

INFLUENȚA CONDIȚIILOR DE MEDIU ASUPRA COMPLEXULUI DE AGENȚI PATOGENI AI PUTREGAIULUI DE RĂDĂCINĂ LA GRÂUL COMUN

Lupașcu Galina, Gavzer Svetlana

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova

Rezumat

Prin analize macro- și microscopice a 272 izolate de fungi extrase din baza tulpinilor de grâu comun de toamnă cu semne de putregai de rădăcină, a fost stabilită componența complexului fungic care a produs maladia în condițiile anului 2021. Spre deosebire de ultimii 15-20 de ani, în a. 2021 nu s-a constatat prezența fungului *A. alternata*, s-au înregistrat cu o frecvență mult mai înaltă *F. avenaceum* var. *herbarum* (11,4%) și *D. avenae* (32,35%). Au fost identificate clustere de fungi cu similitudine înaltă în baza frecvenței de înregistrare în spectrul agenților patogeni ai maladii.

Cuvinte cheie: grâu, putregai de rădăcină, fungi, specie, frecvență.

Depus la redacție: 15 Decembrie 2021

Adresă pentru corespondență: Lupașcu Galina, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, str. Pădurii, 20, MD 2002, Chișinău, Republica Moldova; galinalupașcu51@gmail.com

Introducere

Grâul comun (*Triticum aestivum* L.) este una din cele mai importante culturi cerealiere din lume. Conform datelor recente, în țările Uniunii Europene s-au produs aproximativ 242 de milioane de tone de grâu în 2018, fiind precedate de Asia. Principalii producători de grâu din Europa sunt Rusia, Franța, Ucraina și Germania, dar este importantă și contribuția producătorilor din Regatul Unit, Polonia, România și Spania [6].

Deși grâul comun este cultivat în cele mai diferite zone ecologo-geografice, ceea ce denotă potențialul adaptiv înalt al acestei culturi, recolta este adesea compromisă din punct de vedere cantitativ și calitativ din cauza diferitelor perturbări ecologice – temperaturi extreme, secetă care predispun spre îmbolnăviri de diverse boli fungice. Printre numeroasele maladii poate fi menționat putregaiul de rădăcină, cauzat de ciuperci din diferite genuri – *Fusarium* spp., *Bipolaris* / *Drechslera* spp., *Pythium* spp., *Aphanomyces* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp. etc., care au diferite particularități biologice, cerințe față de condițiile climatice și calitate / compoziție a solului. Tocmai acești factori sunt determinanți pentru labilitatea înaltă a spectrului fungic care provoacă putregaiul de rădăcină [9, 11, 12, 16].

Maladia produce grave deteriorări ale plantelor de grâu pe durata întregii perioade de vegetație – putrezirea cariopselor în sol, radiclelor embrionare sau laterale, obturarea vaselor conducătoare ale plantei cu miceliul fungilor, ceea ce conduce la inhibarea creșterii, dezvoltării, ofilirea plantelor, șistăvirea cariopselor, diminuarea recoltei, poluarea boabelor cu micotoxine, ultimul fenomen provocând toxicoze alimentare [7, 9].

Schimbările climatice influențează însușirile și comportamentul multor fungi. De exemplu, autorii Gilardi, Garibaldi, Gullino [5] au constatat în condițiile Italiei că

creșterea temperaturii aerului și concentrației de CO₂ în aer au contribuit la extinderea gazdelor și patogenității fungului *F. equiseti* care este considerat de obicei o specie cu patogenitate slabă.

În baza rezultatelor modelării interacțiunii plantelor de rucolă cu *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* în condiții controlate, autorii Chitarra et al. [3] au ajuns la concluzia că schimbările de mediu pe glob pot influența incidența bolilor cauzate de patogenii din sol prin acțiunea negativă asupra plantelor.

În legătură cu perturbările climatice tot mai severe care influențează în modul cel mai direct sistemele biotice din sol, studiul componentei agenților cauzali ai putregaiului de rădăcină la grâul comun și patogenității acestora a devenit tot mai actual în diferite țări ale lumii. De exemplu, recent în Germania, a fost detectată pentru prima dată specia *F. venenatum* în calitate de agent cauzal al maladiei la grâul comun [15], deși autorii Farr, Rossman [4] stabilise că acest fung în natură este un saprofit nepatogen. În condițiile Iranului s-au înregistrat 9 specii noi de *Fusarium* spp. care au manifestat patogenitate diferită față de grâul comun, pentru care soiurile au răspuns diferit la infectare [14].

Pornind de la cele menționate, scopul prezentelor cercetări a constat în stabilirea componentei speciilor de fungi care produc putregaiul de rădăcină la grâul comun de toamnă în anul 2021, an care a fost precedat de seceta extremă din anul 2020.

Material și metode

Pentru determinarea componentei agenților cauzali ai putregaiului de rădăcină la grâul comun de toamnă, inițial s-au prelevat fragmente de țesuturi de la plante cu simptome de putrezire la baza tulpinii. Plantele reprezentau linii de perspectivă și soiuri: 1 – L Selania/Accent, 2 – L Select/BȚ/Select, 3 – Moldova 16, 4 – Odeschi 267, 5 – Moldova 66, 6 – L Bas./M 30, 7 – L Cub. 101/Bas., 8 – L 1/3 x M 30, 9 – L M/M3, 10 – L Mirg./Od. 162.

Izolarea fungilor din plante s-a produs pe mediul *Potatoe Dextrosis Agar* (PDA) la etapa de maturitate completă a plantelor [18] (Fig. 1). Identificarea speciilor de fungi a fost efectuată în baza analizelor macroscopice (forma coloniei, culoarea și densitatea miceliului, prezența sau lipsa stromei) și microscopice (forma, dimensiunea conidiilor, prezența/lipsa pereților intracelulari, etc.) [1, 17] (Fig. 2).

Indicele de diversitate a fungilor a fost calculat cu ajutorul formulei Margalef: $D_{Mg} = S - 1/\ln N$ (S – numărul speciilor, N – numărul total al izolatelor), iar indicele de dominanță – în baza formulei Berger-Parker [2, 13]: $d = N_{max} / N$ (N_{max} – numărul de izolate al speciei dominante, N – numărul total al izolatelor).

Stabilirea gradului de similitudine a fungilor în baza frecvenței de izolare din plante de grâu s-a efectuat prin analize clusteriene – dendrogramă de repartiție și metoda k -mediilor [8].

Rezultate și discuții

S-a constatat că frecvența speciilor de fungi care produc putregaiul de rădăcină la genotipurile de grâu aflate în studiu, a variat în limitele 0,74 ... 32,35%, cea mai înaltă înregistrându-se pentru *D. avenae* (32,35%), *F. equiseti* (18,75%), *D. sorokiniana* (15,44%), *F. avenaceum* var. *herbarum* (11,40%). Alte specii au fost detectate cu frecvență minoră – 0,74 ... 5,88% (tab. 1).

Tabelul 1. Frecvența sumară a speciilor de fungi izolați din plante de grâu cu simptome de putrefacție la baza tulpinii

Nr.	Specie	Număr izolate	%
1	<i>F. avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (<i>F. av.h.</i>)	31	11,40
2	<i>F. equiseti</i> (<i>F. eq.</i>)	51	18,75
3	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> (<i>F. sp.t</i>)	16	5,88
4	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> (<i>F. o.o.</i>)	16	5,88
5	<i>F. solani</i> (<i>F. sol.</i>)	14	5,15
6	<i>F. semitectum</i> (<i>F. sem.</i>)	2	0,74
7	<i>F. heterosporum</i> (<i>F. het.</i>)	10	3,68
8	<i>R. solani</i> (<i>R. sol.</i>)	2	0,74
9	<i>D. sorokinana</i> (<i>D. sor.</i>)	42	15,44
10	<i>D. avenae</i> (<i>D. av.</i>)	88	32,35
	<i>Total:</i>	272	100,0

Este de menționat că pentru prima dată în ultimii 15-20 de ani din plante de grâu comun cu semne de putrezire a bazei tulpinii nu s-au izolat tulpini de *A. alternata* (de pe același sector de cultivare). De exemplu, în anii 2019, 2020 rata acestora a constituit 12,2; 9,3% în spectrul agenților cauzali [10]. În schimb, în anul 2021 s-a înregistrat cu frecvență destul de înaltă *F. avenaceum* var. *herbarum* – 11,40% (fig. 1) care în anii 2019, 2020 a constituit doar 3,3 și 0,0%, respectiv.

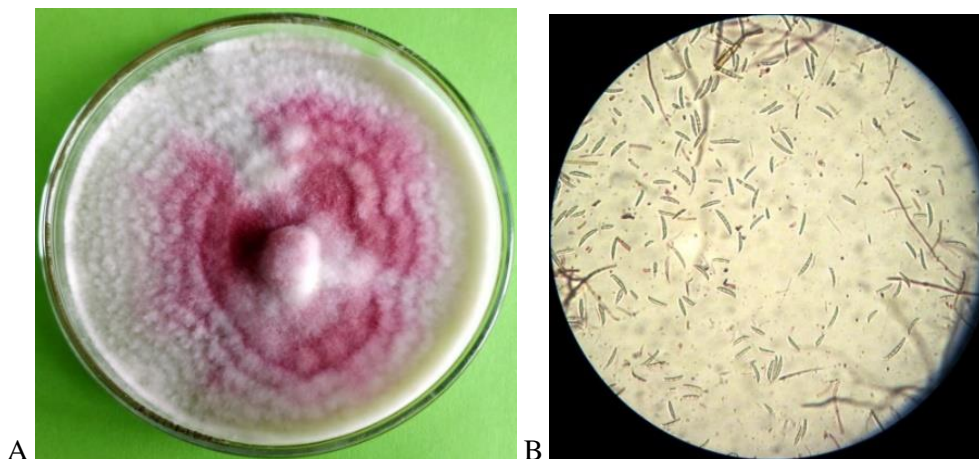


Figura 1. Aspecte macro- (A) și microscopice (B) ale fungului *F. avenaceum* var. *herbarum*

Frecvența speciilor de fungi a fost diferită în cadrul fiecărui genotip de grâu. Speciile *F. avenaceum* var. *herbarum* și *F. equiseti* au fost izolate din toate genotipurile cu frecvența 2,7 ... 23,08% și 2,78 ... 30,77%, respectiv. Acești fungi au fost depășiți după frecvență de *D. sorokiniana* și *D. avenae* care n-au fost detectați doar la 1-2 genotipuri de grâu, însă la celelalte s-au înregistrat în număr mult mai mare – 7,69 ... 26,67% și 16,22 ... 68,17%, respectiv (tab. 2).

Analiza clusteriană a *k*-mediilor a demonstrat că separarea genotipurilor de grâu în 3 clusterse după posibilele valori – mici, medii, mari ale frecvenței fungilor izolați, a

fost mai reușită în cazul fungilor *F. equiseti* și *D. avenae*, fapt confirmat de valorile mai înalte ale varianței interclusteriene comparativ cu cea intraclusteriană (tab. 3).

Tabelul 2. Frecvența (%) speciilor de fungi la genotipurile de grâu comun de toamnă

Specie	Genotipuri de grâu									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>F. av.h.</i>	9,1	6,67	2,7	16,13	8,33	15,78	15,79	23,08	4	23,08
<i>F.eq.</i>	4,55	6,67	24,32	70,97	2,78	21,05	10,53	3,85	16	30,77
<i>F.sp.t.</i>	0	20	5,41	0	2,78	0	21,05	3,85	4	0
<i>F.o.o.</i>	0	0	10,81	9,68	2,78	0	0	0	20	23,08
<i>F.sol.</i>	0	0	8,11	3,22	11,11	0	0	0	16	15,38
<i>F.sem.</i>	0	0	0	0	0	10,53	0	0	0	0
<i>F.het.</i>	0	0	0	0	0	21,05	0	23,07	0	0
<i>R.sol.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
<i>D.sor.</i>	18,18	26,67	32,43	0	22,22	10,53	10,53	23,08	8	7,69
<i>D.av.</i>	68,18	40	16,22	0	50	21,05	42,1	23,07	24	0

Notă: 1 ... 10 – ordinea genotipurilor de grâu conform "Material și metode"

Tabelul 3. Analiza varianței clusterelor

Specie	Varianță interclusteriană	df	Varianță intraclusteriană	df	F	p
<i>F. av.h.</i>	131,432	2	358,416	7	1,284	0,335
<i>F. eq.</i>	2722,514	2	1083,366	7	8,796	0,012
<i>F. sp.t.</i>	198,297	2	386,697	7	1,795	0,235
<i>F. o.o.</i>	335,623	2	375,118	7	3,132	0,107
<i>F. sol.</i>	59,502	2	342,956	7	0,607	0,571
<i>F. sem.</i>	16,632	2	83,161	7	0,700	0,528
<i>F. het.</i>	291,986	2	488,684	7	2,091	0,194
<i>R. sol.</i>	9,600	2	48,000	7	0,700	0,528
<i>D. sor.</i>	366,884	2	559,330	7	2,296	0,171
<i>D. av.</i>	3705,474	2	529,010	7	24,516	0,001

Dendrograma de repartitie a demonstrat diferențele de similitudini și deosebiri ale speciilor identificate în ceea ce privește frecvența atestată la cele 10 genotipuri de grâu aflate în studiu. Fungii *F. avenaceum* var. *herbarum* (11,40%), *F. equiseti* (18,75%), *D. sorokinana* (15,44%), *D. avenae* (32,35%) care s-au deosebit de alte specii prin frecvență mai înaltă, au format clusteruri mai mult sau mai puțin separate, la distanțe euclidiene pronunțate unele de altele (fig. 3).

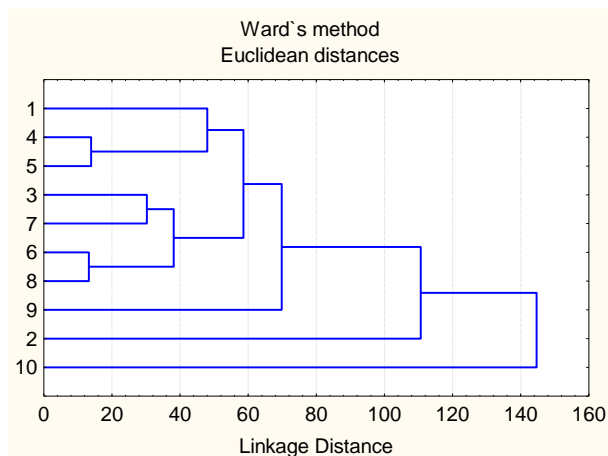


Figura 2. Dendrograma de repartiție a fungilor în baza frecvenței înregistrată la mostrele de grâu cu semne de putregai de rădăcină

1 – *F. avenaceum* var. *herbarum*, 2 – *F. equiseti*, 3 – *F. sporotrichiella* var. *tricinctum*, 4 – *F. oxysporum* var. *orthoceras*, 5 – *F. solani*, 6 – *F. semitectum*, 7 – *F. heterosporum*, 8 – *R. solani*, 9 – *D. sorokiniana*, 10 – *D. avenae*.

Indicele de diversitate (D_{Mg}) a constituit 1,43, iar de dominanță (d) – 0,33 care a revenit speciei *D. avenae*.

Concluzii

1. Analiza macro- și microscopică a 272 izolate de fungi, extrase pe mediu PDA din baza tulpinilor de grâu comun de toamnă, cu semne de putregai de rădăcină, a demonstrat implicarea a 10 specii de micromicete în dezvoltarea maladii.
2. Cea mai înaltă frecvență s-a constatat pentru *D. avenae* (32,35%), *F. equiseti* (18,75%), *D. sorokiniana* (15,44%), *F. avenaceum* var. *herbarum* (11,4%). În anul 2021, spre deosebire de ultimii 15-20 de ani, nu s-a înregistrat prezența fungului *A. alternata* și s-au constatat cu frecvență mult mai înaltă *F. avenaceum* var. *herbarum*, *D. avenae*.
3. Prin analize clusteriene (k -medii, dendrogramă de repartiție) s-a constatat că o capacitate mai înaltă de diferențiere a celor 10 genotipuri de grâu aflate în studiu în baza gradului de infectare manifestă speciile *F. equiseti* și *D. avenae*, ceea ce denotă specificitatea de reacție mai pronunțată la acești patogeni. Au fost identificate clustere de fungi cu similitudine înaltă conform frecvenței de infectare a plantelor de grâu.

Articolul a fost elaborat în baza cercetărilor efectuate în cadrul Proiectului 20.80009.7007.04 „Biotehnologii și procedee genetice de evaluare, conservare și valorificare a agrobiodiversității”.

Bibliografie

1. Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 pp.
2. Caruso T., Pigino G., Bernini F. et al. The Berger-Parker index as an effective tool for monitoring the biodiversity of disturbed soils: A case study on Mediterranean oribatid (Acari: Oribatida) assemblages. Biodiversity and Conservation, 2007, 16, p. 3277-3285.

3. Chitarra W., Siciliano I., Ferrocino I., Gullino M.L. Effect of Elevated Atmospheric CO₂ and Temperature on the Disease Severity of Rocket Plants Caused by Fusarium Wilt under Phytotron Conditions. PLoS ONE 10(10), 2015:e0140769. DOI:10.1371/journal.pone.0140769
4. Farr D.F., Rossman A.Y. Fungal databases. Syst. Mycol. Microbiol. Lab., ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>.
5. Gilardi G., Garibaldi A., Gullino M.L. Emerging pathogens as a consequence of globalization and climate change: leafy vegetables as a case study. Phytopathologia Mediterranea, 2018, 57, 1, p.146–152
<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/europe-wheat-market>
6. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/europe-wheat-market>
7. Ji F., He D., Olaniran A.O., M. P. Mokoena M.P., Hu J., Shi J. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2019, vol. 1, nr. 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-019-0007-2>
8. Kaushik M., Mathur B. Comparative Study of K-Means and Hierarchical Clustering Techniques. Intern. Journal of Software and Hardware Research in Engineering, 2014, Vol. 2, Issue 6, p. 93-98.
9. Kiecana I., Cegiello M., Rachoń L. et al. The occurrence of fungi on roots and stem bases of *Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. Thell. grown under two levels of chemical protection and harmfulness of *Fusarium graminearum* Schwabe to seedlings of selected genotypes. Acta Agrobot., 2016, 69(3), p. 1657.
10. Lupașcu G., Gavzer S. Influența etapei ontogenetice a plantei-gază și condițiilor climatice asupra complexului fungic care produce putregaiul de rădăcină la grâu. Buletinul AȘM. Științele vieții, 2020, Nr 2(341), p. 80-86.
11. Lupașcu G. Putregaiul de rădăcină la grâul comun de toamnă. Chișinău: Print-Caro, 2020, 120 p.
12. Lupașcu G., Sașco E., Gavzer S. Componenta speciilor de fungi care produc boli la *Triticum aestivum* L. Buletinul AȘM. Seria Științele vieții, 2008, nr. 2 (305). p. 66-73.
13. Margalef R. Perspectives in Ecological Theory. University of Chicago Press, Chicago, IL, 1968, p.111.
14. Minati M.H. First record of nine *Fusarium* spp. causing root rot on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iraq: AIP Conference Proceedings 2290, 020009, 2020, p. 1-18; <https://doi.org/10.1063/5.0027398>.
15. Rigorth K.S., Finckh M.R., Sisic A. First Report of *Fusarium venenatum* Causing Foot and Root Rot of Wheat (*Triticum aestivum*) in Germany. // Plant Disease, 2021, Vol. 105, nr. 6, p.1855.
16. Scherm B., Balmas V., Spanu F. et al. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. Mol.Plant Pathol., 2013, 14(4), p. 323–341.
17. Булай В.И. Фузариин. Киев: Наукова думка, 1977. 422 с.
18. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.