

## CHARAKTERYSTYKA POPULACJI *PYRENOPHORA TERES* WYSTĘPUJĄCEJ NA JĘCZMIENIU JARYM W WIELKOPOLSCE\*

AGATA KORBAS<sup>1</sup>, TOMASZ KOSIADA

*Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,  
ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań*

**Synopsis.** Plamistość siatkowa jęczmienia powodowana przez *P. teres*. Jest jedną z ważniejszych chorób jęczmienia. Celem badań było określenie zróżnicowania populacji *P. teres* pochodzącej z terenu Wielkopolski pod względem morfologii, patogeniczności oraz ewentualnych zależności tego zróżnicowania a różnic genetycznych określonych przy pomocy RAPD-PCR. Między kulturami grzyba nie stwierdzono wyraźnych różnic w wyglądzie grzybni oraz w wielkości zarodników. Minimalna długość zarodników wynosiła 20,6 µm a maksymalna 90,3 µm. Średnia szerokość wynosiła 18,9 µm. Badane odmiany jęczmienia różniły się podatnością na porażenie przez *P. teres*. Porażenie powierzchni liści odmian jęczmienia inokulowanych 31 izolatami *P. teres* dla odmiany Atico wynosiło 6,2%, natomiast dla odmiany Kangoo 14,6%. Stwierdzono różnice w ilości i wielkości fragmentów DNA między izolatami uzyskanymi z liści jęczmienia z objawami typowymi i nietypowymi siatkowej plamistości jęczmienia.

**Słowa kluczowe:** jęczmień jary, *Pyrenophora teres*, plamistość siatkowa jęczmienia, patogeniczność

### WSTĘP

Jęczmień jako roślina zbożowa odgrywa ważną rolę w gospodarce światowej. W strukturze zasiewu zajmuje czwarte miejsce wśród światowej produkcji zbóż (ok. 168 mln ton). Udział jęczmienia w strukturze zasiewów od wielu lat rośnie. W Polsce w latach 2008–2012 areał uprawy jęczmienia wynosił ok. 1103 tys. hektarów. W Wielkopolsce w 2012 r. powierzchnia zasiewu jęczmienia wynosiła 173,9 tys. hektarów, co stanowi 17,1% ogólnej powierzchni zasiewu jęczmienia w Polsce [Gacek 2012, GUS 2010].

Najgroźniejszym patogenem zagrażającym plantacjom jęczmienia jest *Pyrenophora teres*. Grzyb jest sprawcą choroby – plamistości siatkowej jęczmienia; powoduje dwa typy objawów: typowe w postaci podłużnych i poprzecznych nekroz na liściu układających się we wzór siatki oraz nietypowych w postaci owalnych brunatnych plam [Fiedorow i in. 2008, Korbas i Mrówczyński 2010]. W przypadku epidemicznego wystąpienia choroby straty mogą wynieść do 40% plonu [Mathre 1997]. Wysoki potencjał przepływu genów zwiększa prawdopodobieństwo tworzenia nowych patotypów wirulencji i powstania nowych patogenicznych ras grzyba [Beattie 2006, Rau i in. 2003].

Celem badań było określenie zróżnicowania populacji *P. teres* pochodzącej z terenu Wielkopolski pod względem morfologii, patogeniczności oraz zależności pomiędzy ewentualną zmiennością a budową DNA.

<sup>1</sup> Adres do korespondencji – *Corresponding address*: agatakorbas@wp.pl

\* Badania zostały w części sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (numer projektu NN310 720840).

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły izolaty grzyba *P. teres* uzyskane z ziarniaków jęczmienia jarego odmian: Kangoo, Prestige, Sebastian, Quench. Ziarno zostało zebrane w 2011 roku z plantacji produkcyjnych pięciu gospodarstw zlokalizowanych w Wielkopolsce (Działuń, Nagradowice, Pobiedziska, Różanna, Złotniki). Po wschodach, fazie 2–3 liści dokonano obserwacji objawów prażenia w postaci plam na liściach jęczmienia jarego. W fazie BBCH 12–13 pobrane zostały liście z dwoma typami plam wskazującymi na porażenie przez *P. teres*. Izolacje grzyba wykonano w laboratorium Katedry Fitopatologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w roku 2012 i 2013. Uzyskano 83 izolaty grzybów, w tym 48 stanowiły izolaty *P. teres*. Pozostałe izolaty stanowiły grzyby z rodzaju *Fusarium* sp., *Pyrenophora* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. Po upływie 2 tygodni sprawdzono zarodnikowanie grzyba *P. teres* i przystąpiono do czynności mających na celu otrzymanie kultur jednozarodnikowych. Z wybranych trzydziestu jeden kultur jednozarodnikowych *P. teres* wykonano izolację DNA, aby następnie przystąpić do przeprowadzenia analizy molekularnej RAPD-PCR z udziałem starterów A02 i A06 oraz rozdzielą elektroforetycznego.

Przy użyciu mikroskopu dokonano pomiaru wielkości zarodników konidialnych *P. teres*. Obserwowano również wygląd grzybni powietrznej. Do oceny patogeniczności wybrano z „Listy Opisowej Odmian 2012” dwie odmiany jęczmienia jarego: Atico i Kangoo różniące się odpornością na porażenie przez *P. teres*. Po 21 dniach od wysiania ziarniaków (faza BBCH 12–13) opryskano liście jęczmienia obu odmian zawiesiną zarodników uzyskanych z trzydziestu jeden zarodnikujących sześciotygodniowych jednozarodnikowych kultur *P. teres*. W tym celu każdym z trzydziestu jeden izolatów zakażono po 35 roślin jęczmienia jarego odmiany Atico i Kangoo. Ocena porażenia liczby roślin oraz powierzchni liści została przeprowadzona po 2 tygodniach od zakażenia.

## WYNIKI I DYSKUSJA

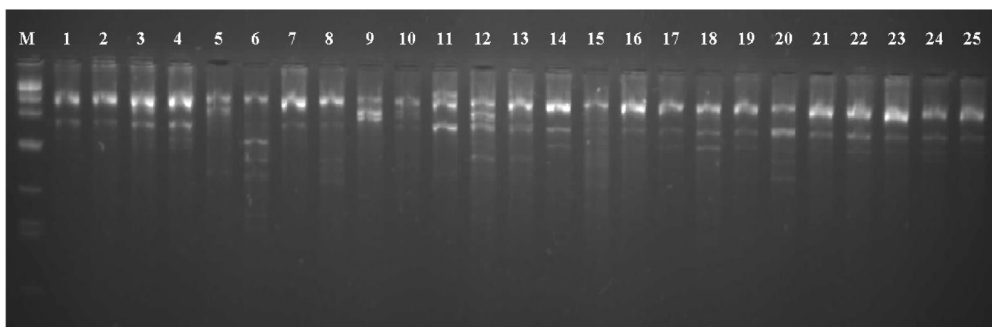
W wyniku przeprowadzonych obserwacji oraz pomiarów nie stwierdzono różnic w morfologii grzybni uzyskanych kultur jednozarodnikowych grzyba *P. teres*. Zarodniki konidialne były zaokrąglone na obu końcach, cylindrycznego kształtu o barwie oliwkowej, natomiast młode zarodniki konidialne były jasno szare. Ilość komórek oraz ich długość i szerokość u badanych izolatów była zbliżona i odpowiadała zakresom wymiarów opisywanych w literaturze dla gatunku *P. teres*. Długość minimalna badanych zarodników wynosiła 20,6  $\mu\text{m}$ , a maksymalna 90,3  $\mu\text{m}$  (tab. 1). Średnia szerokość zarodnika wyniosła 18,9  $\mu\text{m}$ . W innych badaniach wymiary zarodników konidialnych zbudowanych z 2–5 komórek wynosiły 18–120  $\mu\text{m}$ , natomiast średnia szerokość zarodnika 10–18  $\mu\text{m}$  [Crous i in. 1995, Mathre 1985, Zillinsky 1983]. Małe, nieistotne odchylenia w wymiarach zarodników mogły być spowodowane różnicą w ich stanie rozwojowym.

W wyniku przeprowadzonych analiz molekularnych stwierdzono różnice w ilości i wielkości uzyskanych fragmentów DNA między izolatami uzyskanymi z liści jęczmienia z objawami typowymi, a izolatami otrzymanymi z liści z objawami nietypowymi (rys. 1). W obrębie izolatów uzyskanych z typowych objawów plamistości siatkowej jęczmienia nie było istotnych różnic; wyjątek stanowił izolat K 13/1. Natomiast w obrębie izolatów otrzymanych z plam nietypowych stwierdzono duże zróżnicowanie ilości i wielkości fragmentów DNA; w szczególności izolat K 31a/3.

Tabela 1. Wymiary zarodników grzyba *P. teres*  
 Table 1. The dimensions of spores fungus *P. teres*

Liczba komórek Number of cells	Wymiary zarodników – Dimensions of spores (µm)	
	długość – length	szerokość – width
2	41,3 c*	16,6 b
3	52,8 b	18,0 ab
4	61,4 a	19,9 a
5	63,0 a	18,1 ab

\* wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie ( $p=0,05$ ) – differences between medians marked by the same letters are not significant ( $p=0.05$ )



Izolaty uzyskane z liści z objawami „siatki” – isolates obtained from the leaves with symptoms „net”: 1 (K102/1), 3 (K149/1), 4 (K102/1), 13 (K130/1), 14 (K28/4), 15 (K3/2), 16 (K126/2), 17 (K13/1), 21 (K149/2), 22 (K3/1), 23 (K7/3)  
 Izolaty otrzymane z liści z objawami typu „plama” – isolates obtained from the leaves with symptoms „spot”: 2 (K7/2), 5 (K8/1), 6 (K31a/3), 7 (K7/1), 8 (K134/1), 9 (K8/2), 10 (K135), 11 (K102/2), 12 (K3/4), 18 (K126/3), 19 (K26/6), 20 (K134/2), 24 (K124/2), 25 (K7/7)

Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR z użyciem startera A06, dla izolatów *P. teres*  
 Fig. 1. Electrophoretic separation of PCR products using A06 primer for *P. teres*

Wyróżnia się dwie formy tego patogena *Pyrenophora teres* f. *teres* oraz *Pyrenophora teres* f. *maculata* Smedeg. nie różniące się morfologicznie, a różniące się natomiast rodzajem powodowanych objawów [Campbelli in. 1997, Smedegard-Peterson 1971]. Pierwsza z tych form wywołuje plamy siatkowe (typowe – net), a druga plamy owalne, punktowe lub nieregularne (nietypowe – spot). *P. teres* wywołująca objawy obu typów różnią się genetycznie [Ellwood i in. 2010, Jalli 2010, Lai i in. 2007].

Ocena patogeniczności uzyskanych izolatów *P. teres* potwierdziła zróżnicowanie w porażeniu dwóch odmian jęczmienia Atico i Kangoo. Izolaty uzyskane z plam typowych słabiej porażały rośliny jak i powierzchnię liści niż izolaty pochodzące z liści na których obserwowano objawy nietypowe. Porażenie roślin przez izolaty uzyskane z plam typowych zawierało się mię-

dzy 11,5–17,7%. Stwierdzono różnice w porażeniu odmian przez ten sam izolat grzyba. Izolat K 14/1 uzyskany z liści z objawami typowymi powodował porażenie 5% roślin odmiany Atico i 23,8% odmiany Kangoo (tab. 2). Powierzchnia porażonych liści odmiany Atico wynosiła 1%,

Tabela 2. Procent porażonych roślin dwóch odmian jęczmienia jarego inokulowanych 31 izolatami *P. teres*

Table 2. Percentage of infected plants of two cultivars of spring barley inoculated with 31 isolates of *P. teres*

Izolat – Isolate	Odmiany – Cultivars		
	Atico	Kangoo	średnio – mean
K 3/1 n*	20,0	15,3	17,7
K 3/2 n	10,0	15,8	12,9
K 3/3 s	12,2	21,1	16,7
K 3/4 n	13,3	15,9	14,6
K 7/1 s	14,6	14,7	14,7
K 7/2 s	16,9	37,3	27,1
K 7/3 n	13,8	16,2	15,0
K 7/4 n	17,0	14,2	15,6
K 7/7 s	20,0	18,5	19,3
K 8/1 s	11,4	20,0	15,7
K 8/2 s	14,2	18,0	16,1
K13/1 n	10,6	18,8	14,7
K 14/1 n	5,0	23,8	14,4
K 26/6 s	15,8	21,2	18,5
K 28/2 s	12,0	19,3	15,7
K 28/4 n	11,7	15,0	13,4
K 31a/3 s	14,5	20,8	17,7
K 41/1 s	17,3	27,6	22,5
K 49/1 s	21,3	14,2	17,8
K 102/1 n	10,0	13,0	11,5
K 102/2 n	10,0	16,3	13,2
K124/1 n	16,3	13,8	15,1
K 124/2 s	16,0	22,4	19,2
K 126/2 n	10,0	22,7	16,4
K 126/3 s	19,0	21,9	20,5
K 130/1 s	15,0	25,3	20,2
K 134/1 s	10,5	24,7	17,6
K 134/2 s	18,5	17,0	17,8
K 135 n	13,0	10,7	11,9
K 149/1 n	17,5	11,0	14,3
K 149/2 n	10,0	17,0	13,5
Średnio – Mean	14,1 b	18,8 a**	–

\* n – kultura wyizolowana z plam typowych typu „siatka” – culture isolated from spots typical of „net”; s – kultura wyizolowana z plam nietypowych typu „plama” – culture isolated from atypical spots of „spot”

\*\* wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie ( $p=0,05$ ) – differences between medians marked by the same letters are not significant ( $p=0.05$ )

a odmiany Kangoo 19,0%. Izolaty K 14/1, K 102/2, K 126/2, K 135, K 149/1, K 149/2 pochodzące z objawów typowych plamistości siatkowej jęczmienia najsłabiej porażały odmiany Atico; procent porażenia powierzchni liści mieścił się między 1–3,5% (tab. 3).

Tabela 3. Porażenie powierzchni liści dwóch odmian jęczmienia inokulowanych 31 izolatami *P. teres* (%)  
Table 3. Infected of leaf areas two barley cultivars inoculated with 31 isolates of *P. teres* (%)

Izolat – Isolate	Odmiany – Cultivars		
	Atico	Kangoo	średnio – mean
K 3/1 n*	6,0	12,3	9,1
K 3/2 n	5,5	14,3	9,9
K 3/3 s	5,5	19,0	12,3
K 3/4 n	6,0	12,8	9,4
K 7/1 s	10,3	11,8	11,0
K 7/2 s	11,0	37,3	24,1
K 7/3 n	9,0	13,8	11,4
K 7/4 n	8,5	9,3	8,9
K 7/7 s	6,0	12,0	9,0
K 8/1 s	4,0	15,0	9,5
K 8/2 s	4,3	13,5	8,9
K13/1 n	4,3	15,0	9,6
K 14/1 n	1,0	19,0	10,0
K 26/6 s	9,5	18,0	13,8
K 28/2 s	6,0	13,5	9,8
K 28/4 n	5,3	12,0	8,6
K 31a/3 s	8,0	12,5	10,3
K 41/1 s	11,3	26,3	18,8
K 49/1 s	8,5	8,5	8,5
K 102/1 n	4,5	6,5	5,5
K 102/2 n	3,0	13,0	8,0
K124/1 n	6,5	11,0	8,8
K 124/2 s	8,0	19,8	13,9
K 126/2 n	3,0	17,0	10,0
K 126/3 s	14,3	17,5	15,9
K 130/1 s	6,3	20,5	13,4
K 134/1 s	5,8	18,5	12,1
K 134/2 s	7,5	17,0	12,3
K 135 n	3,3	8,0	5,6
K 149/1 n	3,5	8,3	5,9
K 149/2 n	2,5	12,8	7,6
Średnio – Mean	6,2	14,6	–
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> : odmiany – cultivar – 7,5; izolaty – isolates – 4,9; interakcja – interaction – 10,9			

\* n – kultura wyizolowana z plam typowych typu „siatka” – culture isolated from spots typical of „net”; s – kultura wyizolowana z plam nietypowych typu „plama” – culture isolated from atypical spots of „spot”

## WNIOSKI

1. Pochodzenie izolatów (geograficzne, rodzaj objawów) nie wpływa na wymiary zarodników *P. teres*.
2. Porażenie odmiany Kangoo było większe niż odmiany Atico.
3. Izolaty uzyskane z plam typowych (net) powodowały mniejsze porażenie roślin jęczmienia niż izolaty pochodzące z liści z objawami nietypowymi (spot).

## PIŚMIENNICTWO

- Beattie A.D., Scoles G.J., Rossnagel B.G. 2007. Identification of molecular markers linked to a *Pyrenophora teres* avirulence gene. *Phytopathology* 97(7): 842–849.
- Campbell G.F., Crous P.W., Lucas J.A. 1999. *Pyrenophora teres* f. *maculata*, the cause of Pyrenophora leaf spot of barley in South Africa. *Mycol. Res.* 103: 257–267.
- Crous P.W., Janse B.J.H., Tunbridge J., Holz G. 1995. DNA homology between *Pyrenophora japonica* and *P. teres*. *Mycol. Res.* 99: 1098–1102.
- Ellwood S.R., Liu Z., Syme R.A., Lai Z., Hane J.K., Keiper F., Moffat C.S., Oliver R.P., Friesen T.L. 2010. A first genome assembly of the barley fungal pathogen *Pyrenophora teres* f. *teres*. *Genome Biol.* 11(11): R109.
- Fiedorow Z., Gołębniak B., Weber Z. 2008. Choroby roślin rolniczych. Wyd AR Poznań: ss. 208.
- Gacek E.S (red.) 2012. Lista opisowa odmian 2012. Słupia Wielka.
- GUS 2010. Rocznik statystyczny rolnictwa 2010. Warszawa: ss. 389.
- Jalli M. 2010. The virulence of Finnish *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates and its implications for resistance breeding. *MTT Science* 9: ss. 46.
- Korbas M., Mrówczyński M. (red.) 2010. Integrowana produkcja jęczmienia ozimego i jarego. Wyd. IOR. Poznań. ss. 166.
- Lai Z., Faris J.D., Weiland J.J., Steffenson B.J., Friesen T.L. 2007. Genetic mapping of *Pyrenophora teres* f. *teres* genes conferring avirulence on barley. *Fungal Genet. Biol.* 44: 323–329.
- Mathre D.E. 1997. Compendium of barley diseases. APS press. USA.
- Rau D., Attene G., Brown A.H.D., Nanni L., Maier F.J., Balmas V., Saba E., Schafer W., Papa R. 2003. Diversity and evolution in the barley pathogen *Pyrenophora teres*. *Options Méditerranéennes, Ser. A* 81: 147–150.
- Smedegard-Petersen V. 1977. Isolation of two toxins produced by *Pyrenophora teres* and their significance in disease development of net-spot blotch of barley. *Physiol. Plant Pathol.* 10: 203–211.
- Zillinsky F.J. 1983. Common diseases of small grain cereals. CIMMYT Mexico. ss. 141.

A. KORBAS, T. KOSIADA

## CHARACTERISTICS POPULATION OF *PYRENOPHORA TERES* ON SPRING BARLEY IN THE WIELKOPOLSKA

### Summary

Barley net blotch caused by *P. teres* is one of the most important diseases of barley. The aim of the study was to investigate the diversity of the population of *P. teres* originating from Wielkopolska in terms of morphology, pathogenicity, and possible relationships of this diversity and genetic differences identified using RAPD-PCR. There were between the cultures of the fungus clear differences in the appearance

of the mycelium and spores in size. Spores were the minimum length of 20.6 microns and 90.3 microns maximum. Average width was 18.9 microns. Barley cultivars studied differed in susceptibility to infection by *P. teres*. Infected of the leaf surface of barley cultivars inoculated with 31 isolates of *P. teres* for cv. Atico was 6.2%, for cv. Kangoo 14.6%. Differences in the number and sizes of DNA fragments between isolates obtained from barley leaves with symptoms typical and atypical blotch of barley.

**Key words:** spring barley, *Pyrenophora teres*, net blotch of barley, pathogenicity

Zaakceptowano do druku – *Accepted for print*: 11.02.2015

Do cytowania – *For citation*:

Korbas A., Kosiada T. 2015. Charakterystyka populacji *Pyrenophora teres* występującej na jęczmieniu jarym w Wielkopolsce. *Fragm. Agron.* 32(1): 66–72.