnego (rys. 1). Ponadto najniższy plon uzyskano gdy infekowano owocniki, gdyż już inoculum o gęstości 10<sup>3</sup> jtk · ml<sup>-1</sup> istotnie wpłynęło na jego obniżenie. W przypadku infekcji okrywy i związków grzybów wyższe koncentracje komórek bakterii miały także wpływ na istotne zmniejszenie plonu owocników zdrowych, przy czym największe straty odnotowano, gdy porażono owocniki (rys. 1).

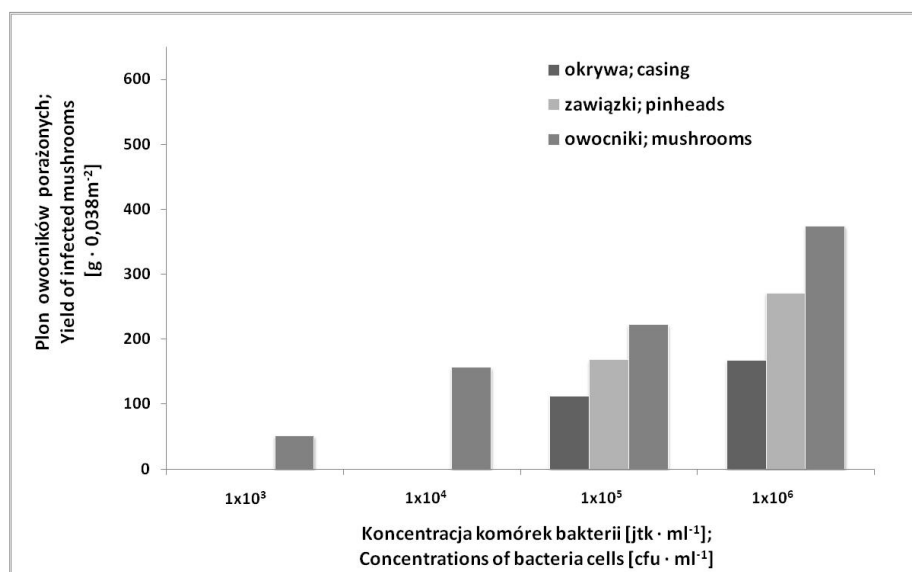
Na podstawie plonu owocników porażonych stwierdzono, że zainfekowanie okrywy i związków, zawiesiną bakterii o gęstości 10<sup>3</sup> i 10<sup>4</sup> jtk·ml<sup>-1</sup>, nie wywołało objawów chorobowych w I rzucie, natomiast wyższe koncentracje komórek skutkowały pojawieniem się owocników z plamami (rys. 2). Infekcja owocników wywołała plamistości grzybów już przy najmniejszym zastosowanym inoculum. Największy plon owocników z ciemnobrązowymi plamami uzyskano we wszystkich badanych kombinacjach, gdy inoculum wynosiło 1x10<sup>6</sup> jtk·ml<sup>-1</sup> (rys.2).

W II rzucie plon owocników zdrowych był wyraźnie niższy niż w kombinacji kontrolnej. Ilość uzyskanych grzybów zdrowych, niezależnie od terminu porażenia, była na podobnym poziomie, w przypadku gdy inoculum wynosiło 10<sup>3</sup> jtk· ml<sup>-1</sup>, natomiast wyższe koncentracje komórek bakterii wyraźnie wpłynęły na obniżenie plonu, gdy porażeniu uległy związki i owocniki pieczarki (rys. 3).



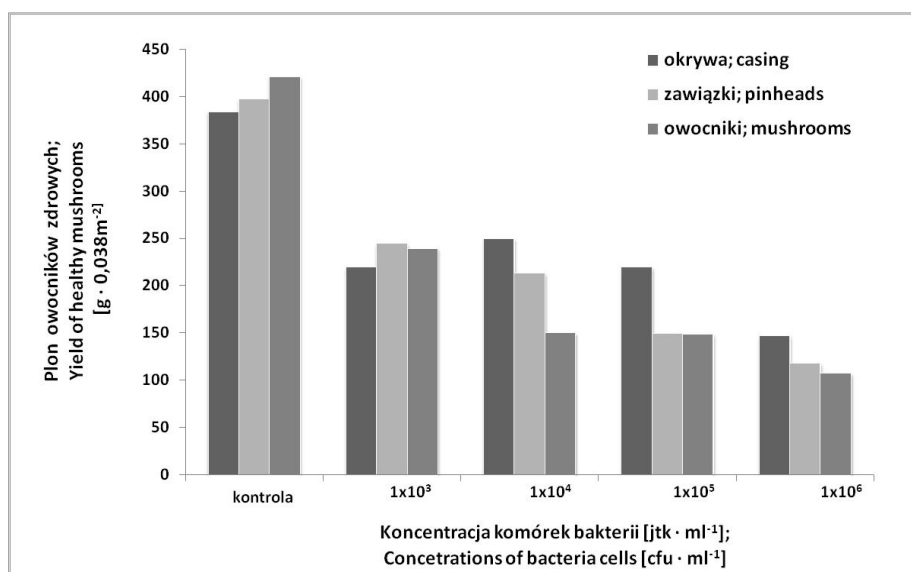
Rys. 1. Plon owocników zdrowych w I rzucie w zależności od terminu porażenia i koncentracji komórek bakterii

Fig. 1. Yield of healthy mushrooms in the first flush according to the infection time and the concentration of bacteria cells



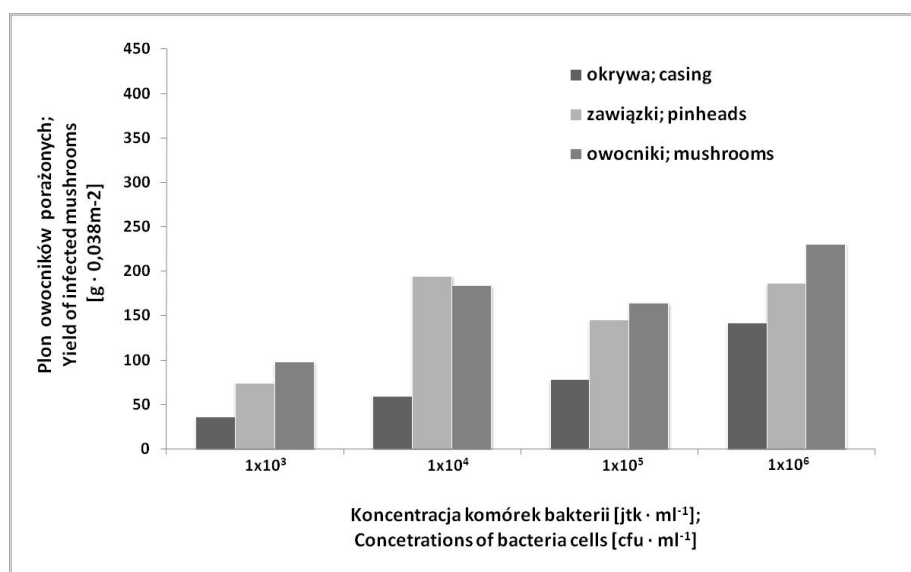
Rys. 2. Plon owocników porażonych w I rzucie w zależności od terminu porażenia i koncentracji komórek bakterii

Fig. 2. Yield of infected mushrooms in the first flush according to the infection time and the concentration of bacteria cells



Rys. 3. Plon owocników zdrowych w II rzucie w zależności od terminu porażenia i koncentracji komórek bakterii

Fig. 3. Yield of healthy mushrooms in the second flush according to the infection time and the concentration of bacteria cells



Rys. 4. Plon owocników porażonych w II rzucie w zależności od terminu porażenia i koncentracji komórek bakterii.

Fig. 4. Yield of infected mushrooms in the second flush according to the infection time and the concentration of bacteria cells.

Biorąc pod uwagę plon owocników porażonych w II rzucie, wykazano, że niezależnie od terminu zainfekowania, już najniższe stężenie komórek bakterii wywołało plamy na owocnikach. Podobnie jak w rzucie I, największą ilość owocników z objawami plamistości zebrano w przypadku porażenia owocników zawiesiną o gęstości  $10^6$  jtk·ml<sup>-1</sup> (rys. 4).

Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia stwierdzono, iż porażenie owocników w fazie ich wzrostu przez *P. tolaasii* skutkuje pojawieniem się plamistości już w I rzucie przy niskiej koncentracji komórek, a w rezultacie najwyższą utratą plonu. Podobne wyniki uzyskali Geels i in. (1994) w doświadczeniu z inną bakterią patogeniczną dla pieczarki. Sztuczna infekcja okrywy i owocników izolatem *P. agarici* skutkowało pojawieniem się 70% owocników z objawami bakteriozy w I i II rzucie. Wong i Preece (1982) wykazali, że porażenie uprawy przez *P. tolaasii* wywołuje bakteriozę u 98-100% owocników, niezależnie od sposobu podlewania uprawy i wilgotności panującej w hali uprawowej. Ponadto na owocnikach bez ciemnobrązowych plam, objawy choroby pojawiły się po zerwaniu w ciągu 24 godzin. Podobne obserwacje odnotowano w doświadczeniu prowadzonym w ramach niniejszych badań. Wong i Preece (1982) zakażali owocniki pieczarki zawiesiną bakterii i wykazali, że objawy chorobowe wystąpiły po 24 godzinach, gdy inokulum wynosiło ponad  $5 \times 10^7$  jtk·ml<sup>-1</sup>, natomiast przy mniejszym stężeniu komórek plamy na owocnikach pojawiały się w ciągu 48-72 godzin. Soler-Rivas i in. (1999a) uzyskali podobne wyniki, gdyż po 48 godzinach pojawiły się plamy na owocnikach, gdy koncentracja komórek bakterii wynosiła  $1 \times 10^6$  jtk·ml<sup>-1</sup>. Jednakże należy zaznaczyć, że badania prowadzili na zebranych owocnikach. Według Gandy (1967) plamistość bakteryjna pojawia się, jeśli stężenie komórek bakterii wynosi  $1 \times 10^5$  jtk·ml<sup>-1</sup> i mniej, natomiast Nair i Fahy (1972) podali, że stężenie to wynosi  $1 \times 10^4$  jtk·ml<sup>-1</sup>. Próg inokulum wywołujący objawy choroby bakteryjnej nie jest więc ostatecznie określony i nadal trudny do zbadania, z uwagi na niestabilność bakterii (Soler-Rivas i in. 1999a). Rainey i in. (1992) donoszą, że liczba komórek wymaganych do wywołania objawów plamistości zależy od warunków i fazy rozwojowej owocników. Istnieją także doniesienia, że 20 komórek na cm<sup>2</sup> okrywy w sprzyjających warunkach może wywołać plamy na owocnikach. Jest to spowodowane tym, iż bakterie z łatwością przyczepiają się do strzępek grzybni i tkanek pieczarki, co pozwala im przetrwać długi czas, w ilości niewykrywalnej, a następnie namnożyć się do wartości, która wywoła objawy choroby bakteryjnej. Stąd często pieczarki, bez objawów bakterioz, mogą być nosicielami chorobotwórczych bakterii (Wong i Preece 1982). Ponadto formy bakterii niepatogenicznych mogą zmienić się w formy patogeniczne i w warun-



kach wysokiej wilgotności wywoływać zmiany barwy owocników (Solter-Rivas i in. 1999a).

#### WNIOSKI

1. Termin porażenia uprawy pieczarki przez *Pseudomonas tolaasii* ma wpływ na nasilenie objawów chorobowych i uzyskany plon owocników. Największe objawy plamistości i największy plon grzybów z objawami bakteriozy stwierdzono, gdy porażeniu uległy owocniki pieczarki.
2. Liczba komórek wywołujących infekcje ma wpływ na nasilenie objawów plamistości bakteryjnej. Im większa liczba bakterii tym większe straty plonu owocników.

#### Literatura

- Bassarello C., Lazzaroni S., Bifulco G., Lo-Cantore P., Iacobellis N.S., Riccio R., Gomez-Paloma L., Evidente A. 2004. Tolaasins A-E, five new lipodepsipeptide produced by *Pseudomonas tolaasii*. J. Nat. Prod. 67: 811-816.
- Cole A.L.J., Skellerup M.V. 1986. Ultrastructure of the of *Agaricus bisporus* and *Pseudomonas tolaasii*. Trans. Br. Mycol. Soc. 87(2): 314-316.
- Dawoud M.E.A., Eweis M. 2006. Phytochemical control of edible mushrooms pathogenic bacteria. J. Food Agr. Environ. 4(1): 321-324.
- Dyki B., Staniaszek M., Szymański J. 1993. Light and electron microscope investigation on mushroom fruit bodies infected with mummy disease. Zeitsch. Pfl. Krank. 100(4): 389-393.
- Godfrey S.A.C., Marshall J.W., Klena J.D. 2001. Genetic characterization of *Pseudomonas* "NZI7" – a novel pathogen that results in a brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. J. Appl. Microbiol. 91: 412-420.
- 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. Microbiol. 65: 179-187.
- Fletcher J.T. 1979. Bacteria and mushrooms. Mush. J. 82: 451-457.
- Gandy D.G. 1967. The epidemiology of bacterial blotch of the cultivated mushroom. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1966: 150-154.
- Geels F.P., Heslen L.P.W., Griensven van L.J.D. 1994. Brown discoloration of mushrooms caused by *Pseudomonas agarici*. J. Phytopathology 140: 249-259.
- Geijn van de J. 1981. Bacterial diseases in practice. Mush. J. 102: 197-199.
- Gill W.M. 1995. Bacterial diseases of *Agaricus* mushrooms. Rep. Tottori Mycol. Ins. 33: 34-55.

- Lee H.I., Jeong K.S., Cha J.S. 2002. PCR assays for specific and sensitive detection of *Pseudomonas tolaasii*, the cause of brown blotch disease of mushrooms. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 276-280.
- Lo Cantore P., Lazzaroni S., Coraiola M., Dalla Serra M., Cafarchia C., Evidente A., Iacobellis N.S. 2006. Biological characterization of white line-inducing principle (WLIP) produced by *Pseudomonas reactans* NCPPB1311. *Mol. Plant Microbe Interact.* 19(10): 1113-1120.
- Murata H., Tsukamoto T., Shirata S. 1998. rtpA, a gene encoding a bacterial two-component sensor kinase, determines pathogenic traits of *Pseudomonas tolaasii*, the casual agent of brown blotch disease of cultivated mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Mycoscience* 39: 261-271.
- Nair N.G., Fahy P.C. 1972. Bacteria antagonistic to *Pseudomonas tolaasii* and their control of brown blotch of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *J. Appl. Bacteriol.* 35: 439-442.
- Paine S.G. 1919. Studies in bacteriosis. II. A brown blotch disease of cultivated mushrooms. *Ann. Appl. Biol.* 5: 206-219.
- Parret A.H.A., Temmerman K., De Mot R. 2005. Novel lectin-like bacteriocins of biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(9): 5197-5207.
- Sahin N. 2005. Antimicrobial activity of *Streptomyces* species against mushroom blotch disease pathogen. *J. Basic Microbiol.* 45: 64-71.
- Shisler L.C., Sinden J.W., Sigel E.M. 1968. Etiology of mummy disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* 58: 944-948.
- ., Van Griensven L.J.L.D. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Eur. J. Plant Pathol.* 116(3): 211-224.
- Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H.J. 1999a. Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. *FEMS Microbiol. Rev.* 23 (5): 591-614.
- Soler-Rivas C., Arpin N., Olivier J.M., Wichers H.J. 1999b. The effects of tolaasin, the toxin produced by *Pseudomonas tolaasii* on tyrosinase activities and the induction of browning in *Agaricus bisporus* fruiting bodies. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55 (1): 21-28.
- Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H.J. 2000. Discoloration and tyrosinase activity in *Agaricus bisporus* fruit bodies infected with various pathogens. *Mycol. Res.* 104: 351-356.
- Soler-Rivas C., Garcia-Rosado A., Polonia I., Junca-Blanch G., Marin F.R., Wichers H.J. 2006. Microbiological effects of olive mill waste addition to substrates for *Pleurotus pulmonarius* cultivation. *Int. Biodeter. Biodegr.* 57(1): 37-44.
- Szumigaj J., Szymański J. 2009. Identyfikacja, mechanizm działania i zwalczanie bakterii patogenicznych dla pieczarki *Agaricus bisporus*. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2:39-49

- Szymański J., Savage D.K., Głowacki J. 2000. Chlorine dioxide as new form chlorine for prophylaxis and controlling bacterial diseases and general disinfection AT cultivated mushroom house. Proceedings of the XV<sup>th</sup> Czech and Slovak Plant Protection Conference. Brno. 12-14.09.2000.
- Szymański J., Świętosławski J. 1994. Morfologiczne zmiany w owocnikach porażonych mumią. Biuletyn Warzywniczy 42: 121-129.
- Szymański J., Szudyga K. 2004. Wpływ niektórych preparatów dezynfekcyjnych na bakterie powodujące miękką zgniliznę pieczarki. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 497: 735-742.
- Tolaas A.G. 1915. A bacterial disease of cultivated mushrooms. Phytopathology 5: 5.
- Tsukamoto T., Murata H., Shirata A. 2002. Identification of non-pseudomonad bacteria from fruit bodies of wild *Agaricales* fungi that detoxify tolaasin produced by *Pseudomonas tolaasii*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66 (10): 2201-2208.
- 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.

Joanna Szumigaj-Tarnowska, Jan Szymański

#### NEW RESEARCH ASPECTS OF THE BACTERIAL BLOTCH OF THE WHITE BOTTON MUSHROOM *AGARICUS BISPORUS*

##### Summary

The aim of research was to investigate the disease symptoms severity and development of bacterial blotch caused by *Pseudomonas tolaasii* Paine according to the infection time and the concentration of bacteria cells. Mushroom crop was infected of bacteria suspension with different concentrations of cells. There were three inoculation of bacteria moments: after casing, pins formation and when mushroom caps diameter was 6-8 mm. It was stated that the most severe symptoms of bacterial blotch were visible when mushroom caps were infected. However, the biggest yield loses were detected when the biggest suspension of bacteria was applied, i.e.  $1 \times 10^6$  cfu·ml<sup>-1</sup>, regardless of the infection time.