

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXI, 12

SECTIO C

1966

Z Katedry Ochrony Roślin Wydziału Rolniczego WSR w Lublinie
Kierownik: doc. dr Tadeusz Ziarkiewicz

Barbara ŁACICOWA

**Badania nad występowaniem *Helminthosporium gramineum* R b h.
na materiale siewnym jęczmienia**

**Исследования по распространению *Helminthosporium gramineum* R b h.
на посевном материале ячменя**

**Investigations on the Occurrence of *Helminthosporium gramineum* R b h.
on Barley Seeds**

WSTĘP

Chorobę jęczmienia zwaną pasiastością, której przyczyną jest *Helminthosporium gramineum* R b h., notuje się prawie we wszystkich krajach, gdzie to zboże się uprawia. Dotychczasowe badania wykazały, że pasiastosc jest jedną z najgroźniejszych chorób jęczmienia ze względu na straty gospodarcze wynikające z obniżki plonu ziarna i słomy. Kölpin-Ravn (9) podaje, że przy porażeniu 1% roślin przez *Helminthosporium gramineum* R b h. plon ziarna obniża się o 0,7%, a słomy o 0,4%.

Helminthosporium gramineum R b h. było dotychczas przedmiotem licznych badań, które pozwoliły na dokładne poznanie jego biologii, przy czym za główne źródło infekcji roślin uznano materiał siewny (14). Stwierdzenie w warunkach laboratoryjnych porażenia materiału siewnego jęczmienia przez ten gatunek napotyka na duże przeszkody, ze względu na trudności uzyskania zarodników na sztucznych podłożach, na co wskazują badania Isenbecka (8) i Johnsona (10). Sukces uzyskania zarodników *Helminthosporium gramineum* R b h. na sztucznych pożywkach odniesiony przez Haustona i Oswalda (7) polegał na

poddaniu kultur działaniu zmiennego światła dziennego i temperatury w warunkach naturalnych, to jest na wolnym powietrzu.

Dotychczasowe badania obce (5, 6, 12, 16) i własne — prowadzone nad mikroflorą ziarna siewnego jęczmienia — wykazały, że stosowana metoda sztucznych kultur przy użyciu pożywki glukozowo-ziemniaczanej jako podłoża pozwala wyosobnić z ziarniaków wiele grzybów, z wyjątkiem jednak *Helminthosporium gramineum* R b h. Mając na uwadze znaczenie gospodarcze choroby pasistości jęczmienia konieczne jest określanie porażenia materiału siewnego przez *Helminthosporium gramineum* R b h., wymagające zastosowania pożywki umożliwiającej izolację tego grzyba z ziarna.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem było ziarno jęczmienia jarego odmiany „Skrzeszowicki”, pochodzące z uprawy r. 1965 w majątku WSR w Felinie, gdzie w okresie wegetacji zanotowano porażenie przez *Helminthosporium gramineum* 29% roślin.

Badania laboratoryjne przeprowadzono metodą sztucznych kultur przy użyciu 3 pożywek: glukozowo-ziemniaczanej przygotowanej według przepisu Mańki (13), mineralnej „A” według Skoropada i Arny’ego (15) oraz mineralnej „B” według Beana i Wilcoxtona (2). Odkażone powierzchniowo ziarniaki jęczmienia sposobem podanym przy odkażaniu ziarna pszenicy (11) wykładano na zestalone pożywki do szalek Petriego średnicy 10 cm. Na każdą szalkę wykładano po 6 ziarniaków, przy czym dla każdej pożywki zastosowano 10 szalek. Szalki z ziarniakami przetrzymywano w zamkniętym termostacie nastawionym na temperaturę 24°C. Po 7 dniach dokonano przeglądu szalek, przy czym wyrosłe grzyby odszczepiano na skosy z pożywką glukozowo-ziemniaczaną i pożywką mineralną „B”. Po wyrośnięciu kolonii, co zwykle miało miejsce po 14 dniach, przystąpiono do określania grzybów. *Helminthosporium gramineum* określano na podstawie kultur jednozarodnikowych hodowanych przez 12 dni w temp. 24°C na skosach z pożywką mineralną „B”. Przy oznaczaniu posługiwano się opracowaniem monograficznym Drechslera (4). Pozostałe grzyby określano przeważnie tylko do rodzaju.

Dalszy etap badań polegał na prześledzeniu wzrostu i zarodnikowania *Helminthosporium gramineum* na 3 pożywkach w warunkach naturalnego światła dziennego i temperatury oraz w stałej temp. 24°C bez dostępu światła. W tym celu szalki Petriego o średnicy 10 cm z określonymi pożywkami zaszczerpiono zarodnikami *Helminthosporium gramineum*, które uzyskano z hodowli grzyba na pożywce mineralnej „B”, stosując 8 szalek dla każdej pożywki. Równocześnie 4 z tych szalek wstawiano do termostatu nastawionego na temp. 24°C, a pozostałe 4 szalki wystawiano na zewnątrz budynku, chroniąc je przed bezpośrednią operacją słoneczną, gdzie warunki temperatury i światła odpowiadały warunkom podanym przez Hustona i Oswalda (7). Długość światła dziennego wynosiła 15 godz., maksimum temp. 30°C, minimum temp. 8°C. Po 10 dniach dokonano pomiaru średnicy kolonii grzyba celem określenia jego wzrostu oraz przebadano zarodnikowanie.

WYNIKI BADAŃ

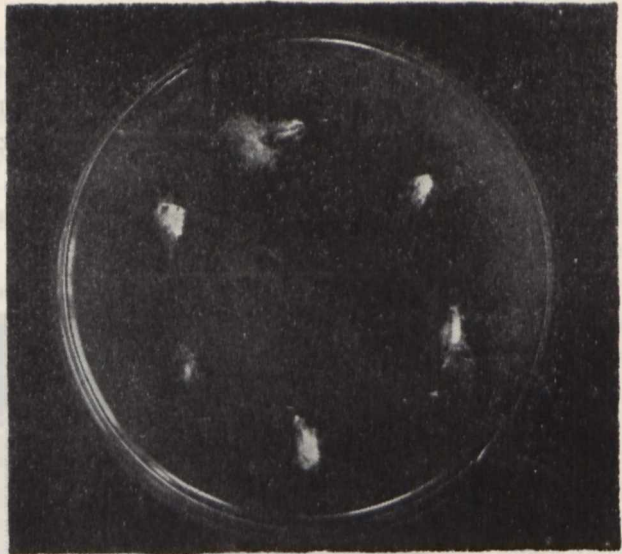
Po 7 dniach przetrzymywania szalek w temp. 24°C wokół ziarniaków wyłożonych na pożywkę glukozowo-ziemniaczaną i mineralną „A” wyrosły dobrze widoczne kolonie grzybów (ryc. 1), natomiast na pożywce mineralnej „B” bardzo delikatne kolonie, ledwo dostrzegalne okiem nie uzbrojonym (ryc. 2).



Ryc. 1. 7-dniowe kolonie grzybów wyrosłe z ziarniaków jęczmienia na pożywce glukozowo-ziemniaczanej w temp. 24°C
7-day-old colonies of fungi grown from barley seeds on potato-dextrose medium, at a temperature of 24°C

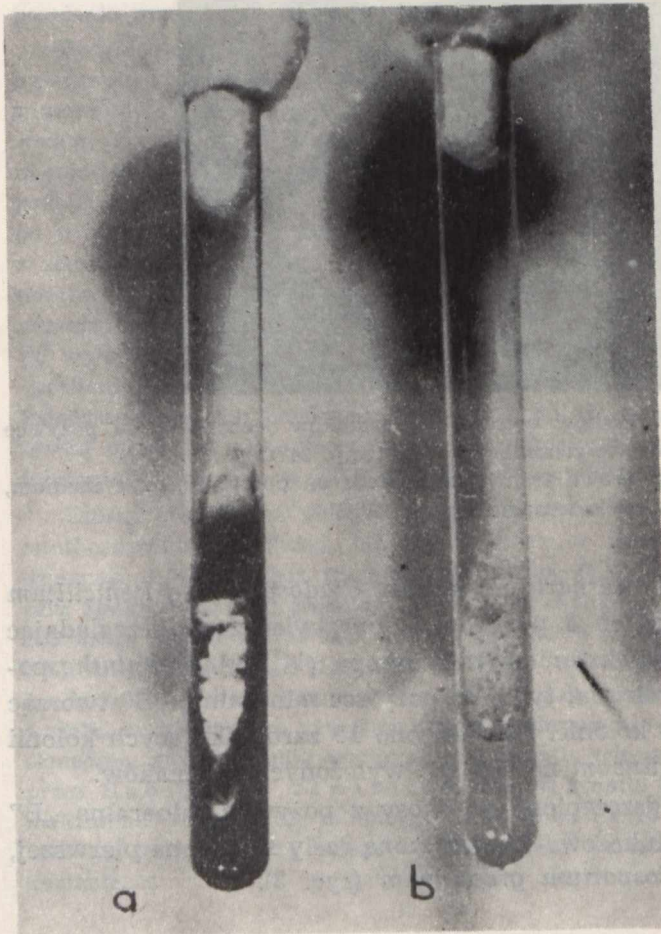
Grzyby z rodzajów: *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* i *Penicillium* zaowocowały na wszystkich 3 pożywkach, co stwierdzono przeglądając kolonie pod małym powiększeniem mikroskopu ($\times 150$). *Helminthosporium gramineum* zarodnikował tylko na pożywce mineralnej „B” tworząc na niej delikatne, białe kolonie. Stwierdzono 15 zarodnikujących kolonii *Helminthosporium gramineum* na 600 szt. wyłożonych ziarniaków.

Wszystkie grzyby odszczepione na skosy z pożywką mineralną „B” i na skosy z pożywką glukozowo-ziemniaczaną rosły słabiej na pierwszej, podobnie jak *Helminthosporium gramineum* (ryc. 3).

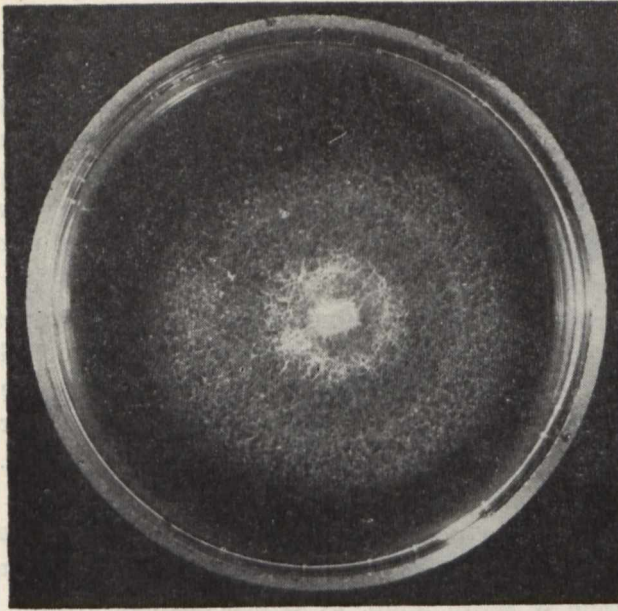


Ryc. 2. Szalki z wyłożonymi ziarniakami jęczmienia na pożywce mineralnej „B” po 7-dniowym przetrzymywaniu w temp. 24°C

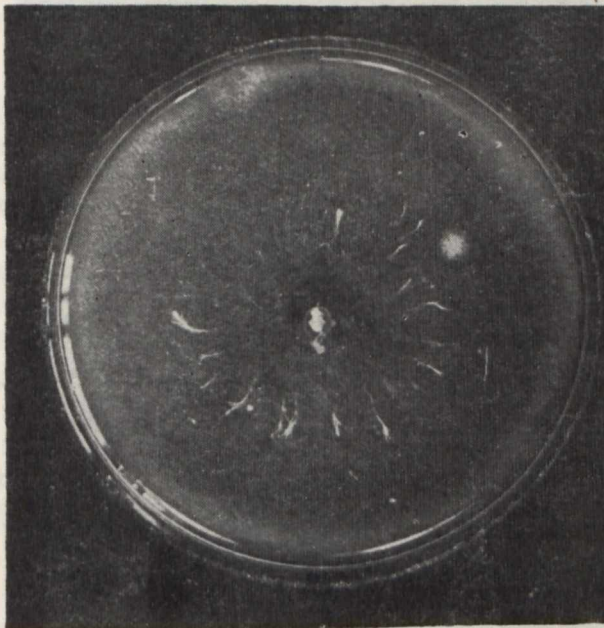
Barley seeds on mineral medium "B" after seven-day-old storage, at a temperature of 24°C



Ryc. 3. 14-dniowe kultury *Helminthosporium gramineum* Rbh. wyrosłe w temp. 24°C; a — na pożywce mineralnej „A”, b — na pożywce mineralnej „B”
14-day-old cultures of *Helminthosporium gramineum* Rbh. grown at a temperature of 24°C; a — on mineral medium "A", b — on mineral medium "B"



Ryc. 4. 10-dniowa kultura *Helminthosporium gramineum* R b h. wyrosła w temp. 24°C na pożywce glukozowo-ziemniaczanej
10-day-old culture of *Helminthosporium gramineum* R b h. grown on potato-dextrose medium at a temperature of 24°C



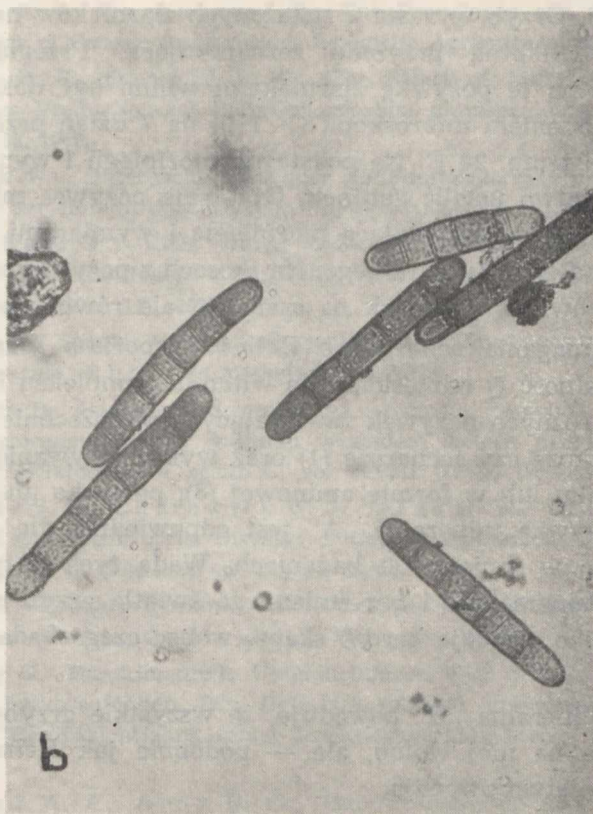
Ryc. 5. 10-dniowa kultura *Helminthosporium gramineum* R b h. wyrosła w temp. 24°C na pożywce mineralnej „B”
10-day-old culture of *Helminthosporium gramineum* R b h. grown on mineral medium "B" at a temperature of 24°C

Większość kolonii *Helminthosporium gramineum*, owocujących na pożywce mineralnej „B” w stałej temp. 24°C bez dostępu światła, po odszczepieniu na pożywkę glukozowo-ziemniaczaną traciło zdolność wytwarzania zarodników. Prawie wszystkie grzyby wyizolowane z ziarniaków jęczmienia na pożywce mineralnej „B” zarodnikowały na skosach z tej pożywki. Większość kolonii nie owocujących na pożywce mineralnej „A” nie zarodnikowało również na skosach z pożywki mineralnej „B”.

Helminthosporium gramineum w badanych warunkach wykazywało najniższy wzrost na pożywce mineralnej „B”. Wpływ pożywki mineralnej „B” uwydatnił się wyraźnie w wyglądzie kultur. Grzyb na pożywce tej tworzył nikłą, białą, pajęczynowatą grzybnie powietrzną (ryc. 5), natomiast na pozostałych badanych pożywkach tworzył grzybnie dobrze rozwiniętą, puszystą, barwy oliwkowej (tab. 1, ryc. 4). Różnice w intensywności zarodnikowania zaznaczyły się szczególnie między kulturami hodowanymi na pożywce mineralnej „B” a kulturami hodowanymi na pożywce mineralnej „A”. Grzyb na pożywce mineralnej „B” owocował obficie w stałej temp. 24°C bez dostępu światła oraz w wa-



a



Ryc. 6. Konidia *Helminthosporium gramineum* R b h.; a — wytworzone przez grzyb na powierzchni liści jęczmienia, b — wytworzone na pożywce mineralnej „B”
 Conidia of *Helminthosporium gramineum* R b h.; a — produced by the fungi on the surface of barley leaves, b — produced on mineral medium „B”

runkach naturalnego światła i zmiennej temperatury, natomiast na pożywce mineralnej „A”, słabe zarodnikowanie wykazał tylko w w zmiennych warunkach temperatury i przy świetle naturalnym. Na pożywce glukozowo-ziemniaczanej grzyb obficie zarodnikował tylko w warunkach naturalnego światła i przy zmiennej temperaturze. Zarodniki *Helminthosporium gramineum*, wytworzone na pożywce glukozowo-ziemniaczanej i pożywce mineralnej „B” były takiego samego kształtu i wymiarów, jak zarodniki uzyskane w okresie wegetacji z liści jęczmienia (ryc. 6).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Z przeprowadzonych badań wynika, że dla rozpoznania porażenia ziarna siewnego jęczmienia przez *Helminthosporium gramineum* można stosować metodę sztucznych kultur, o ile za podłoże używa się pożywkę

mineralną „B”. Grzyb wyrasta z zakażonych ziarniaków na tej pożywce i wytwarza delikatną grzybnię zarodnikującą. Przeglądanie szalek z wyłożonymi na tę pożywkę ziarniakami winno być dokonywane pod małym powiększeniem mikroskopu ($\times 150$) na 7 dzień przetrzymywania szalek w stałej temp. 24°C . Na podstawie morfologii i wymiarów zarodników można łatwo ustalić gatunek. Grzyb na pożywce mineralnej „B” wytwarza konidia odpowiadające morfologią i wymiarami konidiom pochodzącym z materiału naturalnego. Na skosach z pożywką mineralną „B” grzyb rośnie również słabo jak na szalkach, ale równie łatwo owocuje.

Znając wymagania pokarmowe *Helminthosporium gramineum*, jego samowystarczalność w odniesieniu do witamin kompleksu B i możliwość korzystania z różnych pożywek zawierających powszechnie znane źródła węgla, jak glukozę czy sacharozę (1) oraz wykorzystywanie azotu z azotanów, amoniaku lub w formie aminowej (3), pożywka glukozowo-ziemniaczana i pożywka mineralna „A” jest odpowiednią dla jego wzrostu, co stwierdzono w niniejszych badaniach. Wadą tych pożywek jest to, że w stałej temperaturze i bez zmiennego światła grzyb na nich wcale nie owocuje albo owocuje bardzo skąpo, wobec czego badania są utrudnione.

Pożywka mineralna „B” powoduje, że wszystkie grzyby zasiedlające ziarniaki rosną na niej wolno, ale — podobnie jak *Helminthosporium gramineum* — łatwo owocują.

Zastosowanie pożywki mineralnej „B” do badań nad zasiedlaniem przez *Helminthosporium gramineum* ziarna jęczmienia pozwala łatwo na określenie procentu porażenia materiału siewnego przez ten grzyb w warunkach, które można bez trudu stworzyć w laboratorium.

PIŚMIENNICTWO

1. Arny D. C.: Physiologic Specialization in *Helminthosporium gramineum* R a b h. *Phytopathology*, 35, 1945.
2. Bean G. H., Wilcoxson R. D.: *Helminthosporium* Leaf Spot of Bluegrass. *Phytopathology*, 54, 1964.
3. Converse R. H.: The Influence of Nitrogenous Compounds on the Growth of *Helminthosporium gramineum* in Culture. *Mycologia*, 45, 1953.
4. Drechsler C.: Some Graminicolous Species of *Helminthosporium*. *Journ. Agr. Res.*, 24, 1923.
5. Greaney F. J., Machacek J. E.: Prevalence of Seed-borne Fungi on Cereals in certain Seed Inspection Districts of Canada. *Scientific Agriculture*, 22, 1942.

6. Greaney F. J., Machacek J. E.: The Prevalence and Control of Seed-borne Disease of Cereals in Manitoba. *Scientific Agriculture*, 26, 1946.
7. Hauston B. R., Oswald J. W.: The Effect of Light and Temperature on Conidium Production by *Helminthosporium gramineum* in Culture. *Phytopathology*, 36, 1946.
8. Isenbeck K.: Untersuchungen über *Helminthosporium gramineum* Rbh. in Rahmen der Immunitätszüchtung. *Phytopath. Ztschr.*, 2, 1930.
9. Kölpin-Ravn F.: Über einige *Helminthosporium* Arten und die von denselben hervorgerufenen Krankheiten bei Gerste und Hafer. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten*, 11, 1901.
10. Johnson T.: Studies on the Pathogenicity and Physiology of *Helminthosporium gramineum* Rbh. *Phytopathology*, 15, 1925.
11. Łacicowa B.: Badania nad morfologią i biologią *Fusarium poae* (Pk.) Wr. oraz patogenicznością tego gatunku względem siewek pszenicy. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C, vol. XVIII* (1963), 17, Lublin 1964.
12. Machacek J. E., Cherewick W. J., Mead H. W., Broadfoot W. C.: A Study of some Seed-borne Diseases of Cereals in Canada. II. Kinds of Fungi and Prevalence of Diseases on Cereals Seed. *Scientific Agriculture*, 31, 1951.
13. Mańka K.: Badania terenowe i laboratoryjne nad opieńką miodową *Armillaria mellea* (Vahl.) Quel. *FWRiL*, Warszawa 1953.
14. Stelzner G.: Experimentelle Untersuchungen über den die Gerstenstreifenkrankheit hervorrufenden Pilz *Helminthosporium gramineum* Rbh. unter besonderer Berücksichtigung seiner Infektionsverhältnisse. *Botanisches Archiv*, 36, 1934.
15. Skoropad W. P., Arny D. C.: The Influence of Amino Acids on the Growth of two Strains of *Helminthosporium gramineum*. *Phytopathology*, 47, 1957.
16. Wojtowa L. R.: Połosatyj gelminthosporios jaczmienia. *Zaszcz. Rast. ot Wred. i Bolezniej*, 6, 1963.

РЕЗЮМЕ

В ходе исследований над изоляцией *Helminthosporium gramineum* Rbh. из зерна ячменя было обнаружено, что этот грибок хорошо отращивается из зараженных зерен в среде приготовленной по Бину и Билькоксону (2). *Helminthosporium gramineum* Rbh. на плотной питательной среде при температуре 24°C без доступа воздуха образует тонкую грибницу легко образующую споры. Применение метода искусственных культур на этой безазотистой питательной среде позволяет в лабораторных условиях распознать поражение посевного материала ячменя грибом *Helminthosporium gramineum* Rbh.

SUMMARY

When investigating media from which it is possible to isolate *Helminthosporium gramineum* R b. h. from the barley grains, the author demonstrated that the fungus grew on mineral medium from infected seeds. It was found that *Helminthosporium gramineum* R b. h. produced a delicate fructiferous mycelium on the above mentioned medium, prepared according to Bean and Wilcoxon (2), in darkness, at a temperature of 24°C. The method of artificial cultures conjointly with application of this mineral medium enables the evaluation of infection of barley seeds with *Helminthosporium gramineum* R b. h. in laboratory conditions.

Tab. 1. Opis kolonii i zarodnikowania *Helminthosporium gramineum* po 10 dniach wzrostu na 3 pożywkach w stałej temp. 24°C bez dostępu światła oraz w warunkach naturalnego światła i zmiennej temperatury
 Description of the colony and sporulation of *Helminthosporium gramineum* following ten-day growth period, on 3 experimental media, at constant temperature of 24°C in darkness, and at daylight at varying temperatures

Warunki wzrostu Conditions of growth	Badane pożywki Media under examination		
	Glukozowo-ziemniaczana Potato-dextrose medium	Mineralna „A” Mineral medium „A”	Mineralna „B” Mineral medium „B”
Temp. 24°C bez dostępu światła Temperature 24°C, in darkness	Kolonie o średnicy 8 cm barwy szarooliwkowej; zarodnikowanie bardzo słabe; konidia oliwkowe, cylindryczne z wyraźną ziarnistością wewnątrz; wymiary zarodników: z 2 przegrodami 32—50×12,5—15 μ Colony 8 cm. in diameter, olive-gray, Very poor sporulation. Conidia of olive colour, cylindrical, with marked granulation inside. Measurements of spores: with two septae 32—50×12.5—15 μ	Kolonie o średnicy 6 cm barwy jasnooliwkowej; brak zarodnikowania konidialnego; w grzybni pożywkowej jasno- i ciemnooliwkowe, śródśrępkowe chlamydospory z ziarnistością wewnątrz i o wymiarach: 20—25×12,5—15 μ Colony 6 cm. in diameter of olive light colour. Absence of conidial spores. In the mycelium there are present light-olive and dark-olive chlamydospores with granulation inside. Measurements of chlamydospores: 20—25×12.5—15 μ	Kolonie o średnicy 5 cm białe, delikatne; obfite zarodnikowanie występowało w formie oliwkowego nalotu; zarodniki jasnooliwkowe, cylindryczne, na obu końcach zaokrąglone z 1—7 przegrodami poprzecznymi; wymiary zarodników: z 1 przegrodą 52,5×17,5 μ z 2 przegrodami 32,5—55×17,5—20 μ z 3 przegrodami 62,5—85×20—22,5 μ z 4 przegrodami 80—107×20—25 μ z 5 przegrodami 77—102×17—25 μ z 6 przegrodami 100—102×15—25 μ z 7 przegrodami 107—115×15—25 μ Colony 5 cm. in diameter, delicate, white. Rich sporulation visible as olive coating. Spores light olive, cylindrical, rounded on either end, with 1—7 transverse septae. Measurements of spores: with 1 septum 52.5×17.5 μ with 2 septae 32.5—55×17.5—20 μ with 3 septae 62.5—85×20—22.5 μ with 4 septae 80—107×20—25 μ with 5 septae 77—102×17—25 μ with 6 septae 100—102×15—25 μ with 7 septae 107—115×15—25 μ
Naturalne światło i zmienna temp. od 8°C do 30°C Daylight and temperature varying from 8° to 30°C	Kolonie o średnicy 9 cm, puszyste, barwy jasnooliwkowej; zarodnikowanie obfite; zarodniki oliwkowe, cylindryczne z 2—7 przegrodami poprzecznymi; wymiary zarodników: z 2 przegrodami 55—60×15 μ z 4 przegrodami 100—105×15 μ z 5 przegrodami 100—107×15 μ z 6 przegrodami 107—110×15 μ z 7 przegrodami 107—115×15 μ Colony 9 cm. in diameter, foamy, light olive. Rich sporulation. Spores olive in colour, cylindrical, with 2—7 septae. Measurements of spores: with 2 septae 55—60×15 μ with 4 septae 100—105×15 μ with 5 septae 100—107×15 μ with 6 septae 107—110×15 μ with 7 septae 107—115×15 μ	Kolonie o średnicy 8 cm puszyste, barwy szarooliwkowej; zarodnikowanie słabe; zarodniki jasnooliwkowe, cylindryczne; wymiary zarodników: z 3 przegrodami 45—75×15—17,5 μ z 4 przegrodami 60—85×17 μ Colony 8 cm. in diameter, foamy, olive-gray in colour. Poor sporulation. Spores of light olive colour, cylindrical. Measurements of spores: with 3 septae 45—75×15—17.5 μ with 4 septae 60—85×17 μ	Kolonie o średnicy 5 cm, delikatne, białe; zarodnikowanie bardzo obfite; morfologia i wymiary zarodników jak wyżej Colony 5 cm. in diameter, delicate, white. Very rich sporulation. Morphology and measurements of spores as above