

Influence of temperature on germination of urediniospores of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*

Wpływ temperatury na kiełkowanie urediniospor *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*

Andrzej Wójtowicz, Romuald Gwiazdowski, Krzysztof Kubiak, Maria Pasternak

Summary

The aim of the study was to estimate the influence of temperature on germination of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* urediniospores and to determine the relations between spore germination and infection of wheat caused by wheat leaf rust. The following temperatures were examined in the experiments: 5, 10, 20, and 30°C. The most urediniospores germinated at the temperature set up at 15°C. Results of the study allowed to state the relations between analysed parameters by using mathematical equations. Moreover, the influence of temperature on infection was defined based on experiments and data presented in literature. The Pearson Correlation Coefficient was used to show the relation between spore germination and infection. The study confirmed close relations between analysed variables.

Key words: *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, wheat, spore germination, model

Streszczenie

Celem pracy było oszacowanie wpływu temperatury na kiełkowanie urediniospor *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* oraz określenie związku tego procesu z infekcją pszenicy przez sprawcę rdzy brunatnej pszenicy. W badaniach zastosowano następujące wartości temperatury: 5, 10, 20, i 30°C. Najwięcej kiełkujących zarodników stwierdzono w temperaturze 15°C. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyrażenie zależności pomiędzy badanymi cechami za pomocą równań matematycznych. Przeprowadzone obliczenia umożliwiły ponadto określenie wpływu temperatury na infekcję pszenicy przez *P. recondita* f. sp. *tritici*. Do oceny relacji występujących pomiędzy kiełkowaniem urediniospor i infekcją wykorzystano analizę korelacji. Na podstawie współczynnika korelacji Pearsona wykazano ścisły związek pomiędzy kiełkowaniem urediniospor i efektywnością infekcji.

Słowa kluczowe: *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, pszenica, kiełkowanie zarodników, model

Institut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
A.Wojtowicz@iorpib.poznan.pl; R.Gwiazdowski@iorpib.poznan.pl;
K.Kubiak@iorpib.poznan.pl; M.Pasternak@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Infekcja roślin przez patogeny jest złożonym procesem składającym się z kilku następujących po sobie etapów, których przebieg jest regulowany przez szereg czynników. Pierwszym etapem tego procesu jest kiełkowanie zarodników. *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* sprawca rdzy brunatnej pszenicy należy do gatunków pełnocyklowych, charakteryzujących się wytwarzaniem pięciu rodzajów zarodników: bazydiospor, spermacji, ecjospor, urediniospor i teliospor. Największą rolę w rozwoju epidemii wywoływanej na pszenicy przez *P. recondita* f. sp. *tritici* odgrywają urediniospory, które są typowymi zarodnikami propagacyjnymi służącymi do rozprzestrzeniania grzyba na plantacjach pszenicy. Kiełkowanie urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* zachodzi w szerokim zakresie temperatury wynoszącym 1–30°C. Wiadomo jednak, że intensywność procesów biologicznych podlega zmianom, w zależności od wartości parametrów stymulujących ich przebieg. Istnieje zatem potrzeba prowadzenia badań zmierzających do opracowania wpływu warunków środowiskowych na rozwój patogena. Takie podejście jest między innymi prezentowane w badaniach nad rolą temperatury i światła w procesie kiełkowania zarodników grzybów rodzaju *Puccinia* (Waggoner i Parlange 1975; Tapsoba i Wilson 1997; Dooley 1984; Elahinia 2000; Buck i wsp. 2010).

Celem pracy było oszacowanie wpływu temperatury otoczenia na kiełkowanie urediniospor oraz określenie związku tego procesu z infekcją pszenicy przez sprawcę rdzy brunatnej pszenicy.

Materiały i metody / Materials and methods

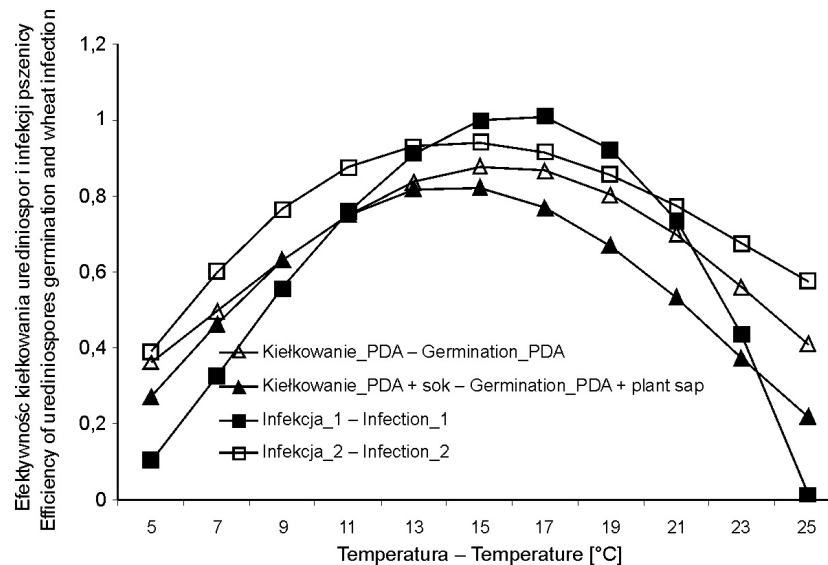
Doświadczenie przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych i szklarniowych w maju 2012 r. Urediniospory pozyskiwano z pszenicy ozimej odmiany Turnia, po 12–14 dniach od inokulacji grzybem *P. recondita* f. sp. *tritici*. Z porażonych liści za pomocą skalpela pozyskiwano uredinia, które przenoszono do fiolki ze sterylną wodą dejonizowaną, a następnie całość umieszczano w wytrząsarce. Koncentracja zarodników wynosiła $2,7 \times 10^6$ /ml. Tak przygotowaną zawiesinę zarodników наносono w równej objętości na szkiełka podstawowe pokryte cienką warstwą pożywki PDA (Potato Dextrose Agar) lub pożywki PDA z dodatkiem soku z roztartych liści pszenicy. Na szkiełka podstawowe nakładano szkiełka nakrywkowe i tak przygotowane preparaty umieszczano na płytkach Petriego o średnicy 200 mm, których dno wyłożono warstwą wilgotnej bibuły filtracyjnej. Dodatkowo płytki umieszczono w szczelnych workach foliowych, a następnie inkubowano je w temperaturach: 5, 10, 15, 20 i 30°C. Na każdy wariant temperatury przypadały 4 powtórzenia (szkiełka podstawowe). Po 24 godzinach inkubacji przeprowadzono obserwację mikroskopową przy 200-krotnym powiększeniu. Z każdego szkiełka podstawowego wybierano 3 pola widzenia, a następnie w każdym z pól na podstawie 10 zarodników określano odsetek zarodników kiełkujących. Doświadczenie przeprowadzono dwukrotnie. Za pomocą równania matematycznego określono wpływ temperatury na kiełkowanie zarodników.

Zarodniki propagacyjne *P. recondita* f. sp. *tritici* wykorzystano także do zakażenia zdrowych siewek pszenicy. Do tego celu używano wodnej zawiesiny urediniospor (koncentracja zarodników wynosiła $3,1 \times 10^6$ /ml), którą opryskiwano rośliny za pomocą atomizera. Inokulowane rośliny wkładano do szczelnych pojemników gwarantujących utrzymanie zwilżenia liści i przez 24 godziny poddawano temperaturze 5, 10, 20 i 25°C. Następnie rośliny wyjmowano z pojemników i umieszczano w temperaturze 20°C. Liczenie urediniospor odbywało się 12 dni po inokulacji. Doświadczenie przeprowadzono dwukrotnie. Uzyskane wyniki wykorzystano do wyrażenia w formie funkcji beta wpływu temperatury na intensywność infekcji. Oprócz tego do symulacji wpływu temperatury w procesie infekcji pszenicy przez *P. recondita* wykorzystano model opracowany na podstawie wyników badań Vallavielle-Pope i wsp. (1995). W celu oszacowania związku procesu kiełkowania zarodników z infekcją oceniono za pomocą współczynnika korelacji Pearsona zbieżność rezultatów badań nad kiełkowaniem zarodników z wynikami prezentującymi rolę temperatury w procesie infekcji.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W eksperymentach przeprowadzonych z zastosowaniem pożywki PDA największy odsetek kiełkujących zarodników wynoszący 60% w doświadczeniu pierwszym i 70% w doświadczeniu drugim stwierdzono w rezultacie prowadzenia analizowanego procesu w temperaturze 15°C (tab. 1). Zmniejszenie liczby kiełkujących urediniospor do 43% w doświadczeniu pierwszym i 34% w doświadczeniu drugim odnotowano w następstwie obniżenia temperatury do 10°C. 35% oraz 55% kiełkujących zarodników w doświadczeniach: pierwszym i drugim było efektem zastosowania temperatury 20°C. Obniżenie temperatury eksperymentu do 5°C ograniczyło liczbę kiełkujących zarodników do 31% w doświadczeniu pierwszym i 20% w doświadczeniu drugim. Najmniej kiełkujących urediniospor stwierdzono w wyniku zastosowania temperatury 30°C. W tych warunkach w doświadczeniu pierwszym odnotowano 11% kiełkujących zarodników, a w doświadczeniu drugim 8%.

W eksperymentach przeprowadzonych na pożywce PDA z dodatkiem soku największą liczbę kiełkujących zarodników *P. recondita* f. sp. *tritici* wynoszącą w pierwszym doświadczeniu 38% oraz 47% w drugim doświadczeniu odnotowano w efekcie zastosowania temperatury 15°C. Obniżenie temperatury do 10°C spowodowało zmniejszeniem liczby kiełkujących urediniospor do 28% w doświadczeniu pierwszym i 22% w doświadczeniu drugim. Liczba kiełkujących zarodników w doświadczeniach pierwszym i drugim odnotowana w rezultacie zastosowania temperatury 20°C wynosiła odpowiednio 18 i 28%. Natomiast 12% kiełkujących zarodników w doświadczeniu pierwszym i 15% w doświadczeniu drugim wykazały eksperymenty przeprowadzone w temperaturze 5°C. Najmniejszą liczbę kiełkujących urediniospor wynoszącą w doświadczeniu pierwszym 6% oraz 2% w doświadczeniu drugim odnotowano w rezultacie przeprowadzenia badań w temperaturze 30°C. Wyniki



Rys. 1. Graficzne przedstawienie wpływu temperatury na kiełkowania urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* oraz wystąpienia infekcji pszenicy

Fig. 1. Graphical presentation of temperature influence on *P. recondita* f. sp. *tritici* urediniospores germination and wheat infection

Tabela 1. Wpływ temperatury na kiełkowanie urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici*

Table 1. Influence of temperature on urediniospores germination of *P. recondita* f. sp. *tritici*

Temperatura Temperature [°C]	Procent kiełkujących urediniospor – Percentage of germinating urediniospores			
	doświadczenie 1 – experiment 1		doświadczenie 2 – experiment 2	
	PDA	PDA + sok PDA + plant sap	PDA	PDA + sok PDA + plant sap
5	31 bc	12 cb	20 bc	15 bc
10	43 b	28 b	34 cd	22 b
15	60 a	38 ab	70 a	47 a
20	35 b	18 bc	55 a	28 b
30	11 c	6 c	8 d	2 c

W kolumnach różnymi literami oznaczono wartości różniące się istotnie przy poziomie $\alpha = 0,05$
The columns with different letters denote values that differ significantly at the level of $\alpha = 0,05$

Tabela 2. Wpływ temperatury na liczbę uredinów *P. recondita* f. sp. *tritici* na siewkach pszenicy

Table 2. Influence of temperature on number of *P. recondita* f. sp. *tritici* uredinia on wheat seedlings

Temperatura – Temperature [°C]	Doświadczenie 1 – Experiment 1	Doświadczenie 2 – Experiment 2
5	7 c	8 c
10	45 b	49 b
15	66 a	76 a
20	55 ab	65 a
25	1 c	1 c

W kolumnach różnymi literami oznaczono wartości różniące się istotnie przy poziomie $\alpha = 0,05$
The columns with different letters denote values that differ significantly at the level of $\alpha = 0,05$

Tabela 3. Współczynnik korelacji infekcji z kiełkowaniem urediniospor *P. recondita* f. sp. *recondita*

Table 3. Correlation coefficient between infection and urediniospore germination of *P. recondita* f. sp. *recondita*

Infekcja Infection	Kiełkowanie urediniospor na – Germination of urediniospores on	
	PDA	PDA + sok – PDA + plant sap
Infekcja_1 – Infection_1	0,98919	0,903545
Infekcja_2 – Infection_2	0,97496	0,931891

analizy wariancji przeprowadzonej z zastosowaniem danych uzyskanych w przeprowadzonych badaniach nad wpływem temperatury na kiełkowanie urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* przedstawiono w tabeli 1.

Uzyskane wyniki są zgodne z rezultatami eksperymentów Vallavielle-Pope i wsp. (1995) nad wpływem temperatury w zakresie 5–35°C na kiełkowanie urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici*. Największą liczbę kiełkujących zarodników w tych doświadczeniach stwierdzono w temperaturze 15°C, a najmniejszą w następstwie zastosowania temperatury 35°C. W temperaturze 30°C kiełkowało mniej urediniospor niż w temperaturach niższych, a w temperaturach 10 i 20°C proces kiełkowania przebiegał intensywniej niż w temperaturze 5°C. Zbieżne z wynikami badań własnych są również rezultaty doświadczeń Eversmeyera i wsp. (1988), którzy w doświadczeniach ukierunkowanych na poznanie procesu kiełkowania urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* zastosowali temperaturę w zakresie 12–20°C i wykazali największą liczbę kiełkujących zarodników w temperaturze 16°C. Termiczną stymulację procesu kiełkowania urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* potwierdzają również wyniki eksperymentów Tollenaara (1985), który w badaniach nad kiełkowaniem urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* zastosował następujące temperatury: 0, 4, 8, 24, 28, 30, 32, 34, 36°C. W tych warunkach największą liczbę kiełkujących zarodników stwierdzono w temperaturze 20°C. Podwyższanie i obniżanie temperatury prowadzenia eksperymentu skutkowało zmniejszeniem liczby kiełkujących zarodników.

Wyniki badań własnych nad wpływem temperatury na proces kiełkowania zarodników wyrażono w formie następujących równań:

$$\text{KIELK}^{\text{PDA+sok}} = 0,000039 \times ((T - 1,074)^{1,689} \times (30,0001 - T)^{2,036})$$

$$\text{KIEL}^{\text{PDA}} = 2,82E - 15 \times ((T - (-12,7887))^{5,596427} \times (39,13517 - T)^{4,638157})$$

$\text{KIELK}^{\text{PDA+sok}}$ – intensywność kiełkowania na pożywce PDA z sokiem z roślin pszenicy,
 KIEL^{PDA} – intensywność kiełkowania na pożywce PDA,
 T – temperatura [°C].

Literatura / References

- Buck J.W., Dong W., Mueller D.S. 2010. Effect of light exposure on in vitro germination and germ tube growth of eight species of rust fungi. *Mycologia* 102 (5): 1134–1140.
- Dooley H.L. 1984. Temperature effect on germination of uredospores of *Melampsorium betulinum* and on rust development. *Plant Dis.* 68: 686–688.
- Elahinia S. 2000. Assessment of urediniospore germination of *Puccinia striiformis* at various temperatures on agar and detached leaves of wheat. *J. Agr. Sci. Tech.* 2: 41–47.
- Eversmeyer M.G., Kramer C.L., Hassan Z.M. 1988. Environmental influences on the establishment of *Puccinia recondita* infection structures. *Plant Dis.* 72 (5): 409–412.
- Tapsoba H., Wilson J.P. 1997. Effects of temperature and light on germination of urediniospores of the pearl millet rust pathogen, *Puccinia substriata* var. *indica*. *Plant Dis.* 81: 1049–1052.
- Tollenaar H. 1985. Uredospore germination and development of some cereal rusts from south-central Chile at constant temperatures. *Phytopathol. Z.* 114: 118–125.
- Vallavielle-Pope C., Huber L., Leconte M., Goyeau H. 1995. Comparative effects of temperature and interrupted wet periods on germination, penetration, and infection of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. striiformis* on wheat seedlings. *Phytopathology* 85: 409–415.
- Wagoner P.E., Parlange J. 1975. Slowing spore germination with changes between moderately warm and cool temperatures. *Phytopathology* 65: 551–553.

W doświadczeniach ukierunkowanych na ocenę wpływu temperatury na nasilenie objawów chorobowych najczęściej urediniospor stwierdzono w efekcie zastosowania temperatury 15°C (tab. 2). Obniżanie i podwyższanie temperatury prowadzenia eksperymentu skutkowało istotnym zmniejszeniem liczby urediniospor.

Wyniki doświadczeń nad rolą temperatury w procesie infekcji wyrażono w formie następującej funkcji:

$$\text{Infekcja}_1 = 0,003332 \times ((T - 3,579)^{1,405} \times (25,055 - T)^{0,988})$$

Na podstawie danych literaturowych zaprezentowanych w badaniach Vallavielle-Pope i wsp. (1995) opracowano następujące równanie:

$$\text{Infekcja}_2 = 0,00000014 \times ((T - 1,095)^{1,447} \times (51,2008 - T)^{3,9584})$$

Przebieg analizowanych funkcji przedstawiono na rysunku 1. Przeprowadzona analiza korelacji wykazała ścisły związek pomiędzy kiełkowaniem urediniospor i efektywnością infekcji (tab. 3). Współczynnik korelacji Pearsona uzyskany jako rezultat porównania wpływu temperatury na kiełkowanie urediniospor na pożywce PDA z efektywnością infekcji oszacowanej na podstawie badań własnych i modelu opracowanego z wykorzystaniem danych literaturowych wynosił odpowiednio 0,99 i 0,97. Nieznacznie mniejsze wartości współczynnika korelacji wynoszące 0,90 i 0,93 odnotowano, kiedy w obliczeniach uwzględniono wyniki doświadczeń, w których kiełkowanie zarodników odbywało się na pożywce PDA z dodatkiem soku z roślin pszenicy.

Wnioski / Conclusions

1. Uzyskane wyniki potwierdzają wpływ temperatury na kiełkowanie urediniospor *P. recondita* f. sp. *tritici* oraz znaczenie tego czynnika w procesie infekcji pszenicy przez *P. recondita* f. sp. *tritici*.
2. Rezultaty przeprowadzonych badań wskazują na ścisły związek efektywności procesu infekcji z kiełkowaniem zarodników.