

## Badania patogeniczności *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. w stosunku do fasoli

BARBARA ŁACICOWA, ZOFIA MACHOWICZ

Instytut Ochrony Roślin, Akademia Rolnicza, Lublin, Akademicka 15

Łacicowa B. (Institute of Plant Protection, College of Agriculture, Lublin, Akademicka 15, Poland): *Investigations on the pathogenicity of Helminthosporium sorokinianum* Sacc. in relation to *Phaseolus vulgaris* L. Acta Mycol. 10(2): 283-293, 1974.

The results obtained in pot and field experiments have shown that *Helminthosporium sorokinianum* is able to infect bean plants. The cotyledons and roots of shoots during the first three weeks of growth are attacked the most frequently. Dark brown spots occur on the above-mentioned organs. The infection of roots and cotyledons of shoots is responsible for gangrene both before and after germination. Infected plants which remain alive only show symptoms of infection in the root system. The infection of roots by *H. sorokinianum* in older plants is detrimental to growth and causes a decrease in the yield obtained from bean plants.

### WSTĘP

*Helminthosporium sorokinianum* Sacc. przez dłuższy czas uważane było przez fitopatologów za patogena traw, szczególnie szkodliwego dla jęczmienia i pszenicy. Doniesienia jednak o wyosobnieniu omawianego gatunku z roślin należących do rodziny *Papilionaceae* (Harvey, Spurr, Kiesling 1961; Renfro 1963) oraz poznanie roli tego grzyba jako czynnika chorobotwórczego porażającego niektóre rośliny motylkowate (Łacicowa, Machowicz, Orlikowski 1970) zasugerowały badania nad jego patogenicznością w stosunku do fasoli. Potrzeba uwzględnienia takich badań wypłynęła zasadniczo z faktu wyosobnienia *Helminthosporium sorokinianum* z nasion fasoli, co nasunęło przypuszczenie, że tę roślinę można uznać za żywicielską dla omawianego grzyba. Oprócz poznawania nowych chorób i ich wpływu na rozwój oraz plonowanie roślin, wydaje się również ważne z punktu widzenia fitopatologii ustalanie zakresu żywicieli dla patogenów, aby dobrać metody do ich efektywnego zwalczania. Dla chorób posiadających źródło w środowisku glebowym, do których należą i helmintosporiozy, szcze-

gólne znaczenie ma znajomość zakresu roślin żywicielskich do opracowania płodozmianów ograniczających rozwój patogenów w glebie (Lacicowa 1972).

#### PRZEDMIOT I METODY BADAŃ

**Przedmiot badań.** Do badań wybrano fasolę zwyczajną (*Phaseolus vulgaris* L.), odmianę szparagową żółtostrąkową Złota Saxa oraz odmianę Biała Wyborowa uprawianą na suche nasiona. Do sztucznego zakażenia ich nasion posłużył szczep *Helminthosporium sorokinianum* wyosobniony z materiału siewnego fasoli w 1971 r.

**Doświadczenie wazonowe.** Dla określenia chorobotwórczego oddziaływania *H. sorokinianum* w stosunku do wybranych odmian fasoli wysiewano nasiona sztucznie zakażone badanym grzybem do wazonów Mitscherlicha napełnionych wysterylizowaną ziemią. Za materiał infekcyjny posłużyły konidia uzyskane z jednozarodnikowej kultury badanego szczepu, która rosła przez 7 dni bez dostępu światła w temperaturze 24°C na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Z zarodników tych sporządzano za pomocą kamery Thoma zawiesinę zawierającą w 1 ml od 600 do 650 konidiów.

Z prób materiału siewnego poszczególnych odmian fasoli wybierano nasiona dobrze wykształcone i normalnie zabarwione, które następnie dezynfekowano, a potem infekowano przygotowaną zawiesiną zarodników (Lacicowa 1969). Poszczególne nasiona wykładano do uprzednio przygotowanych dołków o głębokości 2 cm, po czym przykrywano dla wyrównania powierzchni odpowiednią ilością ziemi. Między nasionami zachowywano odległość 2 cm. Każdą odmianą obsiewano 4 wazony po 20 nasion w jednym. Kontrolę stanowiły 4 wazony napełnione wysterylizowaną ziemią, do której wysiewano na wazon po 20 nasion odkazonych tylko powierzchniowo. Po wysiewie nasion wazony przykrywano szklanymi płytami i przetrzymywano przez 7 dni w pomieszczeniu naturalnie oświetlonym o temperaturze powietrza 20°C. W czasie trwania doświadczenia utrzymywano jednakową wilgotność ziemi przez odpowiednie podlewanie. Pod koniec doświadczenia, tj. na ósmy dzień od wysiewu nasion, ustalano dla każdego wazonu liczbę wyrosłych roślin, a po wyjęciu ich z ziemi dokonywano pomiaru korzeni i pędów. Ponadto, celem określenia objawów chorobowych, przeprowadzano dokładną analizę organów nadziemnych i systemu korzeniowego.

**Doświadczenia polowe.** Doświadczenie założono 16 maja 1972 r. metodą bloków kompletnie zrandomizowanych (Okta 1966). Jeden blok obejmował poletka obsiane nasionami sztucznie zakażonymi badanym szczepem, a drugi — poletka kontrolne, tj. obsiane nasionami bez sztucznego zakażenia. Nasiona każdej analizowanej odmiany fasoli

wysiewano na 10 poletkach (na 5 w każdym bloku). Na poletku wysiewano po 20 nasion w czterech rzędach, stosując rozstaw między rzędami 20 cm, a odległość między nasionami w rzędzie — 15 cm.

Nasiona przed wysiewem zakażano wstępnie w laboratorium, tak jak do doświadczenia wazonowego, po czym zakażano je ponownie w polu (Łacicowa 1970).

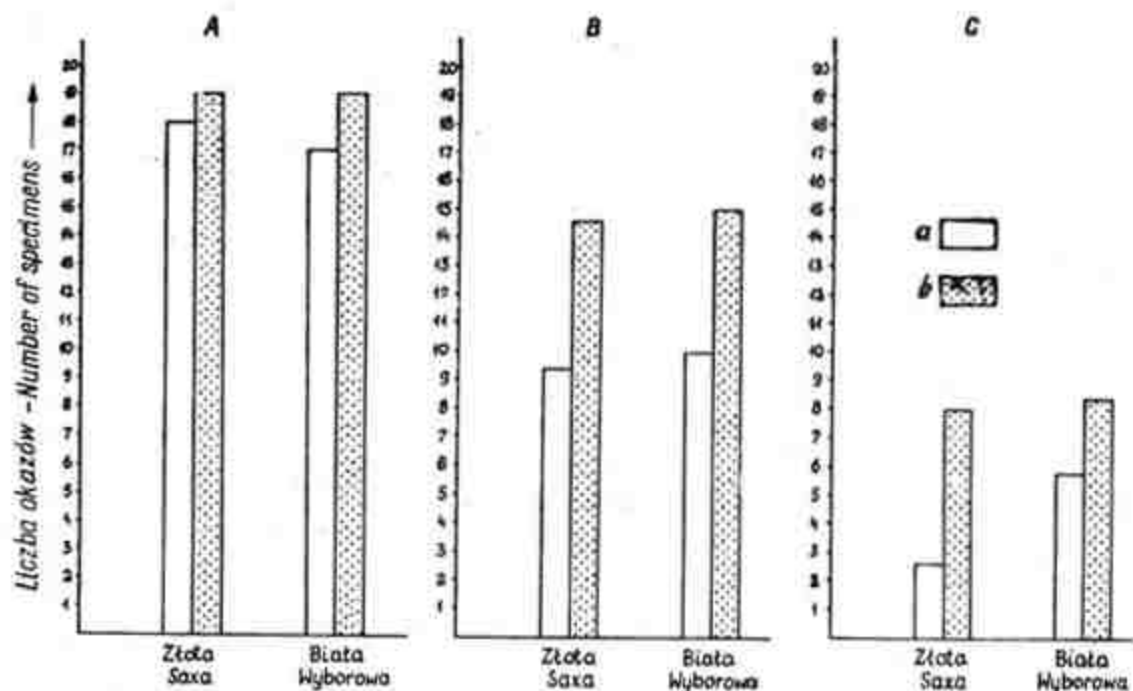
Dane liczbowe uzyskane z obserwacji polowych (Łacicowa, Machowicz, Orlikowski 1970) oraz wyniki analizy materiału roślinnego poddano opracowaniu statystycznemu weryfikując wpływ porażenia przez *H. sorokinianum* na liczebność roślin oraz zdolność kiełkowania nasion przez zastosowanie testu „u” istotności dwóch frakcji przy dużych próbach (Okta b a 1966). Natomiast wpływ porażenia na krzewienie ogólne, krzewienie produkcyjne oraz wielkość plonu strąków i nasion weryfikowano na podstawie istotności testu *t* Studenta dla różnicy dwóch średnich normalnych (Okta b a 1966).

#### PRZEBIEG I WYNIKI BADAŃ

Analiza liczebności 7-dniowych siewek fasoli z doświadczenia wazonowego wykazała ubytek roślin w następstwie porażenia przez *Helminthosporium sorokinianum* u obydwu badanych odmian fasoli. Przyczyną redukcji wschodów w wazonach, do których wprowadzono nasiona sztucznie zakażone analizowanym grzybem, okazała się najczęściej zgorzel przedwschodowa. Rośliny uzyskane z nasion sztucznie zakażonych przez *H. sorokinianum*, które utrzymały się przy życiu, były znacznie niższe od siewek kontrolnych, a ich korzenie wyraźnie krótsze od korzeni wyrosłych z nasion bez sztucznej infekcji (ryc. 1). Przyczyną zahamowania wzrostu systemu korzeniowego była całkowita nekroza wierzchołka korzenia głównego oraz korzeni bocznych. Ponadto na hypokotylu siewek wyrosłych z nasion sztucznie zakażonych obserwowano występowanie brunatnych plam różnej wielkości (3-7 mm długości i 2-4 mm szerokości), względnie całkowitą nekrozę części podłiscieniowej. Natomiast nie obserwowano żadnych objawów chorobowych na liścieniach (ryc. 2 a, b, d i e). Analiza mikroskopowa powierzchni organów, na których wystąpiły objawy chorobowe, wykazała obfite zarodnikowanie konidialne *H. sorokinianum*, przy czym morfologia i wymiary konidiów były takie same, jak konidiów wytworzonych przez szczep badanego grzyba na pożywce agarowej.

Dokładne polowe obserwacje pozwoliły ustalić wpływ *H. sorokinianum* na kiełkowanie nasion fasoli w naturalnych warunkach oraz umożliwiły poznanie objawów chorobowych wywoływanych przez ten grzyb w różnych fazach rozwojowych roślin. Niska liczebność wschodów na poletkach obsianych nasionami sztucznie zakażonymi przez *H. sorokinia-*

num wykazała, że porażenie fasoli w czasie kiełkowania nasion zmniejszało znacznie liczbę uzyskiwanych roślin. Podczas pierwszej obserwacji przeprowadzonej po 14 dniach od wysiewu fasoli zanotowano na poletkach obsianych sztucznie zakażonymi nasionami odmiany Saxa o 50% mniej siewek, aniżeli na poletkach kontrolnych (ryc. 3 i tab. 1). Bardziej



Ryc. 1. Wpływ porażenia przez *Helminthosporium sorokinianum* na liczebność oraz rozwój siewek w doświadczeniu wazonowym

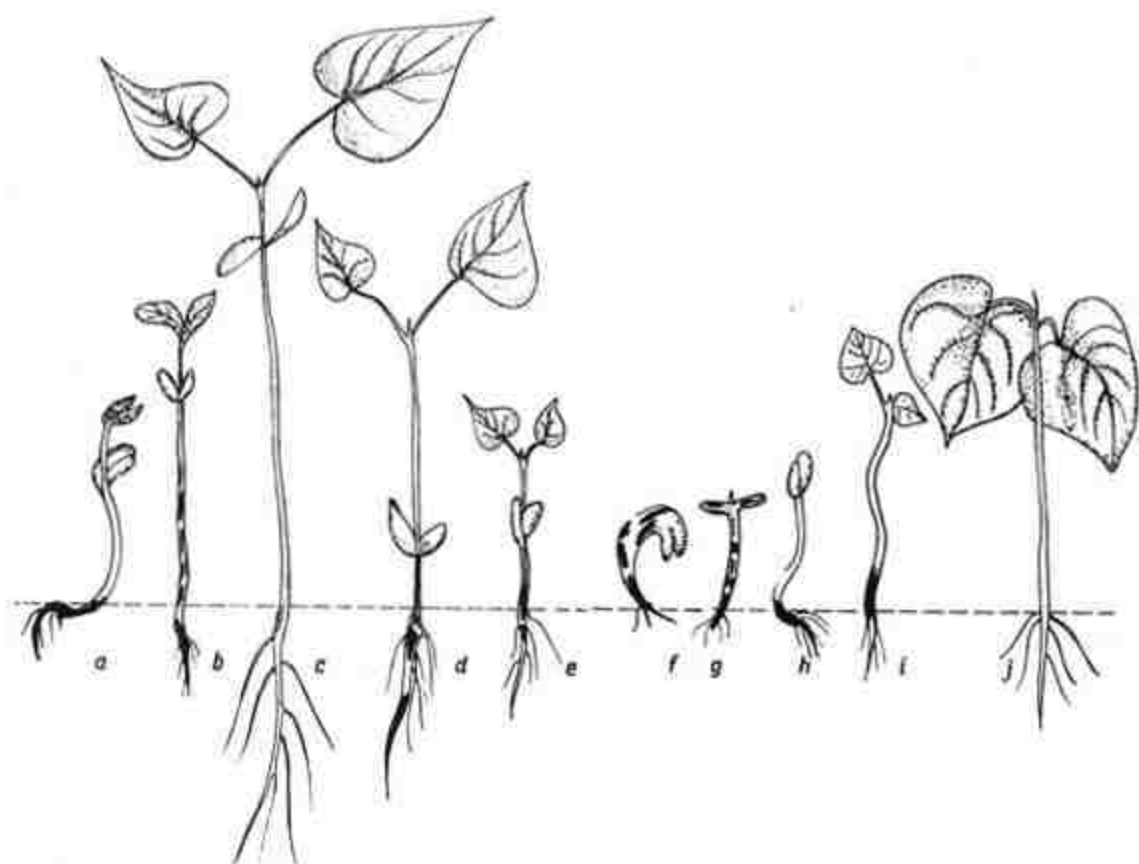
A — średnia liczba siewek na wazon, B — średnia długość pędów w mm, C — średnia długość korzeni w mm; a — siewki wyrosłe z nasion sztucznie zakażonych, b — siewki kontrolne

Influence of infection with *Helminthosporium sorokinianum* on the number and development of seedlings in pot experiments

A — number of seedlings per plots — average, B — length of shoots — average, C — length of roots — average; a — seedlings from infected artificially, b — control

jeszcze ujemny wpływ porażenia przez badany grzyb na kiełkowanie fasoli zaobserwowano w tym czasie na poletkach obsianych odmianą Biała Wyborowa. Zanotowano wówczas o 80% mniej siewek na poletkach obsianych nasionami tej odmiany sztucznie zakażonymi przez *H. sorokinianum* aniżeli na poletkach kontrolnych. Przyczyną redukcji siewek była zgorzel przedwzrostowa i powzrostowa. Przy zgorzeli przedwzrostowej porażeniu ulegały korzenie i liście. Na powierzchni chorych organów występowały ciemnobrunatne plamy, przy czym porażone siewki całkowicie zasychały. Przy zgorzeli powzrostowej siewki wydostały się wprawdzie na powierzchnię gleby, ale ginęły po kilku dniach. Przyczyną obumierania takich siewek była nekroza systemu korzeni-

wego oraz brunatne plamy (3-8 mm długości i 3-5 mm szerokości) na liścieniach (ryc. 2 f, g). Analiza mikroskopowa powierzchni porażonych organów wykazała obecność licznych konidiów *H. sorokinianum*. Porażone siewki, które utrzymały się przy życiu wykazywały objawy chorobowe tylko na systemie korzeniowym. Końce ich korzeni były całkowicie brunatne, a niekiedy obserwowano również podłużne, nekro-



Ryc. 2. Rośliny z doświadczeń wazonowych (a-e) oraz polowego (f-j)

a, b, d-i — rośliny porażone; c, j — rośliny kontrolne

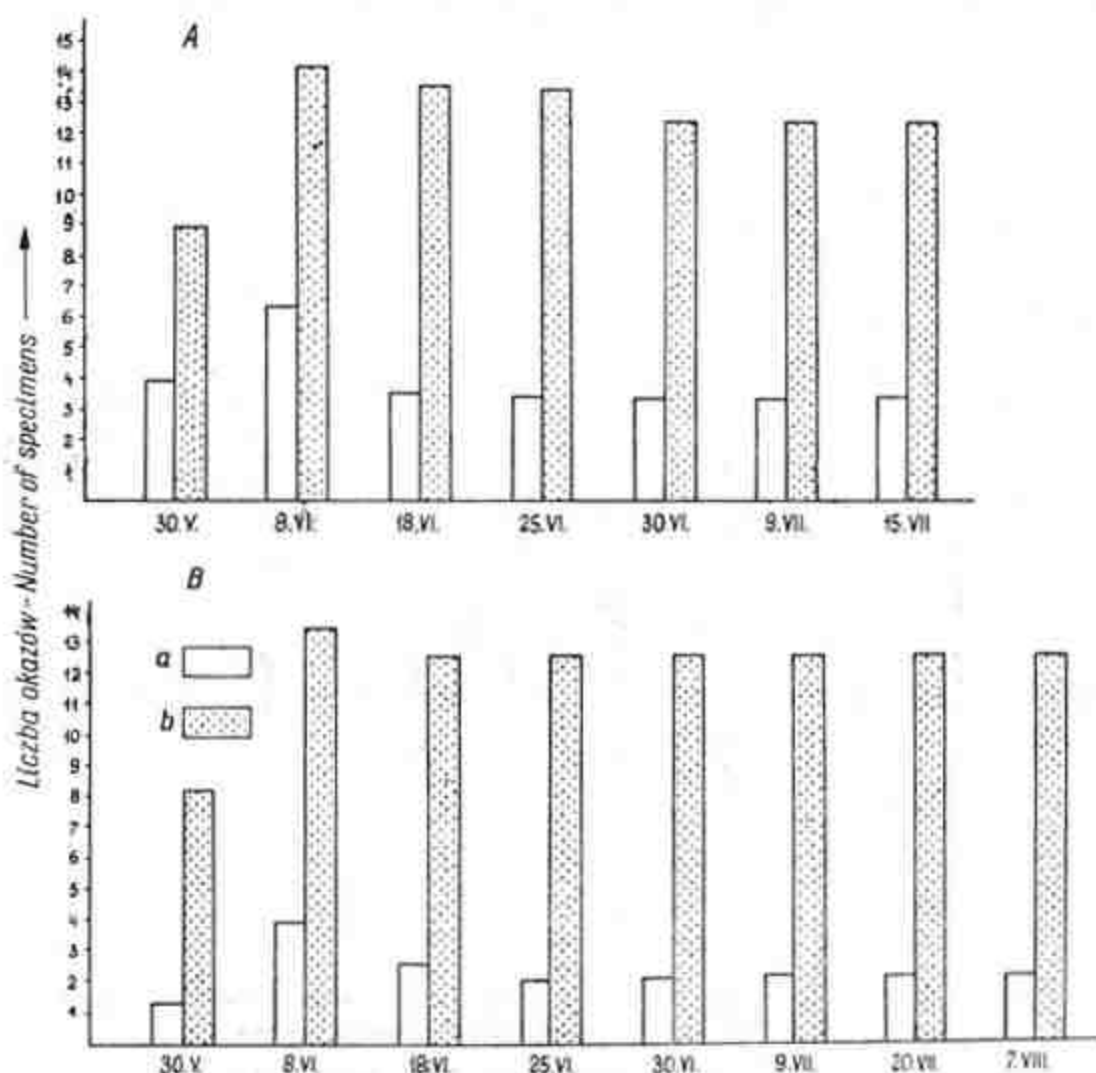
Plants from pot (a-e) and field experiments (f-j)

a, b, d-i — infected plants; c, j — control

tyczne plamy na liścieniach. Natomiast liście i łodygi takich roślin, a następnie w późniejszej ich fazie rozwojowej również i strąki, nie wykazywały żadnych objawów chorobowych. Podczas dalszych obserwacji, jak również przed zbiorem obydwóch odmian fasoli, zanotowano podobne różnice między liczbą roślin na poletkach obsianych nasionami sztucznie zakażonymi i na poletkach kontrolnych, jak podczas pierwszej obserwacji dokonanej po 14 dniach od wysiewu nasion (ryc. 3, tab. 2). Można więc ustalić, że większość porażonych roślin, która utrzymała się przy



życiu w czasie pierwszych trzech tygodni wzrostu, zdolna była do dalszego rozwoju pomimo uszkodzonego przez omawiany patogen systemu korzeniowego. Wyniki jednak analizy zebranego z pola materiału roślinnego wskazują na to, że porażenie fasoli przez *H. sorokinianum* osłabiało



Ryc. 3. Wpływ porażenia przez *Helminthosporium sorokinianum* na liczebność roślin w doświadczeniu polowym

A — Złota Saxa, średnia liczba roślin na poletku; B — Biała Wyborowa, średnia liczba roślin na poletku; a — siewki wyrosłe z nasion sztucznie zakażonych; b — siewki kontrolne

Influence of infection with *Helminthosporium sorokinianum* on the number of plants in field experiments

A — Złota Saxa, number of plants in field — average; B — Biała Wyborowa, number of plants in field — average; a — seedlings from seeds infected artificially; b — control

rozwój roślin, na co wskazywała mniejsza liczba ogólnych pędów, jak również pędów kwiatowych, w porównaniu z roślinami kontrolnymi (tab. 2). Po zebraniu i zważeniu plonu strąków odmiany szparagowej

Złota Saxa oraz nasion odmiany Biała Wyborowa okazało się, że słabsze krzewienie produkcyjne było przyczyną znacznie obniżonego plonowania fasoli (tab. 2). Rośliny wyrosłe na poletkach kontrolnych wydawały ponad 50% większy plon nasion oraz prawie o 40% większy plon strąków,

Tabela 1 — Table 1

Procentowa różnica między roślinami kontrolnymi i wyrosłymi z nasion zakażonych *Helminthosporium sorokinianum*

Differences in number of plants between control plants and those grown from seeds infected plants of *Helminthosporium sorokinianum*

Odmiana Variety	% roślin notowany 30.V.1972 % of plants recorded on May 30, 1972				% roślin notowany 15.VII.1972 % of plants recorded on July 15, 1972			
	z nasion zakażo- nych from seeds infected	z nasion kontrol- nych from seeds control	U <sup>o</sup>	U <sub>0,05</sub>	z nasion zakażonych from seeds infected	z nasion kontrolnych from seeds control	U <sup>o</sup>	U <sub>0,05</sub>
Złota Saxa	21	44	6,030*	1,960	17	68	14,57*	1,960
Biała Wybo- rowa	7	41	11,333*	1,960	11	63	15,294*	1,960

\* Różnice istotne przy  $U_{0,05} = 1,960$   
Difference significant from  $U_{0,05} = 1,960$

w porównaniu z roślinami uzyskanymi z nasion sztucznie zakażonych (tab. 2). Ponadto analiza statystyczna wyników badań materiału siewnego wskazuje na istotnie lepszą zdolność kiełkowania nasion fasoli pochodzących z roślin kontrolnych, aniżeli z roślin wyrosłych z nasion sztucznie zakażonych (tab. 3). W analizowanym materiale siewnym fasoli z roślin kontrolnych, jak również pochodzących z roślin uzyskanych z nasion sztucznie zakażonych nie zanotowano występowania *H. sorokinianum*.

#### DYSKUSJA WYNIKÓW

Uzyskane wyniki badań wykazały zdolność *Helminthosporium sorokinianum* do porażenia fasoli i przez to upoważniają do zaliczenia tej rośliny do grupy żywicieli omawianego patogena. Obserwacje polowe potwierdziły w zasadzie wyniki badań wazonowych nad zdolnością chorobotwórczą *H. sorokinianum* w stosunku do wybranych odmian fasoli;

Tabela 2 — Table 2

Różnice w krzewieniu ogólnym i produkcyjnym oraz wielkości plonu strąków i nasion  
Differences in general and productive growth and in pods and seeds yield

Odmiana Variety	Krzewienie ogólne General growth		Krzewienie produkcyjne Productive growth		Wielkość plonu Yield			
	$t^0$		$t^0$		$t^0$			
	średnia liczba pędów głównych mean number of leaders	$t_{0,05}$	średnia liczba pędów generatywnych mean of generativa shoots	$t_{0,05}$	Średni ciężar strąków i nasion mean weight of seeds and pods	$t_{0,05}$		
	z nasion zakażonych from seeds infected	kontrola control	z nasion zakażonych from seeds infected	kontrola control	z nasion zakażonych from seeds infected	kontrola control		
Złota Saxa	3,5	5,1	4,969*	2,037	80,3 <sup>†</sup>	135,2	8,626*	2,037
Biała Wy- borowa	2,63	4,18	2,589*	2,086	33,09 <sup>‡</sup>	79,27	3,740*	2,086

\* Różnica istotna przy  $t_{0,05} = 2,037$  i  $t_{0,05} = 2,086$

† Difference significant from  $t_{0,05} = 2,037$  and from  $t_{0,05} = 2,086$

‡ Ciężar strąków

Weight of pods



Tabela 3 — Table 3  
 Różnice w zdolności kiełkowania materiału siewnego  
 Differences in germination power of seeding material

Odmiana Variety	Energia kiełkowania w % Germination energy, %			Siła kiełkowania w % Germination power %		
	dla roślin wy- rosłych z nasion zakażonych grown from in- fected seeds	dla roślin kon- trolnych from control plants	U <sup>0</sup>	dla roślin wy- rosłych z nasion zakażonych grown from in- fected seeds	dla roślin kon- trolnych from control plants	U <sup>0</sup>
Biała Wybo- rowa	63	72	3,844*	71	87	7,861*
			1,960			1,960

\* Różnice istotne przy U<sub>0,05</sub> = 1,960  
 Difference significant from U<sub>0,05</sub> = 1,960

zaobserwowane objawy chorobowe można sprowadzić przede wszystkim do zgnilizny korzeni. Przedstawione badania — podobnie jak przeprowadzone wcześniej z innymi gatunkami roślin z rodziny *Papilionaceae* (Łacicowa, Machowicz, Orlikowski 1970) — pozwalają uznać, że omawiany patogen powoduje głównie uszkodzenia systemu korzeniowego roślin motylkowatych. Poważną przyczyną zamierania siewek obserwowanego w pierwszych trzech tygodniach wzrostu fasoli jest porażenie korzeni. Natomiast u roślin starszych wpływa ono ujemnie na krzewienie ogólne oraz krzewienie produkcyjne i przez to niższe plonowanie fasoli. W wyniku obecnie przeprowadzonych badań stwierdzono, że materiał siewny fasoli raczej nie odgrywa roli w rozprzestrzenianiu grzyba, ponieważ nie wyosobniono tego patogena z analizowanych nasion. Przypuszczać jednak należy, że zarodniki jego mogą sporadycznie zanieczyszczać materiał siewny fasoli, na co wskazuje wcześniejsze uzyskanie z nasion obecnie badanego izolatu.

Wobec dotychczasowego braku podstaw do przypisywania materiałowi siewnemu roślin motylkowatych zasadniczego pośredniczenia w rozprzestrzenianiu *H. sorokinianum*, na co wskazują obecne i wcześniejsze badania (Łacicowa, Machowicz, Orlikowski 1970) należy glebę uznać za główne źródło infekcji (Chinn, Ledingham 1958; Śćekoćinina 1971). Poważne zatem znaczenie w ochronie roślin przed porażeniem przez ten grzyb może mieć zmianowanie zakładające wyłączenie z uprawy na okres 4 lat roślin podatnych na porażenie. Ponieważ przez dłuższy czas *H. sorokinianum* uważano za patogena roślin trawiastych, dlatego zalecano dotychczas w rejonach produkcji przez niego zagrożonych wycofywanie z uprawy przedstawicieli rodziny *Gramineae* nawet na okres 5-letni (Ledingham 1961). Poznanie zatem roli *H. sorokinianum* jako czynnika porażającego rośliny motylkowate zwraca uwagę na nowe trudności w układaniu płodozmianu. Wynikają one również z faktu, że dla ograniczenia zgnilizny korzeniowej pszenicy powodowanej przez *Ophiobolus graminis* i grzyby z rodzaju *Fusarium* zaleca się jako przedplon właśnie rośliny z rodziny *Papilionaceae* (Slope, Etheridge 1971; Musatowa 1971).

#### WNIOSKI

1. *Helminthosporium sorokinianum* okazał się groźnym patogenem dla fasoli.
2. Uszkodzenia systemu korzeniowego powstające w następstwie porażenia fasoli przez *H. sorokinianum* są główną przyczyną ubytku siewek oraz osłabionego rozwoju chorych roślin w polu i ich obniżonego plonowania.

3. Możliwość porażania fasoli przez *H. sorokinianum* powinna być brana pod uwagę przy planowaniu uprawy tej rośliny, szczególnie w rejonach częstego występowania patogena.

## LITERATURA

- Chinn S. H., Ledingham R. J., 1958, Application of new laboratory method for determination of survival of *Helminthosporium sativum* spores in soil, *Canad. J. Botany* 36: 289-295.
- Harvey W., Spurr J., Kiesling R. L., 1961, Field and host studies of parasitism by *Helminthosporium sorokinianum*, *Plant Disease Reporter* 45: 941-943.
- Ledingham R. J., 1961, Crop rotation and common root-rot in wheat, *Canad. J. Plant Science* 41: 479-486.
- Lacicowa B., 1964, Badania nad biologią i morfologią *Fusarium poae* (Pk.) Wr. oraz patogenicznością tego gatunku względem siewek pszenicy, *Annales UMCS, Sec. C*, 18: 419-439.
- Lacicowa B., 1969, Metoda laboratoryjna szybkiej oceny odporności jęczmienia na *Helminthosporium sativum* P.K. et B., *Biuletyn IHAR* 3(4): 61-62.
- Lacicowa B., 1970, Badania szczepów *Helminthosporium sorokinianum* (= *H. sativum*) oraz odporności odmian jęczmienia jarego na ten czynnik chorobotwórczy, *Acta Mycol.* 6: 187-248.
- Lacicowa B., Machowicz Z., Orlikowski L., 1970, Badania patogeniczności *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechsl. (st. kon. *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. = *H. sativum* P.K. et B.) w stosunku do niektórych roślin motylkowatych, *Annales UMCS, Sec. E*, 14: 187-202.
- Lacicowa B., 1972, Znaczenie płodozmianu w ochronie roślin przed chorobami, *Ochrona Roślin* 10: 9-11.
- Musatowa L. P., 1971, Wpływ dejakych czynników na rozwój koreniowej gnili ozimoi pszenicy w zoni lisostepu Ukrainy RSR, *Nauk. Praci. Ukr., Silskogospod. Akad.* 32, 132-134.
- Oktaba W., 1966, *Elementy statystyki matematycznej i metody doświadczalnictwa*, Warszawa.
- Renfro B. L., 1963, *Helminthosporium sorokinianum* a cause of black stem of forage legumes, *Plant Disease Reporter* 47: 292-293.
- Slope D. B., Etheridge J., 1971, Grain yield and incidence of take-all (*Ophiobolus graminis* Sacc.) in wheat grown in different crop sequences, *Ann. Appl. Biol.* 67: 13-22.
- Štekočina B. G., 1971, O sochranienii *Helminthosporium sativum* P.K. et B. w počwie, *Tr. W.N.J.J. Zaščity Rast.* 29: 75-81.