Variability of the occurrence of *Epicoccum nigrum* on grain of three cultivars of winter wheat depending on cultivation system and stubble height

Zmienność występowania *Epicoccum nigrum* na ziarnie trzech odmian pszenicy ozimej w zależności od systemu uprawy roli i wysokości ścierni

Ryszard Weber[1], Włodzimierz Kita[2]

Summary

The study was aimed at log-linear analysis and determining the intensity occurrence of *Epicoccum nigrum* on wheat grain depending on cultivar factors, cultivation system, stubble height and weather conditions. Three factors were taken into consideration: I – tillage systems, i.e. simplified plough-free, conventional and direct sowing; II – low stubble (10 cm) and high stubble (40 cm); III – winter wheat cultivars. The analysis of correspondence revealed that the intensity of grain colonization of winter wheat cultivars by *E. nigrum* was directly related to a soil cultivation system and stubble height. In the case of low stubble, the intensity of occurrence of *E. nigrum* was significantly higher. The cultivar Rapsodia showed to be highly susceptible to the fungus colonization, while the cultivars Mewa and Legenda were more resistant. Irrespectively of the stubble height the highest grain colonization was recorded on wheat cultivated with the conventional system. Nevertheless, a significantly smaller number of *E. nigrum* isolates was found on wheat grain the zero experimental plots.

Key words: cultivation systems, *Epicoccum nigrum*, winter wheat, cultivars

Streszczenie

Celem badań była analiza log-liniowa i korespondencji zmienności występowania *Epicoccum nigrum* w zależności od odmiany, systemu uprawy, wysokości ścierni i warunków pogodowych. Zastosowano trzy sposoby uprawy roli: Czynnik I: a) uprawa uproszczona, bezpłużna, b) uprawa konwencjonalna – płużna, c) siew bezpośredni. Czynnik II: wysokość ścierni: a) niskie ściernisko (10 cm), b) wysokie ściernisko (40 cm). Czynnik III: odmiany pszenicy ozimej. Analiza korespondencji wykazała znaczne zróżnicowanie liczebności *E. nigrum* na ziarnie badanych odmian w zależności od wysokości ścierni i systemu uprawy roli. Stwierdzono istotne większe liczebności izolatów *E. nigrum* na ziarnie pszenicy w warunkach niskiej ścierni. Dużą wrażliwością na zasiedlanie ziarniaków pszenicy przez *E. nigrum* odznaczała się odmiana Rapsodia. Odmiany Mewa i Legenda wykazywały zwiększoną odporność na ten gatunek grzyba. Niezależnie od wysokości ścierni zwiększone liczebności grzyba stwierdzono na ziarniakach odmian pszenicy w warunkach uprawy tradycyjnej. Na poletkach uprawy zerowej (siewu bezpośredniego) wykazano istotnie mniejszą liczbę izolatów *E. nigrum*.

Słowa kluczowe: systemy uprawy, *Epicoccum nigrum*, pszenica ozima, odmiany

[1] Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli
Orzechowa 61, 50-540 Wrocław
weber@iung.pulawy.pl

[2] Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Ochrony Roślin
Pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław

Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 53 (1): 150-155
ISSN 1427-4337

Wstęp / Introduction

Epicoccum nigrum Link (syn. *E. purpurascens* Ehrenb. Ex Schlecht) jest rozpowszechnionym na świecie saprofitycznym gatunkiem, który kolonizuje nie tylko zasiewy zbóż, lecz również inne rośliny uprawne (Pusz 2009; Wiewióra 2011). Gatunek ten jest łatwo rozpoznawalny poprzez kuliste wielokomórkowe konidia posiadające grube wielowarstwowe ściany o nieregularnej powierzchni (Mims i Richardson 2005). Sztucznie wyhodowane kolonie grzyba mają odcień czerwony, pomarańczowy lub żółty. Zarodniki tego grzyba unoszą się w dużych ilościach w powietrzu, zarówno na zewnątrz i wewnątrz pomieszczeń użytku publicznego (Pląskowska i wsp. 2011). Wdychane konidia powodują u ludzi reakcje alergiczne. Chapman i Willians (1984) wykazali, że *E. nigrum* powodował u znacznej liczby pacjentów pozytywne reakcje skórne. Gatunek ten może wywołać również alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych. Grzyb ten może być wykorzystany jako czynnik biologiczny w zwalczaniu niektórych chorób roślin.

E. nigrum wspólnie z *Alternaria alternata* może ograniczać rozwój fuzariozy kłosa i zmniejszać zawartość deoxynivalenolu w ziarnie zbóż (Muthomi i wsp. 2008). Jednak znaczne zróżnicowanie odporności odmian na grzyby patogeniczne, jak również zmiany środowiska glebowego w postaci różnych systemów zagospodarowania resztek pożniwnych wskazują, że wyżej wymienione czynniki mogą wywierać znaczny wpływ na populację *E. nigrum*.

Celem pracy była analiza zmienności liczebności grzyba *E. nigrum* w zależności od systemu uprawy, wysokości ścierni i odmiany pszenicy ozimej.

Materiały i metody / Materials and methods

Badania przeprowadzono w latach 2009–2011 w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa na Dolnym Śląsku. Tabela 1. zawiera charakterystykę warunków pogodowych w badanych sezonach wegetacyjnych. Doświadczenie założono w układzie split-split-plot w 4 powtórzeniach, na glebie płowej – piasku gliniastym mocnym zalegającym na glinie lekkiej. Przedplonem była pszenica ozima, którą wysiano po rzepaku ozimym. Badano następujące czynniki doświadczenia: czynnik I – zbiór przedplonu pszenicy: a) niska ścierń (10 cm), b) wysoka ścierń (40 cm); czynnik II – sposoby uprawy roli: a) siew bezpośredni, b) uprawa bezpłużna, c) uprawa konwencjonalna – płużna; czynnik III – odmiany pszenicy ozimej: Mewa, Rapsodia, Legenda. W każdym roku badań wykonywano analizę mikologiczną 300 ziarniaków (z każdego obiektu doświadczenia) na pożywce PDA (Potato Dextrose Agar), zakwaszonej do pH 5,5 kwasem cytrynowym. Ziarniaki płukano pod bieżącą wodą, a następnie przepłukiwano 3-krotnie w wodzie sterylnej. Tak przygotowane ziarniaki wykładano na szalki Petriego z pożywką i inkubowano w termostacie, w temperaturze 23°C przez 7–10 dni. Ukazujące się kolonie grzybów przeszczepiano na skosy z pożywką PDA i oznaczano do gatunku według dostępnych monografii. Powiązania między liczbą izolatów *E. nigrum* a wysokością ścierni, sposobem uprawy, odmianą pszenicy oraz latami badań oceniano przy pomocy analizy log-liniowej i analizy korespondencji. Wszelkie istotne odchylenia liczebności obserwowanych od oczekiwanych wskazują w tej analizie na istnienie zależności (interakcji) między badanymi zmiennymi.

Analiza korespondencji przedstawia odmiany z przestrzeni 12-wymiarowej (2 wysokości ścierni x 3 systemy uprawy x 2 lata) na dwuwymiarowym wykresie w ten sposób, aby zachować największy zasób zmienności badanych genotypów. Kanoniczna analiza korespondencji umożliwia również ocenę struktury powiązań systemów uprawy z różną wysokością ścierni i odmian pszenicy w przestrzeni dwuwymiarowej biplotu (nałożone dwa wykresy odmian i systemów uprawy) przy zachowaniu pełnej lub prawie pełnej informacji zmienności tych czynników z pierwotnej przestrzeni wielowymiarowej.

Tabela 1. Średnie opady [mm] i temperatura w [°C] w okresie wegetacji
Table 1. Amounts of precipitation [mm] and mean 24hrs air temperature in [°C] during the vegetative period

	Miesiące Months						Okres wegetacji Vegetative period
Wyszczególnienie – Specification	III	IV	V	VI	VII	VIII	III–VIII
Średnie z wielolecia opady Long-term mean precipitation	30,3	36,1	63,7	70,8	77,4	69,9	348,2
2009	60,9	24,7	65,7	180,8	145,1	50,4	527,6
2010	44,0	50,6	136,8	49,4	124,4	83,4	488,6
2011	25,6	25,6	41,1	63,9	112,4	76,6	345,2
Średnie z wielolecia temperatura Long-term mean temperature	3,1	8,0	13,3	16,6	17,8	17,3	12,7
2009	3,8	11,3	13,8	15,6	19,5	18,9	13,8
2010	3,4	8,6	12,4	17,5	21,0	18,9	13,6
2011	4,4	11,4	14,4	18,8	17,9	19,1	14,3

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Analizę optymalnego modelu statystycznego określającego wpływ warunków atmosferycznych, sposobu uprawy roli, wysokości ścierni na liczebność kolonii *E. nigrum* wyizolowanych z ziarna poszczególnych odmian wykonano poprzez obliczenie wartości testu Chi^2 dla efektów głównych oraz interakcji badanych czynników doświadczenia. Obliczone statystyki modelu z współdziałaniami drugiego i trzeciego rzędu są istotnymi wielkościami, dlatego hipotezę o braku zależności liczebności kolonii grzyba od roku badań, sposobów uprawy roli, wysokości ścierni i odmian pszenicy należy odrzucić na poziomie $p < 0,05$. Istotne wartości testu Chi^2 wskazują, że włączenie do rozpatrywanego modelu interakcji drugiego i trzeciego rzędu poprawia jego dopasowanie (tab. 2). Ocenę istotności poszczególnych efektów głównych i ich interakcji zawiera tabela 3.

Analiza wykazała znaczną zmienność liczebności *E. nigrum* wyizolowanych z ziarniaków pszenicy w zależności od warunków atmosferycznych. Stwierdzono również istotne różnice w liczbach izolatów grzyba wyodrębnionych z materiału siewnego u poszczególnych odmian. Na podstawie wyników analizy log-liniowej udowodniono także współdziałanie pomiędzy latami badań i odmianami. Wynik ten wskazuje, że w każdym roku badań wystąpiły znaczne różnice w sumarycznej liczebności analizowanego gatunku grzyba na ziarniakach odmian pszenicy ozimej. Wysokie wartości testu Chi^2 dla interakcji lata x wysokość ścierni oraz lata x systemy uprawy potwierdzają zróżnicowany wpływ warunków środowiskowych na rozwój populacji grzyba *E. nigrum*. Wykazano również istotne współdziałania pomiędzy odmianami pszenicy ozimej i systemami uprawy oraz odmianami i wysokością ścierni. Świadczy to o zróżnicowanym wpływie wysokości ścierni i systemu uprawy na zmiany liczebności izolatów grzyba na ziarniakach badanych odmian pszenicy. Dużą liczebnością w każdym roku badań odznaczał się również *A. alternata* i *Fusarium culmorum*. Grzyby rodzaju *Fusarium* (*F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. sambucinum*, *F. sporotrichioides*) występowały w mniejszych ilościach ze znacznym zróżnicowaniem gatunkowym w poszczególnych latach. Pozostałe gatunki grzybów: *Aspergillus niger*, *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp., *Gliocladium* spp., *Rhizoctonia cerealis*, *Verticillium* spp. występowały sporadycznie w zależności od roku badań. Analizując tabelę liczebności izolatów *E. nigrum* w zależności od wysokości ścierni przedplonu można stwierdzić wzmożone nasilenie grzybów w warunkach niskiej ścierni (tab. 4).

Tabela 2. Analiza istotności interakcji badanych czynników doświadczenia
Table 2. Analysis of significance interaction of studied experimental factors interaction

Liczba czynników No of factors	Stopnie swobody Degrees of freedom	Ch^2 Pearsona Pearsońs Ch^2	Poziom istotności (p) Significance level (p)
1	7	5591,45	0,0000
2	18	167,31	0,0000
3	20	181,78	0,0000
4	8	100,44	0,0000

Tabela 3. Testy związku cząstkowego badanych czynników doświadczenia
Table 3. Tests of partial association of studied experimental factors

Efekt Effect	Stopnie swobody Degrees of freedom	Ch^2 Związek cząstkowy Ch^2 Partial association	Poziom istotności (p) Significance level (p)
1	2	3	4
Lata (1) Years (1)	2	464,82	0,0000
Wysokość ścierni (2) Stubble height (2)	1	20,18	0,0000
Systemy uprawy (3) Tillage systems (3)	2	69,34	0,0000
Odmiany (4) Cultivars (4)	2	37,08	0,0000
1 x 2	2	6,58	0,0371
1 x 3	4	51,64	0,0000
1 x 4	4	21,84	0,0002
2 x 3	2	11,48	0,0032
2 x 4	2	12,62	0,0018
3 x 4	4	25,21	0,0000

1	2	3	4
1 x 2 x 3	4	47,21	0,0000
1 x 2 x 4	4	6,58	0,1592
1 x 3 x 4	8	81,05	0,0000
2 x 3 x 4	4	47,82	0,0000

Tabela 4. Liczby wyizolowanych kultur *E. nigrum* w zależności od systemów uprawy i odmiany
Table 4. Numbers isolated cultures of *E. nigrum* depending on cultivars and tillage systems

Odmiany Cultivars	Niska ścierń – Low stubble			Razem Total
	tradycyjna conventional tillage	bezorkowa reduced tillage	zerowa no-tillage	
Legenda	96	131	103	330
Mewa	162	95	64	321
Rapsodia	182	190	98	470
Razem	440	416	265	1121
	Wysoka ścierń – High stubble			
Legenda	104	71	78	253
Mewa	106	148	75	329
Rapsodia	170	66	99	335
Razem	380	285	252	917

Tabela 5. Wartości własne i bezwładność dla wymiarów analizowanej przestrzeni
Table 5. Specific values and inertia for all dimensions of analysed space

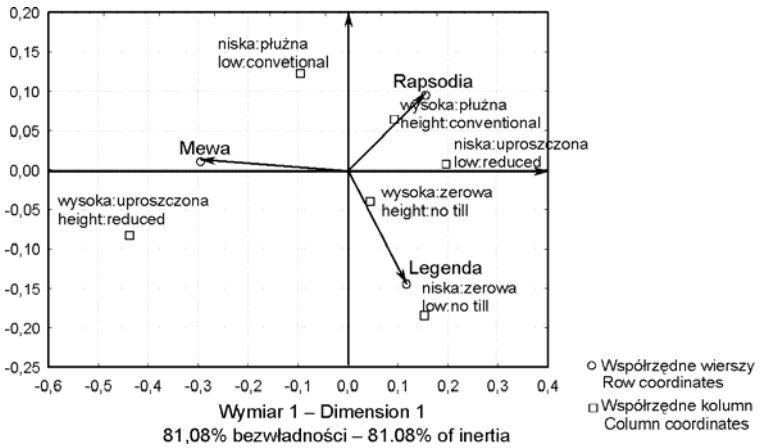
Liczba wymiarów No. of dimensions	Wartości osobliwe Singular values	Wartości własne Specific values	% bezwładności % inertia	Skumulowany procent Cumulated percentage	Test Chi^2 Test Chi^2
1	0,2034	0,0413	81,0778	81,077	84,32**
2	0,0982	0,0096	18,9221	100,00	19,67**

**istotność α = 0,01 – significance α = 0.01

Dużą liczbą wyizolowanych grzybów z ziarniaków pszenicy odznaczała się odmiana Rapsodia. Odmiany Mewa i Legenda wykazywały zwiększoną odporność na zasiedlanie *E. nigrum* na powierzchni ziarna. Niezależnie od wysokości ścierni zwiększone liczebności grzybów stwierdzono na ziarniakach odmian pszenicy w warunkach uprawy tradycyjnej. Na poletkach uprawy zerowej (siewu bezpośredniego) wykazano istotnie mniejszą liczbę izolatów *E. nigrum*.

W tabeli 5. przedstawiono wyniki dotyczące rozkładu macierzy liczebności *E. nigrum* na ziarniakach odmian pszenicy według wartości osobliwych. Zarówno wartości własne, jak również skumulowany procent bezwładności dla dwu wymiarów wskazują, że przyjęcie przestrzeni dwuwymiarowej pozwala na odtworzenie w 100% całkowitej bezwładności. Termin bezwładność w analizie korespondencji jest miernikiem zmienności, która w statystyce określana jest mianem wariancji. Całkowita bezwładność pokazuje nam rozproszenie profili (ilorazów częstości względnych w każdym wierszu lub kolumnie i sumy wszystkich częstości w danym wierszu lub kolumnie) wokół przeciętnych profili – centroid. W ostatniej kolumnie przedstawiony jest rozkład statystyki Chi^2 (poprzez ocenę układu o zmniejszonej liczbie wymiarów), w którym przedstawione są wszelkie odchylenia od wartości oczekiwanych – liczebności izolatów *E. nigrum* na ziarnie odmian pszenicy w zależności od wysokości ścierni, systemu uprawy i lat badań.

Wykres dwuwymiarowy, odzwierciedlający reakcję odmian na analizowane czynniki doświadczenia przedstawiono w ten sposób, aby zachować jak największy procent zmienności z pierwotnej przestrzeni 12-wymiarowej (rys. 1). Duże odległości pomiędzy punktami określającymi odmiany wskazują na istotnie zróżnicowaną reakcję odmian pod względem odporności grzyb *E. nigrum* (rys. 1). Również odległości euklidesowe pomiędzy punktami reprezentującymi systemy uprawy przy różnej wysokości ścierni wskazują na podobieństwo reakcji badanych odmian pod względem liczebności izolatów *E. nigrum*. Można więc stwierdzić, że jedynie w warunkach uprawy zerowej wysokość ścierni nie różnicowała znacząco liczebności izolatów *E. nigrum* u badanych odmian pszenicy ozimej. W pozostałych systemach uprawy wykazano znaczny wpływ wysokości ścierni na liczbę izolatów grzyba *E. nigrum* uzyskanych z ziarniaków badanych odmian pszenicy. Na rysunku 1. można zauważyć, że uprawa zerowa i niska ścierń są silnie powiązane z odmianą Legenda. Na ziarnie tej odmiany



Rys. 1. Biplot zmienności liczby izolatów grzyba *E. nigrum* na ziarnie odmian pszenicy ozimej w zależności od systemów uprawy roli i wysokości ścierni

Fig. 1. Biplot variability of the number of fungal isolates of *E. nigrum* on grain cultivars of winter wheat depending on soil tillage and stubble height

wykazano zwiększoną liczbę izolatów badanego gatunku grzyba w porównaniu do pozostałych odmian. Również rzuty prostopadłe punktów (obrazujące wysoką ścierń i uprawę płużną oraz niską ścierń i uprawę uproszczoną) na wektor odmiany Rapsodia potwierdzają zwiększoną wrażliwość tej odmiany na grzyb *E. nigrum.*

Przestawione wyniki badań potwierdzają istotny wpływ systemów uprawy roli, wysokości ścierni i odmiany na liczbę izolatów *E. nigrum* zasiedlających ziarno pszenicy ozimej. Wyższe liczebności *E. nigrum* w warunkach uprawy konwencjonalnej w porównaniu do wariantów bezpłużnych w wykazali również Kraska i Mielniczuk (2012). Beare i wsp. (1993) analizując liczebności poszczególnych grzybów zasiedlających resztki pożniwne w warunkach zróżnicowanych systemów uprawy roli nie stwierdzili wpływu bezpłużnych wariantów uprawy na zmienność populacji *E. nigrum.* Grzyb ten wspólnie z *A. alternata* zasiedlał resztki pożniwne głównie na powierzchni gleby. Przyczyną zróżnicowanych wyników może być zmienność genetyczna tego gatunku grzyba. Badania wskazują, że w skład gatunku *E. nigrum* wchodzą dwa genotypy o znacznej rozbieżności pod względem morfologicznym, fizjologicznym i genetycznym (Fàvaro i wsp. 2011). Dużą rolę w kształtowaniu populacji tego gatunku grzyba odgrywa płodozmian. Łukanowski i Sadowski (2005) stwierdzili istotnie większe zasiedlanie ziarna przez *E. nigrum* w warunkach monokultury niż w konwencjonalnym, ekologicznym lub integrowanym systemie uprawy. W wielu pracach podkreśla się antagonistyczne działanie tego gatunku grzyba w stosunku do innych grzybów lub bakterii. Mallea i wsp. (1991) wykryli, że dwie rasy *E. nigrum* wyraźnie hamowały wzrost *Staphylococcus ureus* i *Trichophyton mentagrophytes*. Zastosowanie *E. nigrum* na liściach roślin kapustowatych redukowało również poziom infekcji przez grzyby rodzaju *Alternaria* (Pace i Campbell 1974). Badania laboratoryjne wykazały, że *E. nigrum* zmniejszał rozwój kolonii grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (Zhou i wsp. 1996).

Wnioski / Conclusions

1. Analiza korespondencji wykazała znaczne zróżnicowanie liczebności *E. nigrum* na ziarnie badanych odmian w zależności od wysokości ścierni i systemu uprawy roli.
2. Stwierdzono istotne większe liczebności izolatów *E. nigrum* na ziarnie pszenicy w warunkach niskiej ścierni.
3. Dużą wrażliwością na zasiedlanie ziarniaków pszenicy przez *E. nigrum* odznaczała się odmiana Rapsodia. Odmiany Mewa i Legenda wykazywały zwiększoną odporność na ten gatunek grzyba.
4. Niezależnie od wysokości ścierni zwiększone liczebności grzybów stwierdzono na ziarniakach pszenicy w warunkach uprawy tradycyjnej. Na poletkach uprawy zerowej wykazano istotnie mniejszą liczbę izolatów *E. nigrum.*

Literatura / References

Beare M.H., Coleman D.C., Pohlad B.R., Wright D.H. 1993. Residue placement and fungicide effects on fungal communities in conventional and no-tillage soils. Am. J. Alter. Agric. 8: 21–26.

Chapman J.A., Willians S. 1984. Aeroallergens of the southeast Missouri area: a report of skin test frequencies and air sampling data. Ann. Allergy 52 (6): 411–418.

Fàvaro L.Cd.L., de Melo F.L., Aguilar-Vildoso C.I., Araújo W.L. 2011. Polyphasic analysis of intraspecific diversity in *Epicoccum nigrum* warrants reclassification into Separate Speciens. PloS One 6 (8): e14828. doi:10.1371/journal.pone.0014828.

Kraska P., Mielniczuk E. 2012. The occurrence of fungi on the stem base and roots of spring wheat (*Triticum aestivum)* grown in monoculture depending on tillage systems and catch crops. Acta Agrobot. 65 (1): 79–90.

Łukanowski A., Sadowski C. 2005. Wykorzystanie metody PCR do badania jakości ziarna pszenicy ozimej uprawianej w systemach ekologicznym, integrowanym, konwencjonalnym oraz monokulturze w aspekcie fitopatologicznym. Acta Agrobot. 55 (2): 55–70.

Mallea M., Pesando D., Bernard P., Khoulalene B. 1991. Comparison between antifungal and antibacterial activities of several strains of *Epicoccum purpurascens* from the Mediterranean area. Micopathologia 115: 83–88.

Mims C.W., Richardson E.A. 2005. Ultrastructure of sporodochium and conidium development in the fungus *Epicoccum purpurascens*. Microsc. Microanal. 11 (Suppl 2): 168–169.

Muthomi J.W., Riungu G.M., Wagacha J.M. 2008. Management of *Fusarium* head blight of wheat using antagonistic microorganisms. Plant Path. J. 7: 13–19.

Pace M.A., Campbell R. 1974. The effect of saprophytes on infection of leaves of *Brassica* spp. by *Alternaria brassiciola.* Trans. Brtish Mycol. Soc. 63: 193–196.

Pląskowska E., Korol M., Ogórek R. 2011. Grzyby występujące w pomieszczeniach klimatyzowanych. Część 1. Mikologia Lekarska. 18 (4): 178–186.

Pusz W. 2009. Fungi from seeds of *Amaranthus* spp. Phytopathologia 54: 15–21.

Wiewióra B. 2011. Relationship between seedborne fungi of red fescue (*Festuca rubra*) and seed germination capacity. Phytopathologia 60: 47–56.

Zhou T., Reeleder R.D., Sprace S.A. 1996. Influence of nutrients on growth of *Epicoccum nigrum.* Can. J. Microbiol. 42 (7): 647–654.