



**Śledzenie zmian patogeniczności w populacjach ważnych
gospodarczo grzybów roślin strączkowych (*Mycosphaerella
pinodes*, *Ascochyta fabae*, *Botrytis fabae*, *Fusarium sp.*)
sprawców zgorzelowej plamistości grochu i bobiku.**

Sprawozdanie z prac 2008-2013

PW obszar/zdanie 6.10

L. BOROS, T. GÓRAL

**Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa / Pracownia Oceny Zdrowotności i
Tożsamości Zbóż i Roślin Strączkowych
Zakład Fitopatologii / Pracownia Chorób Roślin**





Cel pracy:

- Celem pracy jest analiza struktury populacji i śledzenie zmian patogeniczności w populacjach ważnych gospodarczo grzybów roślin strączkowych tj. *Mycosphaerella pinodes* sprawcy zgorzelowej plamistości grochu oraz *Ascochyta fabae* Speg. i *Botrytis fabae* Sard. sprawców askochytozy i czekoladowej plamistości bobiku.

Podzadanie 1

Śledzenie zmian patogeniczności w populacji grzyba *Mycosphaerella pinodes* – sprawcy zgorzelowej plamistości grochu

Boros L., Wawer A., Borucka K.



Zgorzelowa plamistość grochu (*Pisum sativum* L.)

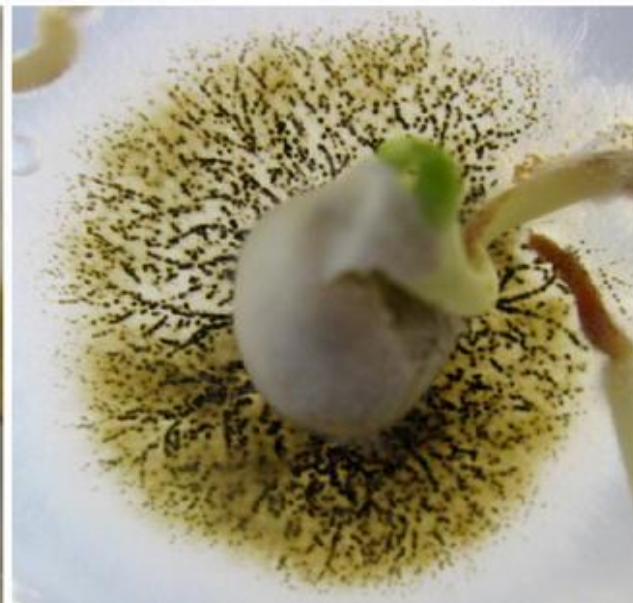
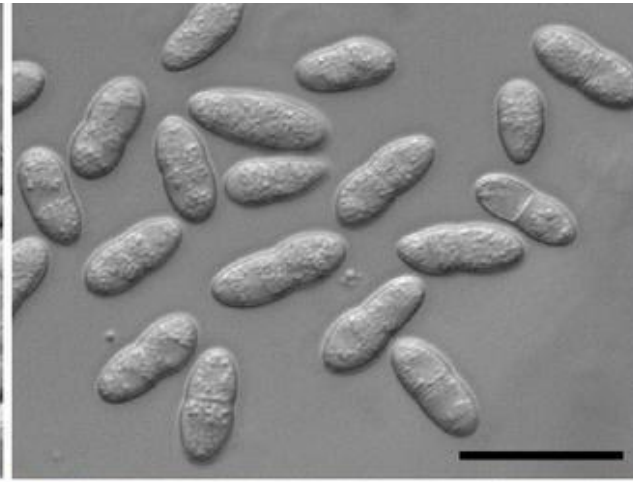
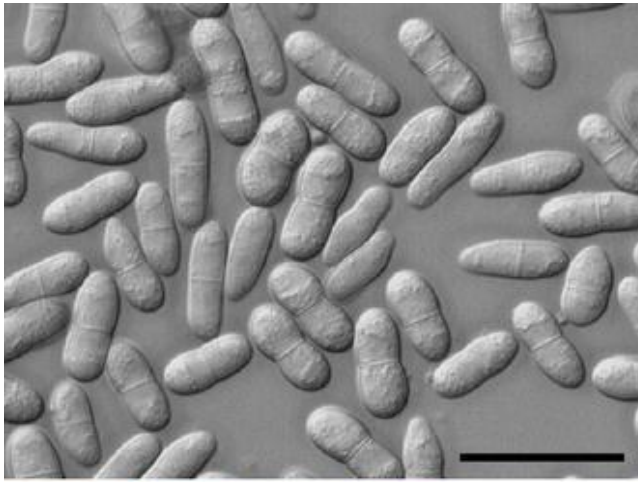


Sprawcy askochytozy:

⌘ *Ascochyta pisi* Lib.

⌘ *Mycosphaerella pinodes* (Berk. & Blox.)
Vestergr. stadium doskonałe (telomorfa)
Ascochyta pinodes (Berk. & Blox.) Jones

⌘ *Phoma medicaginis* Malbr. & Roum. var.
pinodella (Jones) Boerema (syn.: *Ascochyta pinodella*).



Ascochyta pisi

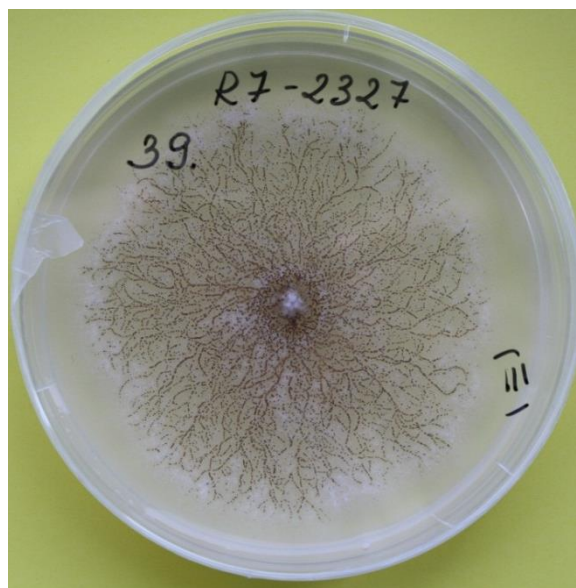
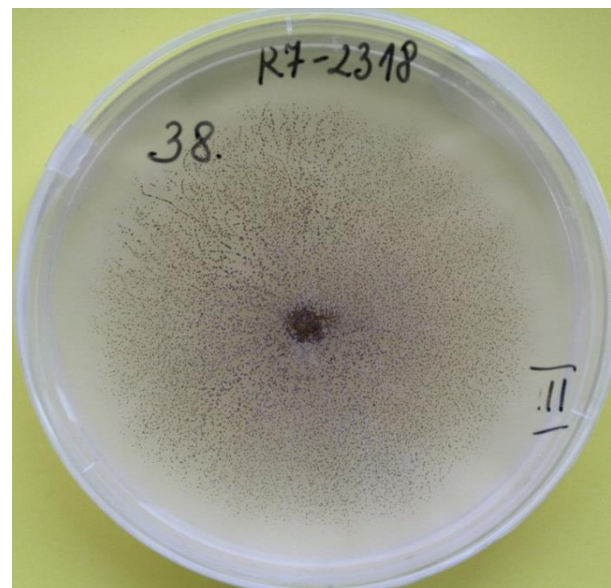
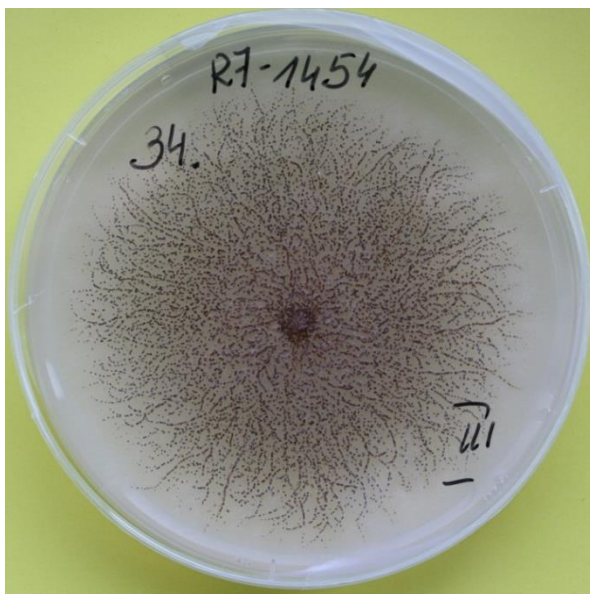
Mycosphaerella pinodes





Porażenie grochu grzybem *M.pinodes*





Kultury jednozarodnikowe grzyba
Mycosphaerella pinodes





***M.pinodes* izolaty**

- ***M.pinodes* izolowano z nasion grochu siewnego oraz z fragmentów roślin z objawami askochytozy pochodzących z różnych rejonów kraju wg powszechnie przyjętych procedur. Identyfikację grzyba *M.pinodes* prowadzono w oparciu o opis cech w "Description of Pathogenic Fungi and Bacteria" (nr 340 *M.pinodes*). Z kultur pierwotnych przygotowywano kultury jednozarodnikowe metodą kolejnych rozcieńczeń na szalkach Petriego z pożywką Coon'a (CN). Do dalszych badań z każdego izolatu przygotowano po 2 skosy kultur jednozarodnikowych pochodzących z tej samej kultury pierwotnej. Izolaty przechowywano na skosach z pożywką CN w 5°C w ciemności (Ali i in. 1978, Marcinkowska 1997).**





Badania nad morfologia izolatów

W sterylnych warunkach szczepiono przenosząc tę samą ilość grzybni na środek szalki. Mierzono średnicę kolonii, obfitość grzybni i stopień wytworzenia piknidiów (szacunkowo), średnicę piknidiów i wymiary zarodników konidialnych oraz liczby piknidiów i zarodników na jednostce powierzchni kultury - rozszerzonej oceny w ostatnich latach.

Badania nad patogenicznością

Przygotowanie inokulum. Inokulum do testów w warunkach kontrolowanych przygotowywano z 14 dniowych kultur rosnących na pożywce CN. Do zakażeń siewek w warunkach kontrolowanych stosowano stężenie 5×10^5 zarodników ml^{-1} .

Test z inokulacją siewek. Warunki wzrostu: temp. 20 ± 3 °C, 70-80% RH i 16h doświetlanie. Zakażano siewki 16-18 dniowe (5×10^5 zarodników ml^{-1}). Po inokulacji multiplaty z roślinami umieszczano pod osłonami z folii przez 48 godzin. Osiem dni po inokulacji prowadzono ocenę porażenia siewek (liści i łodyg do 4 liścia).





Skale oceny porażenia liści i łodyg roślin grochu

Liście

- 0** brak objawów
- 1** pojedyncze rozprosz. plamy
- 2** liczne nekrotyczne plamy
- 3** 0-15% powierzchni liści z plamami, plamy brzegami zlewają się
- 4** 50% powierzchni liści z nekrotycznymi plamami lub/i zwiędnięte
- 5** 51-100% o powierzchni liści z nekrotycznymi plamami lub/i zwiędnięte

(Onfroy et al. 1999)

Łodygi

- 0** brak objawów
- 1** pierwsze cętki
- 2** liczne cętki wzdłuż łodygi
- 3** bardzo liczne cętki
- 4** nekrozy (<3 mm) z wgłębieniami na łodydze
- 5** nekrozy (> 3 mm) z wgłębieniami na łodydze

(Roger & Tivoli, 1996).





**Porażenie *M.pinodes* badanych obiektów grochu siewnego w warunkach pola
infekcyjnego w Radzikowie latach 2008 – 2013**

Lata	Średnia porażenia	Zakres porażenia	Średnia % redukcji plonu	Zakres % redukcji plonu
2008	2,1	1,8 – 3,0	8,9	2,6 – 18,0
2009	4,5	3,5 – 6,7	21,8	6,8 – 31,2
2010	3,8	2,8 – 4,5	12,0	0,0 – 28,8
2011	3,3	2,8 – 3,5	8,0	2,2 – 16,2
2012	2,7	2,3 – 3,2	6,9	1,8 – 12,4
2013	3,4	2,5 – 4,6	10,2	4,4 – 16,1





Morfologia i patogeniczność zgromadzonych izolatów *M.pinodes* w latach 2008 – 2013

Parametry	Średnia	Zakres	CV
<i>Izolaty n=60</i>			
Liniowy przyrost kultury (<i>mm/ dzień</i>)	5,7	4,2 – 7,5	14,3
Obfitość grzybni (<i>sk. 1-4</i>)	1,9	1,0 - 3,0	36,2
Wytwarzanie piknidiów (<i>sk.1-4</i>)	2,9	1,0 - 4,0	33,9
Średnica piknidiów (μm)	175	144 - 255	14,4
Dług. zarodników konidialnych (μm)	11,3	7,8 - 15,4	16,3
Szerok. zarodników konidialnych (μm)	4,4	3,8 - 5,6	8,7
Patogeniczność (<i>sk. 0-5</i>)	2,7	0,7 - 4,8	38,2





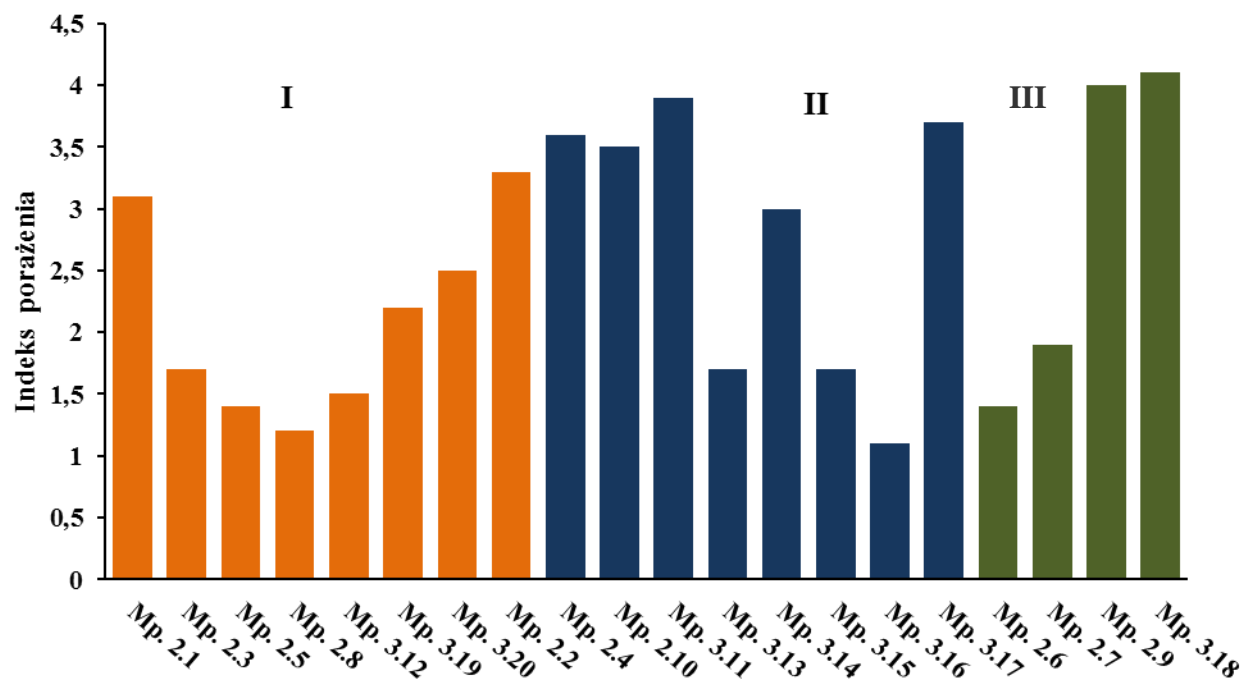
Analiza wariancji stopnia porażenia 7 genotypów grochu, 8 dni po inokulacji izolatami grzyba *M.pinodes* w warunkach kontrolowanych

Części roślin	Źródło zmienności	Stopnie swobody	Istotność					
			2008	2009	2010	2011	2012	2013
Liście	genotypy	6	**	**	**	**	**	**
	izolaty	9	**	**	**	**	**	**
	genotypy x izolaty	54	*		**	*	*	*
Łodygi	genotypy	6	**	**	**	**	**	**
	izolaty	9	**	**	**	**	**	**
	genotypy x izolaty	54	*		*		*	





**Patogenicność izolatów *M.pinodes* z trzech regionów uprawy
względem 7 genotypów grochu siewnego**





Podsumowanie

- Zgorzelowa plamistość grochu powodowana grzybem *M.pinodes* występowała corocznie. Jej nasilenie było uzależnione od warunków pogodowych w danym sezonie wegetacyjnym. W sprzyjających warunkach (2009, 2010 i 2013 r.) choroba występowała w nasileniu średnim, w pozostałych sezonach w niskim nasileniu. Stwierdzono mały zakres zróżnicowania genotypowego w podatności na tę chorobę.
- Z zebranych prób liści, łodyg, z objawami chorobowymi oraz prób nasion otrzymanych z różnych miejscowości po identyfikacji sprawcy oraz izolacji uzyskano łącznie 75 czystych kultur grzyba *M.pinodes*, które utrzymywane są w kolekcji izolatów w kulturach jednozarodnikowych grzyba.
- Przeprowadzono 12 doświadczeń laboratoryjnych w tym sześć dotyczących badań nad morfologią i charakterystyką jakościową izolatów oraz sześć doświadczeń z oceną patogeniczności izolatów w testach na siewkach w warunkach kontrolowanych. Łącznie przebadano 60 izolatów grzyba *M.pinodes*.
- Badania nad morfologią izolatów grzyba wykazały zróżnicowanie pomiędzy izolatami w wyglądzie kultur, szybkości liniowego przyrostu grzybni, ilości i wielkości pikinidiów, zarodników konidialnych, oraz liczby piknidiów i zarodników na jednostce powierzchni kultury - rozszerzonej oceny w ostatnich latach.





Podsumowanie cd.

- W badaniach nad patogenicznością izolatów w kolejnych latach stwierdzano istotność zróżnicowania czynników głównych tj. genotypów, izolatów oraz współdziałania genotypy x izolaty. Istotne współdziałanie genotypy x izolaty wskazuje na potencjalną możliwość wyodrębnienia ras (patotypów) grzyba. Jednakże udział wariancji dla współdziałania w stosunku do wariancji czynników głównych był bardzo mały co potwierdziła analiza komponentów wariancji.
- Z przebadanej grupy izolatów 32 były silnie patogeniczne, 15 w stopniu średnim oraz 13 izolatów o niskiej patogeniczności wobec zestawu 7 genotypów (trzech odmian grochu konserwowego i czterech grochu siewnego) różniących się w pewnym zakresie podatnością na porażenie *M.pinodes*.
- Z testowego zestawu genotypów grochu w warunkach kontrolowanych najwyższą podatnością na porażenie *M.pinodes* charakteryzowała się odmiana Cud Kelwedonu, porażeniem na poziomie średnim Mieszko, Rubin i Grapis a najniższym Krezus i Set.
- Obfitość grzybni była ujemnie skorelowana z gęstością piknidiów i gęstością zarodników z jednostki powierzchni oraz z patogenicznością, która to była dodatnio skorelowana z gęstością zarodników. Nie stwierdzono istotności związków pomiędzy pozostałymi parametrami kultur grzyba a patogenicznością oraz pomiędzy patogenicznością a pochodzeniem izolatów.
- Poznanie i analiza struktury populacji i śledzenie zmian patogeniczności w populacjach ważnych gospodarczo grzybów roślin strączkowych jest etapem zmierzającym do ograniczenia chorób. Scharakteryzowana kolekcja izolatów grzyba *M.pinodes* może być wykorzystana do badań nad odpornością grochu.





Podsumowanie cd.

- Wyniki badań prezentowano w formie plakatów na konferencjach międzynarodowych: na 5th International Food Legumes Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), 26-30.04.2010, Antalya, Turcja i na IIIrd International Ascochyta Workshop, 22-26 April 2012, Cordoba, Spain
- *Publikacje wyników*
- Boros L., Marcinkowska J. 2010. Assessment of selected pea genotypes reaction to ascochyta blight under field conditions and the impact of disease severity on yield components. 5th International Food Legumes Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), Antalya, Turcja, p. 245
- Boros L. 2012. „*Mycosphaerella pinodes* isolates morphological and pathogenic variation” Streszczenie zostało opublikowane w materiałach konferencyjnych: Proceedings Book of the IIIrd International Ascochyta Workshop”, 22-26 April. Cordoba, Spain, p. 83.
- Boros L. 2012. Evaluation of stability of field pea genotypes in response to *Mycosphaerella pinodes* infection. Plant Breeding & Seed Science, vol.65:79- 85
- Boros L. 2013. *Mycosphaerella pinodes* isolates morphological and pathogenic variation. Phytopathologia Mediterranea Vol. 52, No. 1, April, 2013, p.225



Sprawozdanie z prac w latach 2008-2013

Podzadanie 2:

Śledzenie zmian patogeniczności w populacjach ważnych gospodarczo grzybów roślin strączkowych (*Ascochyta fabae*, *Botrytis fabae*) – sprawców zgorzelowej plamistości bobiku.

Wykonawca:

Dr Tomasz Góral
Zakład Fitopatologii,
Pracownia Chorób Roślin





**Objawy askochytozy (*Ascochyta fabae*)
na strąku bobiku – odmiana Martin
(IHAR Radzików 2008)**



**Kultury *Ascochyta fabae* uzyskane z porażonych
nasion bobiku**



Objawy czekoladowej plamistości (*Botrytis fabae*) na liście bobiku odmiany Titus (IHAR Radzików 2008)



Objawy rdzy bobiku (*Uromyces fabae*) na liście bobiku (IHAR Radzików 2008)



**Bardzo silne porażenie bobiku na plantacji Czubinie k/Błonia
w roku 2009**

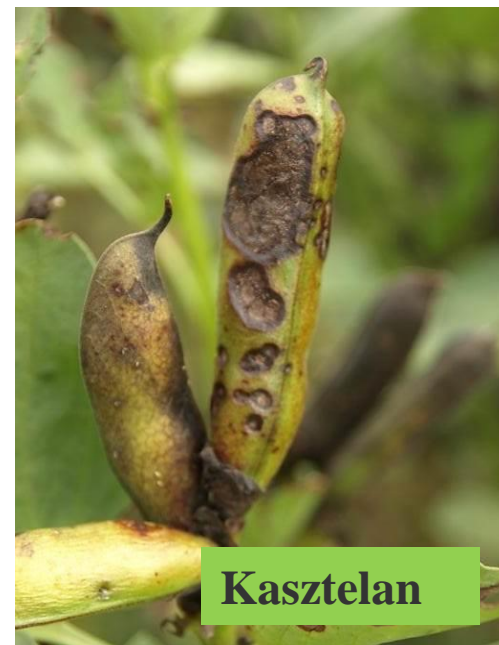


**Objawy askochytozy (*Ascochyta fabae*) i czekoladowej plamistości (*Botrytis fabae*) na bobiku
na plantacji w Czubinie k/Błonia w roku 2009**



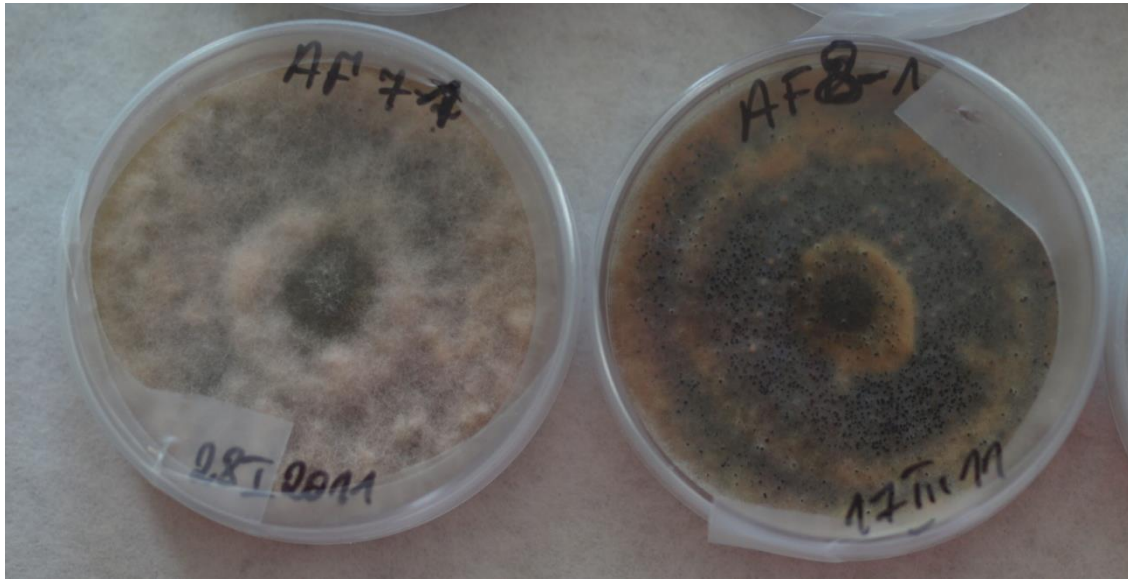


**Objawy askochytozy (*Ascochyta fabae*) na strąku bobiku
(Czubin 2009)**

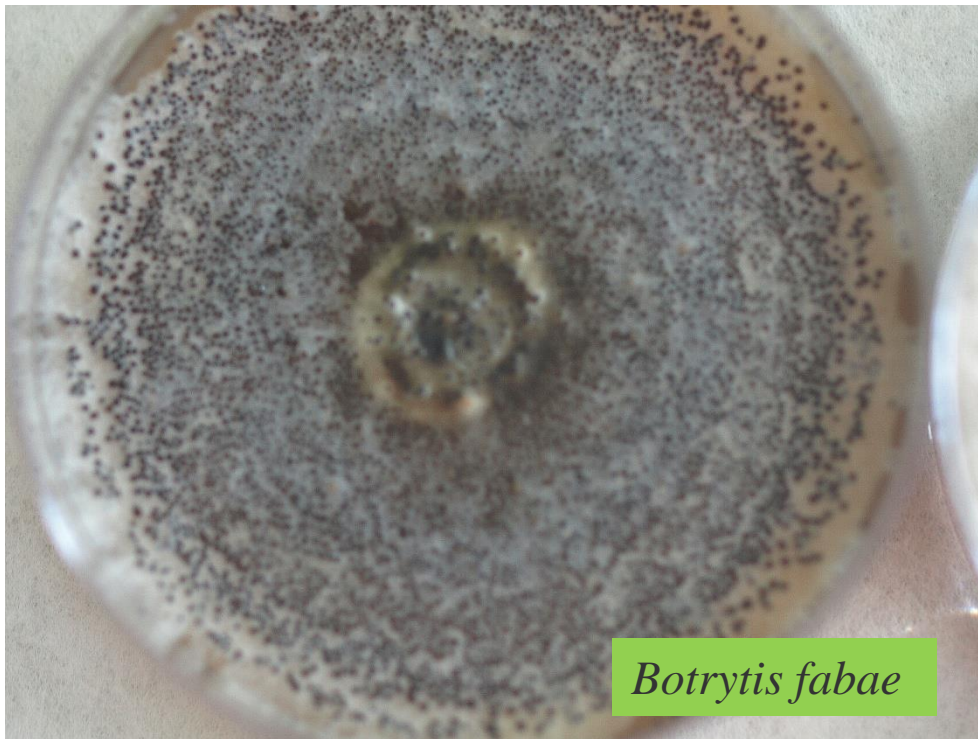




Radzików 2012



Ascochyta fabae

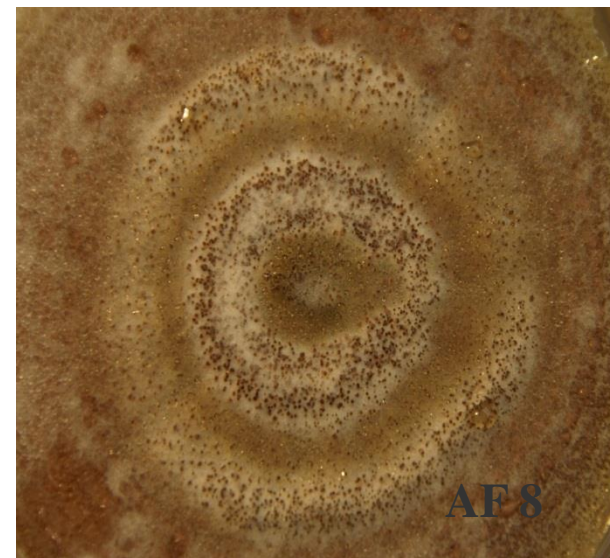
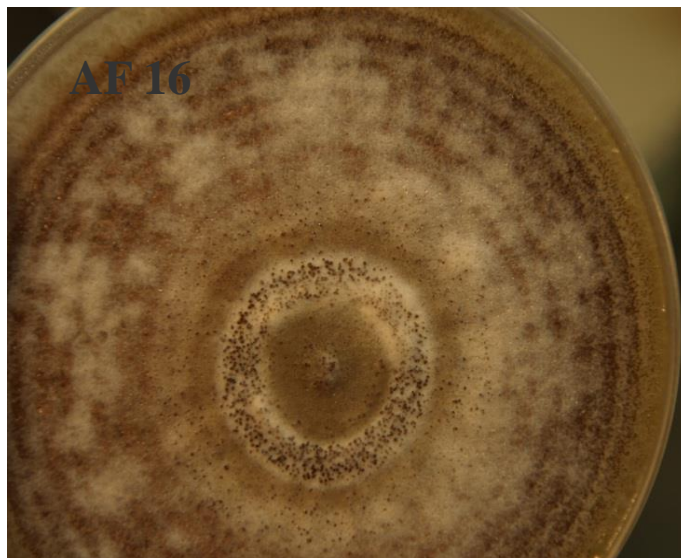


Botrytis fabae





Botrytis fabae



Ascochyta fabae



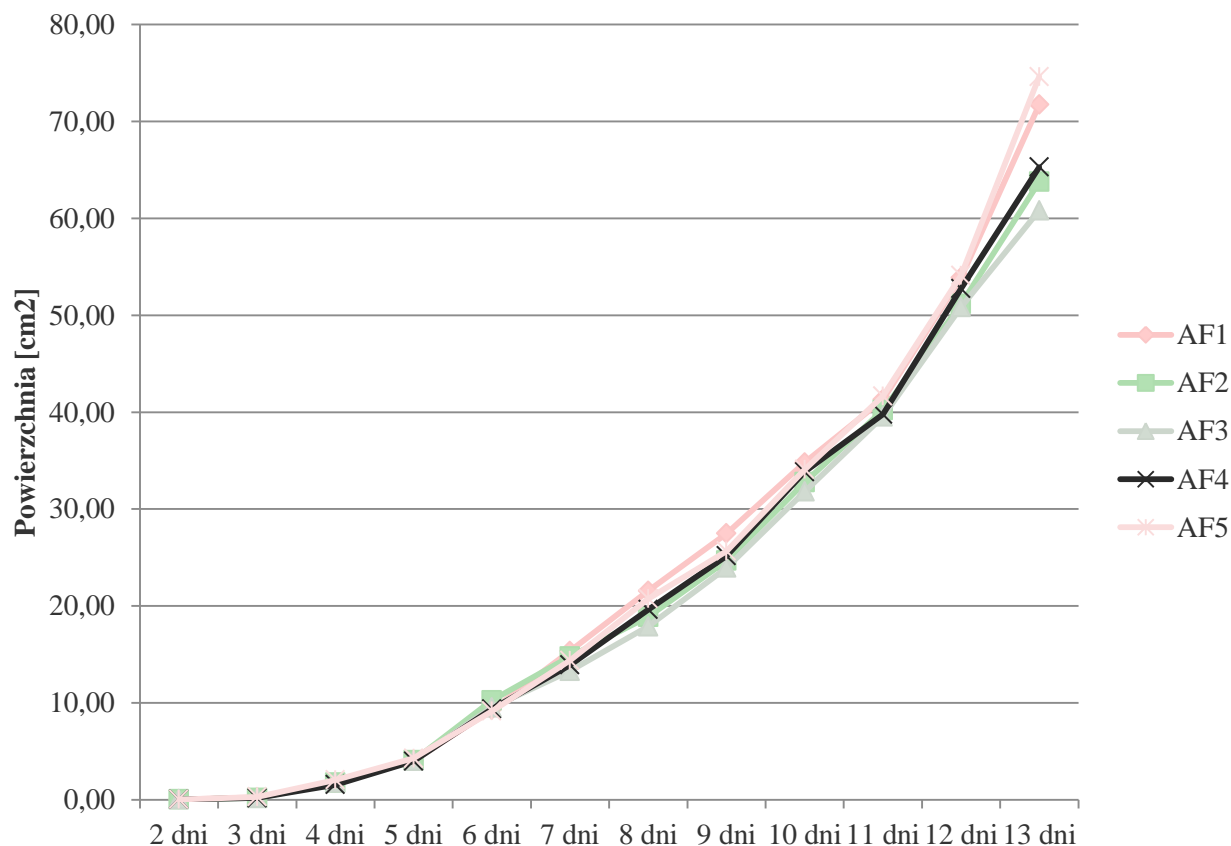
Fusarium sambucinum FUS 1



Tempo wzrostu grzybni izolatów *Ascochyta fabae* na pożywce z mączką z nasion bobiku

Izolat	2 dni ¹	3 dni	4 dni	5 dni	6 dni	7 dni	8 dni	9 dni	10 dni	11 dni	12 dni	13 dni	Średnia	AUDPC ³
AF1	0,03 ²	0,25	1,75	4,01	9,29	15,34	21,55	27,48	34,79	41,29	53,88	71,74	23,45	245,5
AF2	0,03	0,19	1,75	4,06	10,26	14,78	18,88	24,67	32,76	40,21	51,16	63,77	21,88	230,6
AF3	0,03	0,19	1,76	4,01	9,53	13,30	17,89	23,95	31,80	39,55	50,84	60,82	21,14	223,3
AF4	0,03	0,19	1,55	3,98	9,37	13,91	19,62	25,16	33,84	39,78	52,76	65,29	22,12	232,9
AF5	0,03	0,31	2,05	4,29	9,16	14,39	20,75	25,66	34,09	41,66	54,11	74,62	23,43	243,8

¹ liczba dnia od wyszczenia izolatu; ² powierzchnia grzybni w cm²; ³ powierzchnia pod krzywą wzrostu





**Liście odmiany Granit inokulowane
izolatami *A. fabae* AF7-1 i AF8-1**



Objawy askochytozy na odciętych liściach odmiany Kasztelan inokulowanymi izolatami *A. fabae*





Kasztelan



Kasztelan



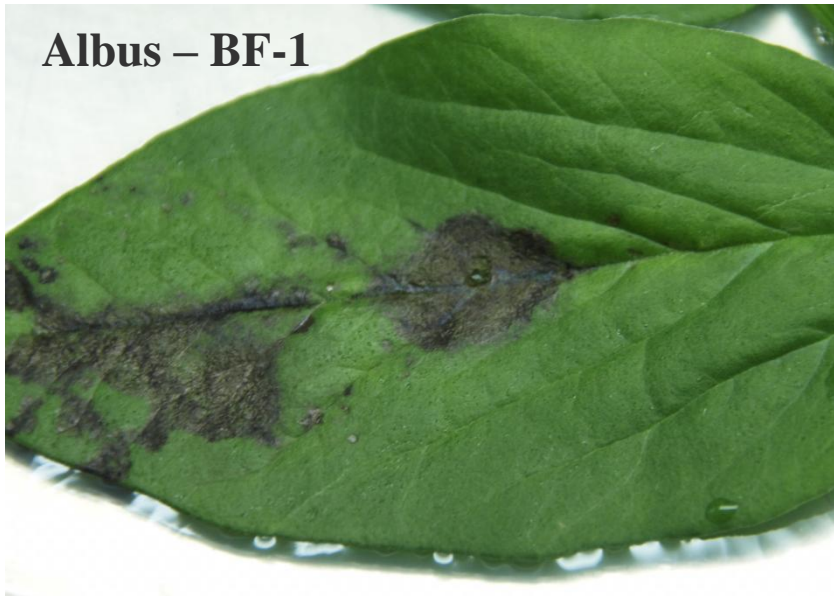
Kasztelan



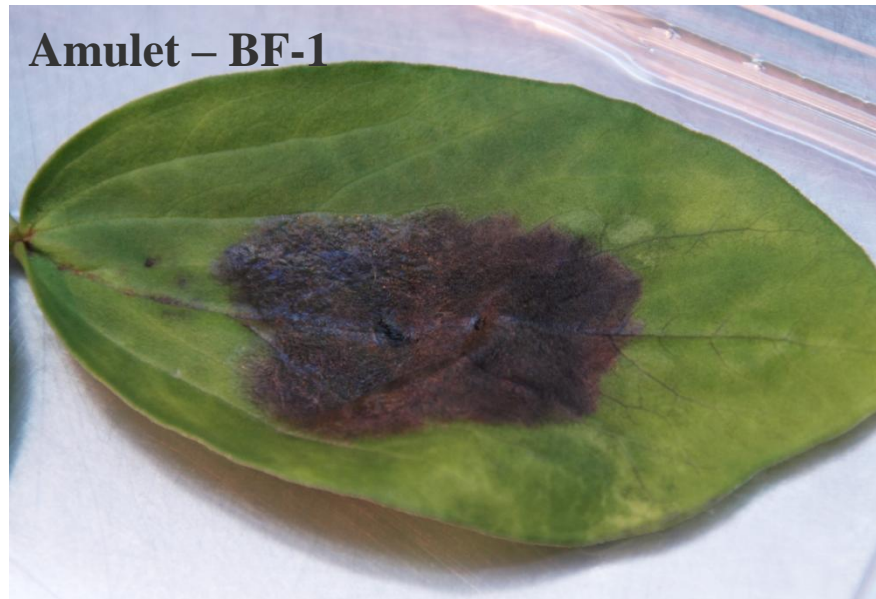
Albus

**Nekrozy na odciętych
liściach bobiku
inokulowanych
izolatami
*Botrytis fabae***

Albus – BF-1



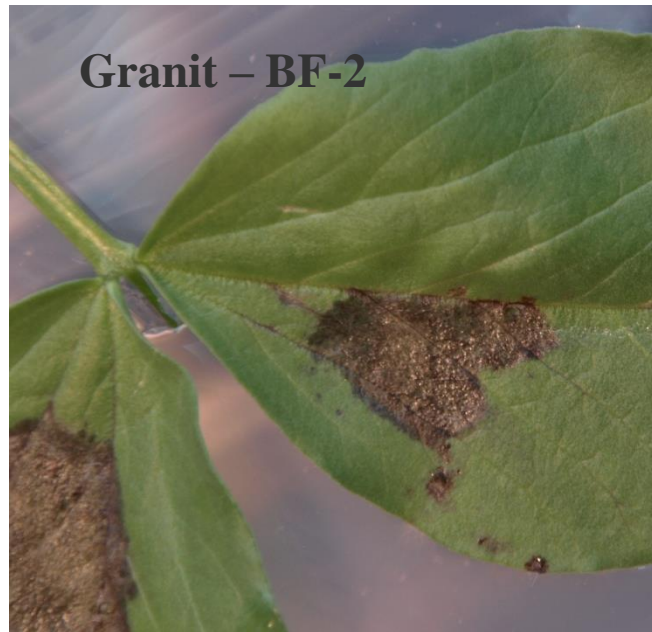
Amulet – BF-1



Kasztelan – BF-1



Granit – BF-2



**Nekrozy na
odciętych
liściach bobiku
inokulowanych
izolatami
*Botrytis fabae***

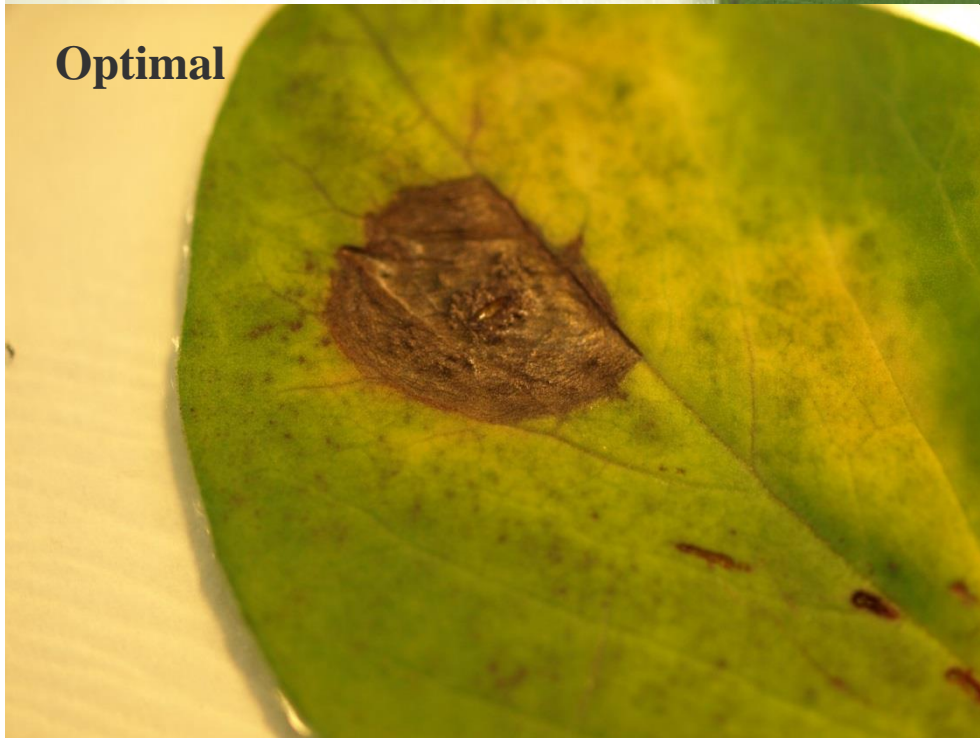
Bobas



Optimal

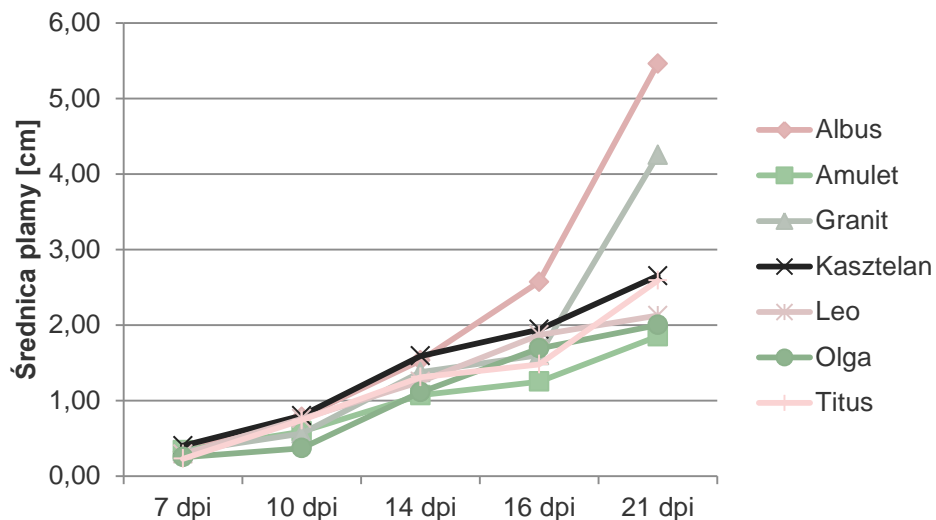


Optimal

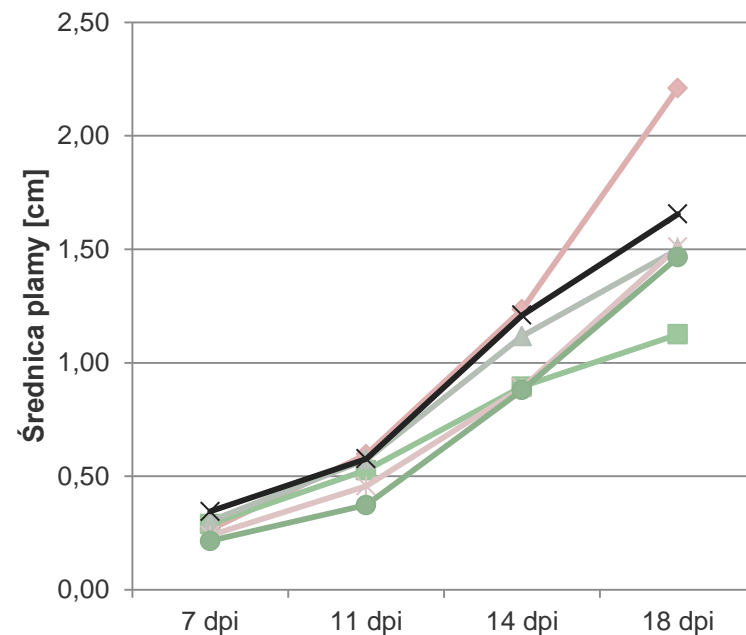
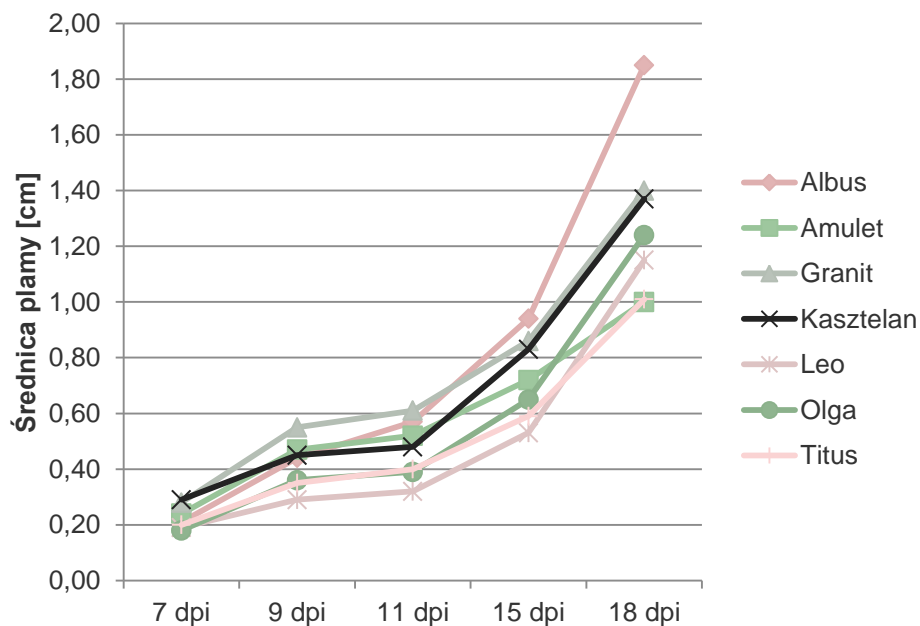


**Nekrozy na odciętych liściach
bobiku inokulowanych
izolatem *Fusarium
sambucinum***

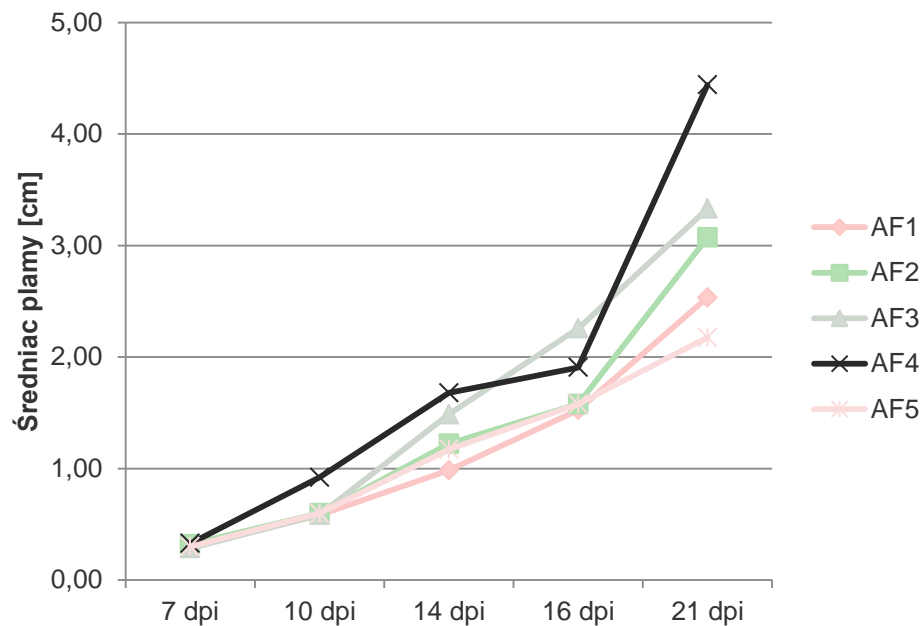
Odporność odmian bobiku na askochytozę (*A. fabae*) określana metodą odciętych liści w 2 doświadczeniach



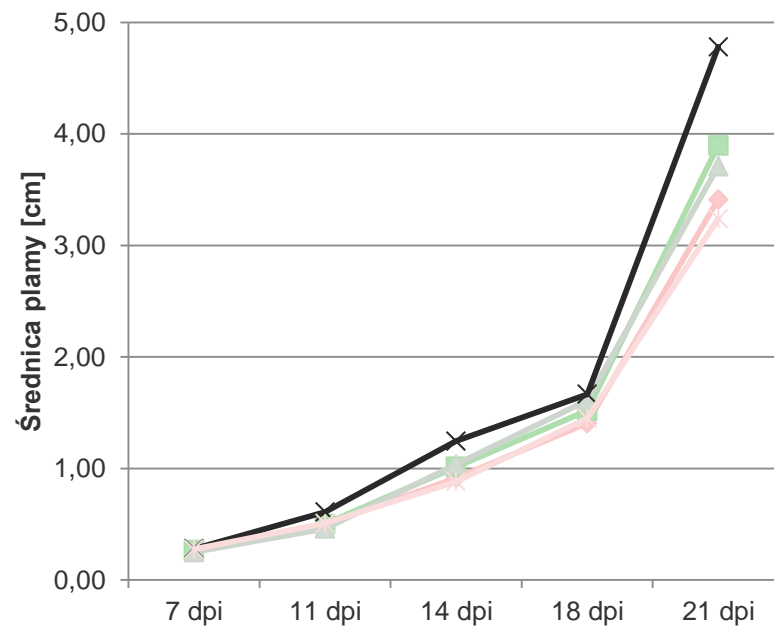
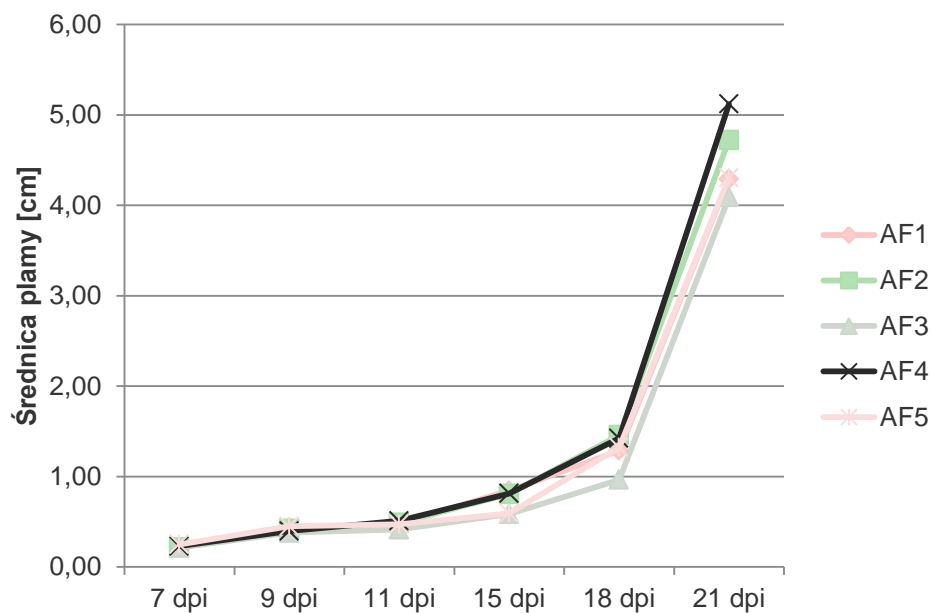
Odmiana	Śr. rozmiar plamy
Amulet	0,95
Titus	1,05
Olga	1,07
Leo	1,14
Kasztelan	1,27
Granit	1,86
Albus	1,98

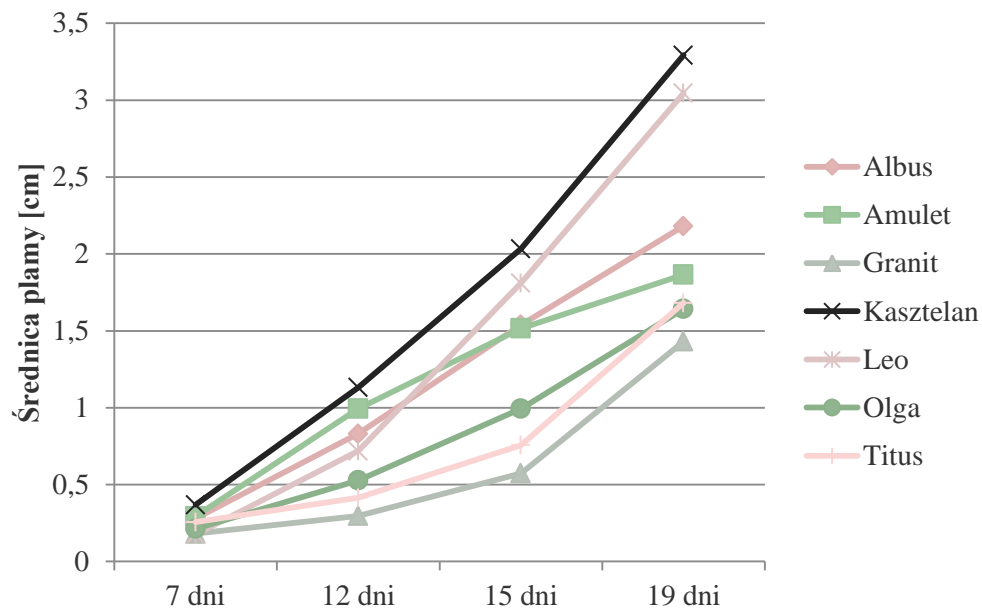


Patogeniczność izolatów *A. fabae* wobec 7 odmian bobiku badana metodą odciętych liści

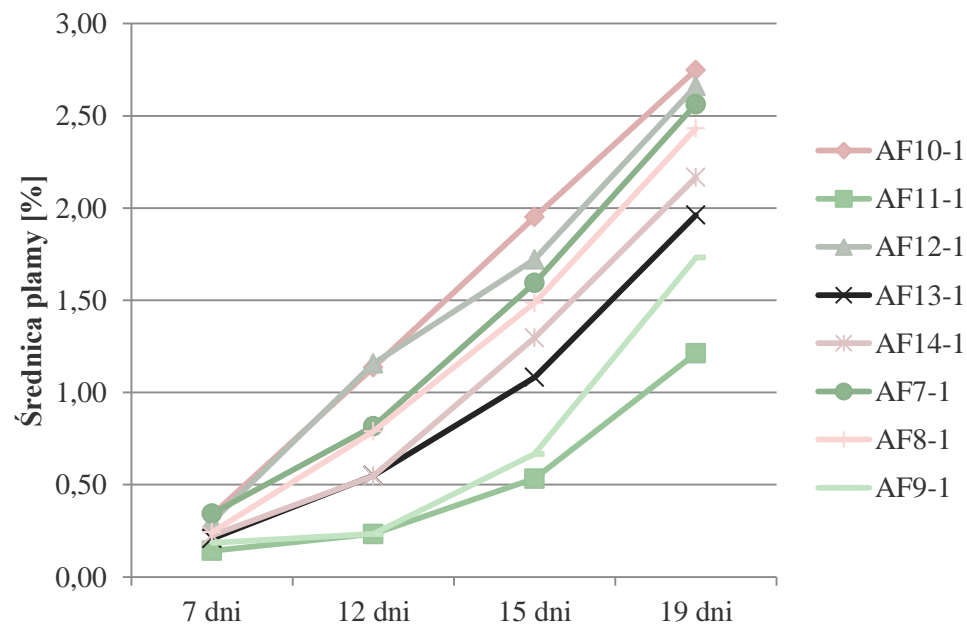


Izolat	Średni rozmiar plamy
AF5	1,20
AF1	1,22
AF3	1,35
AF2	1,35
AF4	1,64

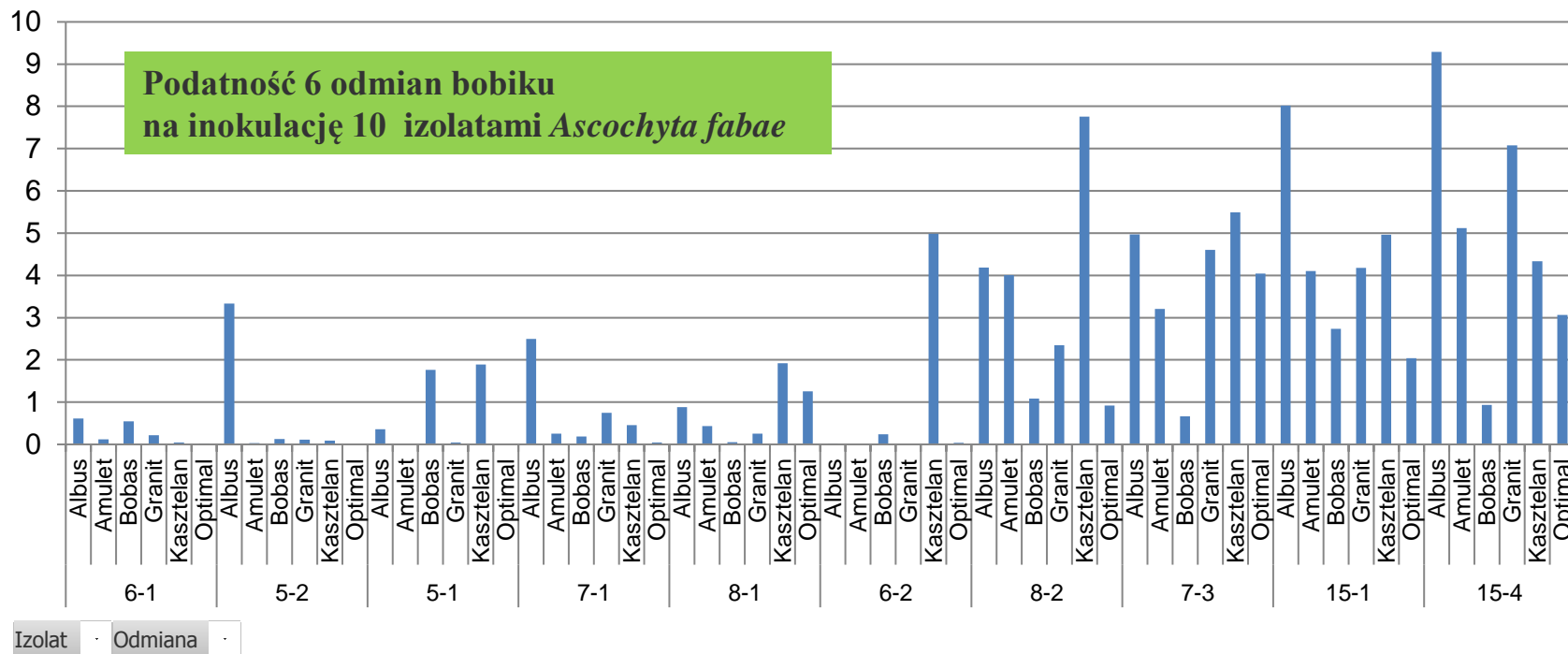




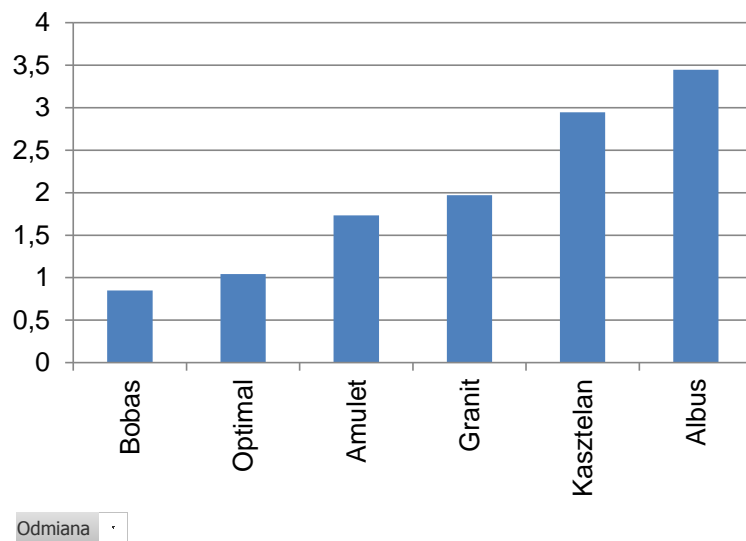
Odporność odmian bobiku na askochytozę (*A. fabae*) oraz patogeniczność 8 izolatów *A. fabae*



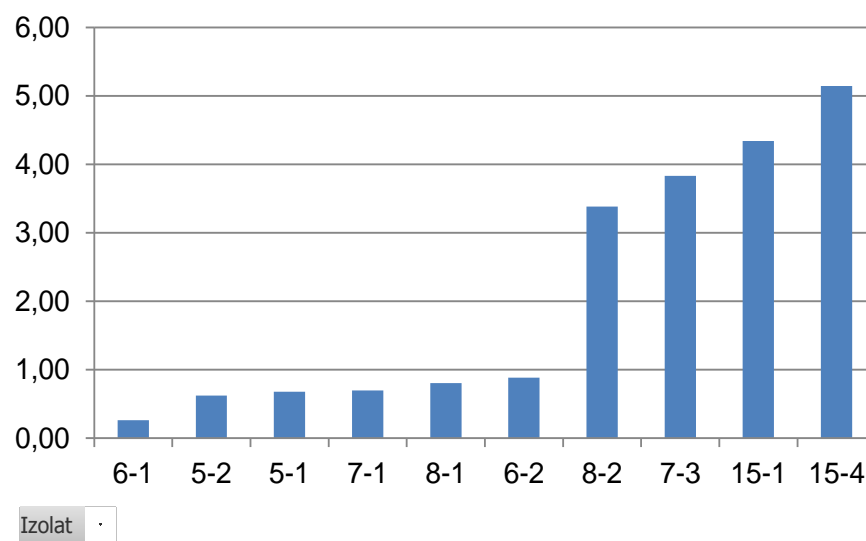
Średnia pow plamy (cm2)

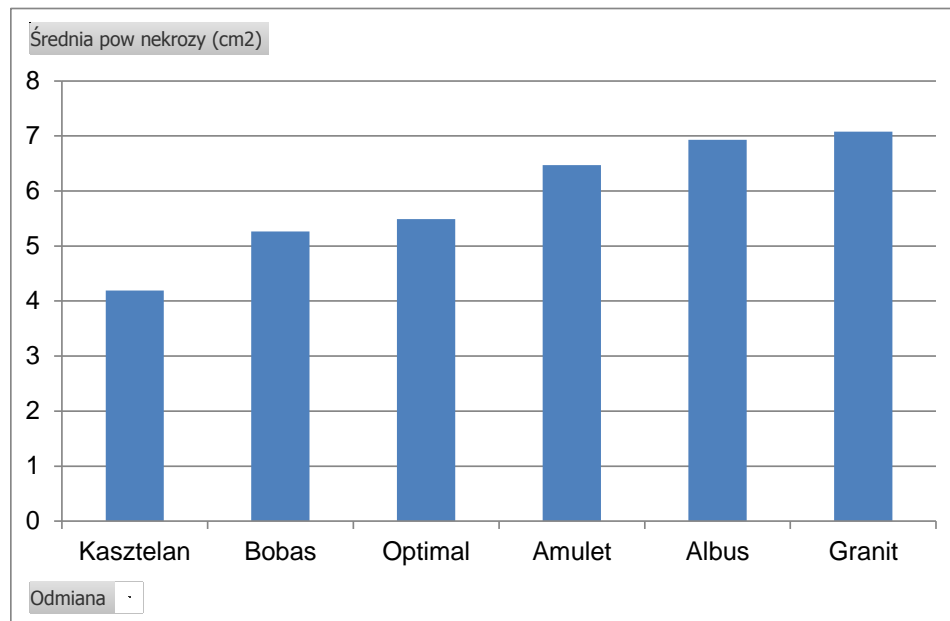


Średnia pow plamy (cm2)



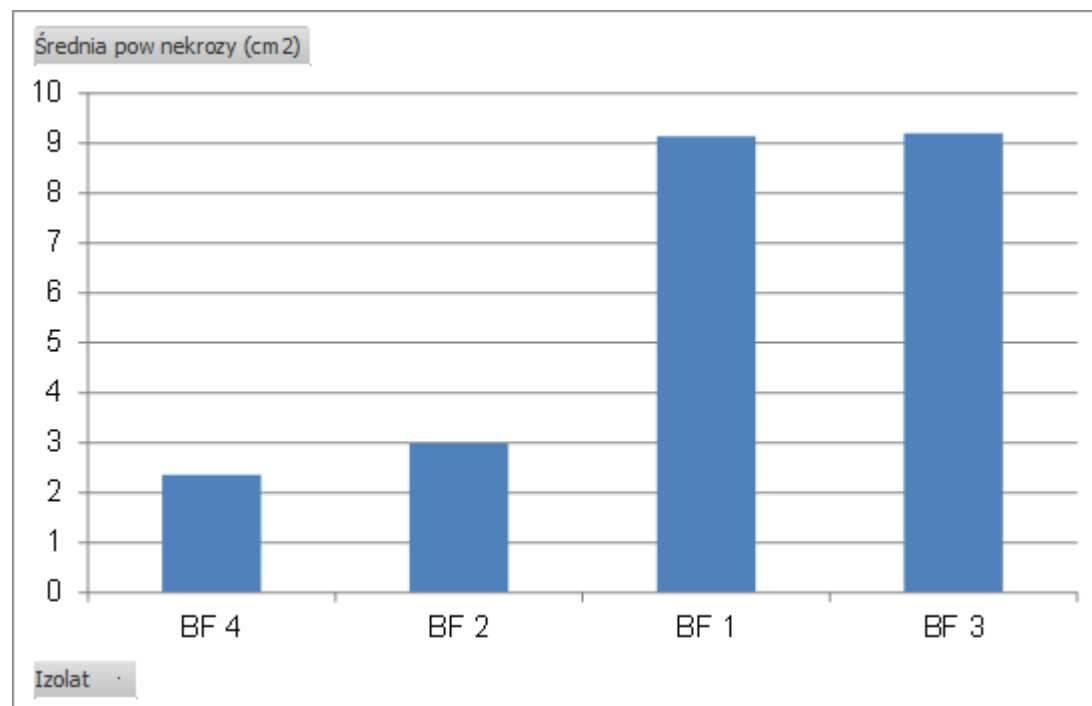
Średnia pow plamy (cm2)

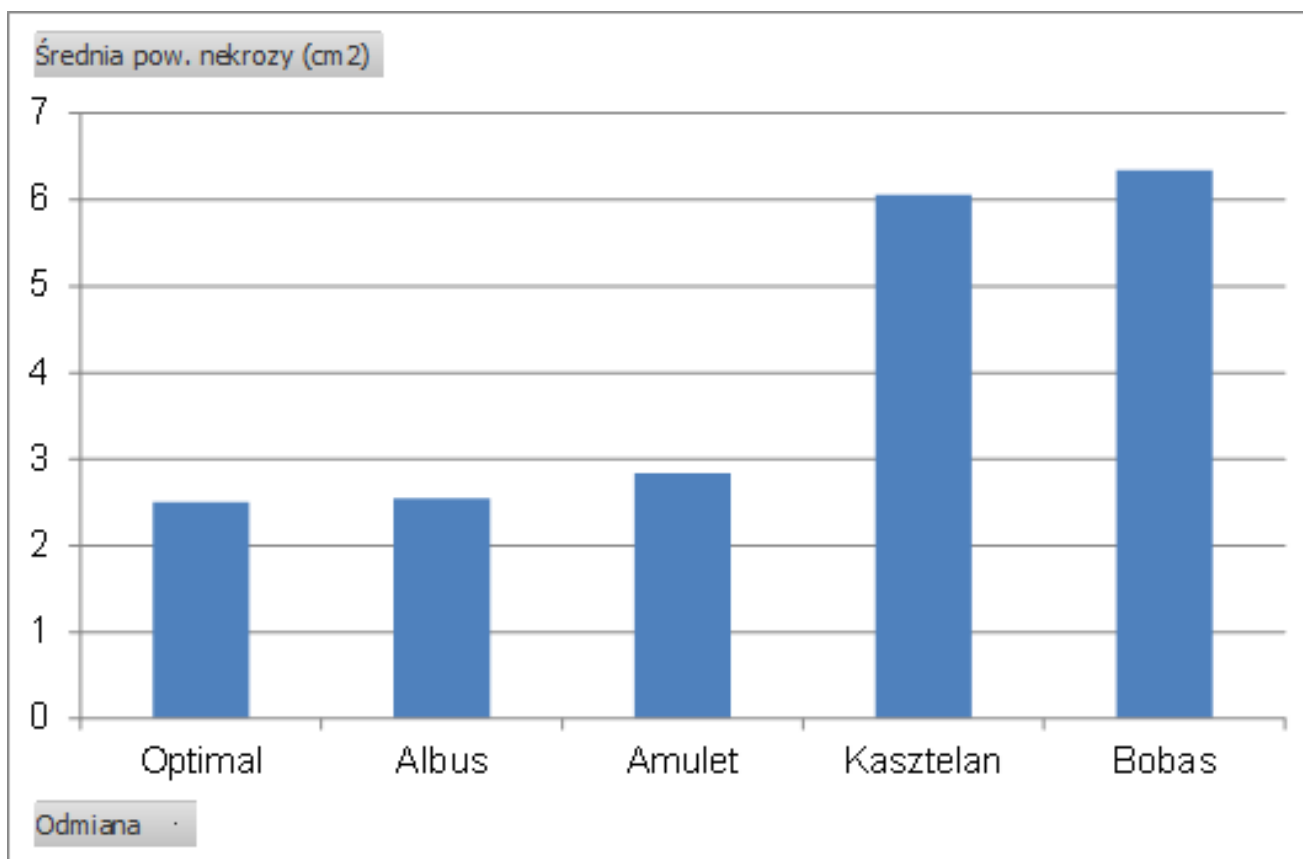




Podatność 6 odmian bobiku na inokulację 4 izolatami *Botrytis fabae*

Patogeniczność izolatów *B. fabae* wobec 6 odmian bobiku





Podatność 6 odmian bobiku na inokulację izolatem
Fusarium sambucinum FUS 1

Podsumowanie wyników

- Stwierdzono duże zagrożenie upraw bobiku askochytozą oraz czekoladową plamistością liści. W latach o sprzyjających warunkach pogodowych obserwowano bardzo silne uszkodzenie roślin bobiku mogące prowadzić do znacznych strat w plonie ziarna.
- Odmiany bobiku wykazywały różnice w odporności na obie badane choroby, jednakże w sprzyjających warunkach pogodowych w uprawie polowej wszystkie odmiany ulegały porażeniu askochytozą albo czekoladową plamistością liści lub oboma chorobami jednocześnie.
- Uzyskane wyniki pokazują, że odporność obecnie zarejestrowanych odmian bobiku na askochytozę oraz czekoladową plamistość liści jest niezadowalająca. W przypadku wzrostu areału uprawy bobiku i rozszerzenia prac hodowlanych nad tym gatunkiem hodowla odpornościowa powinna być jednym z priorytetów.

Upowszechnianie wyników badań

Postery:

Walentyn-Góral D., Góral T. Ocena patogeniczności izolatów *Ascochyta fabae* Speg. wobec bobiku (*Vicia faba* L.) metodą odciętych liści. Sympozjum Naukowe "Fitopatologia: zdrowe rośliny – zdrowi ludzie", Bydgoszcz, 20-22 września 2011

Góral T., Walentyn-Góral D. Using detached-leaf technique for assessment of pathogenicity of *Ascochyta fabae* Speg. isolates to faba bean (*Vicia faba* L.).

Publikacje:

Walentyn-Góral D., Góral T. 2011. Ocena patogeniczności izolatów *Ascochyta fabae* Speg. wobec bobiku (*Vicia faba* L.) metodą odciętych liści [Evaluation of pathogenicity of *Ascochyta fabae* Speg. isolates to faba bean (*Vicia faba* L.) using detached-leaf technique]. Materiały Sympozjum Naukowego "Fitopatologia: zdrowe rośliny – zdrowi ludzie", Bydgoszcz, 20-22 września 2011, str. 416-417.

Góral T., Walentyn-Góral D. 2012. Using detached-leaf technique for assessment of pathogenicity of *Ascochyta fabae* Speg. isolates to faba bean (*Vicia faba* L.). Proceedings Book of the IIIrd International Ascochyta Workshop", 22-26 April. Cordoba, Spain, p. 84.

