

Studies on application of mixture of propionic and lactic acid bacteria in the control of selected seed-borne cereal diseases

Badania nad zastosowaniem mieszaniny bakterii propionowych i mlekowych do ograniczenia występowania wybranych chorób zbóż przenoszonych z ziarnem siewnym

Krzysztof Kubiak¹, Romuald Gwiazdowski¹, Daniela Gwiazdowska²

Summary

Attempt of application of mixture of bacteria *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* and *Lactobacillus rhamnosus* in the control of selected seed-borne cereal diseases in the field conditions was undertaken. The experiments were performed in the seasons 2009/2010 and 2010/2011. The seeds used in the experiments were naturally infected with *Pyrenophora graminea* and *Ustilago nuda* (winter barley) as well as contaminated with teliospores of *Tilletia caries* (winter wheat). Tested bacteria were the most efficient in the control of barley leaf stripe. Soaking the seeds during 15 minutes in a mixture of bacteria suspension resulted in the reduction of barley loose smut incidence. Efficacy of tested bacteria in control of common bunt varied between years of experiments. The obtained results indicated the need for further investigations.

Key words: *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Pyrenophora*, *Ustilago*, *Tilletia*

Streszczenie

W celu ochrony zbóż przed wybranymi chorobami przenoszonymi z ziarnem siewnym podjęto próbę zastosowania w warunkach polowych mieszaniny bakterii *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* oraz *Lactobacillus rhamnosus*. Badania prowadzono w sezonach wegetacyjnych 2009/2010 oraz 2010/2011. Do siewu użyto ziarna naturalnie zakażonego przez *Pyrenophora graminea* i *Ustilago nuda* (jęczmień ozimy) oraz zanieczyszczonego teliosporami *Tilletia caries* (pszenica ozima).

Najwyższą skuteczność bakterii obserwowano w ochronie jęczmienia przed *P. graminea* (pasiastość liści jęczmienia). Ograniczenie występowania głównej pyłającej jęczmienia stwierdzono po zastosowaniu 15 minutowego moczenia ziarna w zawiesinie bakterii. Skuteczność bakterii w ograniczeniu występowania śnieci cuchnącej pszenicy była różnicowana w latach badań. Otrzymane wyniki wskazują na potrzebę kontynuacji badań.

Słowa kluczowe: *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Pyrenophora*, *Ustilago*, *Tilletia*

¹ Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
K.Kubiak@iortib.poznan.pl

² Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań

Wstęp / Introduction

Kraje należące do Unii Europejskiej na mocy Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 roku zostały zobowiązane do wprowadzenia zasad integrowanej ochrony roślin w produkcji rolniczej. Celowe więc jest poszukiwanie niechemicznych metod ochrony upraw, między innymi wykorzystujących czynniki biologiczne. W pracy podjęto próbę zastosowania w warunkach polowych mieszaniny bakterii *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* oraz *Lactobacillus rhamnosus* do ograniczenia występowania wybranych chorób zbóż przenoszonych z ziarnem siewnym.

Materialy i metody / Materials and methods

Badania prowadzono w sezonach wegetacyjnych 2009/2010 oraz 2010/2011 w uprawie jęczmienia ozimego i pszenicy ozimej na terenie Polowej Stacji Doświadczalnej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Winnej Górze. Doświadczenie założono w układzie bloków losowanych kompletnych w czterech powtórzeniach, na poletkach o powierzchni 16,5 m². Do siewu użyto naturalnie zakażonego ziarna, pochodzącego z poletek doświadczalnych, na których występowała pasiastość liści jęczmienia (*Pyrenophora graminea*), gównia pyłaca jęczmienia (*Ustilago nuda*) oraz śnieć cuchnąca pszenicy (*Tilletia caries*). Przed siewem na ziarno nanoszono mieszaninę bakterii *P. freudenreichii* spp. *shermanii* oraz *L. rhamnosus*. Bakterie *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* 41 hodowano przez 5 dni na pożywce MRS (De Man Rogosa Sharpe Agar) w temperaturze 30°C, a *L. rhamnosus* 492 przez 2 dni na pożywce MRS w temperaturze 37°C. Następnie przygotowywano mieszaninę hodowli w stosunku 1:1. W pierwszym roku badań, mieszaninę bakterii propionowych i mlekowych aplikowano dwoma sposobami: moczone ziarno przez 5 minut w zawiesinie tych bakterii oraz nanoszono zawiesinę na powierzchnię ziarna przy użyciu zaprawiarki laboratoryjnej. Drugi sposób aplikacji okazał się nieskuteczny, w kolejnym roku badań stosowano tylko moczenie ziarna w zawiesinie bakterii, włączając dodatkowy czas moczenia (15 minut). Kombinację kontrolną stanowiło ziarno niepoddane żadnemu zabiegowi oraz ziarno moczone przez 5 minut w wodzie. Efekty działania mieszaniny bakterii propionowych i mlekowych porównywano też z zaprawą Baytan Universal 094 FS (triadimenol 75 g/l, imazalil 10 g/l, fuberidazol 9 g/l), zastosowaną w dawce 400 ml + 200 ml wody/100 kg ziarna. Ocena występowania chorób na jęczmieniu polegała na policzeniu wszystkich porażonych źdźbeł (pasiastość liści jęczmienia) i kłosów (gównia pyłaca jęczmienia) na każdym poletku. W przypadku śnieci cuchnącej pszenicy, z każdego poletka pobrano z pięciu miejsc po 10 kłosów (łącznie 50 kłosów z poletka), a następnie obliczono procent porażonych kłosów w ocenianej próbie.

Przeprowadzono analizę statystyczną, w której wyniki testu Fishera oceniano na poziomie istotności 5%. Po

stwierdzeniu istotnych różnic dokonano szczegółowego porównania średnich za pomocą testu t-Studenta, wyznaczając najmniejszą istotną różnicę na poziomie istotności 5%.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W sezonie 2009/2010 istotnie mniejszą niż w kontroli liczbę źdźbeł porażonych przez *P. graminea* stwierdzono w obiekcie z zastosowaniem zaprawy Baytan Universal 094 FS oraz w obiekcie, w którym ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 5 minut (tab. 1). Skuteczność działania wynosiła odpowiednio: 99,9 i 86,3%. Nanoszenie bakterii przy użyciu zaprawiarki oraz moczenie ziarna w wodzie nie wpłynęło w sposób statystycznie istotny na liczbę źdźbeł z objawami pasiastości liści jęczmienia. W przypadku *U. nuda*, w większości badanych obiektów nie stwierdzono istotnego wpływu na liczbę porażonych kłosów (tab. 1). Wyjątkiem była zaprawa Baytan Universal 094 FS, która wykazała 100% skuteczności ochrony jęczmienia przed *U. nuda*. Procent kłosów porażonych przez *T. caries* był istotnie mniejszy tylko w obiekcie z zaprawą Baytan Universal 094 FS. Skuteczność działania wynosiła 100%. W obiekcie, w którym ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 5 minut, pomimo braku różnic statystycznie istotnych, obserwowano pewną tendencję do ograniczenia występowania śnieci cuchnącej pszenicy.

W sezonie 2010/2011 istotnie mniejszą niż w kontroli liczbę źdźbeł porażonych przez *P. graminea* stwierdzono w obiekcie z zaprawą Baytan Universal 094 FS oraz w obiektach, w których ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 5 i 15 minut (tab. 2). Skuteczność wynosiła odpowiednio: 100; 92,2 i 95,1%. Liczba kłosów porażonych przez *U. nuda* była istotnie mniejsza po zastosowaniu zaprawy Baytan Universal 094 FS oraz w obiekcie, w którym ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 15 minut (tab. 2). Skuteczność wynosiła odpowiednio: 100 i 46,6%. Istotnie mniejszy niż w kontroli procent kłosów porażonych przez *T. caries* odnotowano w obiekcie z zaprawą Baytan Universal 094 FS oraz w obiektach, w których ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 5 i 15 minut (tab. 2). Skuteczność wynosiła odpowiednio: 99,2; 92,8 i 96,0%.

Skuteczność badanych bakterii w ograniczaniu pasiastości liści jęczmienia była wysoka w obydwu latach prowadzenia doświadczenia. W przypadku śnieci cuchnącej pszenicy, istotne ograniczenie występowania choroby stwierdzono tylko w drugim roku badań. Brak możliwości zapewnienia jednakowych parametrów środowiska w kolejnych latach doświadczenia polowego mógł wpłynąć na zróżnicowanie skuteczności działania zastosowanych bakterii w ograniczeniu występowania śnieci cuchnącej pszenicy. Wiele bakterii wykazuje bowiem wrażliwość na zmieniające się warunki otoczenia (Sobiczewski 2010).

W czasie trwania badań, w obiektach, w których ziarno moczone w zawiesinie bakterii przez 5 i 15 minut obserwowano mniejszą niż w kontroli liczbę roślin w okresie wschodów. Największe obniżenie liczby wschodów, sięgające około 45% wystąpiło na pszenicy moczonej w zawiesinie bakterii przez 15 minut.

Tabela 1. Wpływ zastosowania mieszaniny bakterii propionowych i mlekowych na występowanie chorób przenoszonych z ziarnem na jęczmieniu i pszenicy w sezonie 2009/2010

Table 1. The effect of application of mixture of propionic and lactic acid bacteria on the incidence of barley and wheat seed-borne diseases in the season 2009/2010

Obiekt Object	Pasiastość liści jęczmienia (<i>Pyrenophora graminea</i>)		Głownia pyłająca jęczmienia (<i>Ustilago nuda</i>)		Śnieć cuchnąca pszenicy (<i>Tilletia caries</i>)	
	liczba porażonych żdźbeł na poletku number of infected stems per plot	skuteczność efficacy [%]	liczba porażonych kłosów na poletku number of infected ears per plot	skuteczność efficacy [%]	procent porażonych kłosów per cent of infected ears	skuteczność efficacy [%]
Kontrola Untreated	167,75	–	16,25	–	41,50	–
Moczenie w wodzie Soaking in water	172,50	0,0	17,75	0,0	43,0	0,0
Baytan Universal 094 FS	0,25	99,9	0,00	100,0	0,00	100,0
Bakterie – moczenie 5 minut Bacteria – soaking for 5 minutes	23,00	86,3	14,25	12,3	24,50	41,0
Bakterie – użycie zaprawiarki Bacteria – use of seed treater	135,75	19,1	18,50	0,0	48,00	0,0
NIR (0,05) LSD (0.05)	58,546		7,558		25,718	

Tabela 2. Wpływ zastosowania mieszaniny bakterii propionowych i mlekowych na występowanie chorób przenoszonych z ziarnem na jęczmieniu i pszenicy w sezonie 2010/2011

Table 2. The effect of application of mixture of propionic and lactic acid bacteria on the incidence of barley and wheat seed-borne diseases in the season 2010/2011

Obiekt Object	Pasiastość liści jęczmienia (<i>Pyrenophora graminea</i>)		Głownia pyłająca jęczmienia (<i>Ustilago nuda</i>)		Śnieć cuchnąca pszenicy (<i>Tilletia caries</i>)	
	liczba porażonych żdźbeł na poletku number of infected stems per plot	skuteczność efficacy [%]	liczba porażonych kłosów na poletku number of infected ears per plot	skuteczność efficacy [%]	procent porażonych kłosów per cent of infected ears	skuteczność efficacy [%]
Kontrola Untreated	25,50	–	14,50	–	62,50	–
Moczenie w wodzie Soaking in water	27,50	0,0	12,75	12,1	66,5	0,0
Baytan Universal 094 FS	0,00	100,0	0,00	100,0	0,50	99,2
Bakterie – moczenie 5 minut Bacteria – soaking for 5 minutes	2,00	92,2	10,25	29,3	4,50	92,8
Bakterie – moczenie 15 minut Bacteria – soaking for 15 minutes	1,25	95,1	7,75	46,6	2,50	96,0
NIR (0,05) LSD (0.05)	12,330		6,130		15,452	

Koch i wsp. (2006) prowadzili badania nad możliwością zaprawiania ziarna pszenicy i jęczmienia różnymi mikroorganizmami, w tym bakteriami. Istotne ograniczenie występowania śnieci cuchnącej pszenicy autorzy ci uzyskali między innymi po zastosowaniu szczepu FZB 53 (*Streptomyces* spp.) i preparatu Mycostop Mix (*Streptomyces griseoviridis*). Dwa spośród pięciu testowanych preparatów zawierających *Bacillus subtilis* (Serenade oraz FZB 24) wykazały pewną skuteczność w zwalczaniu *T. caries* w doświadczeniach wazonowych prowadzonych w warunkach kontrolowanych, lecz w doświadczeniu polowym okazały się nieskuteczne. Autorzy ci stwierdzili istotne ograniczenie występowania pasiałości liści jęczmienia w doświadczeniach wazonowych po zastosowaniu szczepu FZB 53 i W 490 (*Streptomyces* spp.) oraz preparatu Serenade (*Bacillus subtilis*). Hökeberg i wsp. (1997) opisali szczep bakterii MA 342 (*Pseudomonas chlororaphis*), który po naniesieniu na ziarno skutecznie chronił pszenicę przed *T. caries*. Johnsson i wsp. (1998) stwierdzili, że skuteczność szczepu MA 342 w ochronie pszenicy przed *T. caries* i jęczmienia przed

P. graminea była na podobnym poziomie, jak skuteczność zaprawy chemicznej.

Wnioski / Conclusions

1. Po zastosowaniu mieszaniny bakterii propionowych i mlekowych obserwowano ograniczenie występowania chorób przenoszonych z ziarnem zarówno na jęczmieniu ozimym (pasiałość liści jęczmienia i gównia pyląca jęczmienia), jak i na pszenicy ozimej (śnieć cuchnąca pszenicy).
2. Najwyższą skuteczność badanych bakterii stwierdzono w ograniczaniu pasiałości liści jęczmienia.
3. Ograniczenie występowania gówni pylącej jęczmienia (mniejsze od 50%) obserwowano po zastosowaniu 15 minutowego moczenia ziarna w zawieszynie bakterii.
4. Skuteczność działania bakterii w ograniczeniu występowania śnieci cuchnącej pszenicy była zróżnicowana w latach badań.
5. Otrzymane wyniki wskazują na potrzebę kontynuacji badań.

Literatura / References

- Hökeberg M., Gerhardson B., Johnsson L. 1997. Biological control of cereal seed-borne diseases by seed bacterization with greenhouse-selected bacteria. Eur. J. Plant Pathol. 103: 25–33.
- Johnsson L., Hökeberg M., Gerhardson B. 1998. Performance of the *Pseudomonas chlororaphis* biocontrol agent MA 342 against cereal seed-borne diseases in field experiments. Eur. J. Plant Pathol. 104: 701–711.
- Koch E., Weil B., Wächter R., Wohlleben S., Spiess H., Krauthausen H.J. 2006. Evaluation of selected microbial strains and commercial alternative products as seed treatments for the control of *Tilletia tritici*, *Fusarium culmorum*, *Drechslera graminea* and *D. teres*. J. Plant Dis. Prot. 113 (4): 150–158.
- Sobiczewski P. 2010. Bakterie w ochronie roślin przed agrofagami – znaczenie gospodarcze i biotechnologia. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 50 (3): 1064–1073.