

ACȚIUNEA UNOR FACTORI ASUPRA CIUPERCII *CONIOTHYRIUM CONCENTRICUM* (Desm.) Sacc.

VERONICA TUDOȘESCU

În condiții de laborator s-a urmărit: comportarea ciupercii în raport cu mediul de cultură; nutriția carbonului și azotului; influența vitaminelor asupra germinării sporilor și a creșterii miceliului; acțiunea toxică a unor produse fitofarmaceutice.

Dintre mediile de cultură, naturale și sintetice, utilizate pentru creșterea și sporularea ciupercii *Coniothyrium concentricum*, mediul cu extract de cartof plus 2% glucoză și 0,2% peptonă s-a dovedit a fi cel mai bun.

O bună sursă de carbon o constituie glucoza, după care se situează fructoza și maltoza. Rafinoza, lactoza, arabinoza și zaharoza sînt asimilate în proporție scăzută.

Peptona ca sursă de azot este cea mai favorabilă atît pentru creșterea miceliului cît și pentru sporularea. Oxiprolina și thiourea nu pot constitui surse de azot pentru această ciupercă.

Pyridoxina stimulează germinarea sporilor progresiv pînă la concentrația de 200 $\mu\text{g/l}$. Thiamina are efect stimulator în doze de 100—500 $\mu\text{g/l}$, pe cînd riboflavina nu stimulează germinația sporilor decît în doze mai mari de 500 $\mu\text{g/l}$.

Produsele fitofarmaceutice: antracol și dithane au toxicitatea cea mai ridicată, după care urmează benlate, merpan și bedilan. Mai puțin toxice sînt: difolatan, cobox și Chemia II.

În explicarea raporturilor dintre planta gazdă și parazit un rol important îl are cunoașterea biologiei agentului patogen. Astfel, pentru înțelegerea relațiilor gazdă-parazit și a specificității speciilor este necesar să se cunoască modul de nutriție și factorii care influențează creșterea și sporularea organismelor patogene. De asemenea, cunoștințele referitoare la fiziologia paraziților vegetali pot fi folosite cu succes în combaterea bolilor la plante.

Lucrarea de față cuprinde date cu privire la acțiunea unor factori ca : mediul de cultură, sursele de carbon și azot, vitaminele și unele fungicide asupra creșterii și sporulării ciupercii *Coniothyrium concentricum* (Desm.) Sacc., care produce pătarea frunzelor de *Yucca filamentosa* L., *Dracaena draco* L., specii de *Agave* ș.a.

Material și metodă

Ciuperca *Coniothyrium concentricum* (Desm.) Sacc. a fost izolată de pe frunze de *Yucca filamentosa* L. și cultivată pe mediul de cartof cu 2% glucoză și agarizat.

Influența mediului de cultură s-a studiat prin cultivarea ciupercii pe diferite medii naturale și sintetice, agarizate. Ca medii sintetice s-au folosit mediul Czapek la care în unele variante s-a adăugat 0,4% peptonă, amestec de vitamine (tiamină, riboflavină și pyridoxină) în doză de 100 μ g/1 fiecare, sau 10% extract de drojdie, precum și mediul recomandat de Bannerot, H. (1965) ca un mediu bun pentru fructificarea unor ciuperci și pe care noi l-am notat ca mediu sintetic II. Inocularea s-a făcut cu o suspensie de spori cu densitatea de circa 80 000 spori pe mm cub.

Efectul diferiților compuși ai carbonului și azotului asupra creșterii miceliului și sporulării s-a urmărit pe mediul Czapek în plăci Petri. Sursele de carbon și azot au fost adăugate la mediu de bază (fără glucoză și respectiv azotat de amoniu) în cantitate echivalentă la 20 g glucoză la litru și 2 g azotat de amoniu la litru. Pentru inoculare s-au tăiat discuri de miceliu cu diametru de 3 mm, din culturi de 6 zile, crescute pe mediul de cartof-glucoză-agar. Aprecierea creșterii miceliului s-a făcut prin observarea zilnică a culturilor și măsurarea diametrului, iar apariția și abundența sporilor prin examinarea la microscop.

Influența vitaminelor : thiamina (B_1), riboflavina (B_2) și pyridoxina (B_6) s-a studiat pe mediul Czapek solid cu adaus de vitamine în doza de 50, 100, 200, 500 și 1000 μ g/1. Vitaminele au fost adăugate la mediu după autoclavare. Observațiile asupra germinării sporilor s-au făcut după 24 ore, iar asupra creșterii miceliului după 10 zile de la inoculare.

Pentru a urmări toxicitatea unor fungicide asupra germinării sporilor și a creșterii miceliului s-a lucrat în laborator cu 8 produse fitofarmaceutice în diferite concentrații. Experiențele au fost efectuate pe mediu de cartof cu 2% glucoză și agarizat, folosind metoda încorporării fungicidului în mediu de cultură și metoda rondelilor bazată pe principiu difuziunii fungicidelor în mediu. Observațiile s-au făcut timp de 10 zile, măsurînd diametrul culturilor și zona de inhibiție.

Rezultate

Comportarea ciupercii în raport cu mediul de cultură. În tabelul I sînt trecute rezultatele cu privire la influența unor medii de cultură asupra germinării sporilor, a creșterii filamentelor de germinație, precum

Tabel I

Germinarea sporilor, lungimea filamentelor de germinație și numărul picnidiilor în raport cu mediul de cultură

Mediul de cultură	Procent spori germi- nați după 24 h	Lungimea ma- ximă a filamen- telor de germi- nație în μ după 24 h	Numărul pic- nidiilor pe mm după 4 zile
Czapek	89,33	312,5	0
Czapek + 0,4 % peptonă	94	450	0
Czapek + thiamină + ribofla- vină + pyridoxină + 100 μ g/l	91,66	400	0
Czapek + 10% extract de drojdie	93	431,25	0
Mediul sintetic II *	88,66	600	2,43
Extract de drojdie	92,33	393,75	0
Extract de cartof + 2% glucoză	94	500	2,5
Extract de cartof + 2% gluco- ză + 0,2% peptonă	94	725	4,75

* vezi metodă

și asupra numărului de picnidii apărute pe mm pătrat. Procentul de spori germinați pe mediile experimentate, în decurs de 24 ore, se situează în limite apropiate, minimum fiind pe mediul sintetic II (88,66%), iar maximum pe mediile : Czapek plus 0,4% peptonă, extract de cartof cu 2% glucoză și extract de cartof plus 2% glucoză și 0,2% peptonă (94%). Cel mai bun mediu pentru creșterea miceliului în primele 24 ore de la inoculare s-a dovedit a fi cel cu extract de cartof plus 2% glucoză și 0,2% peptonă pe care lungimea maximă a filamentelor de germinație a ajuns la 725 μ . Urmează apoi în ordine mediul sintetic II (600 μ lungime), mediul cu extract de cartof plus 2% glucoză (500 μ lungime) și mediul Czapek plus 0,4% peptonă (450 μ lungime). Pe mediul Czapek lungimea maximă a filamentelor de germinație a fost de 312,5 μ , fiind cel mai nefavorabil.

Formarea picnidiilor este favorizată numai de unele din mediile experimentate. Numărul picnidiilor pe mm pătrat după 4 zile de la inoculare a fost de : 2,43 pe mediu sintetic II, 2,5 pe mediu cu extract de cartof plus 2% glucoză și 4,75 pe mediu cu extract de cartof plus 2% glucoză și 0,2% peptonă. Pe celelalte medii nici după 15 zile de la inoculare nu au apărut picnidii.

Utilizarea carbonului pentru creșterea miceliului și sporulare. Experiențele efectuate cu diferite zaharuri (fig. 1) au arătat că glucoza constituie cea mai bună sursă de carbon pentru creșterea miche-

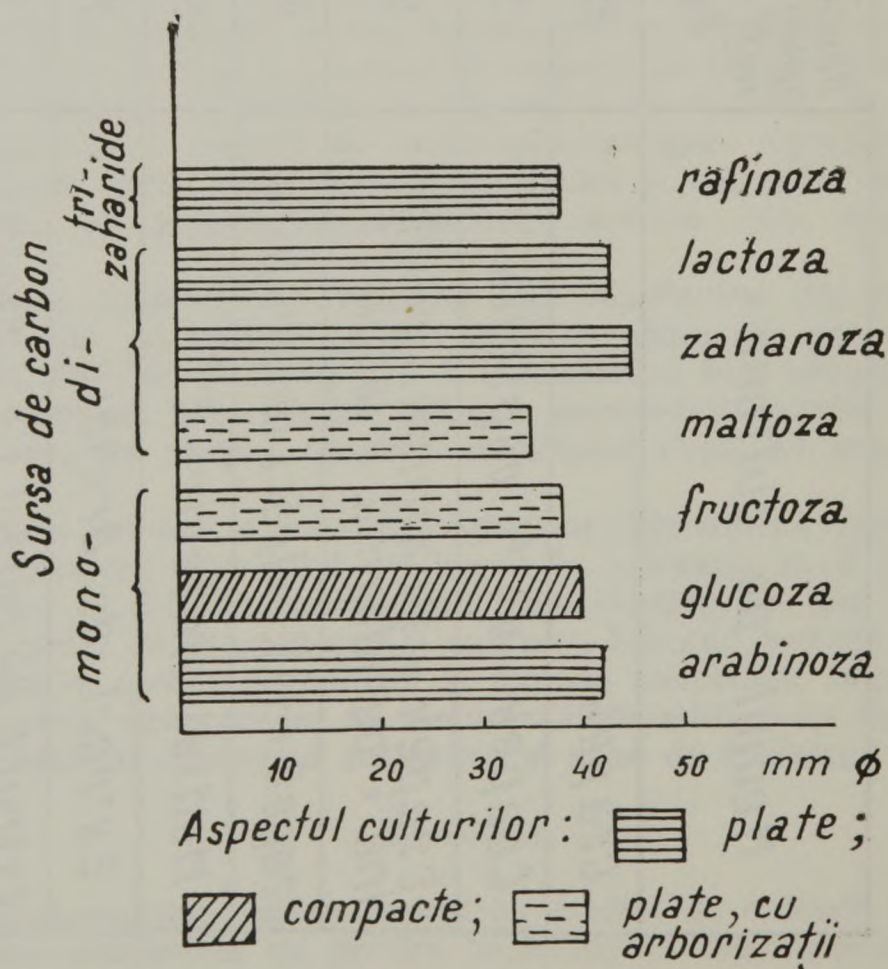


Fig. 1. Creșterea miceliului pe diferite surse de carbon.

liului ciupercii *Coniothyrium concentricum*, după care se situiază fructoza și maltoza. Mediile cu arabinoză, zaharoză, lactoză și rafinoză nu favorizează creșterea acestei ciuperci. Pe aceste medii, deși culturile sînt destul de întinse ca suprafață (38—45 mm în diametru), prezintă un miceliu aerian slab dezvoltat, cu filamente laxe și puțin abundente.

În ceea ce privește sporularea, pe nici unul din mediile cu sursele de carbon experimentate, ciuperca nu a format spori.

Utilizarea azotului. Din cei 15 compuși anorganici și organici ai azotului (tabelul II) cu care s-a lucrat, peptona este cel mai bun atît

Tabel II

Influența sursei de azot asupra creșterii miceliului și sporulării

<i>Sursa de azot</i>	<i>Dimensiunile culturilor în mm</i>	<i>Aspectul culturilor</i>	<i>Sporularea</i>
<i>nitrat de potasiu</i>	49		0
<i>nitrat de calciu</i>	43		0
<i>nitrat de amoniu</i>	45		0
<i>sulfat de amoniu</i>	41		0
<i>thioureea</i>	6		0
<i>peptona</i>	62		+++
<i>glicocol</i>	51		0
<i>leucina</i>	47		0
<i>arginina</i>	44		0
<i>DL-lisina</i>	41		0
<i>serina</i>	47		0
<i>metionina</i>	43		0
<i>oxiprolina</i>	13		0
<i>histidina</i>	45		0
<i>triptofan</i>	39		0

- miceliu ca o peliculă fină
- plate, cu filamente laxe
- plate, bombate în centru
- plate, cu zonalitate
- compacte, egal de groase

0 = nu sporulează
+++ = sporulare abundentă

pentru creșterea miceliului cât și pentru sporularea. Culturile sînt compacte, înalte, cu numeroase picnidii cu spori după 4 zile de la inoculare. Azotul din compușii anorganici este asimilat în egală măsură; suprafața și aspectul culturilor de pe mediile cu acești compuși fiind asemănătoare. Aminoacizii : glicocolul, leucina, serina, arginina și histidina sînt favorabile creșterii miceliului dar nu și sporulării. Metionina, lisina și triptofanul sînt mai greu asimilați de ciupercă, iar oxiprolina constituie cea mai slabă sursă de azot. Thiourea are o acțiune inhibitoare asupra creșterii miceliului și a sporulării.

Efectul vitaminelor asupra germinării sporilor și a creșterii miceliului. Vitaminele : tiamina, riboflavina și pyridoxina au efect diferit asupra germinării sporilor (fig. 2). Pyridoxina stimulează progresiv

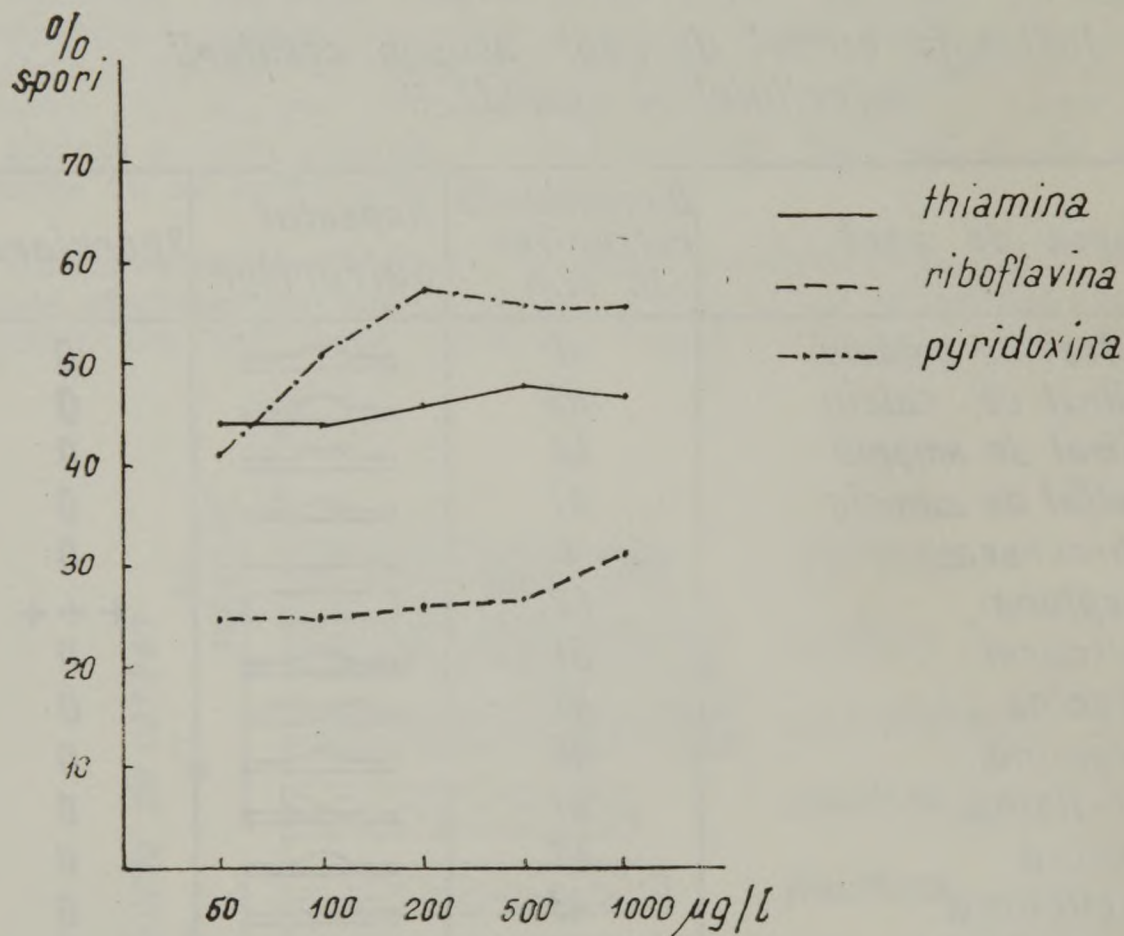


Fig. 2. Influența vitaminelor asupra germinării sporilor după 24 ore.

germinarea sporilor pînă la doza de 200 µ g/1 după care procentul de spori germinați scade treptat fără a ajunge sub nivelul dozelor mai mici de 100 µ g/1. Thiamina în doze de 100—500 µ g/1 favorizează germinarea sporilor, procentul maxim înregistrîndu-se la 500 µ g/1. La riboflavină efectul stimulator apare la concentrații mai mari de 500 µ g/1. Cultivînd ciuperca pe medii cu adaus de vitamine, păstrînd aceleași concentrații, am constatat că nu există deosebiri față de martor decît la culturile de pe mediul cu tiamină unde miceliul este ceva mai abundent.

Acțiunea toxică a fungicidelor. În laborator s-a urmărit toxicitatea a 8 preparate fitofarmaceutice (tabel III) asupra creșterii miceliului și a germinării sporilor. Prin metodele folosite s-au obținut rezultate concordante, toxicitate mare dovedind produsele antracol și dithane

Tabel III

Toxicitatea fungicidelor asupra germinării sporilor și a creșterii miceliului

Fungicide	Conc. ‰	Procent spori germinați după 24 ore	m m	
			Diametrul culturilor după 10 zile ¹⁾	Zona de inhibiție după 6 zile ²⁾
Antracol 70	0,1	0	0	10
	0,2	0	0	10
	0,3	0	0	15
Bedilan 60 w.p.	0,1	0	10	6
	0,2	0	7	6,5
	0,3	0	6	8
Benlate	0,1	26,33	5	6
	0,2	20,83	5	6
	0,3	18	5	6
Cobox	0,2	74,41	12	0
	0,3	68,08	12	0
	0,5	66,08	12	0
Chemia II	0,1	0	16	3
	0,2	0	13	5,5
	0,3	0	9	5,5
Dithane M-45	0,1	0	0	5
	0,2	0	0	9
	0,3	0	0	11
Difolatan	0,1	0	12	4
	0,2	0	12	5
	0,3	0	12	5,5
Merpan 50	0,1	0	10	6
	0,2	0	10	8
	0,3	0	8	8
Martor	—	90,66	55	0

1) metoda încorporării

2) metoda rondelilor

care au inhibat atât creșterea miceliului cât și germinarea sporilor. Rezultate satisfăcătoare au dat și produsele bedilan, benlate și merpan. Pe mediul în care s-a încorporat benlate s-a înregistrat o germinare a sporilor în proporție de 18—26‰ (în raport cu concentrația fungicidului),

dar filamentele de germinație nu au depășit 4 μ în lungime nici după 5 zile.

Față de ciuperca *Coniothyrium concentricum* difolatanul, Chemia II și coboxul au manifestat o acțiune toxică mai scăzută. Mediile cu aceste fungicide au permis o oarecare creștere a miceliului, diametrul culturilor variind între 10—16 mm, iar zona de inhibiție fiind de maximum 5 mm pentru difolatan și Chemia II și inexistentă pentru cobox.

Concluzii

Cultivarea ciupercii pe diferite medii a arătat că germinarea sporilor, lungimea filamentelor de germinație, creșterea miceliului și formarea picnidiilor sînt favorizate de mediul cu extract de cartof cu adaus de glucoză și peptonă.

Dintre zaharurile experimentate ca sursă de carbon, glucoza s-a dovedit a fi cea mai bună pentru creșterea miceliului.

Azotul dat sub formă de diferiți compuși este asimilat de ciupercă în mod diferențiat; peptona favorizează atît creșterea miceliului cît și formarea sporilor, în timp ce thiourea are rol inhibitor.

Vitaminele: thiamina, riboflavina și pyridoxina adăugate la mediul Czapek influențează favorabil germinarea sporilor, dar nu și creșterea miceliului.

Experiențele de laborator privind acțiunea fungicidelor asupra creșterii miceliului au scos în evidență că produsele antracol și dithane au toxicitatea cea mai mare, fapt care ne face să le recomandăm în combaterea ciupercii în câmp.

BIBLIOGRAFIE

- BANNEROT, H., 1965, *Résultats de l'infection d'une collection de haricots par six races physiologiques d'antracnose*. Ann. Amélior. Plantes, 15 (2), 201—222.
- BĂNESCU, V., 1961, *Influența sursei de azot din mediul de cultură asupra creșterii și fructificării unor specii de ciuperci*. Analele Univ. C. I. Parhon București, 28, 79—94.
- BECKMAN, C. H., KUNTZ, E. J., RICKER, J. A., 1953, *The growth of oak wilt fungus with various vitamins, carbon and nitrogen source*. Phytopathology, 43, 441—447.
- CAMERON, H. R., 1966, *Variability in the genus Phytophthora*. II. Effects of vitamins on growth. Phytopathology, 56 (7), 812—815.
- COCHRANE, V. W., 1958, *Physiology of fungi*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- FRIES, N., 1965, *Vitamins and other organic growth factors*. In G. C. Ainsworth and A. S. Sussman (ed.) *The Fungi*, vol. I, *The Fungal Cell*, 491—523. Academic Press, New York.
- HASIJA, S. K., 1970, *Physiological studies of Alternaria citri and A. tenuis* Mycologia, 62 (2), 289—295.

- LILLY, V. G., BARNETT, H. L., 1951, *Physiology of the fungi*. McGraw-Hill, New York.
- LOPEZ, M. E., FERGUS, C. L. 1965, *The carbon and nitrogen nutrition of Fusarium roseum*. Mycologia, 57, 897—903.
- NICHOLAS, D. J. D., 1965, *Utilization of inorganic nitrogen compounds and amino-acids by Fungi*. In G. C. Ainsworth and A. S. Sussman (ed.) *The Fungi*, vol. I, *The Fungal Cell*, 349 — Academic Press, New York.
- PAPAVIZAS, G. C., 1970, *Carbon and nitrogen nutrition of Sclerotium cepivorum*. Mycologia, 62 (6), 1195—1203.
- PRASAD, S. S., 1966, *Influence of five vitamins on the growth of certain pathogenic fungi*. Phytopat. Zeitsch. 55 (1).
- SAAD, S., HAGEDORN, D. J., 1970, *Growth and nutrition of an Alternaria pathogenic to Snap-beans*. Phytopathology, 60 (5), 903—906.
- SĂVULESCU, O., TUDOSESCU, V., 1968, *L'influenza di alcune vitamine sulla germinazione delle spore a lo sviluppo di alcuni micromiceti fitopatogeni*. L'Agricoltura Italiana, noem.—dec., 3—8.
- TREGGI, G., 1958, *Contributo allo studio delle esigenze auxologiche di alcuni funghi fitopatogeni*. Ann. Sperimentazione Agraria, vol. XII, (4), 1305—1316.
- TUDOSESCU, V., 1970, *Influența citorva aminoacizi asupra creșterii și fructificării unor ciuperci*. Anal. Univ. București, 157—162.
- ȚÎRCOMNICU, M., HULEA, A., 1970, *Influența surselor de carbon și azot asupra morfogenezei și sporogenezei ciupercii Helminthosporium turcicum Pass*. Microbiologia, I, 311—315.

EFFECTS OF SOME FACTORS ON FUNGUS CONIOTHYRIUM CONCENTRICUM (Desm.) Sacc.

Summary

The fungus was cultivated on different artificial and natural media and it was found that extract of potato plus 2% glucose and 0,2% peptone was very good for growth and sporulation.

Of 7 saccharides tested the best ones for growth were glucose. Fructose and maltose supported some growth, while raffinose, lactose, arabinose and sucrose were utilised slightly.

Peptone were exceptionally good sources of nitrogen for growth and sporulation. The amino acids glycocole, leucine, serine, arginine and histidine also were good sources of nitrogen for growth. Oxiprolin and thiourea were a poor source of nitrogen.

The vitamins: thiamine, riboflavine and pyridoxine did not have uniform influence on germination of spores. All the vitamins employed had beneficiel effects when supplied in certain quantites.

The toxicity of some fungicides on this fungus was experimented in laboratory conditions. The products antracol and dithane were inhibited completely germination of spores and growth of mycelium.

