

MONILINIA LAXA – MANIFESTAREA PATOGENEZEI ÎN CULTURA DE CIREȘ DIN STAȚIONARUL EXPERIMENTAL USTIA

I. MIHAILOV, V. ȘARBAN
Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Abstract. The paper presents the results obtained following a complex study on the phytopathogenic organism *Monilinia laxa* (popularly called monilian burn, and/or brown fruit rot) on the cherry tree culture. The research was carried out in the field - in the cherry tree plantation (experimental stationary from "Star Agro Groop" LLC from Ustia village, Criuleni district) and laboratory conditions - diagnosis of samples by methods: isolation on PDA and wet room, with recording the test result after different time intervals. With a tendency to estimate the level of pathogenesis and the manifestation of pathogen symptoms on the plants included in the study, during the vegetation period selected samples were collected from 8 cherry varieties: 35 samples from sector I (established from the varieties: Kordia, Regina, Stella, Ferrovia and Skeena), 21 samples from sector II (with varieties: Early Star, Samba, Black Star).

Key words. *Monilinia laxa*, cherry, sample collection, diagnosis, PDA medium.

INTRODUCERE

În spectrul agenților patogeni care afectează cireșul, arsura moniliană - *Monilinia laxa* este organismul dăunător clasic, cu statut diferit în liste operaționale, hotărâri guvernamentale și legi de rigoare. Făcînd o scurtă trecere în revistă a cadrului legislativ și literaturii de specialitate în decursul timpului, menționăm că a fost inclus: ca organism țintă în programe de control vizavi de materialul săditor din fam. *Rosaceae*, aspect important ce ține de verificarea conformității plantelor destinate plantării; cercetat de serviciul monitorizare și prognozare în interiorul țării (eliberarea buletinelor de avertizare în baza indicațiilor metodice); tematică de discuții pentru seminarele dedicate domeniului protecția plantelor, investigații anuale cu scop de elaborare a hărților cu indicarea suprafețelor de plantații focare, etc.; urmărit pe diferite tipuri de soiuri și specii de plante. La etapa actuală patogenul *Monilinia laxa*, pe teritoriul Republicii Moldova are un caracter de răspândire pe cultura de cireș destul de accentuat avînd un impact de afectare destul de divers în combinație cu moniliozele "surori" *Monilinia fructicola* și *Monilinia fructigena* și/sau desinestătător (2010, Lazu, verderevschii, legea 228).

Apariția, evoluția pe organele culturii de cireș, și manifestarea simptomelor a ciupercii *Monilinia laxa*, în dependență de condițiile climaterice, demonstrează un anumit grad de variabilitate și plasticitate pe parcursul unui interval de timp. Cunoșcînd pericolul și producerea consecințelor economice al patogenului ce urmează a fi abordat în lucrare, s-au instituit cercetări în teren și condiții de laborator cu scop de a urmări nivelul de patogeneză în condițiile climaterice ale anului 2020 pe anumite soiuri de cireș în plantația experimentală SRL „Star Agro Groop” din Ustia, r-l Criuleni.

MATERIAL ȘI METODE

Cercetările orientate în urmărirea patogenezei patogenului *Monilinia laxa* au derulat în perioada de vegetație al anului 2020 în staționarul experimental de cireș SRL „Star Agro Groop” din satul Ustia r-l Criuleni. Cireșul, matricea de studiu în arealul cultivabil, s-a încadrat în urmărirea și înregistrările asupra patogenului *Monilinia laxa* pe 2 sectoare, structurate după anumite soiuri altoite pe 2 tipuri de portaltoi (MaxMa 14 și Gisela 6).

Sectorul I: ca bază domină 5 soiuri de cireș altoite pe portaltoiul MaxMa 14: 1) Kordia, 2) Regina, 3) Stella, 4)Ferrovia și 5) Skeena.

Sectorul II: ca bază domină 3 soiuri de cireș altoite pe portaltoiul Gisela 6: 1) Early Star, 2)Samba, 3) Black Star.

Studiul patogenului *Monilinia laxa* în teren, au inclus cercetări în urmărirea gradului de atac, manifestării simptomelor pe organele plantelor de cireș cu infecție, colectarea probelor prin detașarea

organelor cu fructificație și/sau fără fructificația ciupercii. Materialul analizat, lăstari cu frunze, frunze, inflorescențe, fructele plantelor de cireș (figura 1) au fost repartizate selectiv, în pungi speciale diferențiate prin etichete codificate și înregistrate în registrul de câmp. Organele selectate a câte 5-7 secțiuni din fiecare soi de cireș reprezenta o probă formată în deplin. Astfel inspectarea plantației de cireș din staționarul experimental SRL „Star Agro Groop” din satul Ustia r-l Criuleni s-a inițiat în luna mai cu continuare în luna august, anul 2020. Probele au fost colectate după un program planificat bazat pe schema de repartizare a soiurilor de cireș. Astfel, în sectorul I, soiurile au fost delimitate în parcele. Fiecare soiul a reprezentat o parcelă. Din cinci parcele în total s-au prelevat 35 de probe, câte 7 probe din fiecare parcelă. Din sectorul 2, delimitat în 3 parcele, s-au colectat 21 probe. În total, 56 probe au fost supuse analizei de laborator. La prelevarea probelor s-au utilizat materialele: hipoclorit de sodiu de 1%, alcool etilic de 70%, mănuși de unică folosință, secatore, pungi, etichete, marker, containere, etc.

Studiul patogenului *Monilinia laxa* în condiții de laborator, s-a bazat pe tehnicile care au permis de a identifica aspectul morfologic al organismului cercetat (Lane, 2002), de a obține culturi pure în rezultatul izolărilor probelor. Pentru obținerea unei acuratețe în identificare s-au aplicat metodele: 1) camera umedă și 2) izolarea ciupercii pe mediu nutritiv PDA cu o durată de 4 zile. În urmărirea aspectelor morfologice a culturii pure de *Monilinia laxa*, s-a continuat cu reizolarea pentru 10 zile.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Manifestarea simptomelor de *Monilinia laxa* pe plantele țintă de cireș din terenul experimental. Anul 2020 s-a caracterizat prin condiții de mediu cu temperaturi ridicate a aerului și absența precipitațiilor. La unele plante pomicole seceta din acest an a influențat pozitiv la staționarea în dezvoltare a anumitor patogeni însă la cireș, arsura moniliană – *Monilinia laxa*, popular denumit și putregaiul brun, a reușit să își manifeste prezența în faza de fructificare. Sub aspect fitosanitar s-a urmărit apariția simptomelor pe soiurile de cireș din staționarul experimental SRL „Star Agro Groop” din satul Ustia r-l Criuleni.

Pe lăstari și flori monilioza nu a fost accentuată. Apariția, evoluția, manifestarea simptomelor tipice a fost favorabilă în perioada de fructificare. Astfel înregistrările cu infestare s-au inițiat prin înscrierea simptomelor pe fructe: pete de culoare brună, de formă circulară. Foarte bine s-a observat putrezirea pulpei care avea un aspect moale cu și/sau fără prezența sporilor pe suprafață. Unele fructe au căpătat formă mumifiată, cu suprafață excrescentă. Fructele cu simptom s-au menținut bine agățate de lăstari, căzînd pe sol doar la atingere și/sau scuturare (figura 1). Tendința cercetărilor au continuat cu axarea pe diagnoză și identificarea prin cheia sinoptică cu definirea caracteristicilor morfologice a patogenului față de caracterele morfologice ale altor 2 ciuperci din genul *Monilinia* (*Monilinia fructicola* și *Monilinia fructigena*).



Figura 1. Simptome de *Monilinia laxa* pe fructe de cireș în sectorul I și II al stațiunii experimentale SRL „Star Agro Groop” din satul Ustia r-l Criuleni

Diagnoza patogenului *Monilinia laxa* în laborator. Studiul s-a continuat cu cercetarea a 56 probe cu fructe simptomatice și asimptomatice colectate din ambele sectoare. În condițiile de laborator fiecare probă a fost etichetată în dependență de soiul de cireș analizat și diferențiat printr-un cod unic, aspect ce derulează menținerea trasabilității, începutul analizei și sfârșitul acesteia. Metodologia aplicată s-a bazat pe utilizarea mediului de cultură sintetic PDA, constituit din componente de: dextroză, cartof, agar nutritiv și levomiticină. Tehnica de laborator a derulat în câteva etape: etapa (I): *înregistrarea probei* în registru, fotografierea, selectarea probei de analizat, pregătirea pentru izolare (mărunțirea materialului în bucăți cu diametru de 5 mm); etapa (II): *izolarea secțiunilor* - se face în mod replicat, pe 5 cești Petri cu PDA pregătit inițial. Setul de 5 cești Petri se consideră proba izolată. În procesul de izolare, se lucrează în boxă specială, înzestrată cu nișă microbiologică. Conform cerințelor microbiologice, pentru menținerea spațiului curat, se dezinfectează spațiul de lucru: boxa și hota, ustensilele aplicate la izolare (pensetele, cuțitele, foarfecele, etc.). În timpul izolării, se conectează filtrul din hotă pentru a forma peretele de protecție din mediul extern și spațiul intern din hotă; etapa (III): *incubarea* - ceștilor cu probă se depozitează în incubatorul destinat pentru creșterea ciupercii, la temperatura de 23⁰C. Conform metodologiei de lucru specifice pentru ciupercile din genul *Monilinia* (PM EPP0) proba se lasă la creștere timp de 4 zile. În cazul creșterii coloniilor de ciuperci cu caractere morfologice tipice pentru *Monilinia* sp. se practică reizolarea ciupercii; etapa (IV): *reizolarea* - fiecare colonie se reizolează în replicat de 3 cești. Această etapă permite de a continua faza biologică de creștere a ciupercii pentru a urmări manifestarea caracterelor morfologice a culturii reizolate și a stabili specia. Perioada de incubare după reizolare este de 10 zile. Astfel, în concluzie, creșterea coloniei cu simptome specifice durează în total 14 zile; etapa (V): *citirea rezultatului* - se inițiază la ziua a 14-a. Se bazează pe aplicarea unei chei sinoptice pentru identificarea izolatei de *Monilinia laxa* și *Monilinia* sp. (Protocol EPP0), figura 2.

În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele finale pentru probele extrase din sectoarele I și II al stațiunii experimentale de cireș „Star Agro Groop”, (s. Ustia r-I Criuleni). Au fost analizate 8 soiuri de cireș, dintre care la soiurile: Regina, Skeena (sectorul I) și Samba (sectorul II) s-a depistat *Monilinia laxa*.

Tabelul 1. Diagnoza Monilinieii laxa la soiurile de cireș (sectorul I și II)

Nr.d/o	Denumirea soiului de cireș	Diagnoza <i>Monilinia laxa</i>		
		Rezultat final		
		Număr probe supuse analizei	pozitiv	negativ
Sectorul I				
1	Kordia	7	-	7 probe
2	Regina	7	2 probe	5 probe
3	Stella	7	-	7 probe
4	Ferrovio	7	-	7 probe
5	Skeena	7	3 probe	4 probe
Total probe		35	5 probe	30 probe
Sectorul II				
1	Early Star	7	-	7 probe
2	Samba	7	4 probe	3 probe
3	Black Star	7	-	7 probe
Total probe		21	4 probe	17 probe

În condițiile de laborator, monilioza pe soiurile de cireș s-a depistat în număr de 9 probe pozitive (5 probe în sectorul I și 4 probe în sectorul II), 47 probe au înregistrat rezultat negativ. Pe fonul

timpului secetos din anul 2020, patogenul ușor a staționat evoluarea agresivității în dezvoltarea infecției din abundență.

Diferențe morfologice între *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* și *Monilinia fructigena*.

Coloniile de *Monilinia laxa* prezintă o rată de creștere medie în condițiile de laborator. Se evidențiază prin trăsăturile morfologice: - marginea coloniei de formă lobată este bine evidențiată; - colonia se aseamănă cu o rozetă, avînd aspectul de petale florale; - uneori, la unele colonii lobi nu sunt bine definiți ci mai contopiți; - sunt prezente inele negre/arcuri sau inele asociate cu petale de rozete în colonie; - pe colonia privită dorsal, se observă arcuri negre sau inele asociate cu petale (uneori inelele lipsesc), figura 2. Privită la microscop, conidiile ciupercii *Monilinieii laxa* sunt de formă bombată, ușor alungite, formează lanțuri conidiene (figura 3). Conidiile sunt foarte asemănătoare cu *M. fructicola* și *M. fructigena*. Astfel citirea la microscop se aplică prin pregătirea inițială a micropreparatelor selectate de pe suprafața coloniei a fiecărei ciuperci.

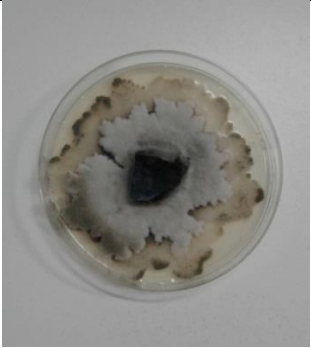
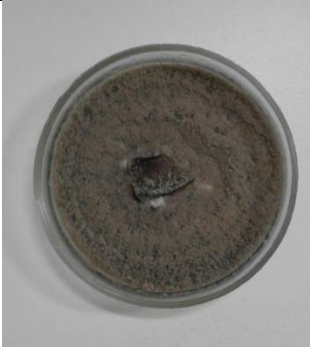
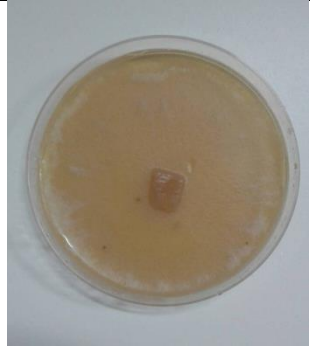
<i>Monilinia laxa</i>	<i>Monilinia fructicola</i>	<i>Monilinia fructigena</i>
		
culoarea coloniei: gri, în alte cazuri - crem/alb; marginea coloniei: lobată	culoarea coloniei: gri; marginea coloniei: netedă; prezintă sporulare abundentă și inele concentrice	culoarea coloniei: galbenă; marginea coloniei: netedă; prezintă sporulare rară.

Figura 2. Identificarea patogenului *Monilinia laxa* după cheia sinoptică (Lane 2002)

Alte 2 ciuperci: *Monilinia fructicola* și *Monilinia fructigena* se deosebesc de *M. laxa* prin faptul că marginile coloniilor sunt netede. Colorația și textura diferă. **Colonia de *Monilinia fructicola*** pe mediu tip PDA la temperatura de 22-23°C se manifestă printr-o rată a creșterii accentuată de 9-20 mm în 24 ore (conform PM 7/18(3)), (Leeuwen & Kesteren, 1998). În timp de 6-7 zile sporularea este abundentă, recunoscută prin inele concentrice constituite din spori de culoare maronie cu nuanță galbenă-cenușie. Marginea coloniei este întregită, uniformă, fără lobi, lipsește forma de rozetă cu arcuri negre. Conidiile sunt blastice, formate în lanțuri, cu cel mai mic spor la capătul distal, sau ocazional artric, elipsoide, ovoide sau moniliforme, adesea cu capete trunchiate, hialine sau gălbui. **Colonia de *Monilinia fructigena*** în condițiile de incubare la temperatura de 22-23°C posedă o rată de creștere mai redusă (în jumătate comparativ cu creșterea coloniei de *Monilinia fructicola*). Sporularea - rară. Culoarea cu nuanță crem/galbenă. Suprafața coloniei nu prezintă zone cu puncte negre, arcuri maronii sau inele, iar marginea este lipsită de lobi ce au aspectul unei rozete.

În acest context comparativ, *Monilinia laxa* s-a manifestat pe fructele soiurilor de cireș: Regina, Skeena și Samba. Capacitatea de atac s-a evaluat prin citirea a 9 probe pozitive din 56 analizate. Aceste rezultate vor constitui o abordare ulterioară pentru planificarea cercetărilor la soiurile de cireș cu probe negative în scopul de a urmări dinamica patogenezei în alți ani cu alte condiții climaterice.

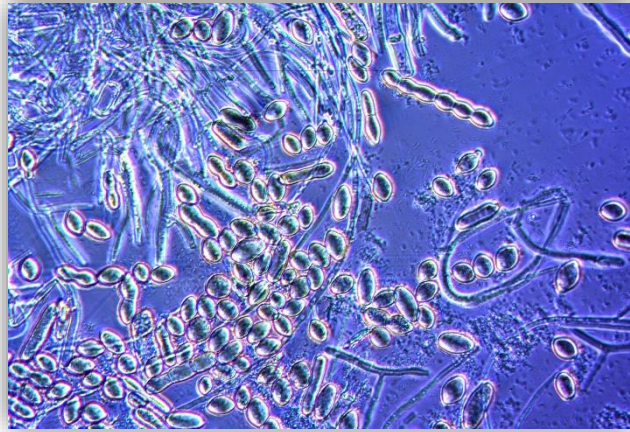


Figura 3. Conidii solitare și lanțuri conidiene de *Monilinia laxa* (citit la obiectivul de mărire 40x).

CONCLUZII

Urmărirea atacului de monilioză pe plantele de cireș s-a realizat în 2 sectoare din plantația experimentală SRL „Star Agro Groop” din Ustia, r-l Criuleni. În sectorul I, s-au prelevat probe de la 5 soiuri de cireș (Kordia, Regina, Stella, Ferrovio și Skeena.) iar în sectorul II - 3 soiuri (Early Star, Samba, Black Star). În rezultatul investigațiilor din teren și diagnozelor de laborator s-au înregistrat 9 probe cu rezultat pozitiv (5 probe în sectorul I și 4 probe în sectorul II) și 47 probe cu rezultat negativ. Acest aspect va servi la continuarea cercetărilor pentru viitor de a urmări gradul de infectare pe sourile a căror organe nu au fost afectate de arsura moniliană.

RECUNOAȘTERI

Studiul prezentat în lucrare s-a realizat în baza Proiectului științific **20.80009.5107.04** - Adaptarea tehnologiilor durabile și ecologice de producere a fructelor sub aspect cantitativ și calitativ în funcție de integritatea sistemii de cultură și schimbărilor climatice. Director de proiect, doctor habilitat, prof. univ. Valerian BALAN, susținut de către Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare a Republicii Moldova.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Bădărău S. Fitopatologie (generală și agricolă). Chișinău, Ed. Print-Caro, 2012. 1-591.
2. Direcția Protecția Plantelor. Indicații metodice pentru lucrul specialiștilor monitoringului fitosanitar în condițiile Republicii Moldova. Chișinău, 2010. 1-226.
3. Identification *Monilinia* sp. In: Protocol OEPP/EPPO, PM 7/18 (3) – *Monilinia fructicola*. 5-18.
4. Lane C.R. A synoptic key for differentiation of *Monilinia fructicola*, *M. fructigena* and *M. laxa*, based on examination of cultural characters. 2002. In: Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 32, 507-511.
5. Lazu M.N. Atlasul bolilor plantelor cultivate în Moldova. Chișinău: Ed.Știința, 1992. 1-246.
6. Leeuwen G. C. M., Kesteren H. A. Delineation of the three brown rot fungi of fruit crops (*Monilinia* spp.) on the basis of quantitative characteristics. In: Canadian Journal of Botany 76, 1998. 2042-2050.
7. Legea nr.228 din 23.09.2010 cu privire la protecția plantelor și la carantina fitosanitară. Republica Moldova.
8. Вердеревский Д.Д., Полевой Т.Н., Шапа В.А. Справочник агронома по защите растений. Кишинев: Изд. Картя Молдовеняскэ, 1968. 1-722.