

Undersøgelse over goldfodsygesvampen *Ophiobolus graminis* (Sacc.)

I. Undersøgelse over virulensens variation, kornarternes modtagelighed og udbyttedepression ved smitte med *Ophiobolus graminis*.

Ved *B. Dam Christensen*

782. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur.

I årene 1965-66 er der ved botanisk afdeling på Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby, udført en række undersøgelser over virulensen hos *Ophiobolus graminis* og nogle faktorerers indvirkning på denne. Beretningen er udarbejdet af plantepatolog *B. Dam Christensen*.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Indledning

Undersøgelsen var i første omgang kun tænkt som en afprøvning af en serie isolater af goldfodsygesvampen *Ophiobolus graminis* for derigennem at beregne den gennemsnitlige angrebsgrad over for de fire kornarter rug, havre, hvede og byg.

Under afprøvningsarbejdet har det imidlertid vist sig, at mange forhold har indvirkning på virulensen hos *O. graminis*. Dette har medført, at arbejdet har fået et større omfang end oprindeligt tænkt og stadig fortsættes, hvorfor nærværende beretning kun må betragtes som foreløbig.

Skønt arbejdet har løbet siden 1964, er der kun medtaget resultater fra 1965-66, idet der i begyndelsen, dels på grund af uegnede undersøgelsesforhold, dels mangelfuld afprøvningsteknik, ikke opnåedes anvendelige resultater. Som et eksempel herpå kan nævnes, at en for høj temperatur i væksthuset under afprøvningen af svampens virulens viser sig at hæmme svampens vækst meget stærkt, således at angreb på planterne ikke forekommer.

Materiale

De her anvendte isolater, i alt 36, er taget fra stubprøver indsendt til Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby. Isolation er hovedsagelig udført som mycelisolater, hvilket foregår ved at:

1. indpakke udklippede rodstykker (3-4 mm lange), som er angrebet af *O. graminis*, i gaze,
2. afvaske gazepakken omhyggeligt med sæbe og vand,

3. foretage en grundig udvaskning af gazen ved i ca. 15 minutter at lade denne ligge i en langsomt rindende vandstrøm,
4. neddykke de indpakkede rodstumper i 60-80 sekunder i en 1%-opløsning af AgNO_3 ,
5. udfælde den tiloversblevne sølvnitrat-mængde ved neddykning af gazen i en 5%-opløsning af NaCl i 4-5 sekunder,
6. udvaske gazen med sterilt vand,
7. anbringe rodstumperne på kartoffel-dextrose-agar i petriskåle, som henstilles ved stuetemperatur (ca. 21°C).

Efter nogle få dage vokser svampen ud og er forholdsvis let kendelig på sit mycelium, som har om-bøjede hyfespidser.

Svampen overføres nu til en steril petriskål med K.D.A. og rendyrkes. Når svampen er rendyrket, overføres den til rørglas med gær-agar og henstilles ved stuetemperatur til senere brug som stamkultur.

Forsøgsmetodik

Undersøgelsen af isolaterne blev foretaget på vårformen af de 4 kornarter rug, hvede, havre og byg. Der anvendtes følgende sorter:

Rug: Petkus Vårrug
Hvede: Heine Koga II
Havre: Svaløf Stål F
Byg: Carlsberg II

Inokulum frembragtes ved at dyrke *O. graminis* på en blanding af valsede byggryn og jord (muld) i vægtforholdet 1:10.

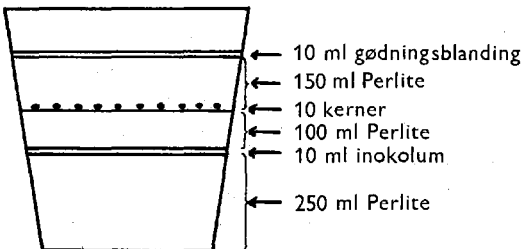
Efter to autoklaveringer med et døgn mellemrum i 45 min. ved 1,8 atm., blev svampen podet på substratet, hvoraf der var 600 ml i hver 1000 ml glaskolbe.

Inokulum henstilledes ved stuetemperatur i ca. 2 måneder og omrystedes gentagne gange for at sikre en fuldstændig gennemvoksning.

Kornet, hvorpå svampen undersøgtes, dyrkedes i plast-urtepotter med en højde på 11 cm og en øverste diameter på 11 cm.

Substratet, hvori kornet voksede, var Perlite, et vulkansk mineral, hvis volumen er mangedoblet (10-15 gange) ved opvarmning. Produktet er meget let og porøst og er velegnet til at dyrke korn i, men det høje bortal (ca. 30) menes at være årsagen til nekrotiske pletter på rødder af byg, når disse når en vis alder. Denne mørkfarvning kan ligne den mørkfarvning, som svampens vækst på planternes rødder forårsager. Det er derfor af betydning, at planterne ikke bliver for »gamle«, d.v.s. går over i gulmodenhedsstadiet, da en bedømmelse af angrebsgraden derved bliver vanskelig.

De enkelte potter fyldtes som vist på nedenstående skitse:



Gødningsblandingen var fremstillet efter samråd med forsøgsleder *S. T. Jacobsen*, Karforsøgsstationen, Taastrup, og havde nedenstående sammensætning:

- 50 g CaSO_4
- 43 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
- 26 g KNO_3
- 25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 5 g MnSO_4
- 5 g CuSO_4
- 5 g ZnSO_4
- 5 g ferricitrat

Kemikalierne blandedes med næringsfattigt sand, til der i alt var en liter, og af denne blanding anvendtes 10 ml/potte som gødning. Dette var i reglen tilstrækkeligt til, at planterne kunne vokse til grønmodenhedsstadiet, uden at der fremkom mangelsymptomer.

Der tilførtes vand fra et brusersystem, som blev trukket hen over potterne; på denne måde nedvandedes næringsstofferne til planternes rødder og en ensartet fordeling af vandet til potterne opnåedes.

Planterne dyrkedes i væksthushold, og temperaturen holdtes omkring 12°C . Den relative luftfugtighed var i begyndelsen af forsøgsrækken ret svingende, men efter anskaffelse af apparatur til regulering deraf, kunne den holdes omkring 75 pct.

Planterne høstede ved overgangen fra grøn- til gulmodenhedsstadiet, og følgende egenskaber målt og bedømtes:

1. Spireprocenten.
2. Strållængden.
3. Vægt af strå + kerne/potte (frisk, grønt materiale).
4. Vægt af enkeltplante (beregnes).
5. Angreb af goldfodsyge (bedømtes i hver potte for sig).

Angrebsgraden bedømtes ved at skønne, hvor stor en procentdel af rodnettets overflade der var mørkfarvet efter svampeangreb.

I det usmittede forsøgsled anvendtes samme mængde »Inokulum« som i de smittede, blot med den forskel, at svampen var dræbt ved autoklavering inden »Inokulum« tilførtes.

Lagttagelser og resultater

Isolaterne var meget forskellige med hensyn til virulens, men visse fællestræk gjorde sig gældende.

Tabel 1. Resultater af smitteforsøg med 36 isolater af *Ophiobolus graminis*

Kornart	Spireprocenten	Strållængde	Vægt af strå + kerne/potte	Vægt af enkeltplante	% af rodnettets angr. af goldfodsyge
Vårhvede	93	65	60	64	48
Vårrug	97	87	79	81	25
Vårbyg	89	92	85	97	28
Havre	101	97	100	101	2

Resultatet af smitteforsøg med alle 36 isolater er fremstillet i tabel 1, hvor tallene i de 4 midterste kolonner er forholdstal.

De i tabel 1 anførte gennemsnitstal er ret usikre, hvilket senere vil blive omtalt, idet bl.a. isolatets alder på gær-agar spiller en stor rolle for virulensen.

Dette forhold undersøgtes både i væksthushus og på friland.

I væksthushusforsøg viste det sig, at isolaternes virulens varierede efter, hvor længe de havde været opbevaret som stamkultur på gær-agar (rørglas).

I fig. 1 er isolaternes virulens over for de fire kornarter angivet som funktion af den tid, de har været opbevaret på gær-agar.

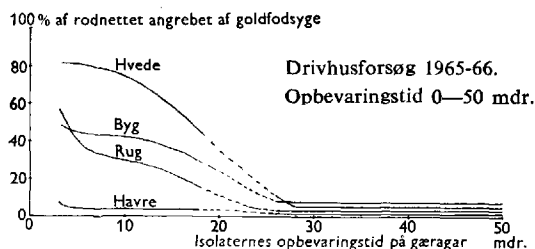


Fig. 1. Virulensen hos *Ophiobolus graminis* efter opbevaring af isolater på gær-agar.

For at sammenligne resultaterne i væksthushuset med resultater fra tilsvarende forsøg i marken, blev der på statens forsøgsstation, Virumgaard, i 1966 udlagt et forsøg, hvor der som smitemateriale anvendtes 69 forskellige isolater, og hvor de 36, som anvendtes i ovenstående forsøg, var med.

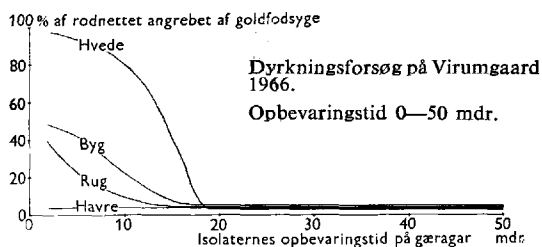


Fig. 2. Virulensen hos *Ophiobolus graminis* efter opbevaring af isolater på gær-agar.

Forsøget udførtes ved side om side til så 4 striber à 2,25 m's bredde; der anvendtes de samme

kornarter og -sorter som i ovenstående undersøgelse i væksthushuset, og der smittedes i 1/2 m brede bæltter på tværs af såretningen ved umiddelbart før såningen at udstrø inokulum (700 g/m^2) og nedharve det.

Ved opgørelsen af forsøget på overgangen mellem grøn- og gulmodenhedsstadiet viste det sig, at kurverne fik omtrent den samme indbyrdes afstand (se fig. 2) som ved forsøget i væksthushuset (fig. 1), dog faldt virulenskurven meget hurtigere i marken end ved forsøg i væksthushuset.

En rimelig forklaring herpå kan være, at den mikrobiologiske aktivitet i jorden har modvirket svampen, således at den aftagende virulens hurtigere har vist sig i markforsøget.

Et andet forhold, som gør sig gældende, er, hvilke værtplanter svampen er isoleret fra.

Tabel 2. Angreb på vårformen af hvede, byg, rug og havre af *Ophiobolus graminis* isoleret fra hvede og byg

Vært- plante	iso- later	% af testplanternes rodnet angrebet af goldfodsyge			
		hvede	byg	rug	havre
Hvede	12	48 (100)	20 (42)	17 (37)	2 (4)
Byg	23	45 (100)	33 (73)	27 (59)	2 (4)
I alt	35 gns.	46 (100)	29 (63)	24 (52)	2 (4)

Tallene i parentes er forholdstal, hvor hvede = 100.

Det viser sig her (tabel 2), at svampeisolater fra byg har en højere virulens over for byg og rug end svampeisolater fra hvede, hvorimod svampeisolater fra hvede har en højere virulens over for hvede end isolater fra byg.

Da det hidtil har vist sig, at hvede er den plante, som er mest modtagelig for *O. graminis*, ville det være interessant at se, om forholdet mellem angrebsgraden på hvede, rug og byg er konstant ved angrebsprocenter fra 0 til 100.

Der er derfor i fig. 3 anvendt hvede som måleplante, og det viser sig her ved de højeste angrebsprocenter, at rug angribes stærkere end byg, men at virulensen over for rug hurtigt falder, således at rug længere nede på skalaen angribes mindre end byg.

I fig. 3 er intervallet 40-80 pct. kun angivet med stiplede linier, idet forsøgsgrundlaget her er for svagt til at kunne benyttes til en kurve.

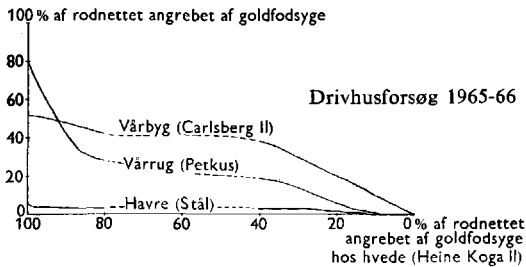


Fig. 3. Virulensen af *Ophiobolus graminis* isolater over for vårhvede sammenlignet med virulensen af de samme isolater for vårformen af rug, byg og havre.

Fig. 4 viser byg anvendt som måleplante, og man ser, hvilket også skulle vise sig, da det er de samme isolater, som er anvendt som grundlag for fig. 3, at angreb på rug ved de høje angrebsprocenter er lidt stærkere end på byg, men at virulensen over for rug hurtigere aftager end virulensen over for byg.

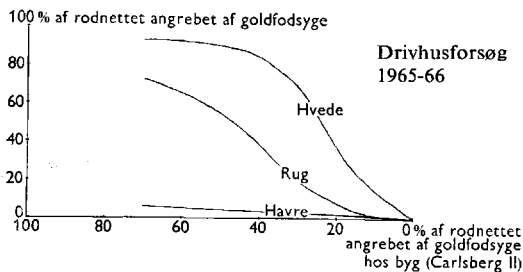


Fig. 4. Virulensen af *Ophiobolus graminis* isolater over for vårbyg sammenlignet med virulensen af de samme isolater over for vårformen af hvede, rug og havre.

Havren har i dette forsøg kun været meget svagt angrebet, og den mørkfarvning, der ligger til grund for de ca. 3-4 pct., som prøverne i gennemsnit har opnået i bedømmelsen for mørkfarvning på rødderne, kan sikkert tilskrives andre faktoreres påvirkning af rodsystemet.

Udbyttedepressionen viser sig i store træk at følge angrebsgraden (se fig. 1, 2 og 5).

Isolaterne med den lave patogenitet synes at have givet et ganske svagt merudbytte i havre, hvorimod der stadig væk er tale om en udbytte-

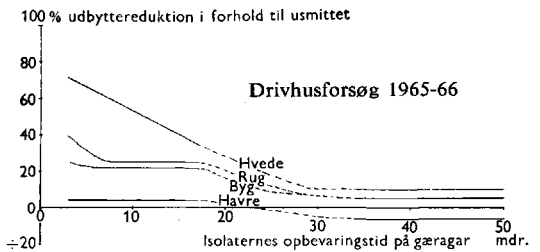


Fig. 5. Udbyttereduktion hos vårformen af rug, hvede, havre og byg ved smitte med isolater af *Ophiobolus graminis* opbevaret på gær-agar i forskellige tidsrum.

nedgang hos de øvrige 3 kornarter ved smitte med isolater med lav virulens.

Endvidere er udbyttedepressionen hos rug tilsyneladende lidt større end hos byg ved de yngste isolater.

En opgørelse over udbyttereduktionen ved smitte med *O. graminis*-isolater fra hvede og byg viser, at udbyttereduktionen på en kornart er størst, når svampen er isoleret fra samme kornart (se tabel 3).

Tabel 3. Udbyttereduktion af testplanter angrebet af *Ophiobolus graminis* isoleret fra forskellige værtplanter

Vært-plante	Antal iso-later	% udbyttereduktion af testplanterne i forhold til usmittet			
		hvede	byg	rug	havre
Hvede	12	41	7	15	÷ 5
Byg	23	36	19	23	1
I alt	35	Gns. 38	15	20	÷ 1

Diskussion og sammendrag

Ophiobolus graminis varierer under væksthushold som vist i fig. 1 stærkt med hensyn til virulens over for kornarterne. Den kornart, som angribes stærkest, er hvede, hvilket også er kendt fra tidligere undersøgelser (Petersen, 1963).

Rugen og byggen deles om andenpladsen med hensyn til modtagelighed. Det viser sig, hvis man ser på mørkfarvningen af rødderne alene (fig. 1), at de højvirulente isolater angriber rugen stærkere end byggen, hvorimod mindre virulente isolaters angrebsgrad synes at være højest hos byg (fig. 1, 3 og 4).

I et forsøg i sommeren 1966 på Virumgaard viste det sig (fig. 2), at *O. graminis*'s virulens hurtigere aftog over for rug end over for byg, ligesom byg gennemgående blev stærkere angrebet end rug.

Markforsøget understreger resultaterne fra væksthushorsøget med en faldende kurve for svampens virulens, og en indbyrdes beliggenhed af angrebskurverne, som svarer nogenlunde til fig. 1.

Den aftagende virulens, som forekommer ved at dyrke *O. graminis* på gær-agar, støtter tidligere undersøgelser over angrebsgraden af goldfodsyge efter afgrøder med forskellig modtagelighed (Petersen, 1963). Det viser sig nemlig her, at svampens angrebsevne er reduceret til et minimum efter et kornfrit år. Dette tyder på, at svampen enten uddør, overlever i sporeform eller overgår til en tilværelse som saprofyt.

En overlevelse i sporeform fra afgrøde til afgrøde synes ikke at ske (Brooks, 1965), men bl.a. Garrett (1966) har påvist, at *O. graminis* kan leve som saprofyt. Det er derfor nærliggende at tro, at denne skiften mellem den saprofytiske og den parasitiske fase er noget karakteristisk for *O. graminis* i dennes livsløb.

Noget sådant synes også at fremgå af tabel 2 og 3; det viser sig nemlig, at *O. graminis*-isolater isoleret fra hvede giver stærkere angreb på hvede (tab. 2) end *O. graminis*-isolater isoleret fra byg, hvorimod isolater fra byg giver højere angreb på byg end isolater fra hvede. Det samme forhold gør sig gældende med hensyn til udbyttedepressionen, idet isolater fra hvede giver større udbyttedepression på hvede end byg-isolater på hvede og omvendt (tab. 3). Dette tyder på, at svampen ved dyrkning på en bestemt kornart kan angribe denne i stærkere grad næste gang, den stilles over for den samme kornart. Dette forhold søges i øjeblikket nærmere belyst gennem mere indgående undersøgelser. Men ved det konstante forhold, som findes i angrebsgraden, må det formodes, at der ikke direkte findes smitteracer, men at en fysiologisk tilvænnning til en modtagelig afgrøde kan finde sted, dersom denne dyrkes gentagne gange på det samme areal.

Summary

Investigation of the variation of the pathogenicity, susceptibility and yield-reduction of spring-sown wheat, rye, barley and oats inoculated with Ophiobolus graminis Sacc.

Isolates of *Ophiobolus graminis* Sacc. were tested for variation in pathogenicity on spring-sown wheat (Heine Koga II), rye (Petkus vårrug), oats (Svaløf Stål F) and barley (Carlsberg II).

The pathogenicity of *O. graminis* varies under greenhouse conditions as shown in fig. 1.

The species of grain which is attacked most severely is wheat which is known from earlier investigations (Petersen, 1963).

Secondly comes rye and barley whose susceptibility is about the same level.

The dark colouring of the root-system (shown in fig. 1) shows that the high-pathogene isolates are damaging the rye more severely than the barley; in opposition to this the damage on barley seems to be more severe using the isolates with the low pathogenicity (fig. 1, 3 and 4).

A field-trial in the summer 1966 on the State Experimental Station Virumgaard, Lyngby (Fig. 2) showed that the pathogenicity of *O. graminis* on rye decreased faster than the pathogenicity on barley.

However, barley was the most susceptible of the two. The field-trial emphasizes the results from the greenhouse with a falling curve for the pathogenicity of the fungus and a mutual position of the curves of attack (shown in fig. 1).

The curves are decreasing faster in the field trials than in the greenhouse trial which might be due to the microbial activity of the ground.

The decreasing pathogenicity which occurs when growing *O. graminis* on yeast agar emphasizes earlier investigations about the degree of attack of take-all on susceptible crops grown after various periods with non-susceptible crops (Petersen, 1963).

The investigation of Petersen (1963) shows that the attack of the fungus seems to be reduced to a minimum after one year without susceptible crops. This suggests that the fungus either dies, survives as spores, or changes to be a saprophyte.

The survival as spores from one crop to another does not seem to be the case (Brooks, 1965), but among others Garrett (1966) showed that *O. graminis* is able to live as a saprophyte.

One therefore may suggest that the change between the saprophytical and the parasitical phase is a characteristic for *O. graminis*.

Table 2 and 3 show that isolates of *O. graminis* from wheat are attacking this crop more severely (tab. 2) than isolates of *O. graminis* from barley, against which isolates from barley are attacking barley more severely than isolates from wheat.

The yield-depression follows the degree of attack, as isolates of wheat give higher yield-depression on wheat, than isolates of barley on wheat and vice versa (tab. 3).

This suggests that the fungus when it is grown on a certain cereal-crop is attacking the same crop more severely next time they meet. These relations are at the moment under investigation.

By the constant scale which is in the degree of attack, one may suggest that races are not to be found but that a physiological habituation to a susceptible crop happens if the crop is grown for longer periods on the same locality.

Text of tables:

Table 1-3:

Table 1. Results of inoculation-trials with 36 isolates of *Ophiobolus graminis*.

Table 2. Attack on spring-sown wheat, barley, rye and oats of *Ophiobolus graminis* isolated from wheat and barley.

Table 3. Percentage loss of yield of testplants attacked by *Ophiobolus graminis*.

Text of figures:

Fig. 1-5:

Fig. 1. Pathogenicity of isolates of *Ophiobolus graminis* after being kept on yeast-agar for various periods. Green-house-trial 1965-66.

Fig. 2. Pathogenicity of isolates of *Ophiobolus graminis* after being kept on yeast-agar for various periods. Field-test on the State Experimental Station Virumgaard 1966.

Fig. 3. Pathogenicity of isolates of *Ophiobolus graminis* on spring-sown wheat compared with the pathogenicity of the same isolates on spring-sown rye, barley and oats. Green-house-trial 1965-66.

Fig. 4. Pathogenicity of isolates of *Ophiobolus grami-*

nis on spring-sown barley compared with the pathogenicity of the same isolates on spring-sown wheat, rye and barley. Green-house-trial 1965-66.

Fig. 5. Yield-reduction of spring-sown rye, wheat, oats and barley inoculated with isolates of *Ophiobolus graminis* kept on yeast-agar in various periods. Green-house-trial 1965-66.

General terms and definitions:

Angrebet	=	Attacked
Byg	=	Barley
Drivhusforsøg	=	Green-house-trial
Forholdstal (Fht.)	=	Relative numbers
Goldfodsyge	=	Take-all
Gær-agar	=	Yeast-agar
Havre	=	Oats
Hvede	=	Wheat
Kerne	=	Grain
Opbevaringstid	=	Time of storage
Rug	=	Rye
Rodnet	=	Root system
Spireprocenten	=	Germination percentage
Strå	=	Straw
Strå længde	=	Height of straw
Udbyttereduktion	=	Yield depression
Usmittet	=	Non-inoculated
Virulens	=	Pathogenicity
Vægt	=	Weight
Værtplante	=	Host-plant
Vårformen	=	Spring-sown

Litteratur

- Brooks, D. H.: Root infection by ascospores of *Ophiobolus graminis* as a factor in epidemiology of the take-all disease. Trans. Brit. Mycol. Soc. 48 (2): 237-248, 1965.
- Garrett, S. D.: Cellulose-decomposing ability of some cereal food-rot fungi in relation to their saprophytic survival. Trans. Brit. Mycol. Soc. 49 (1): 57-68, 1966.
- Petersen, H. Ingv.: Landsomfattende undersøgelser over forekomst af fodsyge i kornmarker i 1961 og 1962. Ugeskr. f. Landm. 108 (31): 487-492, 1963.