

ISTRAŽIVANJE ZARAZE ZRNA PŠENICE SA GLJIVICOM *LEPTOSPHAERIA NODORUM* MÜLLER

Bogdan Korić¹

IZVOD

Zaraza putem sjemena je primarna, a može se manifestirati tijekom cijelog ciklusa razvoja pšenice, od klijanja do zriobe. Zato su provedena istraživanja te se ispitalo 720 sorata i linija kako bi se utvrdilo postoji li razlika u otpornosti što bi se iskazalo u postotku zaraze kod pojedinih sorata i linija. Metoda ispitivanja bila je modificirana metoda zamrzavanja na bugačici. Razlike u postotku zaraze u zrnu, jasno pokazuju da je svih 720 sorata i linija imalo statistički opravdanu razliku u postotku zaraze zrna. To znači da niti jedna od tih sorata i linija nije otporna ili tolerantna prema zarazi u zrnu od strane *Leptosphaeria nodorum*.

Rezultati istraživanja su pokazali da gljivica *Leptosphaeria nodorum* može preživjeti u skladištu u zrnu više od 5 godina na temperaturi od 5°C.

Ključne riječi: *Leptosphaeria nodorum*, zaraza u zrnu pšenice

IZVLEČEK

RAZISKAVE OKUŽB PŠENIČNEGA SEMENA Z GLIVO *LEPTOSPHAERIA NODORUM* MULLER

Ena od mogućnosti za širjenje glive *Leptosphaeria nodorum* je z njo okuženo seme, zato je setev zdravoga semena eden od osnovnih pogojev za pridobitev dobrih pridelkov pšenice. Okužba semena je primarna in se lahko dogodi v vseh etapah rasti pšenice, od vznika do zrelosti. Zato so teste opravili s 720 sortani in linijami, da bi ugotovili, če obstajajo razlike glede deleža okužbe med posameznimi sortami in linijami. Uporabili so metodo Matuhur, Danish Government Institute of Seed Pathology, ki se je izkazala za najustreznejšo za testiranje te vrste. Vrednotenje okužb semena z glivo *Leptosphaeria nodorum* so opravili po 14 dneh s štetjem pokritosti zrna s piknidiji ali oranžnorožnatimi piknosporami. Vse vzorce so pregledali mikroskopsko in rezultate statistično izrednotili. Na podlagi večletnih rezultatov analize variance sklepajo, da imajo sorte in okužbe semena kot faktorja v testu, kot tudi njuna interakcija, statistično signifikanten vpliv na deležokužb semena.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF WHEAT SEED-BORNE INFECTION WITH *LEPTOSPHAERIA NODORUM*

Seed-borne infection is primary and can appear at any period of the wheat growth cycle, from emergence to maturity. Therefore, testings were conducted with 720 varieties and lines to determine whether there is a difference in infection percentage between individual varieties and lines. Deepfreezing blotter method was used. The

¹ Zavod za zaštitu bilja, Zagreb, Hrvatska

differences in grain infection percentage between artificially infected and check plots clearly indicate that there was statistically significant difference in grain infection for all 720 varieties and lines. This means that none of the varieties and lines is resistant or tolerant to *Leptosphaeria nodorum* grain infection.

Results of this investigation showed that *Leptosphaeria nodorum* survives more than 5 years in seed stored at 5°C.

Key words: *Leptosphaeria nodorum*, wheat seed-borne infection

UVOD

Zasijano zdravo sjeme jedan je od osnovnih preduvjeta za dobar urod pšenice, ali isto tako sjetvom zaraženog sjemena pospješujemo širenje gljivice *Leptosphaeria nodorum* uzročnika bolesti poznate pod nazivom *Septoria nodorum*. Zaraza nastala na ovaj način je primarna, a bolest se može javiti tijekom cijelog ciklusa razvoja pšenice, od klijanja do zriobe. Ukoliko nakon sjetve nastupe za nicanje nepovoljni klimatski uvjeti štete se mogu uočiti već kod klijanja i nicanja kada gljivica uništi klicu ili tek izniklu mladu biljčicu. Ukoliko su nakon sjetve povoljni klimatski uvjeti razvoj klice i nicanje je brzo, pa gljivica zbog svog sporijeg rasta i razvoja ne uspije uništiti klicu ili mladu biljčicu, ali ostaje u njoj te svoju štetu počini u zimskom periodu kada je vegetacija usporena ili u mirovanju. Posebno joj pogoduje višednevni snježni pokrivač. U proljeće, kad vegetacija krene, mnoge su mlade biljčice uništene te postaju novi izvor zaraze. Sve dotle dok je bolest prisutna na djelovima biljke ispod klasa mogućnost zaraze zrna veoma je mala. Ukoliko gljivica pređe na klas i to kada je pšenica u stadiju razvoja od klasanja do cvatnje (stadij razvoja 12-16 po Romig-u) zaraza u zrnu postaje sve prisutnija. Problem zaraze na klasu, a kasnije i u zrnu te utjecaj koji ova bolest može imati na urod mnogo je proučavan i istraživan u svijetu, a dio tih istraživanja pripada i istraživanjima u Hrvatskoj.

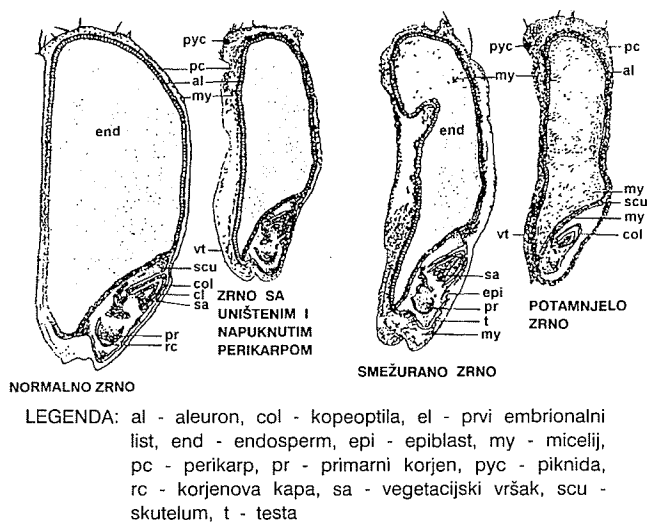
MATERIJAL I METODIKA RADA

Istraživanje prisutnosti gljivice *Leptosphaeria nodorum* na zrnu pšenice vršeno je na 720 sorata i linija koje su bile podvrgnute umjetnoj zarazi u odraslom stadiju u polju u stadiju klasanja. Na taj način osigurao sam pojavu bolesti na klasu u optimalnom roku, što je jedan od bitnih preduvjeta za istraživanja ovog tipa. Istraživanja su bila višegodišnja, a ispitivanje je započelo odbrojavanjem 4 x 1000 zrna od svakog uzorka podvrgnutog umjetnoj zarazi kao i kontrolnog uzorka. Nakon površinske sterilizacije u otopini, koja se sastojala od 60 ml varikine (sadrži 35-45% aktivnog klora) i 940 ml destilirane vode, u trajanju od deset minuta, po dvadeset zrna stavljeno je na vlažan filterpapir u petrijevu posudu promjera 12 cm. Nakon što su provele na sobnoj temperaturi 24 sata, petrijeve posude prenešene su u zamrzivač na - 20°C, gdje su ostale slijedećih 24 sata. Nakon tog uzorci su preneseni u komoru na temperaturu od 15°C +/- 1,5°C uz stalno fluorescentno svjetlo. Metodom kojom sam se poslužio modificirana je metoda zamrzavanja na filter papiru (deep-freezing blatter metod), a koja se za ovu vrstu istraživanja pokazala najprikladnijom (Mathur 1977, Mathur, Lee,

1977, Cunfer 1983, Korić 1986). Očitavanje zaraze zrna sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* obavljeno je nakon 14 dana. Kao zaražena zrna uzeta su ona na kojima su se pojavile piknide ili narandastoružičasta izlučevina konidija. Svi su uzorci pregledani putem mikroskopa.

REZULTATI I RASPRAVA

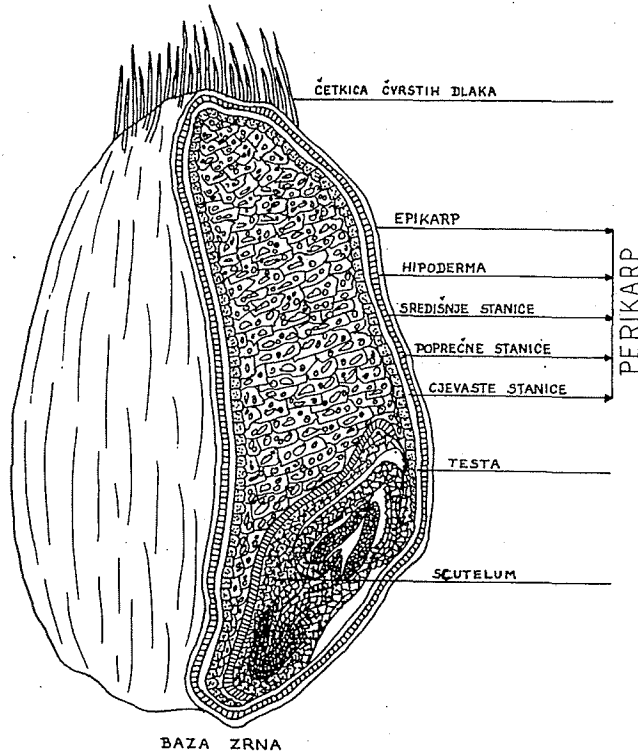
Analizom dobivenih podataka višegodišnjih istraživanja došlo se do spoznaje da zaraza pšenice u stadiju klasanja sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* ima veoma veliki utjecaj na postotak zaraze u zrnu. Vizuelnim pregledom se zapaža da zaraženo zrno može po svom vanjskom izgledu biti različito što ovisi od momenta kada je zaraza nastupila (crtež 1.). Provedena je i statistička obrada koja je dokazala statistički opravdane razlike u postotku zaraze u zrnu i one zaraze koju su imala zrna biljaka uzgojenih kao kontrola (prirodna zaraza). Dobivene nastale razlike u zarazi zrna su pokazale da niti jedna sorta i linija nije se pokazala otporna ili tolerantna prema bolesti *Septoria nodorum*. Na osnovu provedenih istraživanja zaraza u zrnu kod 720 sorata i linija, a na osnovu postotka zaraze, ispitivani materijal svrstan je u tri grupe. U prvoj grupi uvrštene su sorte i linije sa zarazom u zrnu do 20%, u drugoj sa zarazom od 21% do 40,9%, a u treću iznad 41%. Treba posebno napomenuti da postotak zaraze u zrnu (crtež 2) u niti jednom slučajunije bio manji od 16,5% što ukazuje na opću osjetljivost ispitivnog materijala na ovu bolest, usprkos spoznaji da na postotak zaraze u mnogome utječu i klimatske prilike koje vladaju u vrijeme zaraze klasa.



Crtež 1 Tipovi zaraze zrna pšenice sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum*

Tu spoznaju potvrđuju i istraživanja koja je proveo Hewet (1965) kad je utvrdio da stupanj jačine zaraze zrna ovom gljivicom u klasu uvelike ovisi o količini vlage u stadiju klasanja.

Na osnovu okularne ocjene jačine napada *Septoria nodorum* na klasu, nemože se odrediti jačina zaraze u zrnu, što se slaže sa ispitivanjima koje su proveli Cunfer i Johnson (1980) i von Wechmar (1965). Tako su pojedine sorte i linije s najnižom ocjenom jačine zaraze na klasu imale postotak zaraze u zrnu veći od 40.9%.

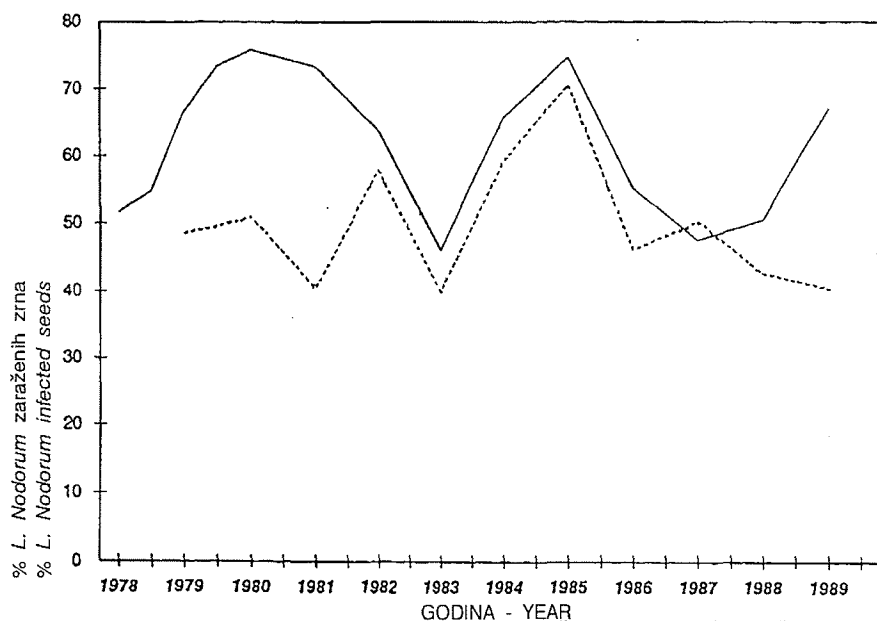


Crtež 2 Infekcija zrna pšenice sa *Leptosphaeria nodorum*

Istraživanja su isto tako pokazala da se kod ispitivanja zaraze sjemena sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* mora provesti površinska sterilizacija sjemena što se katkada ne čini posebno kod rutinskih predispitivanja prirodne robe. Tako se može dogoditi da dobijemo krivu sliku o zaraženosti zrna sa tom gljivicom budući da je ona u stvarnosti može biti veća za 30-60%, a nije ju moguće u tom vremenu (odmah nakon žetve) odrediti. Razlog tome su mnoge ostale gljivice, posebno saprofitske, koje se nalaze na zrnu, a nisu antagonisti gljivici *Leptosphaeria nodorum* nego samo suparnici. Ti saprofiti su uglavnom brzo rastuće gljivice te svojim brzim rastom prevladavaju i ne dozvoljavaju gljivici *Leptosphaeria*

nodorum, koja je spororastuća gljiva, da se razvije. Duljim stajanjem sjemena u skladištu dolazi do smanjenja brzorastućih saprofitskih gljivica pa se tim olakšava rast gljivice *Leptosphaeria nodorum*, a to pospješuje ispitivanje zdravstvenog stanja sjemena.

Za razliku od saprofitskih gljivica koje se mogu naći na površini zrna pšenice, gljivica *Leptosphaeria nodorum* može se nalaziti i u njemu gdje može preživjeti više godina., Prema našim istraživanjima koja smo do sada mogli obaviti to je 5 godina. Takva istraživanja provedena su u svijetu za dulje vremensko razdoblje kada je Cunfer (1991.) dokazao da je gljivica *Leptosphaeria nodorum* viabilna u zrnju 11 godina kada je čuvana u skladišnim uvjetima na 5°C. (Grafikon 1). Prema rezultatima tih istraživanja duljim skladištenem možemo zarazu u zrnju sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* samo umanjiti ali nikako eliminirati.



Vijabilnost gljivice *Leptosphaeria nodorum* u zrnju (žetva 1978, 1979) za vrijeme uskladištenja na 5°C kroz 10 i 11 godina.

Survival of *Leptosphaeria nodorum* in wheat seed harvested in 1978 and 1979 during 10 and 11 years of storage, at 5°C

(Cunfer, 1991)

Grafikon 1 Vijabilnost gljivice *Leptosphaeria nodorum* u zrnju pšenice
Figure 1 *Leptosphaeria nodorum* viability in wheat seed

ZAKLJUČAK

Na osnovu istraživanja zaraze zrna pšenice sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* mogu se donjeti slijedeći zaključci:

1. Razlike u postotku zaraze, kod ispitivanih sorata i linija (njih 720) pokazuju da niti jedan materijal koji je bio u ispitivanjima nije otporan ili tolerantan prema napadu te gljivice.
2. Važan je momenat zaraze klasa, jer o tome ovisi dali se gljivica zadržala samo na površini ili se uvukla ispod površine zrna.
3. Vizuelna ocjena jakog napada *Septoria nodorum* na klasu nemora značiti i jaka zaraza zrna sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum*.
4. Zdravstvena analiza sjemena pšenice neposredno nakon žetve nemože dati stvarnu zarazu zrna sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum*, tek 25% od ukupne zaraze, budući da ostale gljivice koje se nalaze na zrnu svojim brzim rastom i razvojem ne dozvoljavaju njen razvoj.
5. Duljim skladištenjem zaraza zrna sa gljivicom *Leptosphaeria nodorum* može biti smanjena ali nikako eliminirana.

LITERATURA

- Cunfer, M. B., 1983: Fluorescence method for detection *Septoria nodorum* in wheat seed.- Demonstration at the IWSDC-Bozeman, USA
- Cunfer, M. B., 1991.: Long term viability of *Septoria nodorum* in stored wheat seed.- Cer. res. Communications 19(3): 347-349
- Cunfer, M. B., Johnson W. J., 1981.: Relationship of glume blotch symptoms on wheat heads to seed infections by *Septoria nodorum*.- Trans. br. Mycol. Soc. 76(2): 205-211
- Hewet, D. P., 1965.: The incidence of *Leptosphaeria nodorum* and *Griphosphaeria nivalis*.- Trans. br. Mycol. Soc. 48(1):59-72
- Korić, B., 1986.: Prenošenje *Leptosphaeria nodorum* uzročnika bolesti *Septoria nodorum* putem zrna pšenice.- Sjemenarstvo 3(11-12): 275-284
- Mathur, S. B., 1977: Testing wheat seed for *Septoria nodorum*.- Referee seed health testing group 1-3
- Mathur, S. B., Lee, L. N. Silva, 1977.: A quick method for screening wheat seed samples for *Septoria nodorum*.- Seed Sci. and Tech. G: 925-926
- von Wechmar Barbara, 1965.: Seed transmission of *Septoria nodorum* Berk. in the western cape province S. Afr. J. Agric. Sci 8: 737-744

SUMMARY

INVESTIGATION OF WHEAT SEED-BORNE INFECTION WITH *LEPTOSPHAERIA NODORUM*

One of the possibilities for the spread of *Leptosphaeria nodorum* infection is by seeds, therefore planting sound seed is one of major prerequisites for obtaining good yields of the wheat. Seed-borne infection is primary and can appear at any period of the wheat growth cycle, from emergence to maturity. Therefore, testings were conducted with 720 varieties and lines to determine whether there is a difference in infection percentage between individual varieties and lines. Deepfreezing blotter method was used/Mathur, Danish Government

Institute of seed pathology) since it showed to be most suitable for this kind of testing.

Readings of *Leptosphaeria nodorum* seed infection were taken 14 days later by counting kernels covered with pycnidia or orangered-pinkish conidia. All the samples were checked through a microscope and the results were statistically analysed. Based on more-year results analysis of variance shows that the varieties and grain infection as factors in test, as well as their interaction had statistically significant effect on grain infection percentage.

Percentage of *Leptosphaeria nodorum* grain infection was significantly higher in artificial infection, than on check varieties and line (without artificial infections). The differences in grain infection percentage between artificially infected and check plots clearly indicate that there was statistically significant difference in grain infection for all 720 varieties and lines. This means that none of the varieties and lines is resistant or tolerant to *Leptosphaeria nodorum* grain infection.

Results of this investigation showed that *Leptosphaeria nodorum* survives more than 5 years in seed stored at 5°C, viability is lost in seed stored at 25°C.