

NIEKTÓRE ZALEŻNOŚCI MIĘDZY GATUNKAMI GRZYBÓW RODZAJU *FUSARIUM*, *RHIZOCTONIA SOLANI* I WIRUSEM ŻÓLTEJ MOZAIKI FASOLI

Władysław Błaszczak, Zbigniew Weber

Instytut Ochrony Roślin AR, Poznań

Poznanie wzajemnych, bezpośrednich i pośrednich oddziaływań różnych patogenów atakujących tę samą roślinę jest bardzo ważne. Pozwala często na właściwą interpretację obserwowanych zjawisk. Znane są przypadki synergicznego działania patogenów — wirusów i grzybów lub zwiększonej podatności roślin atakowanych przez kompleks patogenów [2, 7]. Spotyka się również sytuację odwrotną polegającą na zwiększeniu się odporności rośliny porażonej już przez jednego patogena na innego patogena [6, 11, 12]. W niniejszej pracy podjęto próbę określenia wzajemnego oddziaływania na siebie wirusa żółtej mozaiki fasoli i 4 gatunków grzybów porażających łubin żółty.

MATERIAŁ I METODYKA

Wirus żółtej mozaiki fasoli (BYMV) wywołujący wąskolistność łubinu żółtego [4] oraz grzyby *Fusarium avenaceum* var. *graminum* (izolaty F₃ i F₅), *F. oxysporum*, *F. angustum* i *Rhizoctonia solani* wyizolowano z roślin łubinu żółtego. Oddziaływanie metabolitów grzybów na BYMV określano na trzech gatunkach łubinu — żółtym, wąskolistnym, białym i na komosie amarantowej. Metabolity stanowiła pożywka glukozowo-ziemniaczana, na której hodowano grzyby przez 7, 14 i 28 dni. Używano je do rozcieńczania inokulum (1 : 4), opryskiwania i podlewania roślin komosy amarantowej na 3 i 10 dni przed inokulacją BYMV. Badano także wpływ utrzymywania metabolitów w lodówce przez 38 dni i gotowania przez 10 minut na ich własności inhibitoryjne infekcyjności BYMV. Przy testowaniu infekcyjności BYMV na komosie amarantowej często obok liczby porażonych roślin określano również stopień ich porażenia według następującej skali:

- słabe (1 pkt) — plamy chlorotyczne, lokalne i systemiczne ϕ 2-3 mm;
- średnie (3 pkt) — zamarcie liści inokulowanych; plamy chlorotyczne i pomarszczenie liści porażonych systemicznie;
- silne (5 pkt) — zamarcie wszystkich liści inokulowanych i części liści porażonych systemicznie.

Wpływ soku roślin łubinu żółtego zdrowego i porażonego BYMV na wzrost grzybów określono na pożywce. Do 1000 ml pożywki glukozowo-ziemniaczanej (20 g glukozy i wywar z 200 g bulw ziemniaka) dodawano 100 ml soku roślinnego, wyjałowionego na zimno. Po 17 dniach hodowli grzybów na tak przygotowanej pożywce w kolbach stożkowych, grzybnie oddzielano od pożywki i suszono do chwili uzyskania stałego ciężaru.

W celu określenia kompleksowego porażenia łubinu przez BYMV i grzyby inokulowano siewki w fazie 1-2 par liści BYMV, a 2 tygodnie później grzybami. Określono liczbę porażonych roślin przez BYMV i grzyby oraz porażenie przez grzyby według skali 5-stopniowej:

- 1 — na szyjce korzeniowej pojedyncze, powierzchniowe plamy o łącznej powierzchni do 3 mm²;
- 2 — plamy powierzchniowe obejmujące do 25% powierzchni szyjki korzeniowej, w tym do 15% plam zgorzelowych, wgłębnych;
- 3 — plamy powierzchniowe obejmujące 26-50% powierzchni szyjki korzeniowej, w tym do 30% plam zgorzelowych wgłębnych;
- 4 — plamy zgorzelowe pokrywające 51-75% powierzchni szyjki korzeniowej;
- 5 — powyżej 75% powierzchni szyjki korzeniowej pokrytej plamami zgorzelowymi.

WYNIKI

WPŁYW METABOLITÓW GRZYBÓW NA INFEKCYJNOŚĆ BYMV WOBEC ŁUBINU

Ograniczenie infekcyjności BYMV przez stosowane metabolity było wyraźnie związane z gatunkiem łubinu (tab. 1). Na łubinie żółtym metabolity *R. solani* całkowicie zapobiegły infekcji, a metabolity grzybów z rodzaju *Fusarium* obniżyły liczbę porażonych roślin z 42% w kombinacji kontrolnej do 2%. Na łubinie wąskolistnym metabolity wszystkich grzybów całkowicie zapobiegły infekcji. W przypadku łubinu białego wszystkie metabolity ograniczyły w wysokim stopniu liczbę porażonych roślin przez BYMV. Stosunkowo najslabsze działanie wykazały metabolity *F. angustum*, chociaż obniżyły one również liczbę porażonych roślin z 45 do 12%.

Tabela 1

Wpływ metabolitów grzybów na infekcyjność wirusa żółtej mozaiki fasoli wobec łubinu (w %)

Rozcieńczenie inokulum metabolitami	Porażone rośliny łubinów		
	żółtego*	wąskolistnego**	białego*
Wodą	43	42	57
Pożywką	42	56	45
<i>Fusarium avenaceum</i> F ₃	2	0	7
var. <i>graminum</i> F ₅	2	0	2
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	0	2
<i>Fusarium angustum</i>	2	0	12
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	7

W każdej kombinacji inokulowano po 40* lub po 50** roślin.

WPŁYW CZASU HODOWLI GRZYBÓW I INNYCH ZABIEGÓW
NA DZIAŁANIE INHIBUJĄCE METABOLITÓW

Największe właściwości ograniczające infekcyjność BYMV wobec komosy amarantowej wykazały metabolity z 7-dniowej, a słabsze z 14-dniowej hodowli (tab. 2). Zaznaczyło się to najwyraźniej w przypadku

Tabela 2

Ograniczenie infekcyjności wirusa żółtej mozaiki fasoli wobec komosy amarantowej* przez metabolity grzybów w zależności od czasu ich hodowli

Rozcieńczenie inokulum metabolitami	Czas hodowli grzybów (w dniach)		
	7		14
	porażonych roślin	plam lokalnych procent**	porażonych roślin
Wodą	6	100	10
Pożywką	6	107	10
<i>Fusarium avenaceum</i> F ₃	0	0	1
var. <i>graminum</i> F ₅	0	0	3
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	3
<i>Fusarium angustum</i>	5	52	6
<i>Rhizoctonia solani</i>	3	6	3

* W każdej kombinacji inokulowano po 10 roślin.

** 100 procent — 54 plamy.

metabolitów *F. avenaceum* var. *graminum* i *F. oxysporum*. Metabolity z 28-dniowych kultur grzybowych nie ograniczyły w ogóle infekcyjności BYMV. Jedynie metabolity grzyba *R. solani* obniżyły stopień porażenia, lecz nie wpłynęły na liczbę porażonych roślin.

Metabolity grzybów *F. angustum* i *R. solani* utrzymywane w lodówce przez 38 dni całkowicie utraciły zdolność ograniczania infekcyjności BYMV, natomiast przechowywanie metabolitów pozostałych grzybów nieznacznie (*F. oxysporum*) lub wyraźnie obniżyło ich właściwości inhibujące. Gotowanie metabolitów przez 10 minut całkowicie zniszczyło ich właściwości ograniczające infekcyjność BYMV.

WPLYW OPRYSKIWIANIA I PODLEWANIA KOMOSY AMARANTOWEJ
METABOLITAMI GRZYBÓW NA INFEKCYJNOŚĆ BYMV

Opryskiwanie komosy amarantowej metabolitami grzybów nie zapobiegło ich porażeniu przez BYMV, a jedynie je zmniejszyło. Przy opryskiwaniu roślin metabolitami na 10 dni przed inokulacją zmniejszenie stopnia porażenia wahało się od 0,6 (*F. oxysporum*) do 2,7 (*F. angustum*). Opryskiwanie roślin metabolitami na 3 dni przed inokulacją BYMV zmniejszyło stopień porażenia o 0,7 (*F. angustum* i *F. avenaceum* var. *graminum*) do 1,7 (*F. oxysporum*). Podobnie podlewanie komosy amarantowej metabolitami zmniejszyło jedynie nieznacznie stopień porażenia, a nie wpłynęło na liczbę porażonych roślin przez BYMV.

WPLYW SOKÓW ROŚLIN ŁUBINU ŻÓLTEGO NA PRZYROST SUCHEJ MASY GRZYBNI

Dodanie do pożywki glukozowo-ziemniaczanej (GZ) soku ze zdrowych roślin łubinu żółtego (GZZ) zwiększyło przyrost suchej masy grzybni wszystkich trzech gatunków grzybów (tab. 3). Dodatek soku z roślin łubinu żółtego porażonego BYMV(GZCh) zwiększył przyrost suchej masy grzybni:

Tabela 3

Przyrost suchej masy grzybni na pożywce glukozowo-ziemniaczanej (GZ) z dodatkiem soku zdrowych roślin łubinu żółtego (GZZ) i porażonych wirusem żółtej mozaiki fasoli (GZCh)

Gatunki grzybów	Średnie z kolb	Średni ciężar suchej masy w mg na pożywkach			Najmniejsza istotna różnica
		GZ	GZZ	GZCh	
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>graminum</i> (F ₃)	6	119	231	184	24
<i>Fusarium angustum</i>	15	246	270	270	19
<i>Rhizoctonia solani</i>	kolejno z 3, 7, 4	172	220	172	—

— *F. avenaceum* var. *graminum* w istotnie mniejszym stopniu aniżeli dodatek soku roślin zdrowych,

— *F. angustum* w takim samym stopniu jak sok roślin zdrowych. Przyrost grzybni *R. solani* był podobny na pożywce bez soku łubinu żółtego i na pożywce z dodatkiem soku roślin chorych.

REAKCJA ROŚLIN ŁUBINU ŻÓŁTEGO ODM. BIELAŃSKI PASTEWNY
NA KOMPLEKSOWE PORAZENIE PRZEZ BYMV I GRZYBY

Rośliny łubinu żółtego inokulowano grzybami, w czasie kiedy jeszcze nie ujawniły się objawy porażenia przez BYMV. Średnio porażeniu przez BYMV uległo 40% roślin bez względu na to czy zakażano je grzybami czy nie. Również grzyby poraziły podobny odsetek roślin łubinu żółtego (bez względu na to, czy inokulowano rośliny zdrowe, czy porażone przez BYMV). Stopień uszkodzeń zgorzelowych łubinu przez grzyby był większy na roślinach porażonych przez BYMV, aniżeli na roślinach wolnych od BYMV (tab. 4). Zwiększenie stopnia porażenia wahało się od 0,6 (*F. angustum*) do 1,7 (*F. avenaceum* var. *graminum*).

Tabela 4

Podatność roślin łubinu żółtego Bielański Pastewny – zdrowych i porażonych wirusem żółtej mozaiki fasoli

Gatunki grzybów	Średni stopień porażenia roślin (1-5)	
	nieporażonych	porażonych
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>graminum</i> (F ₃)	2,8	4,5
<i>Fusarium angustum</i>	4,4	5,0
<i>Rhizoctonia solani</i>	2,4	3,9

DYSKUSJA I WNIOSKI

Metabolity grzybów *F. avenaceum* var. *graminum*, *F. angustum*, *F. oxysporum* i *R. solani* wykazywały wyraźne właściwości inhibujące infekcyjność BYMV. Takie właściwości metabolitów lub wyciągów grzybów występują dość często [5, 9, 10]. Najsilniejsze działanie metabolitów grzybów na infekcyjność BYMV zaobserwowano w przypadku używania ich do rozcieńczania inokulum, a znacznie słabsze po użyciu ich do opryskiwania lub podlewania roślin przed inokulacją. Prawdopodobnie było to związane z małą trwałością metabolitów stosowanych w pracy oraz małą ilością zatrzymujących się substancji na gładkich liściach komosy. Substancje używane przez innych autorów, jak np. soki różnych gatunków roślin, ograniczały infekcyjność wirusów, zarówno w przypadku stosowania ich do rozcieńczenia inokulum, jak i do opryskiwania lub podlewania roślin przed inokulacją. Zachowywały one przynajmniej częściowo właściwości inhibitujące przez dłuższy czas, a także po poddaniu ich różnym zabiegom [3, 10].

Panuje dość powszechne przekonanie, że ograniczanie infekcyjności wirusów przez różne substancje zależy od układu wirus-roślina i to w

większym stopniu od gatunku rośliny, a w mniejszym od gatunku wirusa [5, 10]. Potwierdziło się to w naszej pracy. Te same metabolity używane do rozcieńczania inokulum BYMV w różnym stopniu ograniczyły infekcyjność wirusa wobec roślin poszczególnych gatunków łubinu. Jedynie na łubinie wąskolistnym metabolity wszystkich grzybów całkowicie zapobiegły infekcji roślin przez BYMV. Największe inhibujące działanie na infekcyjność BYMV wykazały metabolity pochodzące z 7-dniowych hodowli grzybów. Błaszczak i współautorzy [5] donoszą również, że największe obniżenie infekcyjności wirusów mozaiki ziemniaka i tytoniu wykazywały metabolity z 8-18-dniowych kultur grzybów.

Skład chemiczny roślin może częściowo zmieniać się pod wpływem różnych czynników w tym również na skutek porażenia roślin przez wirusy. Agrios [1] podaje, że w większości przypadków badane przez niego grzyby rosły podobnie lub nawet lepiej na wyciągu z roślin wirusowo chorych niż na wyciągu z roślin zdrowych. Grzyby hodowane przez nas na pożywce z dodatkiem soku z roślin wirusowo chorych rosły podobnie (*F. angustum*) lub słabiej (*R. solani*, *F. avenaceum* var. *graminum*) niż na pożywce z dodatkiem soku roślin zdrowych.

Koniczyna czerwona porażona przez BYMV nie ulegała porażeniu przez *Erysiphe polygoni* [12]. Znane są jednak przypadki, że porażenie roślin przez wirusy nie wpływa [13] lub nawet zwiększa liczbę lub stopień porażenia roślin przez grzyby [2, 7]. W naszym doświadczeniu przy porażeniu kompleksowym roślin łubinu żółtego przez BYMV i grzyby wystąpiły nieco silniejsze uszkodzenia zgorzelowe niż przy porażeniu roślin tylko przez grzyby.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że:

1) właściwości hamujące infekcyjność BYMV wykazywane przez metabolity grzybów (*F. avenaceum* var. *graminum*, *F. oxysporum*, *F. angustum* i *R. solani*) zależały od gatunku zakażonej rośliny, gatunku grzyba, sposobu stosowania i wieku metabolitów; całkowite ograniczenie infekcyjności BYMV przez metabolity wszystkich grzybów zastosowanych do rozcieńczania inokulum stwierdzono na łubinie wąskolistnym; w większości pozostałych przypadków stosowane metabolity ograniczyły tylko częściowo infekcyjność BYMV.

2) sok z roślin łubinu żółtego porażonych BYMV dodany do pożywki glukozowo-ziemniaczanej zwiększył w podobnym (*F. angustum*) lub w mniejszym stopniu przyrost suchej masy grzybni (*F. avenaceum* var. *graminum* i *R. solani*) niż sok z roślin zdrowych.

3) u roślin łubinu żółtego porażonych przez BYMV wystąpiły nieco silniejsze uszkodzenia zgorzelowe wywołane przez grzyby niż u roślin nie porażonych przez BYMV.

LITERATURA

1. Agrios G.: Differential growth of certain pathogenic fungi on extracts from virus infected and virus free apple and pear tissues. *Phytopathology*, 1965, t. 55, s. 127 (Abstr.)
2. Bateman D. F.: Synergism between cucumber mosaic virus and *Rhizoctonia* in relation to *Rhizoctonia* damping-off of cucumber. *Phytopathology*, 1961, t. 51, s. 574-575
3. Błaszczyk W., Ross A. F., Larson R. H.: The inhibitory activity of plant juices on the infectivity of potato virus X *Phytopathology*, 1959, t. 49, s. 784-791
4. Błaszczyk W.: Badania nad wąskolistnością łubinu żółtego w warunkach Polski zachodniej. *Rocz. WSR Poznań* 1963, t. 15, s. 3-78
5. Błaszczyk W., Weber Z., Macior W.: Wpływ metabolitów grzybów i innych substancji na infekcyjność wirusów *Nicotiana virus 1* (Smith) i *Solanum virus 1* (Orton) Smith. *Zesz. probl. Post. Nauk rol.*, 1974, z. 154, s. 53-61
6. Diachun S., Diachun E.: Inhibition of bean yellow mosaic virus local lesions on red clover by *Erysiphe polygoni*. *Phytopathology*, 1969, t. 59, s. 1023 (Abstr.)
7. Farley J. D., Lockwood J. L.: Increased susceptibility to root rots in virus-infected peas. *Phytopathology*, 1964, t. 54, s. 1279-1280
8. Gill C. C.: Increased multiplication of viruses in rusted bean and sunflower tissue. *Phytopathology*, 1965, t. 55, s. 141-147
9. Gubański M.: Inhibitor wirusa mozaiki tytoniowej ze sporyszu. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1964, t. 33, s. 645-659
10. Gupta B. M., Price W. C.: Production of plant virus inhibitors by fungi. *Phytopathology*, 1950, t. 40, s. 642-652.
11. Hammerschlag F., Klarman W. L.: An antifungal principle produced by soybean plants inoculated with tobacco necrosis virus. *Phytopathology*, 1969, t. 59, s. 1257 (Abstr.)
12. King L. N., Hampton R. E., Diachun S.: Resistance to *Erysiphe polygoni* of red clover infected with bean yellow mosaic virus. *Science*, 1964, t. 146 (3647), s. 1054-1055.
13. McCarter S. M., Halpin J. E.: Studies on the pathogenicity of 4 species of soil fungi on white clover as affected by the presence of bean yellow mosaic virus under conditions of controlled temperature and light. *Phytopathology*, 1961, t. 51, s. 644 (Abstr.)

Владислав Блащак, Збигнев Вебер

Резюме

НЕКОТОРЫЕ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ 3 ВИДАМИ *FUSARIUM*,
RHIZOCTONIA SOLANI И ВИРУСОМ ЖЕЛТОЙ МОЗАИКИ ФАСОЛИ

Целью проводимых исследований было получение информации, касающихся взаимных зависимостей между ВУМВ и грибами. Изучались задерживающие свойства метаболитов грибов в отношении ВУМВ. Метаболиты (глюкозо-картофельная питательная среда после культуры грибов) применялись для

разбавления инокулюм, для опрыскивания листьев и поливки растений перед инокуляцией. Также изучалось влияние сока из растений желтого люпина сорт Белянски Пастевный пораженных ВУМВ на рост грибов. С другой стороны, также определена податливость желтого люпина, пораженного ВУМВ, к грибам. Растения с 1-2 парами листьев инокулировались вирусом, а через 2 недели грибами.

Метаболиты всех применяемых грибов вполне предохраняли поражение узколистного люпина, а метаболиты *R. solani* предотвращали поражение желтого люпина ВУМВ. На белом люпине метаболиты всех грибов и на желтом люпине метаболиты *Rhizoctonia solani* частично уменьшали инфекционность ВУМВ. Метаболиты 7-дневной культуры грибов в большей степени уменьшали инфекционность ВУМВ на амарантовой мари, чем метаболиты из 14-дневной культуры. Метаболиты из 28-дневных культур грибов почти вообще не влияли на инфекционность ВУМВ. Хранение в холодильнике (4°C) метаболитов *F. avenaceum* var. *graminum* и *F. oxysporum* частично ограничило их свойства, задерживающие инфекционность ВУМВ, а кипячение в течение 10' полностью ее уничтожило. Опрыскивание и поливка амарантовой мари метаболитами только незначительно уменьшило поражение растений ВУМВ.

Добавка сока из растений желтого люпина, пораженного ВУМВ, к глюкозо-картофельной питательной среде, существенным образом снижала сухое вещество мицелий. *F. avenaceum* var. *graminum* по сравнению с добавкой сока из здоровых растений. Растения желтого люпина, пораженные ВУМВ, в несколько большей степени поражались грибами, чем здоровые растения.

Władysław Błaszczak, Zbigniew Weber

SOME INTERRELATIONS BETWEEN 3 SPECIES OF *FUSARIUM*, *RHIZOCTONIA SOLANI* AND BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS

Summary

Interrelations between BYMV and fungi were studied. The inhibitory activity of fungal metabolites with respect to the virus was tested. Metabolites (potato-glucose medium on which fungi have been grown) were applied for dilution of virus inoculum as well as sprayed in leaves and used for soil watering before plant inoculation. Moreover, the influence of sap of *Lupinus luteus* cv. Bielański Pastewny plants infected with BYMV on the growth of fungi was determined. Furthermore, the susceptibility of BYMV-infected *L. luteus* to fungal infection was examined. In this case plants with 1-2 pairs of leaves were inoculated with the virus and 2 weeks later with the fungi.

Metabolites of all tested fungi completely inhibited the BYMV infectivity towards *Lupinus angustifolius*, and metabolites of *Rhizoctonia solani* prevented the infection of *L. luteus*. Metabolites of all fungi applied on *Lupinus albus* and metabolites of three *Fusarium* species applied on *L. luteus* partly decreased the infectivity of the virus. Metabolites from 7-day cultures more intensely inhibited the infectivity of BYMV to *Chenopodium amaranticolor*, as compared with 14-day cultures. Metabolites from 28-day cultures exerted almost no effect on the infectivity of BYMV. When metabolites of *F. avenaceum* var. *graminum* and of

F. oxysporum were stored for 38 days at 4°C, they still inhibited to some degree the infectivity of BYMV, however, they completely lost the inhibitory activity after 10 min of boiling. Whereas the metabolites applied on leaves or to the soil before inoculation did not decrease the number of infected plants, they slightly diminished the infection degree of *Chenopodium amaranticolor* by the virus.

The addition of sap from *L. luteus* plants infected by BYMV to potato-glucose medium pronouncedly decreased the dry matter of *F. avenaceum* var. *graminum* mycelium, in comparison with healthy plants. *L. luteus* plants infected by BYMV were damaged by fungi to a higher degree than the plants free of virus infection.

Wpłynęło do Komitetu Redakcyjnego 15.01.78