

BADANIA PODATNOŚCI RÓŻNYCH ODMIAN FASOLI NA PORAŻENIE PRZEZ *FUSARIUM OXYSPORUM* SCHL. F. SP. *PHASEOLI* KEND. SNYDER

Danuta Sułek-Pięta

Instytut Ochrony Roślin AR w Lublinie

Więdnienie fuzaryjne fasoli opisał po raz pierwszy w 1929 r. Harter w Kalifornii i chorobie nadał nazwę vascular fusarium disease of beans. W 1934 r. Kendrick nazwał to schorzenie żółtą fuzariozą fasoli (fusarium yellows of beans) i wspólnie ze Snyderem [6] nadali patogenowi nazwę *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*. Omawiany grzyb wyspecjalizowany do porażenia *Phaseolus vulgaris* L. jest patogenem tkanki przewodzącej [1, 6, 12]. Źródłem choroby dla roślin są porażone nasiona oraz gleba [5, 9]. Uwzględniając dużą szkodliwość grzybów z rodzaju *Fusarium* dla fasoli i różną podatność odmian na porażenie, co dotychczas stwierdzono w przypadku *F. solani* f. *phaseoli* [4], podjęto prezentowane badania tym razem uwzględniające *F. oxysporum* f. *phaseoli*. Na potrzebę takich badań wskazało częste wyosabnianie wybranego grzyba z chorych roślin spotykanych w uprawach fasoli na Lubelszczyźnie [11].

MATERIAŁ I METODYKA

Materiałem do badań były rośliny 10 odmian *Phaseolus vulgaris* L.: Asta, Biała Wyborowa, Ima, Kama, Saga, Saxa, Saxa 70, Szubińska, Wiejska, Żłota Saxa. Próby nasion tych odmian uzyskano z Okręgowej Centrali Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa w Ożarowie Mazowieckim. Do sztucznej infekcji użyto wybrane losowo szczepy *F. oxysporum* f. *phaseoli* spośród izolatów uzyskanych z chorych roślin pobranych z plantacji produkcyjnych fasoli uprawianej na Lubelszczyźnie.

WIRULENCJA SZCZEPÓW

Badania przeprowadzono według metody opisanej przez Łacicową [10]. W badaniach uwzględniono jednozarodnikowe kultury 20 szczepów *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*. Z koloni szczepów wzrastających przez 14 dni w temperaturze 25°C na pożywce maltozowej (20 g ekstraktu słodowego Malto, 20 g agaru, uzupełniono wodą destylowaną do objętości 1000 ml) przygotowano dwumilimetrowe fragmenty. Pojedyncze fragmenty każdego szczepu przenoszono do 100 ml pożywki Czapek-Doxa w kolbach Erlenmayera o pojemności 200 ml. Pożywkę Czapek-Doxa sporządzono z gotowego produktu firmy Difco i według wskazań używano 35 g tego preparatu na 1000 ml wody destylowanej. Kolby z zaszczepioną pożywką przetrzymywano przez 30 dni bez dostępu światła w temperaturze 25°C. Po tym czasie pożywkę przesączano przez bibułowe filtry i po dokładnym wymieszaniu filtraty rozcieńczano sterylną wodą destylowaną w stosunku 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 (woda:filtrat). Po 18 ml każdego rozcieńczenia filtratu pochodowlanego poszczególnych szczepów wprowadzano do probówek o pojemności 21 ml. Dla jednego szczepu i rozcieńczenia zastosowano 4 probówki umieszczając w każdej po trzy 10-dniowe siewki fasoli odmiany Biała Wyborowa. Rośliny przed wprowadzeniem do filtratów pochodowlanych lub rozcieńczonej pożywki Czapek-Doxa (kombinacja kontrolna) płukano pod strumieniem wody wodociągowej, a następnie na wysokości 1 cm od szyjki korzeniowej odcinano korzeń. Probówki z siewkami przetrzymywano w komorach klimatyzacyjnych w temperaturze 22-23°C i przy wilgotności względnej 90-93% oraz przy oświetleniu korzystnym dla roślin. Po 24, 48 i 72 godzinach ustalono dla każdego powtórzenia liczbę, a z niej procent więdnących roślin.

Nasiona odmiany Biała Wyborowa dobrze wykształcone i normalnie zabarwione odkażano powierzchniowo sposobem opisanym we wcześniejszym opracowaniu [9]. Odkażone nasiona infekowano tak, jak w badaniach nad *Helminthosporium sativum* [8]. Do tego celu przygotowano zawiesiny analizowanych szczepów *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* zawierające w jednej kropli około 280 000 zarodników. Jednym szczepem zakażano 40 nasion, które następnie wkładano do sterylnego piasku kwarcowego w doniczkach glinianych. Doniczki z zakażonymi nasionami przetrzymywano przez 10 dni w szafach laboratoryjnych, gdzie stworzono optymalne warunki temperatury, wilgotności oraz światła dla skielkowania materiału siewnego i wzrostu siewek. Po upływie tego czasu ustalono liczbę roślin i określano ich zdrowotność. Zredukowane wschody oraz liczba chorych siewek stanowiły kryteria dla określenia wirulencji stosowanych szczepów.

PODATNOŚĆ ODMIAN

W badaniach laboratoryjnych uwzględniono 10-dniowe siewki odmian fasoli (tab. 3) i filtrat pochodzący z szczepu *F. oxysporum* f. *phaseoli*, który wyróżnił się szczególną chorobotwórczością we wcześniejszych badaniach (tab. 1). Sposób przeprowadzenia badań był taki sam, jak przy określaniu wirulencji szczepów z użyciem filtratów pochodzących.

Tabela 1

Średni procent więdnących roślin odmiany Biała Wyborowa w doświadczeniu z filtratami pochodzącymi z szczepów *F. oxysporum* f. *phaseoli*

Szczepy	24 godziny				48 godzin			
	1:1*	1:2	1:4	1:8	1:1	1:2	1:4	1:8
17	0	100	100	100	100	100	100	100
21	0	0	66,6	100	0	33,3	100	100
22	0	0	100	100	100	100	100	100
30	100	100	100	100	100	100	100	100
33	100	100	100	100	100	100	100	100
37	0	0	100	100	100	100	100	100
55	0	0	100	100	100	100	100	100
66	0	0	33,3	66,0	0	0	100	100
68	0	0	0	33,3	0	0	100	100
74	0	100	100	100	100	100	100	100
76	0	0	66,6	66,6	0	33,3	100	100
83	0	100	100	100	100	100	100	100
93	0	0	100	100	100	100	100	100
110	0	0	100	100	100	100	100	100
112	0	0	66,6	100	0	100	100	100
113	100	100	100	100	100	100	100	100
115	0	0	0	0	0	0	100	100
117	0	0	0	0	0	33,3	66,6	66,6
123	100	100	100	100	100	100	100	100
124	100	100	100	100	100	100	100	100

* Rozcieńczenie filtratu pochodzącego.

W przypadku kontroli nie stwierdzono więdnienia roślin w okresie prowadzonych badań, zaś po 72 godz. trwania doświadczenia obserwowano 100% więdnienie roślin wszystkich szczepów *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* wykorzystywanych w doświadczeniu.

Doświadczenia w latach 1975-1978 zakładano w III dekadzie maja w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym Czesławice. W badaniach uwzględniono te same odmiany fasoli, co w doświadczeniu laboratoryjnym. Materiał infekcyjny do zakażenia nasion przygotowano według Nolla sposobem opisanym przez Łacicową [7]. Do tego celu użyto szczepów *Fusarium*, które okazały się najbardziej chorobotwórcze w badaniach laboratoryjnych przy zastosowaniu metody szalkowej (tab. 2).

Tabela 2

Wpływ zakażenia nasion fasoli przez *F. oxysporum* f. *phaseoli* na ich kiełkowanie i zdrowotność siewek odmiany Biała Wyborowa w doświadczeniu laboratoryjnym

Szczepy	1975			1976			1977		
	liczba roślin		szczepy	liczba roślin		szczepy	liczba roślin		
	zdrowe	z objawami chorobowymi		zdrowe	z objawami chorobowymi		zdrowe	z objawami chorobowymi	
12*	—	16	4	12	16	17	4	28	
17	8	20	12	8	16	21	—	28	
18	16	16	16	8	20	22	8	16	
26	4	16	39	12	20	30	—	16	
29	4	20	48	8	16	33*	—	12	
31	16	12	68*	—	12	37	4	28	
47	12	16	71	4	20	55	4	24	
56	8	16	82	8	20	66	16	20	
59	—	28	100	—	16	68	16	20	
67	4	24	112	8	24	74	8	20	
96	4	20	130	—	28	76	8	24	
103	8	24	156	4	28	83	—	28	
107	12	12	171	4	24	93	12	24	
118	—	24	181	8	16	110	8	28	
128	4	20	191	—	28	112	12	24	
141	—	28	195	12	16	113	—	20	
146	4	24	198	8	20	115	24	12	
151	—	24	208	—	24	117	24	12	
172	8	20	210	16	16	123	—	28	
193	—	32	221	—	32	124	—	24	
kontrola	40	—	kontrola	40	—	kontrola	40	—	

* Szczep użyty do testowania odmian fasoli w doświadczeniu polowym

Doświadczenia zakładano metodą bloków kompletnie zrandomizowanych [2]. Jeden blok obejmował pojemniki z nasionami sztucznie zakażonymi *F. oxysporum* f. *phaseoli*, a drugi — pojemniki kontrolne, tj. obsiane nasionami bez sztucznego zakażenia. Co roku 80 nasion każdej odmiany fasoli wysiewano do ośmiu pojemników plastikowych tj. do 4 z materiałem infekcyjnym i do 4 kontrolnych. Przed wysiewem nasion pojemniki plastikowe bez dna o średnicy 20 cm i wysokości 25 cm zakopywano do gleby na głębokości 20 cm. Do zakopanych pojemników wprowadzono dwucentymetrową warstwę materiału infekcyjnego. W okresie wegetacji, począwszy od wschodów, przeprowadzono kilkakrotnie badania liczebności roślin, ich rozwoju oraz zdrowotności. Podczas każdej obserwacji pobierano porażone siewki względnie rośliny starsze do badań laboratoryjnych. Liczby uzyskane z obserwacji polowych opracowano statystycznie. Weryfikowano wpływ porażenia przez *F. oxysporum* f. *phaseoli* na liczebność roślin oraz plon nasion przez zastosowanie testu Duncana [2].

OMÓWIENIE WYNIKÓW

WIRULENCJA SZCZEPÓW

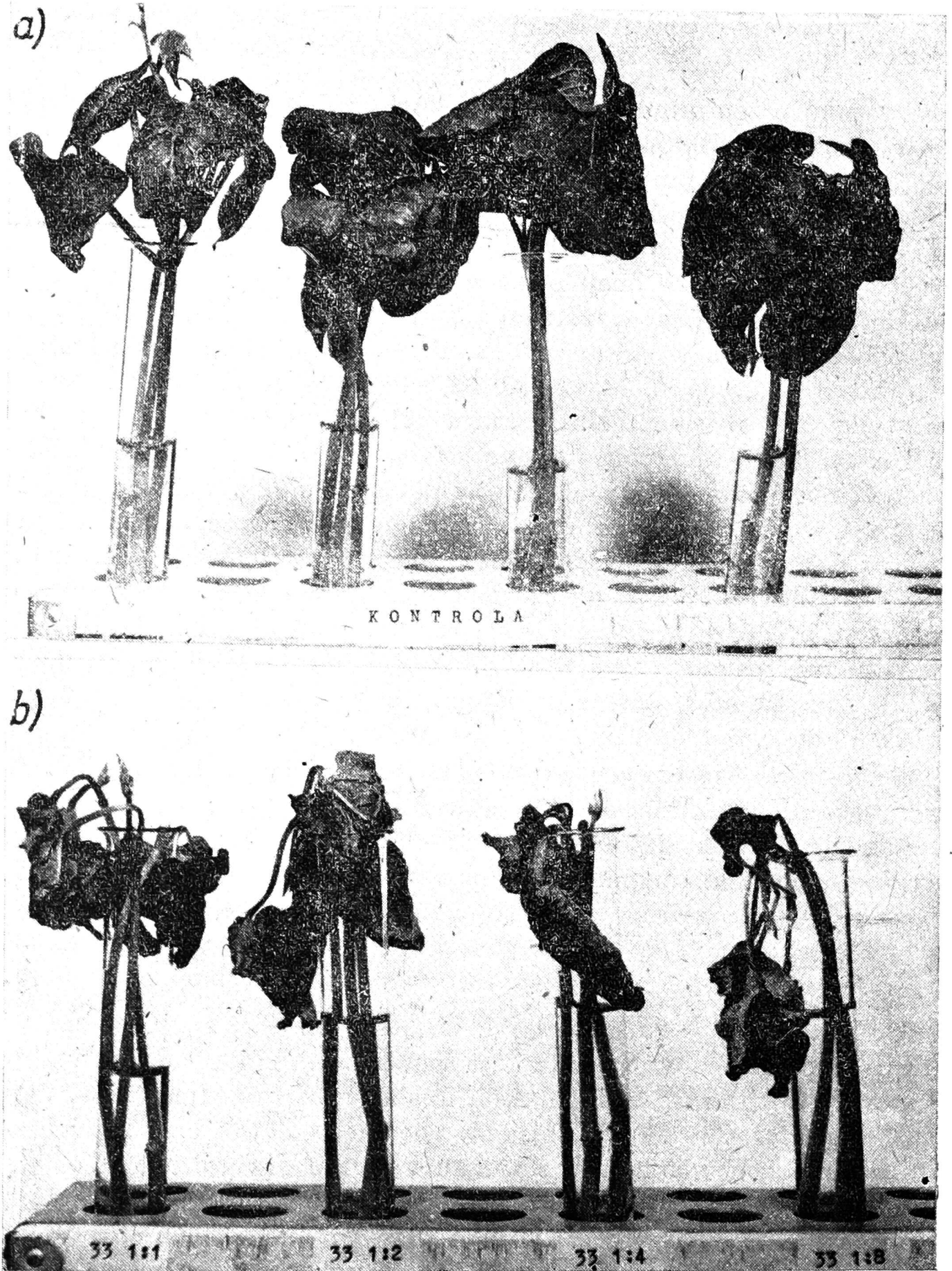
W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono duże różnice w chorobotwórczości między analizowanymi szczepami *F. oxysporum* f. *phaseoli*. Przy zastosowaniu filtratów pochodowlanych już po 24 godzinach wystąpiło więdnienie roślin (tab. 1). Średni procent więdnących roślin po tym czasie upoważnia do wyróżnienia trzech grup szczepów o różnej wirulencji. Pierwszą grupę obejmowały szczepy 30, 33, 113, 123, 124, które spowodowały więdnienie wszystkich roślin nawet przy rozcieńczeniu filtratu pochodowlanego w stosunku 1:1. Druga grupa obejmowała szczepy 17, 21, 22, 37, 55, 66, 68, 74, 76, 83, 93, 110, 112 powodujące więdnienie roślin tylko przy rozcieńczeniu filtratów pochodowlanych w stosunku 1:4 i 1:8 (rys. 1). Filtraty pochodowlane szczepów 115 i 117 we wszystkich rozcieńczeniach powodowały więdnienie dopiero po 72 godzinach (tab. 1). Podobne wyniki wskazujące na różną chorobotwórczość analizowanych szczepów uzyskano w doświadczeniu przeprowadzonym metodą szalkową (tab. 2). Analiza roślin z tego doświadczenia wykazała, że *F. oxysporum* f. *phaseoli* był przyczyną zgorzeli przedwzchodowej oraz obumierania siewek w następstwie nekrozy korzenia głównego i szyjki korzeniowej (rys. 2). Zależnie od testownego szczepu ubytek siewek był różny i wynosił od 10 do 70% (tab. 2).

Na podstawie uzyskanych wyników za najbardziej wirulentne szczepy powodujące ubytek od 50 do 70% siewek uznano 12, 26, 68, 100, 30, 33, 113 (tab. 2). Ubytek siewek od 30 do 40% spowodowało 35 badanych szczepów, natomiast ubytek od 10 do 20% 18 analizowanych szczepów (tab. 2).

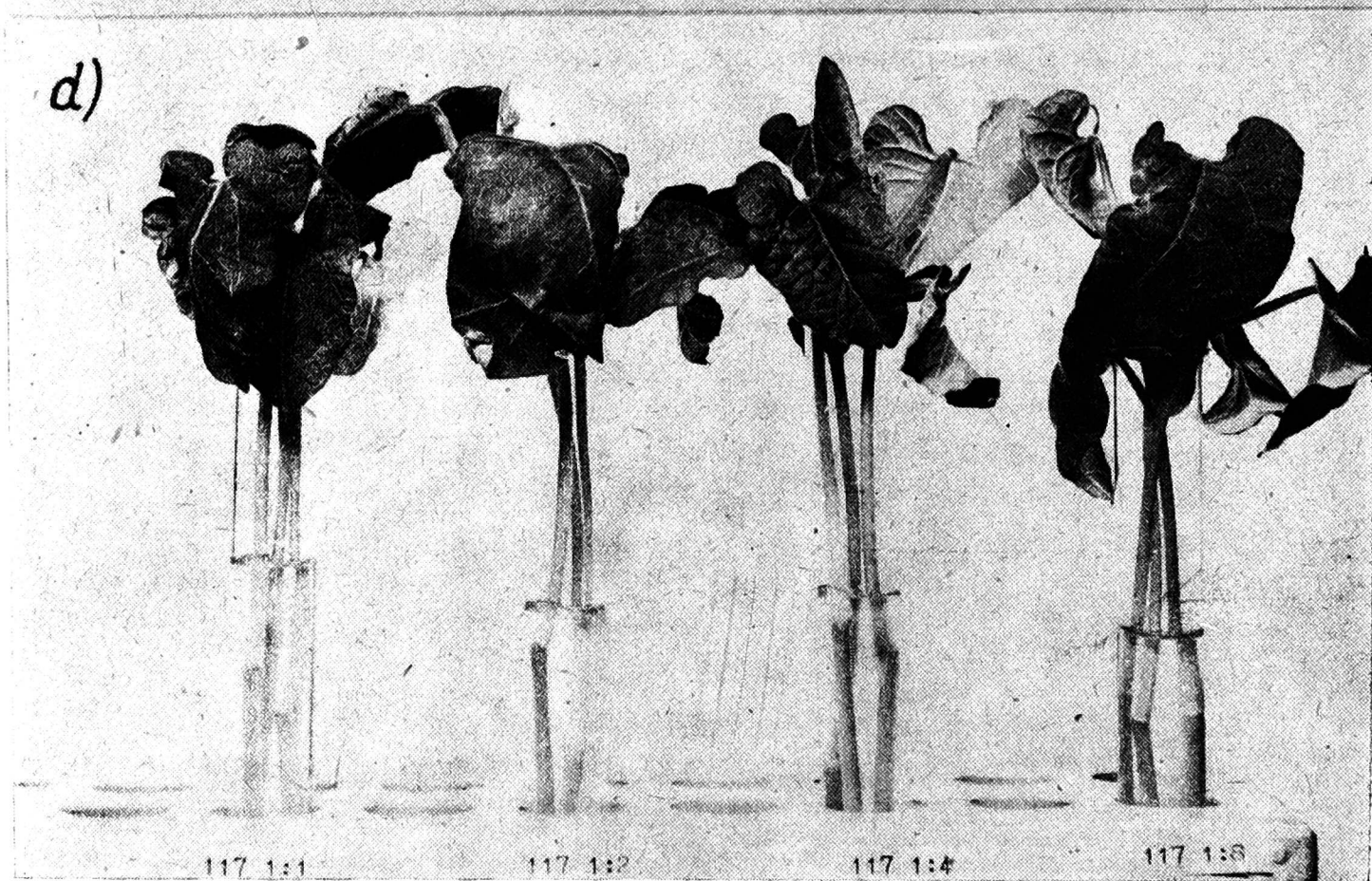
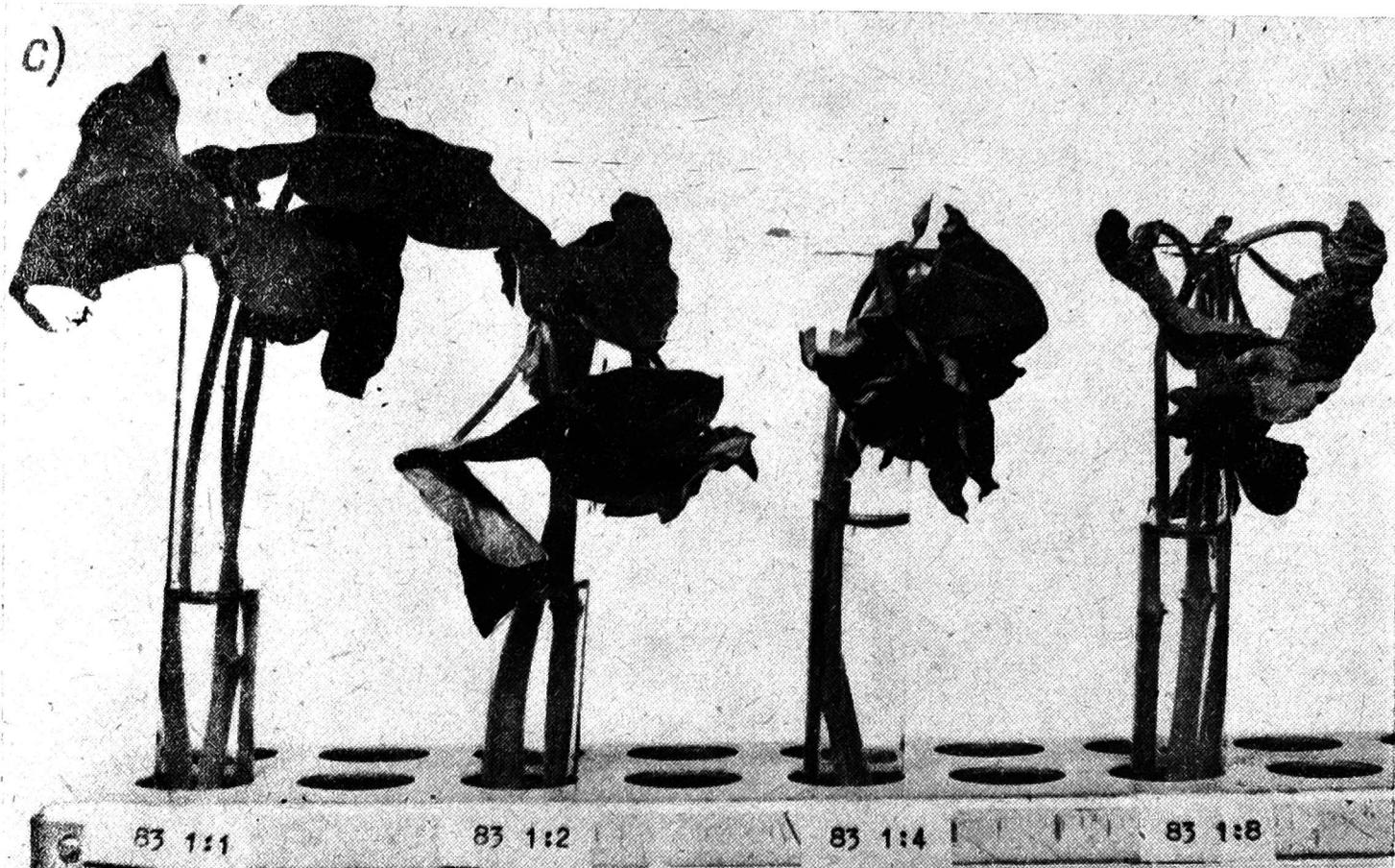
PODATNOŚĆ ODMIAN

Wybrany szczep *F. oxysporum* f. *phaseoli* już przy rozcieńczeniu filtratu pochodowlanego w stosunku 1:1 spowodował po 24 godzinach więdnienie wszystkich roślin odmian: Asta, Biała Wyborowa, Ima, Saxa, Złota Saxa. Po tym czasie żadnych objawów więdnienia nawet przy rozcieńczeniu filtratu pochodowlanego w stosunku 1:8 nie stwierdzono u odmian Kama i Saga (tab. 3). Po 24 godzinach siewki odmian Saxa 70, Szubińska i Wiejska nie traciły turgoru tylko przy rozcieńczeniach filtratu pochodowlanego w stosunku 1:1 i 1:2. W warunkach badań wszystkie testowane odmiany zwiędły po 48 godzinach (tab. 3).

Liczebność roślin po 4 tygodniach od wysiewu nasion i analiza zdrowotności siewek wykazała, że główną przyczyną słabych wschodów była zgorzel przed i powschodowa. Ponadto *F. oxysporum* f. *phaseoli* powo-



Rys. 1. Dziesięciodniowe siewki fasoli odmiany Biała Wyborowa testowane różnymi szczepami *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*; a — kontrola, b — szczep Nr 33, c — szczep Nr 83, d — szczep Nr 117





Rys. 2. Siewki fasoli porażone przez *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*

Tabela 3

Średni procent więdnących roślin badanych odmian fasoli w doświadczeniu z filtratami pochodzonymi *F. oxysporum* f. *phaseoli*

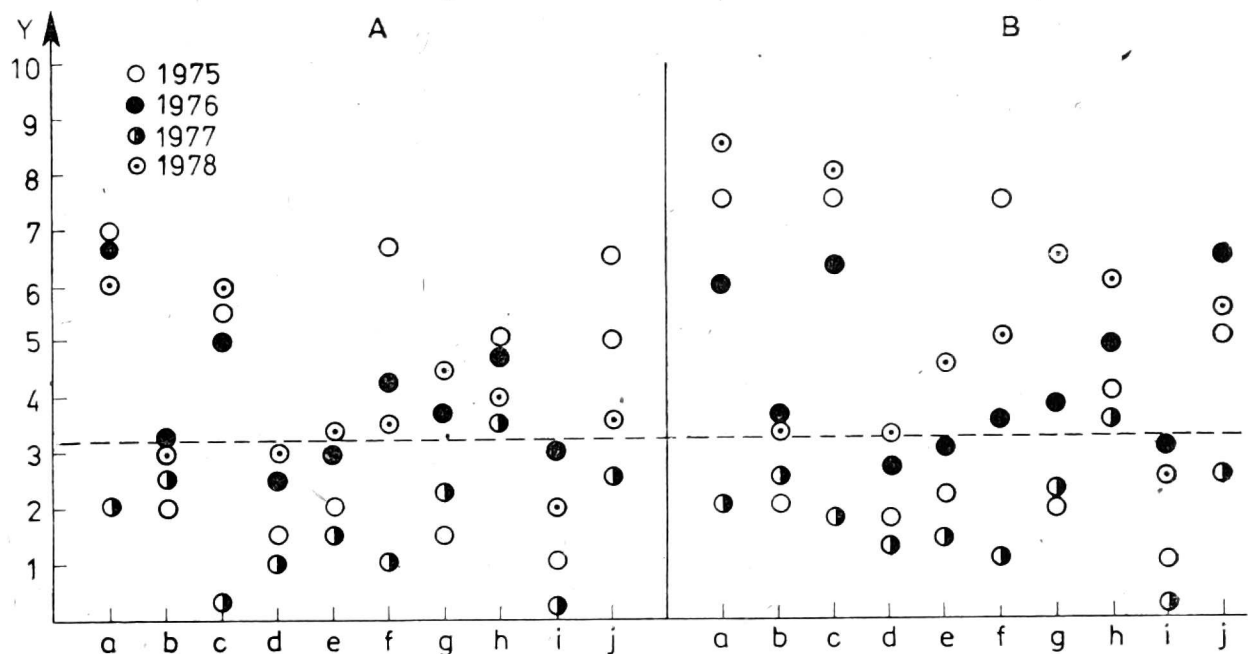
Odmiana	24 godziny			
	1:1*	1:2	1:4	1:8
Asta	100	100	100	100
Biała Wyborowa	100	100	100	100
Ima	100	100	100	100
Kama	0	0	0	0
Saga	0	0	0	0
Saxa	100	100	100	100
Saxa 70	0	0	100	100
Szubińska	0	0	100	100
Wiejska	0	0	100	100
Złota Saxa	100	100	100	100

* Rozcieńczenie filtratu pochodzającego.

W przypadku kontroli nie stwierdzono więdnienia roślin w okresie prowadzonych badań, zaś po 48 godz. trwania doświadczenia obserwowano 100% więdnienie roślin wszystkich badanych odmian fasoli.

dował nekrozę szyjki korzeniowej, korzenia głównego i korzeni bocznych siewek utrzymujących się przy życiu. W fazie kwitnienia fasoli fuzarioza ujawniała się żółknięciem i zamieraniem dolnych liści oraz nekrozą tkanki przewodzącej. Tylko nieliczne rośliny z kombinacji doświadczenia ze sztucznie zakażonymi nasionami i wprowadzonym materiałem infekcyjnym *F. oxysporum* f. *phaseoli* zawiązywały pąki kwiatowe, a nieliczne wytworzone strąki były małe i zmieszkacone.

Analiza statystyczna wyników uzyskanych z obserwacji przeprowadzonych w okresie wegetacji wykazała różny ubytek roślin dla poszczególnych odmian i lat zbioru (rys. 3). Okazało się również, że w każdym roku badań porażenie roślin przez *F. oxysporum* f. *phaseoli* zmniejszało plon nasion (tab. 4-6).



Rys. 3. Wielkość różnic Y między liczbą roślin wyrosłych w pojemnikach ze sztuczną infekcją a kontrolnymi w latach 1975-1978; A — czterotygodniowe siewki, B — rośliny przed zbiorem, a — Asta, b — Biała Wyborowa, c — Ima, d — Kama, e — Saga, f — Saxa, g — Saxa 70, h — Szubińska, i — Wiejska, j — Żłota Saxa

W 1975 r. z ryzykiem błędu 5% nie stwierdzono istotnych różnic w ubytku roślin i obniżce plonu nasion u odmian Biała Wyborowa, Kama, Saga, Saxa, Saxa 70, Wiejska. Na podstawie wyników ostatniej lustracji przeprowadzonej przed zbiorem fasoli ustalono, że największym ubytkiem roślin oraz najmniejszym plonem charakteryzowały się w tym roku odmiany Asta, Ima, Saxa, Szubińska, Żłota Saxa.

W 1976 r. nie stwierdzono istotnych różnic w ubytku roślin i plonie nasion u odmian: Kama, Saga, Wiejska. Natomiast największym ubytkiem roślin i obniżonym plonowaniem w tym sezonie wegetacji wyróżniły się odmiany: Asta, Biała Wyborową, Ima, Saxa, Saxa 70, Szubińska, Żłota Saxa.

Tabela 4

Wpływ porażenia 10 odmian fasoli przez *F. oxysporum f. phaseoli* na plon nasion (w g)

Odmiana	1975		1976		1977		1978	
	K	I	K	I	K	I	K	I
Asta	306,0	51,0	343,8	72,8	152,3	152,0	348,1	210,3
Biała Wyborowa	320,0	280,0	151,8	31,0	306,8	300,0	480,2	459,2
Ima	256,7	30,2	279,2	36,0	73,8	73,0	242,3	63,0
Kama	173,0	162,8	135,5	124,8	190,3	180,0	183,2	172,3
Saga	172,0	163,0	194,5	192,2	137,8	136,0	147,3	117,5
Saxa	405,0	60,0	263,5	115,0	205,7	200,0	368,4	280,6
Saxa 70	405,0	400,0	215,6	107,0	204,0	200,0	359,3	213,0
Szubińska	207,0	89,0	161,3	92,0	103,0	87,5	206,6	98,1
Wiejska	560,0	547,0	415,5	407,3	185,7	180,0	562,4	558,3
Złota Saxa	360,0	150,0	189,0	37,0	178,5	170,0	320,8	187,5

K — Kontrola.

I — Blok ze sztuczną infekcją *F. oxysporum f. phaseoli*.

Tabela 5

Wartości średniego błędu doświadczalnego ($\sqrt{\text{MSe}}$ z analizy wariancji) dla testu Duncana (istotności różnic między odmianami w obrębie analizowanego gatunku *F. oxysporum f. phaseoli*)

Analizowane grupy	Plon			
	1975	1976	1977	1978
K	43,38	93,43	38,59	58,32
I	22,08	43,26	18,19	28,80

K — kontrola.

I — blok ze sztuczną infekcją *F. oxysporum f. phaseoli*.

Tabela 6

Wartości średniego błędu doświadczalnego ($\sqrt{\text{MSe}}$ z analizy wariancji) dla testu Duncana (istotności różnic między kombinacją doświadczenia z *F. oxysporum f. phaseoli* a kontrolą)

Odmiana	Plon			
	1975	1976	1977	1978
Asta	23,08	18,64	22,12	18,94
Biała Wyborowa	20,83	21,03	14,02	21,89
Ima	32,18	12,88	19,17	18,29
Kama	18,14	20,01	14,94	19,32
Saga	12,49	19,37	11,03	18,33
Saxa	24,71	22,21	20,97	17,56
Saxa 70	23,23	23,32	15,62	18,13
Szubińska	29,46	38,49	16,32	15,23
Wiejska	17,42	37,11	10,47	14,68
Złota Saxa	13,86	13,10	11,96	14,12

W 1977 r. zanotowano mały ubytek roślin oraz niewielkie różnice w plonie nasion u wszystkich badanych odmian. Na podstawie obliczeń statystycznych wyników liczebności roślin oraz uzyskanego plonu w 1978 r. nie stwierdzono istotnych różnic tylko u odmiany Wiejska. Natomiast największym ubytkiem roślin oraz najmniejszym plonem charakteryzowały się odmiany Asta, Ima, Saga, Saxa, Saxa 70, Szubińska, Żłota Saxa. Ponadto u Białej Wyborowej i Kamy zanotowano tylko mały ubytek roślin, i nie stwierdzono istotnych różnic w plonie nasion między kombinacją ze sztuczną infekcją, a kontrolą.

WNIOSKI

1. W obrębie populacji *F. oxysporum* f. *phaseoli* występują szczepy różniące się chorobotwórczością.
2. Metodę filtratów pochodowlanych można zalecić do określania wirulencji szczepów *F. oxysporum* f. *phaseoli*.
3. Odmiany *Phaseolus vulgaris* L. uprawiane w Polsce wykazują niejednakową podatność na porażenie przez *F. oxysporum* f. *phaseoli*.
4. Najmniej podatnymi odmianami na porażenie przez *F. oxysporum* f. *phaseoli* okazały się Wiejska i Kama.

LITERATURA

1. Booth C.: The Genus *Fusarium*. England 1971.
2. Elandt R.: PWN, Warszawa 1964.
3. Harter L. L.: Phytopathology, 19, 84, 1929.
4. Hassan A. A., Wallance D. H., Wilkinson R. E.: J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96, 5, 623-627, 1971.
5. Kendrick J. B.: Phytopathology, 24, 1139, 1934.
6. Kendrick J. B., Snyder W. C.: Phytopathology, 32, 1010-1014, 1934.
7. Łacicowa B.: Ann. UMCS., 18, 17, Ser. C, 419-439, 1963.
8. Łacicowa B.: Biul. IHAR, 3-4, 61-62, 1969.
9. Łacicowa B., Filipowicz A., Machowicz Z.: Ann. UMCS Ser. E. 28/29, 327-341, 1974.
10. Łacicowa B.: Roczn. Nauk. roln. Ser. E (w druku).
11. Sułek D.: Ochr. Roślin. 10/11, 14-16, 1975.
12. Tuset Barrachina J. J.: Ann. INIA Prot. veg. 1973.

Данута Сулэк-Пента

ПОДАТЛИВОСТЬ РАЗНЫХ СОРТОВ *PHASEOLUS VULGARIS* L.
К ПОРАЖЕНИЮ ГРИБОМ *FUSARIUM OXYSPORUM* SCHL.
F. *PHASEOLI* KEND., SNYDER

Резюме

Соответствующие исследования охватывали 10 сортов фасоли: Аста, Бяла Выборова, Има, Кама, Сага, Сакса 70, Сакса, Шубиньска, Вейска, Злота Сакса. Выбранные сорта исследовали в лабораторных и полевых условиях. Для искусственной инфекции использовали штаммы *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, которые изолировали из больных растений отобранных из производственных плантаций Люблинщины. В лабораторных тестах учитывали штаммы, фильтраты культур которых оказались чрезвычайно фитотоксическими для сеянцев фасоли. Податливость сортов фасоли в природных условиях определяли на основании убылей, здоровья и урожайности растений, выросших из семян искусственно зараженных инфекционным материалом. Результаты лабораторных и полевых опытов показали, что среди анализированных сортов наименее податливыми к поражению грибом *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* оказались сорта Кама и Вейска.

Danuta Sułek-Pięta

INVESTIGATIONS ON SUSCEPTIBILITY OF VARIOUS
PHASEOLUS VULGARIS L. VARIETIES TO INFESTATION BY
FUSARIUM OXYSPORUM SCHL. F. SP. *PHASEOLI* KEND., SNYDER

Summary

Ten bean varieties were investigated (Asta, Biała Wyborowa, Ima, Kama, Saga, Saxa 70, Szubińska, Wiejska, Złota Saxa) in laboratory and field conditions. *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* strains obtained from diseased plants from fields of Lubelszczyzna were used for artificial inoculation. Strains giving culture filtrates particularly toxic for bean seedlings were involved in laboratory tests. Susceptibility of bean varieties under natural conditions was estimated by loss, state of health and yields of plants obtained from artificially infected seeds. The results of laboratory and field experiments show that Kama and Wiejska were the least susceptible to *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*, out of the varieties in question.