

Teresa Grzybowska

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Poznaniu

## Podatność linii i wybranych rodów rzepaku ozimego na porażenie przez *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae*

Choroby rzepaku ozimego, szczególnie powodowane przez grzyby, są znaczącym problemem gospodarczym, głównie w rejonach intensywnej jego uprawy. W naszych warunkach klimatycznych największe straty są powodowane obecnie przez *Phoma lingam* (Tode) Desm. i *Verticillium dahliae* (Kleb.), ze względu na występowanie we wszystkich fazach rozwojowych roślin – od kiełkowania do dojrzałości i porażanie zarówno korzeni, jak łodyg i liści (Korolewski 1990, Frenzel 1988). Na nasilenie występowania chorób mają niewątpliwie wpływ warunki atmosferyczne, szczególnie temperatura i opady (McGee 1977).

*Phoma lingam* jest patogenem o dużej zmienności wirulencji, co powoduje znaczne utrudnienie w uzyskaniu rodów odpornych. Intensywne badania odpornościowe prowadzone we Francji i Niemczech pozwoliły na uzyskanie odmian w wysokim stopniu odpornych na porażenie przez *Phoma lingam*. W Polsce choroba ta również rozprzestrzeniła się coraz bardziej z roku na rok (Frenzel i in. 1985, 1988).

Nie mniej ważnym patogenem glebowym jest *Verticillium dahliae* (Kleb.), który powoduje znaczne obniżenie plonu rzepaku na skutek mniejszej liczby zawiązanych łuszczyń, przedwczesnego dojrzewania porażonych roślin oraz osypywania się nasion. Straty z tego powodu są szacowane na 30–70% (Makowski 1990, Svenson 1987).

Wysokość strat uzależniona jest od częstotliwości uprawy rzepaku. Przy znacznym udziale rzepaku w areale uprawy (33%), po czterech latach porażenie roślin przez *Verticillium* wzrastało ponad dwudziestokrotnie (Makowski 1990). Grönthoft (1987) i Svenson (1987) także wskazują na dużą szkodliwość *Verticillium* w Szwecji, jak również na możliwość uzyskania linii odpornych, które są nieznacznie porażane i dojrzewają w normalnym terminie.

Niewątpliwie w miarę zwiększania powierzchni zasiewów rzepaku, ograniczania ochrony chemicznej oraz nagromadzenia się źródła infekcji będzie narastać problem pojawiania się wymienionych tu i innych chorób rzepaku oraz związanych z tym różnych rozmiarów strat plonu. Ze względów ekonomicznych w warunkach prowokacyjnych podjęto badania, zmierzające do wyselekcjonowania linii rzepaku ozimego mniej podatnych na porażenie przez wymienione patogeny.

## Materiał i metody

Badania podatności rodów podwójnie ulepszanego rzepaku ozimego na działanie patogenicznych grzybów *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae* prowadzono w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych i polowych.

W laboratorium nasiona rzepaku ozimego kiełkowano na podłożu bibułowym w płytkach Petriego. Na tym podłożu nasiona opryskiwano zawiesiną zarodników czterech izolatów grzyba *Phoma lingam* w stężeniu  $10^6$  zarodników w 1 ml. Kultury grzyba *Phoma lingam* hodowano na agarze glukozowo-ziemniaczanym w ciągu 20–25 dni. Zawiesinę zarodników uzyskiwano przez wymywanie ich wodą z zarodnikujących piknidiów. Zainfekowane nasiona kiełkowano w ciągu 5 dni w temperaturze około  $25^{\circ}\text{C}$  i przy sztucznym doświetlaniu. Następnie siewki zdrowe wysadzano do doniczek z ziemią zakażoną grzybem *Verticillium dahliae*. Do zakażenia ziemi używano agaru glukozowo-ziemniaczanego, przerośniętego zarodnikującą grzybnią, zmieszanego z ziemią (4 płytki na 1 kg ziemi).

W pierwszym i drugim roku badań rośliny w szklarni w fazie 1–2 liści zostały ponownie inokulowane zawiesiną zarodników grzyba *Phoma lingam* w stężeniu stosowanym poprzednio, przy jednoczesnym zapewnieniu wyższej wilgotności względnej powietrza (ok. 80%) i temperatury około  $20^{\circ}\text{C}$ . Systematycznie usuwano rośliny z objawami porażenia przez *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae*.

Nasiona linii rzepaku o wyższej zawartości glukozynolanów zostały wyeliminowane z dalszej hodowli. W następnym roku 55 linii ponownie było testowanych w warunkach laboratoryjnych i szklarniowych. Po dwuletniej selekcji laboratoryjno-szklarniowej porównywano zdrowotność wyselekcjonowanych 51 linii w doświadczeniu polowym. W każdym rzędzie wysiano po 100 nasion na 4 mb. Przed wysiewem nasion przyorano słabo rozłożony kompost ze słomy rzepakowej. Po wschodach w międzyrzędziach rozłożono porażone przez grzyby *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae* resztki późniwne zebrane z różnych miejscowości (ZRO Poznań, ZDHAR Borowo, SHR Trzygłów, ZDHAR Małyszyn). Przed kwitnieniem w każdej linii zaizolowano po 10 roślin w celu zwiększenia homozygotyczności genotypu. Przed zbiorem oceniono wszystkie rośliny, ustalając procent roślin chorych oraz oznaczono stopień ich porażenia, przyjmując następującą skalę:

Stopień porażenia	Porażenie powierzchni łodyg
0°      rośliny zdrowe	0%
I°      porażenie bardzo słabe	0–5%
II°     porażenie słabe	5–10%
III°    porażenie średnie	10–30%
IV°    porażenie silne	30–60%
V°     porażenie bardzo silne	50–100%

Sumaryczne wyniki oceny porażenia łodyg określono za pomocą wskaźnika chorobowego obliczonego według wzoru:

$$p = \frac{\sum(n \cdot v) \cdot 100}{5N} \%$$

gdzie: p – wskaźnik chorobowy,  
n – liczba roślin porażonych w stopniu v,  
v – wartości liczbowe skali porażenia,  
5 – najwyższy stopień w skali porażenia,  
N – ogólna liczba badanych roślin.

W okresie dojrzewania zdrowe zaizolowane rośliny zebrano i uzyskane nasiona przebadano na zawartość glukozyolanów. Do dalszej hodowli przeznaczono nasiona rzepaku ozimego o śladowej zawartości glukozyolanów. Zawartość oznaczano przy pomocy glukotestów.

Określono wysokość plonów z poszczególnych linii porównując je ze wzorcem, który stanowiły następujące rody: PN 2321/91, który wykazywał dużą odporność na *Phoma lingam* w doświadczeniach holenderskich oraz 7 poznańskich rodów hodowlanych.

## Wyniki

W 1989 roku w Instytucie przebadano podatność na porażenie grzybem *Phoma lingam* 10 rodów hodowlanych rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego. W poszczególnych rodach inokulowano od 500 do 2650 nasion. W sumie przebadano 16050 nasion (tabela 1). W fazie kiełkowania nasion podatność na porażenie wśród wybranych rodów była wyraźnie zróżnicowana, bowiem procent roślin zdrowych wahał się od 12,4 do 48,9. W tej fazie rozwoju roślin najmniej porażony był ród PN 3059/1/88, a najbardziej ród PN 3058/88, którego siewki po powtórnej inokulacji całkowicie zamarły. Uzyskane siewki nie wykazujące objawów chorobowych zostały wysadzone do doniczek z ziemią i w fazie tworzenia pierwszego do drugiego liścia zostały ponownie zakażone zawiesiną zarodników grzyba *Phoma lingam*. Reakcja poszczególnych rodów była bardzo zróżnicowana i niezgodna z wynikami uzyskanymi poprzednio. Rośliny zdrowe stanowiły od 0,0 do 43,1%. W tej fazie rozwoju roślin najmniej podatnym na porażenie okazał się ród PN 3922/88. Nieco gorsze wyniki uzyskano dla rodów: PN 3018/88 i PN 3882/88, gdzie rośliny zdrowe stanowiły odpowiednio 31,3 i 27,6 procenta. Dwa rody (PN 3002/2/88 i PN 3058/2/88), których podatność na porażenie w okresie kiełkowania nie odbiegała znacząco od większości badanych rodów, w fazie siewek okazały się bardzo wrażliwe, bowiem pozostało 3,1–3,4 procent roślin zdrowych.

**Tabela 1.** Wpływ inokulacji grzybem *Phoma lingam* na zdrowotność roślin rodów rzepaku ozimego – ZRO IHAR Poznań 1989The influence of inoculation with *Phoma lingam* on healthiness of plants of winter rape strains

Rody Strains	Liczba inokulowanych – Number of inoculated				Średni wskaźnik zdrowotności [%] Mean rate of healthiness in per cent
	Nasion – Seeds		Siewek – Seedlings		
	Ogółem Total	% zdrow. per cent heathy	Ogółem Total	% zdrow. per cent heathy	
PN 3002/2/88	1500	35,9	539	3,1	1,1
PN 3002/4/88	1025	22,7	347	20,5	6,9
PN 3059/1/88	1775	48,9	868	13,0	6,4
PN 3059/2/88	2650	17,7	470	22,8	4,0
PN 3018/88	500	19,8	99	31,3	6,2
PN 3882/88	1575	30,3	478	27,6	8,4
PN 3922/88	1250	22,5	281	43,1	9,7
PN 3581/88	2025	22,5	455	7,2	1,6
PN 3058/88	1000	12,4	124	0,0	0,0
PN 3058/2/88	2250	23,3	525	3,4	0,8
Średnio – Mean	16050	26,1	4186	15,4	4,0

Po wyeliminowaniu z zebranych pojedynków roślin, w nasionach których stwierdzono występowanie glukozyolanów, do badań w 1990 roku wybrano 55 linii pochodzących z 7 rodów hodowlanych (tabela 2). Spośród badanych linii wyraźnie lepszą zdrowotnością charakteryzowały się 4 linie pochodzące z rodu PN 3581/88 i 6 linii z rodu PN 3059/1/88, ponieważ rośliny zdrowe stanowiły odpowiednio 54,0 i 41,8 procent. Słabszą zdrowotnością charakteryzowało się 8 linii z rodu PN 3059/2/88 oraz 5 linii z rodu PN 3002/2/88, ponieważ liczba roślin zdrowych wynosiła odpowiednio 25,4 i 20,5 procent. Zdrowotność linii pochodzących z tych rodów była lepsza w porównaniu z wynikami uzyskanymi w roku ubiegłym. Słabszą zdrowotność w porównaniu z rokiem ubiegłym notowano dla linii pochodzących z rodów PN 3018/88, PN 3882/88 i PN 3922/88. Linie te, pomimo często większej odporności na porażenie przez grzyb *Phoma lingam*, okazały się w większości bardzo podatne na porażenie przez *Verticillium dahliae*. W poszczególnych liniach porażeniu nie uległo od 2,3 do 20,6% roślin. Wyraźnie odporniejsze okazały się linie pochodzące z rodów: PN 3059/2/88 i PN 3059/1/88.

Tabela 2. Wpływ zakażenia grzybami *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae* na zdrowotność rodów rzepaku ozimego w drugim roku selekcji

The influence of infection with *Phoma lingam* and *Verticillium dahliae* on healthiness of winter rape strains in second year of laboratory – greenhouse selection

ZRO IHAR Poznań 1990/91

Ród Strains	Liczba badanych linii Number of lines investigated	Liczba nasion inokulowanych <i>P. lingam</i> ogółem Number of seeds inoculated	Procent roślin po inokulacji grzybem Per cent of plants after inoculation with fungus		Liczba wysadzonych roślin ogółem Number planted plants total	% zdrowych per cent healthy
			<i>Phoma lingam</i> % zdrowych roślin per cent healthy	<i>Verticillium dahliae</i>		
PN 3002/2/88	5	2275	20,5		466	9,4
PN 3059/1/88	6	4650	41,8		1946	14,8
PN 3059/2/88	8	2750	25,4		700	20,6
PN 3018/88	15	3650	15,9		581	7,9
PN 3882/88	6	1500	16,9		253	3,7
PN 3922/88	11	2750	13,2		363	8,0
PN 3581/88	4	400	54,0		216	2,3
Średnio	55	19 975	22,6		4525	12,5

**Tabela 3.** Wpływ zakażenia grzybami *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae* na zdrowotność i plon nasion  
 The influence of soil infected with *Phoma lingam* and *Verticillium dahliae* on healthiness of plants and yield of seeds  
 ZRO IHAR Poznań 1991/92

Pochodzenie Pedigree	Linie Lines	Zdrowotność roślin przed zbiorem – liczba roślin Healthiness of plants before harvest – plant number	Wskaźnik chorob. [%] Disease rate in per cent	Plon nasion Yield of seeds				
				[dt/ha]	% wzorca Per cent to control			
PN 3002/88	102/11/9/91	78	38	2,6	48,7	41,0	14,2	96,6
	102/13/3/91	74	51	0,0	31,1	25,9	13,2	89,8
	118/14/1/91	69	50	1,4	26,1	22,7	13,1	89,1
	118/14/2/91	60	38	0,0	36,7	30,5	15,3	104,1
	118/15/2/91	77	51	1,3	32,5	27,5	14,1	95,9
PN 3882/88	118/30/5/91	29	14	0,0	51,7	43,1	12,5	85,0
	401/132/1/91	70	53	0,0	24,3	20,2	16,4	111,6
	419/57/1/91	65	40	0,0	38,5	32,0	12,4	84,4
PN 3922/88	419/59/1/91	75	62	0,0	17,3	14,4	11,2	76,2
	419/59/6/91	76	64	1,3	15,8	13,8	14,7	100,0
	419/69/1/91	75	46	2,7	36,0	30,9	12,8	87,1
	419/115/3	80	52	0,0	35,0	29,2	10,1	68,7
Wzorzec	2321/91	60,1	54,4	2,3	28,7	25,6	14,7	100,0

**Tabela 4.** Wpływ zakażenia grzybami *Phoma lingam* i *Verticillium dahliae* na zdrowotność i plon nasion  
The influence of soil infected with *Phoma lingam* and *Verticillium dahliae* on healthiness of plants and yield of seeds  
ZRO IHAR Poznań 1991/92

Pochodzenie Pedigree	Linie Lines	Zdrowotność roślin przed zbiorem (1992.06.30) Healthiness of plants before harvest on (1992.06.30)		Wskaźnik chorob. [%] Disease rate in per cent	Plon nasion Yield of seeds [dt/ha]	% wzorca Per cent to control		
		Ogółem	w tym – in that					
		Zdrowych <i>P. lingam</i> [%] <i>V. dahliae</i> [%]						
PN 3059/1/88	225/7/29	88	72	0,0	18,2	15,1	20,6	140,0
	225/108/5	53	35	5,7	28,3	26,7	12,5	85,0
	225/108/13	48	31	0,0	35,4	29,5	10,2	69,4
	225/108/15	55	35	0,0	36,4	30,3	16,4	111,6
	225/6/4	60	50	0,0	16,7	19,9	13,7	93,2
	226/53/5	67	56	3,0	13,4	12,7	10,7	72,8
PN 3059/2/88	226/53/17	51	45	0,0	11,8	9,8	14,5	98,6
	226/53/21	61	55	0,0	3,3	3,8	8,8	59,9
	226/53/28	61	55	1,7	8,2	6,8	20,6	140,1
	226/53/31	50	46	0,0	8,0	6,7	17,5	119,0
	226/53/32	44	40	0,0	9,1	7,5	13,0	89,4
	226/53/33	63	51	1,6	7,9	6,6	17,1	116,3
	226/53/35	58	51	0,0	12,1	10,0	14,7	100,0
	226/53/40	53	45	0,0	15,1	12,5	11,2	76,2
	226/53/42	47	41	0,0	12,8	10,6	10,3	70,1
	226/53/100	63	54	0,0	14,3	11,5	15,0	102,0

Tabela 5. Zdrowotność rodów hodowlanych uprawianych na zakażonych poletkach  
 Healthiness of breeding strains cultivated on the infected plats  
 ZRO IHAR Poznań 1991/92

Linie Lines	Zdrowotność roślin przed zbiorem – liczba roślin Healthiness of plants before harvest			Wskaźnik chorobowy [%] Disease rate in per cent		Plon nasion Yield of seeds [dt/ha]		% wzorca Per cent to control
	Ogółem Total	w tym – in that Zdrowych Healthy	<i>P. lingam</i> [%]	<i>V. dahliae</i> [%]				
PN 2597/91	70	32	1,2	45,3	44,0	11,3	76,9	
PN 2600/91	77	40	3,8	43,6	38,5	17,5	119,0	
PN 2607/91	74	40	4,5	38,6	41,0	10,6	72,1	
PN 2605/91	80	30	7,2	60,2	55,4	11,1	75,5	
PN 1717/91	71	23	2,5	60,5	68,5	11,5	78,2	
PN 1728/91	79	21	2,3	63,6	72,1	15,4	104,8	
PN 2306/91	79	38	11,3	40,5	45,8	10,2	69,4	
PN 2321 wzorzec	60,1	45,4	2,3	28,7	25,6	14,7	100,0	



W 1991 roku w doświadczeniu polowym porównywano zdrowotność wyselekcjonowanych 51 linii rzepaku ozimego (tabela 3). Zdrowotność roślin określono przed zbiorem. Porażenie roślin przez *P. lingam* u linii należących do 4 rodów (tabela 3) było stosunkowo bardzo słabe (0,0 – 2,76%), najprawdopodobniej spowodowane w pewnym stopniu warunkami atmosferycznymi (ciepło i sucho). Jednak grzyb *Verticillium dahliae* spowodował bardzo silne porażenie roślin (15,8 – 51,5%). Jedynie dwie linie rodu PN 3922/88 były słabiej porażone w porównaniu do kontroli. Dalszych 16 linii, następujących dwóch rodów: PN 3059/1/88 i PN 3059/2/88 również było bardzo słabo porażone przez *Phoma lingam* (tabela 4), przy czym dwie linie: 225/7/29/91 i 225/6/4/91 również były słabiej opanowane przez *Verticillium dahliae* (16,7 – 18,2%). Najmniejszą podatnością na *Verticillium dahliae* charakteryzowały się linie pochodzące z rodu PN 3059/2/88. Wyniki te są zgodne z danymi uzyskanymi w warunkach szklarniowych.

W tym samym doświadczeniu brało również udział 7 rodów hodowlanych. Uzyskane dla nich wyniki zestawiono w tabeli 5. W porównaniu z kontrolą, jak i wyselekcjonowanymi liniami rzepaku, z wyjątkiem nielicznych linii porażenie przez *Phoma lingam* było silniejsze (1,2 – 11,9%), a szczególną podatność wykazały one na działanie grzyba *Verticillium dahliae* (38,6 – 63,6%).

Plon nasion z poszczególnych linii był znacznie zróżnicowany i wynosił od 68,7 do 140,0 procent w porównaniu z kontrolną linią 2321/91 (tabela 3 i 4).

## Wnioski

1. Linie badanych rodów rzepaku ozimego wykazywały zróżnicowaną podatność na porażenie przez grzyb *Phoma lingam* w różnych fazach rozwojowych roślin. Linie mniej podatne na porażenie w czasie kiełkowania były często bardzo wrażliwe w fazie siewek.
2. W doświadczeniu polowym wszystkie wyselekcjonowane na odporność linie były bardzo słabo porażane przez *Phoma lingam* w porównaniu do siedmiu rodów hodowlanych.
3. Wszystkie linie, z wyjątkiem linii rodu PN 3059/2/88, były bardzo podatne na porażenie przez *Verticillium dahliae*, zarówno w warunkach szklarniowych jak i polowych.
4. Trzyletni okres hodowli w warunkach prowokacyjnych i selekcji pozytywnej jest zbyt krótki, aby określić trwałość utrzymywania się odporności i wysokości plonów nasion, szczególnie przy jednoczesnym badaniu dwóch rodzajów chorób. Z tego względu konieczna jest dalsza kontynuacja dotychczasowych badań, ze szczególnym zwróceniem uwagi na zwiększenie odporności na porażenie przez *Verticillium dahliae*.

- Badawy H. M. A., Hoppe H. H., Koch E. 1991. Differential reactions between the genus *Brassica* and aggressive single spore isolates of *Leptosphaeria maculans*. *J. Phytopathology* **131**: 109-119.
- Frencel I., Lewartowska E., Jędryczka M., Górski A. 1988. Występowanie chorób grzybowych w niektórych uprawach rzepaku ozimego na Żuławach w sezonie wegetacyjnym 1986/87. *Zeszyty Problemowe IHAR Radzików. Wyniki badań nad rzepakiem ozimym 1987*: 222-227.
- Frencel I., Lewartowska E., Borowiak A. 1985. Badania nad chorobami grzybowymi rzepaku ozimego w aspekcie genetycznych podstaw odporności. *Biuletyn IHAR* **157**: 31-40.
- Gröntoft M. 1987. *Verticillium* wilt on rapeseed. Proc. 7 th International Rapeseed Congress, 11-14 May, Poznań, Poland. 12-28.
- Humpherson-Jones F. M. 1983. Pathogenicity studies on isolates of *Leptosphaeria maculans* from *brassica* seed produced in south-east England. *Ann. Appl. Biol.* **103**: 37-44.
- Humpherson-Jones F. M. 1986. The occurrence of virulent pathotypes of *Leptosphaeria maculans* in *brassica* seed crops in England. *Plant Pathol.* **35**: 224-231.
- Korolewski Z., Weber Z. 1990. Wpływ temperatury i rodzaju pożywki na wzrost grzyba *Phoma lingam* (Tode ex Fr.) Desm. i na jego zdolność do porażenia siewek rzepaku. *Zeszyty Problemowe IHAR Radzików, Rośliny Oleiste, Cz.II*: 109-117.
- Makowski N. 1990. Die Winter Raps Produktion in der DDR. *Raps* **2**: 1-79.
- McGee D. C. 1977. Black leg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of Rapeseed in Victoria: Sources of infection and relationships between inoculum, environmental factors and disease severity. *Aust.J. Agric. Res.* **28**: 53-62.
- McGee D. C., Petre G. A. 1978. Variability of *Leptosphaeria maculans* in relation to blackleg of oilseed rape. *Phytopathology* **68**: 625-630.
- Svenson C., Lerennis C. 1987, An investigation on the effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) on oilseed rape. *Bulletin SROP* **10(4)**: 30-34. Upsala, Sweden.

## The susceptibility of lines and chosen strains of winter oilseed rape to *Phoma lingam* and *Verticillium dahliae* infection.

### Summary

The susceptibility of lines and chosen strains of winter oilseed rape to *Phoma lingam* (Tode) Desm. and *Verticillium dahliae* (Kleb.) infection.

Investigations on the resistance of the double low winter rape to *Phoma lingam* were initiated in 1989. Next year also resistance to pathogenic fungus *Verticillium dahliae* was tested. The researches were carried out in laboratory conditions, in greenhouse and in field.

*Phoma* inoculation of 36 025 seeds enabled to obtain 8 711 seedlings without symptoms of disease. Healthy seedlings were planted into pots with soil infected with

*Verticillium dahliae*. Then they are infected again in the phase of 1–2 true leaves with *Phoma lingam*. The great differentiation of the susceptibility of strains and derived from them lines to *Phoma lingam* was observed in laboratory conditions. There were 0.0–43.1 per cent of healthy seedlings.

The lines selected from different strains, not susceptible to *Phoma lingam* infection, suffered seriously from *Verticillium dahliae* infection, both in greenhouse and in field (15.8–51.7 per cent). Only lines derived from the strain PN 3059/2/88, are an exception. They were affected much weaker in greenhouse and especially in field (3.3–14.3 per cent).

The yield of seeds from individual lines ranged from 68.7 to 140.0 per cent as compared to control line PN 2321/91.