

## Patogeniczne grzyby wyosabniane z porażonych korzeni i podstawy źdźbła pszenicy

ZBIGNIEW WEBER, TAHSEIN A. M. AMEIN

Katedra Fitopatologii Akademii Rolniczej w Poznaniu

Weber Z., Amein T. A. M.: (Chair of Phytopathology, University of Agriculture, 60-594 Poznań, ul. Dąbrowskiego 159). *Pathogenic fungi obtained from infected roots and stalks base of wheat*. Acta Mycol. 26(1): 109-117, 1990.

Results of pathogens isolation from roots and stalks base of winter wheat depended on the phase of plants growth and the way of isolation.

### WSTĘP

W literaturze istnieje dużo informacji o porażaniu korzeni oraz podstawy źdźbła pszenicy przez *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx et Olivier var. *tritici* Walker oraz przez grzyby z rodzaju *Fusarium* (Davies 1935; Gorska-Poczopko 1964; Łacicowa 1977; Mańka i in. 1983; Truszkowska i in. 1979; Walker 1975). Różne zdolności wymienionych grzybów do porażania pszenicy w poszczególnych rejonach jej uprawy mogą wiązać się między innymi z wpływem odmiennych warunków środowiska. W przypadku prac wykonywanych w podobnych warunkach uzyskiwane różnice mogą wynikać z różnych sposobów postępowania metodycznego.

Celem niniejszej pracy było określenie zależności między terminem i sposobem izolacji, a wynikami wyosabniania patogenicznych gatunków grzybów z porażonych korzeni i podstawy źdźbła pszenicy.

### MATERIAŁ I METODY

Przedmiot pracy stanowiły patogeniczne dla pszenicy grzyby wyosobnione z ozimej pszenicy odmiany Grana.

W latach 1985 i 1987 z plantacji produkcyjnych pszenicy znajdujących się na terenie Gospodarstwa Złotniki Akademii Rolniczej w Poznaniu pobierano

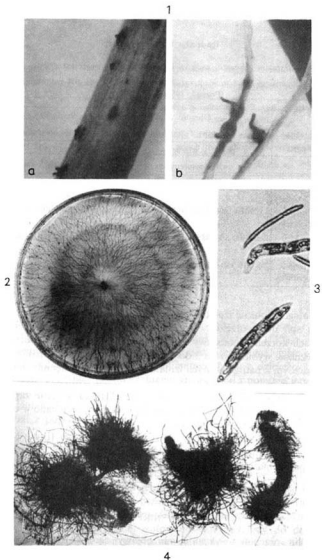
w trzech fazach wzrostu (początek strzelania w źdźbło, kłoszenie, dojrzałość mleczno-woskowa) po około 150 roślin. W laboratorium określano występowanie brunatnych lub czarnych korzeni i podstawy pędu. Porażone fragmenty korzeni i pędów każdorazowo dzielono na pięć podobnych grup. W każdym terminie pięcioma sposobami wykonywano izolacje z dziesięciu fragmentów roślin (8 korzeni i 2 pędów). Każdy porażony fragment po zdezynfekowaniu rozcinano na pięć części na wyjałowionym szkiełku i wykładano na jedną płytkę Petriego z pożywką AGZ (agar glukozowo-ziemniaczany z dodatkiem 10 000 jednostek streptomycyny/1 litr). Streptomycynę wprowadzano do wyjałowionego agaru glukozowo-ziemniaczanego tuż przed jego rozlewaniem na płytki. Płytki z wyjałowionymi fragmentami chorych roślin pozostawiono w temperaturze 18 do 22°C. Po 3 do 7 dniach wyrastające kolonie grzybów odszczepiano na agar glukozowo-ziemniaczany (AGZ). Używane do oceny patogeniczności ziarno pszenicy i owsa dezynfekowano w 0,25% formalinie przez 15 minut, płukano w bieżącej wodzie przez 5 minut, a następnie suszono w laboratorium przez 1 dobę. Inokulum stanowiły 5-milimetrowe krążki pożywki AGZ (z płytek Petriego) przerośnięte przez grzybnie 7- do 10-dniowych kultur.

Do wyjałowionych płytek Petriego o średnicy 20 cm, z umieszczoną na dnie płytką szklaną owiniętą zwilżoną bibułą, układano w równych (około 2 cm) odstępach po 16 krążków inokulum, odwróconych grzybnią powietrzną do góry. Na 8 krążków nakładano po 1 ziarniaku pszenicy, a na pozostałe 8 krążków – po 1 ziarniaku owsa. Po dwóch tygodniach określano liczbę porażonych roślin i stopień ich porażenia według 7-stopniowej skali:

- 1) porażony pęd lub jeden korzeń zarodkowy;
- 2) porażony pęd i jeden korzeń lub porażone dwa korzenie;
- 3) porażony pęd i dwa korzenie lub porażone trzy korzenie;
- 4) porażony pęd i trzy korzenie lub porażone cztery korzenie;
- 5) porażony pęd i cztery korzenie lub porażone pięć korzeni;
- 6) porażony pęd i pięć korzeni zarodkowych;
- 7) całkowicie zniszczone korzenie i pęd (brak rośliny).

Kontrolę każdorazowo stanowiły rośliny uzyskane z ziarniaków wyłożonych na krążki pożywki AGZ bez grzybni.

Izolaty grzybów tworzące oliwkowobrunatnoczarne kolonie, początkowo na obwodzie z lukowato układającymi się strzępkami porażające tylko pszenicę, a na pożywkach agarowych lub częściej na fragmentach porażonych roślin wytwarzające otocznie, worki i askospory (ryc. 1, 2, 3, 4, tab. 1) zaliczano do gatunku *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Walker 1972; Willetts 1961; Yeates 1986). Ponieważ na pożywkach AGZ, Speakman'a i Weste (Gindrat 1968; Speakman 1984; Weste 1970) otocznie tworzyły się bardzo rzadko odpowiednio: 13, 0 i 5% izolatów *G. graminis* var.



Ryc. 1-4. *Gaemannomyces graminis* var. *tritici*

- 1 - perytecja w pędzie (a) i w korzeniach pszenicy (b); 2 - trzymiesięczna kolonia na pożywce AGZ; perytecja w postaci czarnych punktów; 3 - worki i askospory ( $\times 400$ ); 4 - perytecja ( $\times 50$ )  
 1 - perithecia in shoots (a) and in roots (b) of wheat; 2 - three months old colony on the PDA medium; perithecia in the form of black points; 3 - asci and ascospores ( $\times 400$ ); 4 - perithecia ( $\times 50$ )

Tabela 1 – Table 1

Wymiary askospor, worków i perytecjów *G.graminis* var. *tritici*  
 Dimensions of *G.graminis* var. *tritici* ascospores, asci and perithecia  
 (Poznań, 1984/85 – 1986/87)

Części grzyba Fungus parts	Długość × szerokość w $\mu\text{m}$ , według oceny Length × width in $\mu\text{m}$ , according to the estimation	
	pomiary własne – own measurement	Walkera (1972 i 1981) Walker's (1972 and 1981)
Askospory Ascospores	(46-)64- 92(-98) × 2,5-3,5(-5)	(60-) 70-105(-110) × 2,5-3(-4)
Worki Asci	(70-)80-140(-160) × 10-12	(70-)80-130(-140) × 10-15
Perytecja całe Whole perithecia	300-600(-985) × 140-330	(250-) 300-650(-750) × 150-400(-500)
Szyja perytecjów Neck of perithecia	(70-)130-350(-670) × (70-)115-130(-140)	100-250 i więcej × –

*tritici*), dlatego zdolność izolatów (makroskopowo przypominających *Gaeumannomyces* sp.) do tworzenia otoczni, worków oraz askospor oceniano na fragmentach korzeni i podstawy źdźbeł pszenicy. W tym celu podczas oceny patogeniczności wybierano po 3 do 5 porażonych fragmentów roślin inokulowanych każdym z patogenicznych izolatów grzybów, a następnie umieszczano je w wyjalowionych płytkach Petriego z bibułą zwilżoną wodą. Płytki układano pojedynczą warstwą na powierzchni stołu w celu zapewnienia jednakowego dostępu światła. Wytwarzanie owocników oceniano w odstępach 1-tygodniowych przez okres do 3 miesięcy.

Do oznaczania gatunków grzybów rodzaju *Fusarium* (Booth 1971; Raitlo 1959) przygotowywano 1-zarodnikowe kultury z reprezentatywnych i patogenicznych wobec pszenicy izolatów.

#### WYNIKI

Z roślin pszenicy, wykazujących objawy zgorzeli podstawy źdźbła i pochodzące z plantacji produkcyjnych, uzyskiwano znacznie różniące się liczby izolatów *G.graminis* var. *tritici* (tab. 2). W fazie strzelania w źdźbło patogena wyizolowano tylko z 2%, a w fazie dojrzałości mleczno-woskowej z 41% chorych roślin. We wszystkich fazach wzrostu z podobnej liczby roślin (4 do 5,5%) wyizolowano *F.avenaceum*. Liczby roślin, z których izolowano

Tabela 2 - Table 2

Procent porażonych korzeni i podstawy źdźbeł pszenicy, z których wyizolowano grzyby  
 Percentage of infected roots and blade stalk from which the pathogens were isolated

Faza wzrostu roślin Phase of plant growth	Procent porażonych korzeni i źdźbeł pszenicy z których wyizolowano				
	Percentage of infected roots and blade stalk from which the pathogens were isolated				
	G.g.t.	Fusarium sp.			
		ogółem	F.a.	F.c.	inne
Początek strzelania w źdźbło Beginning of stem blade stalk	2	7	5,0	1,0	1
Kłoszenie Heading	28	15	4,0	0,0	11
Dojrzałość mleczno-woskowa Milk-wax maturity	41	10	5,5	3,5	1

G.g.t. - *G.graminis* var. *tritici*;

F.a. - *F.avenaceum*, F.c. - *F.culmorum*.

*F. culmorum* wahały się od 0 do 3,5%. Inne gatunki grzybów z rodzaju *Fusarium* najczęściej izolowano z roślin w fazie kłoszenia (11%).

*G. graminis* var. *tritici* izolowano najrzadziej wówczas, gdy porażone korzenie (20 do 27%) dezynfekowano sublimatem (0,1%), a najczęściej, gdy ich fragmenty (33%) dezynfekowano azotanem srebra (1%) z pominięciem etanolu (tab. 3). Z zastosowaniem pięciu sposobów dezynfekcji grzyby z rodzaju *Fusarium* izolowano ze znacznie mniejszej liczby porażonych korzeni (1 do 15%) aniżeli z porażonych źdźbeł (3 do 7/18).

#### DYSKUSJA

Wyniki oceny przyczyn porażających korzenie i podstawę źdźbeł pszenicy zależą między innymi od terminu jej wykonania. W niniejszej pracy ocenę przyczyn zgorzeli podstawy źdźbła pszenicy wykonano w trzech terminach, z zastosowaniem pięciu sposobów dezynfekcji porażonych fragmentów roślin. *G. graminis* var. *tritici* najczęściej izolowano wówczas, gdy do dezynfekcji stosowano powszechnie w tym celu zalecany azotan srebra (A s h e r 1978; S l o p e j in. 1978; Y e a t e s, P a r k e r 1986). Podobnie jak D a v i e s (1935), grzyby z rodzaju *Fusarium* częściej izolowano wtedy, gdy do dezynfekcji porażonych tkanek używano sublimat. *G. graminis* var. *tritici* częściej izolowano z porażonych korzeni, a grzyby z rodzaju *Fusarium* częściej izolowano ze źdźbeł niż z korzeni. Wyniki te okazały się zgodne z doniesieniami o

Tabela 3 — Table 3

Grzyby wyizolowane różnymi sposobami z korzeni i podstawy źdźbeł pszenicy

Fungi isolated from infected roots and blade stalk  
(Złotniki, 1985 — 1987)

Sposoby dezynfekcji i płukanie w wyjalwionych płynach Ways of disinfection and washing in sterilised liquids	Porażone korzenie (%), z których wyizolowano patogeny Infected roots (%) from which the pathogens were isolated				Liczba porażonych źdźbeł*, z których wyizolowano patogeny Number of infected blade stalk from which the pathogens were isolated				
	G.g.t.	Fusarium sp.			G.g.t.	Fusarium sp.			
		ogółem total	F.a.	F.c.		inne others	ogółem total	F.a.	F.c.
1. 96% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH — 10 s 0,1% HgCl <sub>2</sub> — 10 s H <sub>2</sub> O — 3 razy (times)	20	10	7,0	0,0	3,0	0	4	3	1
2. 96% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH — 10 s 0,1% HgCl <sub>2</sub> — 10 s 5% NaCl — 1 min. H <sub>2</sub> O — 2 razy (times)	27	15	4,5	1,5	9,0	0	2	1	0
3. 1% AgNO <sub>3</sub> — 15 s H <sub>2</sub> O — 3 razy (times)	33	6	4,5	0,0	1,5	0	4	4	1
4. 96% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH — 10 s 1% AgNO <sub>3</sub> — 15 s 5% NaCl — 1 min. H <sub>2</sub> O — 2 razy (times)	27	9	4,5	3,0	1,5	1	4	1	1
5. 1% AgNO <sub>3</sub> — 15 s 5% NaCl — 1 min. H <sub>2</sub> O — 2 razy (times)	33	1	1,0	0,0	0,0	1	3	1	1

G.g.t. — Graminis var. tritici; F.a. — F. avenaceum; F.c. — F. culmorum;

\* — każdym sposobem izolacji wykonano z 72 korzeni i 18 źdźbeł  
(in each way isolations were made from 72 roots and 18 shoots)

silniejszym porażeniu korzeni niż pędów przez *G. graminis* var. *tritici* (Deacon 1974; Fellows, Ficke 1939; McKinney, Davis 1925). Deacon (1974) twierdzi, że podstawa pędu jest mniej podatna na porażenie przez *G. graminis* niż korzenie. Podobnie jak Slope i inni (1978), w niniejszej pracy znacznie mniej izolowano patogenicznych grzybów (*G. graminis* var. *tritici* i *Fusarium* sp.) z porażonych roślin pszenicy w fazie początku strzelania w źdźbło, aniżeli w dwóch późniejszych terminach. Prawdopodobnie jest to związane z zasiedlaniem przez patogena głębiej położonych tkanek rośliny w miarę upływu okresu wegetacji.

Autorom nie udało się wyizolować *Drechslera sorokinianum* i *G. graminis* var. *avenae*, które także mogą porażać pszenicę (Deacon 1974; Truskowska i in. 1979; Turner 1940). Jedną z przyczyn niewyizolowania *D. sorokinianum* mógł być odczyn ziemi zbliżony do obojętnego. Dla rozwoju tego grzyba optymalna wartość pH wynosi 4,9 (McKinney 1925; Reisi in. 1982). Porażenie pszenicy przez *G. graminis* var. *tritici* na ogół wzrasta w miarę zmniejszania się kwasowości gleby (Gorska-Poczopko 1963; Novotný 1983; Reisi in. 1983; Trollenier 1981). W naszej pracy kwasowość ziemi wynosiła 6,3 do 6,5 i być może między innymi dlatego patogen ten okazał się główną przyczyną zgorzeli podstawy źdźbła pszenicy. W tej i w innych wykonanych w Polsce pracach nie zanotowano występowania *G. graminis* var. *avenae* w roślinach pszenicy z objawami zgorzeli podstawy źdźbła. Zgodne to jest z wynikami prac, w których stwierdzono, że *G. graminis* var. *tritici* poraża głównie pszenicę i jęczmień, a *G. graminis* var. *avenae* przede wszystkim trawę i owies (Davies 1950; Walker 1975).

Rola grzybów z rodzaju *Fusarium* w porażeniu korzeni i podstawy pędu pszenicy zależy od zdrowotności materiału siewnego, zasiedlenia gleby przez te grzyby, warunków środowiska (temperatura, wilgotność itp.), podatności odmiany i szeregu innych czynników (Mesterházy 1978; Scandaci, Webster 1982; Srobárová, Srobár 1982). W niniejszej pracy z naturalnie zakażonych roślin pszenicy wykazujących objawy zgorzeli podstawy źdźbła wielokrotnie częściej izolowano *G. graminis* var. *tritici* niż *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* i inne gatunki grzybów z rodzaju *Fusarium*.

#### SUMMARY

Root and shoot base pathogens of the winter wheat cultivar Grana were isolated in the growth phases: stem shooting, heading, milk-wax maturity. Infected parts of the plants were disinfected and plated onto potato-dextrose agar with streptomycin (100 units/ml).

*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* was isolated most often from the plants in the milk-wax maturity stage (41% of diseased plants). In successive phases of wheat growth from a similar number of plants were isolated: *Fusarium avenaceum* and other *Fusarium* species. *G. graminis* var.

*tritici* was isolated most often when the infected plant parts were disinfected with  $\text{AgNO}_3$ , and *Fusarium* sp. in the case of disinfection of plant parts with  $\text{HgCl}_2$ . *G. graminis* var. *tritici* was isolated most often from infected roots, and *Fusarium* sp. from infected shoot bases.

## LITERATURA

- Asher M. J. C., 1978. Isolation of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* from roots. Trans. Brit. Mycol. Soc. 71: 322-325.
- Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. pp. 1-237.
- Cook R. J., 1968. *Fusarium* root and foot rot of cereals in the Pacific Northwest. Phytopathology 58: 127-131.
- Davies F. R., 1935. Superiority of silver nitrate over mercuric chloride for surface sterilisation in isolation of *Ophiobolus graminis*. Wg Rev. Plant Path. 1936, 15: 142.
- Davies D. L. G., 1950. *Ophiobolus graminis* Sacc. var. *avenae* E. M. Turner in mid-wales in 1948. Trans. Brit. Mycol. Soc. 33: 352-353.
- Deacon J. W., 1974. Further studies on *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis* on roots and stem bases of grasses and cereals. Trans. Brit. Mycol. Soc. 63: 307-327.
- Fellows H., Ficke C. H., 1939. Soil infestation by *Ophiobolus graminis* and its spread. J. Agricult. Res. 58, 7: 505-519.
- Gindrat D., 1968. Recherches sur la nutrition et le developpement de *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier, agent du piétin-échaudage des céréales. Wg Rev. Plant Path. 1975, 54: 117.
- Gorska-Poczopko J., 1963. Próba oszacowania występowania i nasilenia zgorzeli podstawy źdźbła (*Ophiobolus graminis* Sacc.) na pszenicach w 10-ciu województwach Polski. Biul. Inst. Ochr. Rośl. 23: 191-232.
- Gorska-Poczopko J., 1964. Studia nad biologią grzyba *Ophiobolus graminis* Sacc., patogena zgorzeli podstawy źdźbła na pszenicach w Polsce. Prace Nauk. IOR 6, 2: 5-56.
- Łacicowa B., 1977. Schorzenia pszenicy powodowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Ochr. Rośl. 10: 14-16.
- Mańka K., Gierczak M., Przezbórski A., 1983. Z dotychczasowych badań nad chorobami korzeni i podstawy źdźbła pszenicy. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 275: 91-100.
- McKinney H. H., 1925. Foot-rot diseases of wheat in America. Department Bulletin 1347: 1-40.
- McKinney H. H., Davis R. J., 1925. Influence of soil temperature and moisture on infection of young wheat plants by *Ophiobolus graminis*. J. Agric. Res. 31, 9: 827-840.
- Mesterházy A., 1978. Comparative analysis of artificial inoculation methods with *Fusarium* spp. on winter wheat varieties. Phytopath. Z. 93: 12-25.
- Novotný J., 1983. An evaluation of the effect of some soil properties on the take-all of cereals (*Gaeumannomyces graminis*). Sbor. UVTIZ – Ochr. Rostl. 19, 3: 211-219.
- Raillo A. I. 1959. Griby roda *Fusarium*. Moskwa: 1-415.
- Reis E. M., Cook R. J., McNeal B. L., 1983. Elevated pH and associated reduced trace-nutrient availability as factors contributing to take-all of wheat upon soil limig. Phytopathology 73: 411-413.
- Reis E. M., Lhamby J. C., Santos H. P., Kochhmann R. A., 1982. Effects of lime and sowing systems on the incidence of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Helminthosporium sativum* on wheat (*Triticum aestivum*) roots. Wg Rev. Plant Path. 1984, 63: 309.
- Scandaci S. C., Webster R. K., 1982. Common root rot of cereals in California. Plant Disease 66: 31-34.



- Slope D. B., Salt G. A., Broom E. W., Gutteridge R. J., 1978. Occurrence of *Phialophora radicola* var. *graminicola* and *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* on roots of wheat in field crops. Ann. Appl. Biol. 88: 239-246.
- Speakman J., B., 1984. Perithecia of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* and *G. graminis* var. *tritici* in pure culture. Trans. Brit. Mycol. Soc. 82: 720-723.
- Srobárová A., Srobár S., 1982. Characteristics of *Fusarium* species on wheat and their presence in different crop growing regions of Slovakia. Sbor. UVTIZ. Ochr. Rostl. 18, 1: 27-34.
- Trolldenier G., 1981. Influence of soil moisture, soil acidity and nitrogen source on take-all of wheat. Phytopath. Z. 102: 163-177.
- Truszkowska W., Czechowski K., Kowalski A., Kutrzeba M., 1979. Choroby podstawy źdźbła pszenicy ozimej po 10 latach monokultury. Roczn. Nauk. Rol. ser. E, 9, 1: 23-32.
- Turner E. M., 1940. *Ophiobolus graminis* Sacc. var. *avenae* var. n., as the cause of take all or whiteheads of oats in Wales. Trans. Brit. Mycol. Soc. 24: 269-281.
- Walker J., 1972. Type studies on *Gaeumannomyces graminis* and related fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 58: 427-457.
- Walker J., 1975. Take-all disease of gramineae. Wg Rev. Plant Path. 54: 113-144.
- Weste G., 1970. Factors affecting vegetative growth and the production of perithecia in culture by *Ophiobolus graminis* l. Variations in media and age of mycelium. Austral. J. Bot. 18: 1-10.
- Willetts H. J., 1961. A comparison between *Ophiobolus graminis* and *Ophiobolus graminis* var. *avenae*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 44: 504-510.
- Yeates J. S., 1986. Ascospore length of Australian isolates of *Gaeumannomyces graminis*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 86: 131-136.
- Yeates J. S., Parker C. A., 1986. In vitro reaction of Australian isolates of *Gaeumannomyces graminis* to crude oat extracts. Trans. Brit. Mycol. Soc. 86: 137-144.