

*Eligia Starzycka, Michał Starzycki, Jan Krzymański*  
*Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*  
*Zakład Roślin Oleistych w Poznaniu*

## **Doskonalenie metod oceny odporności rzepaku ozimego na *Sclerotinia sclerotiorum***

Zgnilizna twardzikowa — *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary jest jedną z groźniejszych chorób występujących na rzepaku ozimym. W warunkach klimatu Polski występuje w mniejszym nasileniu niż w warunkach klimatycznych Europy Zachodniej. Mykotoksyną pochodzącą z grzyba *S. sclerotiorum* jest kwas szczawioowy. Podjęto udane próby selekcjonowania roślin rzepaku ozimego odporniejszych na *S. sclerotiorum* przy zastosowaniu testu szczawianowego. Parametry metody, takie jak: sposób wprowadzania i czas działania roztworu, odpowiednie pH, dobór stężeń szczawianu potasu opracowano w IHAR – Poznań. Porównano wyniki badania odporności poszczególnych roślin na *S. sclerotiorum* trzema metodami.

### **Materiały i metody**

---

Do badań użyto rośliny rzepaku ozimego, pokolenia F2 podwójnie ulepszonego, z materiałów hodowlanych ZRO – IHAR w Poznaniu. W celu porównania poszczególnych metod wykorzystano rośliny odmian: Warszawski, Górczański, Jantar, otrzymane z Francji — INRA Le Rheu, po wstępnych testach odpornościowych na *S. sclerotiorum*.

#### **Metoda szczawianowa**

Pobierano dwa liście ze środkowej części rośliny wchodzącej w fazę kwitnienia i umieszczano je w roztworze szczawianu potasu o stężeniu 0,005 g/ml, pH 5,8 – 6,0. Tak przygotowane próby umieszczano w warunkach pokojowych. Odczytu dokonywano po 24 godzinach, w skali trójstopniowej:

- 0 – brak jakichkolwiek zmian na blaszce liściowej,
- 1 – niewielkie przewędnięcie, brak turgoru,
- 2 – przewędnięcie oraz pojawienie się jaśniejszych przebarwień na blaszce liściowej.

### **Metoda krążków grzybniowych**

Na pożywce agarowo-maltozowej o stężeniu 2% maltozy, prowadzono hodowlę grzyba *S. sclerotiorum*. Z pięciodniowej młodej kultury wycinano sterylnie krążki pożywki z grzybnią o średnicy 0,5 cm. Umieszczano je na liściach pobranych z roślin, ze środkowego piętra, wchodzących w fazę kwitnienia. Liście z krążkami grzybniowymi umieszczano w kuwetach na bibule zwilżonej wodą destylowaną i przykrytych płytką szklaną. Test i obserwacje prowadzono w warunkach szklarniowych. Odczytu stopnia porażenia liści dokonano po 4 dniach, mierząc średnicę uszkodzenia infekcyjnego blaszki liściowej (plamka infekcyjna).

### **Metoda zakażania łodyg**

Wysterylizowane pałeczki drewniane umieszczano na pożywce V8 ze świeżą hodowlą *S. sclerotiorum*. W ciągu 9 dni grzybnią przerastała pałeczki, które następnie służyły do inokulowania rzepaku ozimego. Inokulacji dokonywano poprzez wkłucie pałeczki w łodygę rzepaku i owinięcie parafilmem. Inokulowano rośliny w fazie kwitnienia, 40 cm od powierzchni gleby. Pierwsze objawy chorobowe wystąpiły po pięciu dniach.

## **Wyniki**

W metodzie szczawianowej obserwuje się przewiednięcie blaszki liściowej oraz jaśniejsze przebarwienia wokół nerwów u form nieodpornych. Odporne rośliny nie wykazują tych objawów. W drugiej metodzie przerośnięte grzybnią agarowe krążki nałożone na blaszkę liściową powodują pojawianie się jaśniejszych plam wokół krążka agarowego. U form nieodpornych wielkość plamy średnio wynosi 10 mm i więcej. U form odpornych nie obserwuje się żadnej reakcji. W metodzie zakażania łodyg obserwuje się charakterystyczne zbrunatnienie i rozwój watomatej grzybni. Nieodporne formy rzepaku ozimego po takiej inokulacji szybko zasychają. W łodygach tworzą się sklerocja. U form odpornych nie obserwuje się żadnych objawów. Rośliny rozwijają się normalnie.

W warunkach polowych przetestowano 12 735 roślin, wybierając 493 rośliny, u których nie obserwowano reakcji przewiednięcia liści po umieszczeniu ich w roztworze szczawianu potasu.

W roku 1993 kontynuowano badania w warunkach szklarniowych na trzech odmianach rzepaku ozimego: Jantar, Górczański, Warszawski.

**Tabela 1.** Porównanie odporności na *Sclerotinia sclerotiorum* roślin rzepaku ozimego przy zastosowaniu trzech metod inokulacji

Odmiana	Test szczawianowy		Test agarowych krążków grzybniowych		Test zakażenia łodyg	
	a	b	a	b	a	b
Warszawski	27	23	25	25	8	42
Górczański	32	18	16	34	25	25
Jantar	34	16	18	32	5	45

a – rośliny odporne,

b – rośliny nieodporne.

## Wnioski

1. Metoda szczawianowa daje wyniki zgodne z wynikami innych metod selekcji roślin odporniejszych na zgniliznę twardzikową.
2. Metoda szczawianowa jest łatwą i szybką metodą, pozwalającą na wstępną ocenę podatności na patogena *S. sclerotiorum* i selekcję materiałów hodowlanych rzepaku ozimego.
3. Aby potwierdzić odporność wybranych roślin *Brassica napus* L. należy wykonać dodatkowe testy, np. test agarowych krążków grzybniowych i test zakażenia łodyg drewnianymi wykałaczkami.

## Literatura

- Mouly A., Esquerre-Tugaye M. T. 1989. Recherche de marqueurs moléculaires de la tolerance du tournesol a *Sclerotinia sclerotiorum*. Informations Techniques CETIOM 108.
- Weber Z., Karolewski Z., Zygmunt B. 1992. Występowanie chorób na rzepaku ozimym w rejonie Poznania. *Ochrona Roślin* 5.
- Les maladies du colza. 1992. Centre Technique Interprofessionnel des Oleagineux. 58-70.

## Improvement of methods for determination of winter rape resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*

---

### Summary

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary is one of the pathogen causing the stem rot which is one of the most severe diseases of winter oilseed rape. Efforts were undertaken to elaborate the method suitable for individual plant selection. The chosen test is based on oxalate treatment because oxalate is the mycotoxin produced by *S. sclerotiorum*.

Optimal concentration of potassium oxalate in water solution and its optimal pH level were established. Leaves taken from the individual plants were immersed into this solution and scored after 24 hours. This so called "oxalate test" is very simple and enable to perform selection of large number of plants per day.

It was found that this test was conformable to two other tests:

- infection of leaves by agar disc with mycelium,
- steam infection by mycelium on woody sticks.