DOMNICA DANIELA PLACINTA

MICROMICETE CE SE TRANSMIT PRIN SEMINŢELE DE CEREALE PĂIOASE PREVENIRE ŞI COMBATERE

- Suceava, 2007 -

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale

PLĂCINTĂ, DOMNICA DANIELA
Micromicete ce se transmit prin seminţele de cereale păioase : prevenire şi combatere / Domnica Daniela Plăcintă. - Suceava : Editura Universităţii din Suceava, 2007
Bibliogr.
ISBN 978-973-666-265-2

632.4:631.53.01:633.1+635.6

Referenţi ştiinţifici:

Prof.univ.dr.Viorica Iacob

Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad" Iaşi

Cercetător. ştiinţific. principal I dr.ing. Danela Murariu

Banca de Resurse Genetice Vegetale Suceava

EDITURA UNIVERSITĂŢII SUCEAVA

CUPRINS

Introducere..... 4

Capitolul 1 ***Generalităţi***..... 5

1.1 Importanţă, pagube..... 5

1.2 Istoricul cercetărilor privind rolul seminţei în transmiterea agenţilor patogeni, pe plan national şi mondia..... 7

Capitolul 2 ***Factori ce influenţează apariţia şi dezvoltarea micromicetelor pe seminţele de cereale păioase*****.....** 11

2.1 Starea culturală şi sanitară a culturilor de cereale înainte de recoltare..... 11

2.2 Gradul de coacere şi conţinutul în umiditate al seminţelor la recoltare..... 11

2.3 Condiţiile climatice din perioada de maturare şi imediat după recoltare 12

2.4 Metoda de recoltare..... 12

2.5 Condiţionarea seminţelor după recoltare..... 12

2.6 Tipul de depozitare al seminţei..... 13

2.7 Condiţiile de mediu specifice de depozit 14

2.8 Prezenţa dăunătorilor în masa de seminţe în timpul depozitării..... 16

Capitolul 3 ***Mecanismul producerii infecţiei la seminţele de cereale păioase*****.....** 18

3.1 Contaminarea seminţei..... 18

3.2 Căi de transfer ale micromicetelor în timpul contaminării seminţei..... 23

3.3 Localizarea micromicetelor în sămânţa de cereale..... 26

Capitolul 4 ***Tipuri de micromicete ce infectează sămânţa la plantele de cereale păioase*****.....** 28

4.1 Clasificarea şi caracteristicele micromicetelor întâlnite pe seminţele de cereale păioase..... 28

4.2 Descrierea principalelor boli ale cerealelor păioase induse de agenţii patogeni ce se transmit prin sămânţă..... 30

Capitolul 5 ***Analiza stării sanitare a seminţelor de cereale*****.....** 43

5.1 Factori implicaţi în analiza stării sanitare a seminţelor..... 43

5.1.1 Influenţa stării sanitare asupra viabilităţii seminţelor..... 44

5.1.2 Influenţa umidităţii seminţei în momentul analizei sanitare..... 44

5.1.3 Influenţa duratei de păstrare a seminţei în momentul analizei sanitare..... 44

5.2 Metode de analiză sanitară a seminţei..... 45

Capitolul 6 ***Măsuri de prevenire şi combatere a micromicetelor în sistem integrat cereale păioase*** 56
6.1 Măsuri agrotehnice (tehnologice) 56
6.2 Măsuri chimice 60
6.3 Măsuri biologice 67
6.4 Măsuri de prevenire a infecţiilor în timpul depozitării 69

Bibliografie 73

INTRODUCERE

Sămânţa ocupă o poziţie aparte în cadrul măsurilor ce pot fi luate pentru creşterea potenţialului biologic şi stării fitosanitare a plantelor. Potenţialul biologic al speciilor cultivate de cereale păioase este pus în valoare numai de plantele sănătoase. Din acest motiv este necesar ca sămânţa să fie un bun material genetic, să prezinte puritate biologică, valoare culturală ridicată şi să fie liberă de agenţi patogeni.

Cerealele păioase reprezintă culturi de tradiţie în agricultura ţării noastre prin valoarea nutritivă ridicată a seminţelor constituind sursa primară de hrană în alimentaţia oamenilor şi animalelor, dispunând în majoritatea zonelor de condiţii favorabile de climă şi sol. Cu toate acestea, producţiile obţinute pe suprafeţe mari cât şi în gospodăriile rurale nu s-au ridicat uneori la nivelul potenţialului biologic al soiurilor cultivate sau au prezentat fluctuaţii de la un an la altul. Una din cauzele principale care generează aceste neajunsuri poate fi slaba cunoaştere a problemelor legate de sănătatea seminţelor cât şi neglijarea măsurilor de prevenire şi combatere a principalilor patogeni ce afectează culturile.

În acest sens, pentru obţinerea de culturi sănătoase şi rentabile din punct de vedere economic alături de complexul de măsuri agrofitotehnice este nevoie în primul rând, de selectarea cât mai judicioasă a soiurilor cultivate şi asigurarea unei seminţe cu facultate germinativă ridicată, liberă de patogeni care pot fi transmişi prin intermediul acesteia. Fiind verigi de bază în obţinerea unor producţii de calitate, este necesar ca fermierii cultivatori de suprafeţe întinse de cereale şi agricultorii din micile gospodării rurale să aibă cunoştinţe referitoare la agenţii patogeni ce se transmit prin sămânţă şi la mijloacele de combatere a acestora.

Prezenta carte poate fi considerată un ghid pentru recunoaşterea principalelor micromicete ce se transmit prin seminţe cauzând pagube de importanţă majoră speciilor de cereale păioase cultivate cât şi pentru stabilirea măsurilor corespunzătoare de protecţie fitosanitară.

Redactarea lucrării este realizată într-o formă accesibilă tuturor specialiştilor agricoli şi fermierilor, informaţiile oferite identificându-se în mare măsură cu cele mai recente rezultate din activitatea de cercetare ştiinţifică desfăşurată în domeniul patologiei seminţei şi protecţiei fitosanitare a acesteia.

Autoarea

MMM

MMM

MMM

CAPITOLUL 1

GENERALITĂŢI

1.1 Importanţă, pagube

Valoarea culturală a seminţei, îndeosebi indicele de sănătate, constituie un factor limitativ asupra rentabilităţii culturilor de cereale păioase. Pierderile cantitative, deprecierile de calitate ce afectează nivelul producţiei sunt expresia acţiunii factorilor de stres printre care şi agenţii patogeni ce se transmit şi se răspândesc prin materialul de semănat.

Contaminarea seminţei poate să ducă la scăderea considerabilă a germinaţiei până la pierderea totală a ei şi la micşorarea vigorii vegetative a plantulelor sau chiar la pieirea prematură a acestora. Eliminarea riscului ca aceşti patogeni să se regăsească în recoltele de cereale păioase la nivel epidemic, implică aplicarea în producţie a măsurilor de combatere prin folosirea produselor de uz fitosanitar ca una din cele mai importante metode de protecţie a plantelor.

Sămânţa reprezintă una din pârghiile utilizate de agricultură pentru mărirea producţiei realizată în agricultură dar, în acelaşi timp, este şi un mijloc de contaminare cu micromicetele provenite din micoflora de câmp şi de depozit, pe perioada păstrării.

Modul de manifestare şi intensitatea pagubelor produse de micromicetele transmise prin sămânţa de cereale păioase sunt expresie a gradului de infestare a acesteia, virulenţei agentului patogen, sensibilităţii plantelor şi factorilor de mediu (Raicu C.,1978). În cadrul agroecosistemelor de cereale sub acţiunea legilor dinamicii au apărut un număr mare de patosisteme ce au invadat spicul şi seminţele la majoritatea soiurilor generalizându-se în teritoriu (Hulea Ana, 1961, Munteanu şi colab. 1982). Frecvenţa atacului asupra seminţelor este mai mică decât pe plante, sămânţa fiind protejată de palee, de epiderma tegumentului prezentând o reacţie de îmbolnăvire organotrofă specifică (Hulea Ana, 1961).

Pierderile determinate de patogenii purtaţi de seminţe sunt dificil de evaluat, daunele putând apărea începând de la răsărire până la recoltare (Champion R., 1985). Pagubele se manifestă în majoritatea cazurilor în fenofaza de răsărire a plantelor prin reducerea densităţii acestora, în timpul dezvoltării optime când pot deveni purtătoare de inocul, de infecţii secundare de la culturile învecinate şi paraziţi existenţi în sol şi

de la recoltare când se amestecă seminţele sănătoase cu cele contaminate (Champion R., 1985).

La nivel national, pierderile provocate de fungii purtaţi de sămânţă s-au semnalat în diferite zone pedoclimatice diferit în funcţie de factorii abiotici şi de respectarea verigilor tehnologice la infiinţarea culturilor de cereale păioase.

În perioada 1990 -1995 în judeţele din centrul şi sudul României, s-au înregistrat grade de atac la grâu de 3 -22% cu *Tilletia foetida* (Bauer)Liro şi de 4% cu *Tilletia controversa* Kühn.

Mălura comună şi mălura pitică sunt boli de importanţă economică prezente în toată ţara care, în situaţia unei monitorizări slabe, pot provoca epidemii mai ales în anii secetoşi. Alte micromicete ce au produs boli însemnate la spicul de grâu în această perioadă au fost *Septoria nodorum* (Berk.) cu grad de atac 10 - 40%, *Ustilago triticii* (Pers.)Jens. între 5 şi 20% şi *Cladosporium herbarum* (Pers.)Link. în procent de 7%. La orz pierderile determinate de boli ale spicului au fost reprezentate de infecţiile cu *Helminthosporium gramineum* (Rabenh.) de 5 - 50%, *Helminthosporium teres* (Sacc) de 5-45%, *Ustilago nuda* (Jensen)Rostrup., de 13-50%, *Fusarium roseum f. cerealis* (Cke.)Snyder et Hansen, de 20-25%. Pierderi de producţie însemnate la bolile produse de micromicete la samânţă s-au înregistrat în judeţele din sudul şi centrul ţării în anul 1991 de 21% şi în 1992 de 16,2 %. În judeţele din Nordul Moldovei situaţia manifestării bolilor la spicul de grâu în perioada 1992-1997 a fost diferită înregistrându-se atacuri cu *Fusarium roseum f. cerealis (*Cke.) Snyder et Hansen de 3-10 %, cu *Ustilago triticii* (Pers.)Jens., de 2-5%, cu *Cladosporium herbarum* (Pers.)Link ex S.F. Gray de 7-15%. În cazul orzului de toamnă s-au semnalat atacuri de *Tilletia foetida* (Bauer)Liro de 0,5-1,5%, *Helminthosporium gramineum* (Rabenh) de 3-70% şi *Ustilago nuda* (Jensen)Rostrup, de 5-30%. Pierderile de producţie înregistrate în fiecare an în această perioadă la grâu şi orz de toamnă în Nordul Moldovei au fost de: 7-15% în 1993/1994, 9-20% în 1994/1995, 50-70% în 1995/1996, 10-15% în 1996/1997 (Săpunaru T., Hatman M., 1998).

Aceste pierderi de producţie s-au înregistrat pe 30-40% din suprafeţele cultivate cu grâu şi orz de toamnă din ţara noastră în perioada 1990-1997 datorită influenţei nefavorabile a factorilor climatici, a aplicării incorecte a tehnologiilor de cultură, îndeosebi a lipsei tratamentelor la sămânţă şi în timpul vegetaţiei. Slaba rentabilitate a recoltelor de cereale păioase determinată de pierderile de producţie în această perioadă s-a datorat printre altele şi reformei agrare realizată prin legea fondului funciar în urma căreia exploataţile agricole au fost fărâmiţate în exploataţii de dimensiuni mici şi mijlocii, foarte dispersate ceea ce a redus eficienţa folosirii mijloacelor tehnice, mijloacelor de combatere integrată a bolilor şi dăunătorilor (Lazăr T., 1996).

Starea fitosanitară a culturilor de cereale păioase în nord-vestul României în anul 2005 (Goga N., 2005) s-a manifestat prin boli foliare şi boli ale spicului produse de patogeni cu infecţie locală. La grâu s-a înregistrat un nivel ridicat al frecvenţei atacului de *Septoria nodorum* (Berk.) (62%) şi *Fusarium roseum f. cerealis* (Cke.)Snyder et Hansen (25%) cu un prag scăzut al intensităţii. Mălura -*Tilletia caries* (DC) Tul.- şi tăciunele -*Ustilago triticii* (Pers.)Jens.- au apărut sporadic, dar suficient pentru asigurarea fondului de infecţie necesar producerii bolilor peste pragul economic de dăunare în anul 2006. Mucegaiul de zăpadă -*Fusarium nivale* (Fr.)Ces.- a determinat pierderi la plante de 3-5% la grâu şi 10-15% la orz precum şi debilitarea a 10-15 % plante de grâu respectiv 25-30% de orz. Bolile spicului produse de *Ustilago sp.* şi *Pyrenophora graminea* (Rabh.)Ito. et Kurib. s-au manifestat la niveluri de 3-5% în cazul tăciunelui şi 2-4% în cazul sfâşierii frunzelor, asigurând prin sistemul de infecţie florală şi respectiv germinală proliferarea bolii. La ovăz s-a manifestat atac de *Ustilago kolleri* (Will) cu o frecvenţă de 1,2-2,5.

În majoritatea zonelor de cultură a grâului de pe glob, una din cele mai păgubitoare boli s-a constatat a fi fuzarioza spicelor produsă de mai multe specii ale genului *Fusarium.* Schimbarea structurii de soiuri şi a practicelor culturale în favoarea celor intensive precum şi unii factori favorizanţi au determinat în ultimii ani înregistrarea de atacuri deosebit de severe .

Prezentă cu frecvenţă ridicată în toate zonele de cultură a grâului din lume, în SUA şi Canada-fusarioza induce pierderi înregistrate începând cu anul 1990 - fără precedent în istoria acestei culturi - depăşind în total nivelul de 3 miliarde de dolari (Ittu Mariana, 2000).

Acest fapt a declanşat stabilirea de strategii adecvate de reducere a pagubelor produse de acest patogen, prin programe ca *U.S. Wheat and Barley Scab Initiative* pentru care s-a alocat pe termen de cinci ani un buget în valoare de cca. 5 milioane de dolari pe an, destinat unor cercetări pluridisciplinare.

1.2 Istoricul cercetărilor privind rolul seminţei în transmiterea bolilor

		A. *Pe plan mondial*
Anii	Autori	Dovezi ştiinţifice ale transmiterii patogenilor prin seminţe
Sec. XVIII	-	Prima testare ştiinţifică privind transmiterea patogenilor prin sămânţă
1699	Helwing	Primul caz de transport al scleroţilor de *Claviceps purpurea* (Fr ex Fr)Tul în amestec cu seminţele de secară
1755	Tillet	Studiul micozei *Tilletia caries* şi stabilirea transmiterii acesteia prin seminţe

1866	Bessey	Contribuţii privind ciupercile descoperite pe seminţe în timpul germinării.
1869	-	Înfiinţarea primei staţiuni de control al seminţelor
1919	Hiltner	Autori ce susţin la congrese de controlul seminţelor introducerea pe scară internaţională a examenului sanitar al seminţei
1921	Dorph Petersen	
1924	Genter	
1923	Doroghin	Elaborarea primei scheme pentru detectarea bolilor de pe seminţe în Staţiunea de Protecţia Plantelor din Lenigrad
1924	Budrina	Primul pas privind obligativitatea analizei fitopatologice a materialului de semănat efectuat în Uniunea Sovietică.
1926	Klemm	Autorul recomandă introducerea în Germania a metodelor de analiză fitosanitară
1928	-	Introducerea oficială a normelor internaţionale de controlul seminţelor şi menţionarea controlului sanitar în buletinele de analiză
1931	Orton	Prima listă bibliografică a patogenilor ce se transmit prin sămânţă şi unele date privind pagubele pe care aceştia le produc
1931	Alcock	Prima listă de paraziţi pe seminţele de plante ornamentale şi furajere
1938	Doyer	Primul manual pentru detectarea paraziţilor pe sămânţă–Wageningen, Olanda
1941	Muskett şi Malone	Elaborează metoda Ulster de determinare a fungilor pe seminţe
1944	Groves şi Skolko	Studii privind micromicetele *Alternaria* şi *Stemphylium*
1953	Skolko şi Groves	Studii privind micromiceta *Chetomium*, Canada
1952	Gordon	Izolarea şi taxonomia speciilor de *Fusarium* la seminţele de cereale din Manitoba, Canada.
1954		
1958	Noble, Tempe şi Neergaard	Publicarea unei liste ce cuprinde 812 specii ce afectează sămânţa aparţinând la 189 plante cultivate
1958	Andersen	Contribuţii ştiinţifice şi teste ale bolilor pe seminţe.
1961	Tempe	Metode de rutină pentru determinarea condiţiilor de sănătate ale seminţelor testate în staţiuni.
1961	Baldacci	Publicarea unei prezentări sintetice a principalelor boli ce se transmit prin sămânţă şi mijloace de prevenirea lor.
1964	Malone J.P. şi Muskett M.	Hand book seed testing- ISNA Wageningen - ciupercile ce apar pe seminţe, simptome, tehnici de creştere şi identificare.
1971	Booth C	Metode în microbiologie, Anglia
1977	Booth C.	*Fusarium*- Ghid de laborator pentru identificarea speciilor majore- Anglia
1979	Neergaard	Patologia seminţei- Zurich, Germania
1982	Richard-Molard D.	Caractere generale ale microflorei seminţelor de cereale şi principalele toxine elaborate la depozitare, Lavoiser, Paris
1982	Rennie W.J	*Ustilago nuda* (Jens) Rostr.pe grâu, foaie de lucru nr.48
1984	Rennie WJ,	*Pyrenophora graminea* (Rabh.)Ito et Kurib, foaie de

	Tomlin M.M.	lucru nr.6
1990	Richardson M.J.	Lista avizată a bolilor pe seminţe, Asociaţia Internaţională a testării seminţei, Zurich.
1997	Champion R	Identificarea ciupercilor transmise prin seminţe –INRA Franţa
2000	Prescott J.M, Burnett P.A	Bolile şi dăunătorii grâului: ghid pentru identificare în câmp. Centrul internaţional de ameliorare a porumbului şi grâului CIMMYT), Mexic
2001	Mezzalama M., Mc Nab Alma	Sănătatea seminţei, reguli şi reglementări pentru siguranţa germoplasmei de schimb, CIMMYT, Mexic
2007	Westphal A., Shaner G.	Boli la grâu, *Fusarium roseum f.cerealis* (Cke.)Snyder et Hansen -Departamentul de Botanica şi Patologia Plantei al Universităţii Purdue S.U.A
B. *Pe plan naţional*		
Sec XIX	-	Primele menţiuni scrise despre bolile plantelor din ţara noastră.
1853	M. Fuss	Autorul publică cea dintâi contribuţie asupra criptogramelor din Transilvania (Sibiu) incluzind câteva specii de *Uredinales* şi *Ustilaginales*
1878	M. Fuss	Publică o lucrare monografică în care descrie sumar 139 specii de *Uredinales* din Transilvania
1896	Constantineanu C.	Cercetează specii de ciuperci din Moldova, majoritatea din *Uredinales.*
1920	Constantineanu C.	Autorul publică lucrarea -*Les Uredinees* de la Roumanie- ce cuprinde 273 specii parazite pe 592 de plante.
1935	Rădulescu E.	Cercetări privind specializarea fiziologică a ciupercii *Ustilago avenae* (Pers.)Rostr. punând în evidenţă 4 grupe de rasă.
1947	Săvulescu T.	Exicata de ciuperci "Herbarum mycologicum romanicum"
1952 1955	Săvulescu T. Becerescu D.	Au pus în evidenţă pentru prima dată în România prezenţa speciei *Ustilago nigra* (Tapke).
1955	Sandu-Ville C., Hatmanu M., Lazăr A.	Contribuţii la cunoaşterea micromicetelor din Moldova, Seria a II-a , Acad. RPR, Filiala Iaşi
1957	Traian Săvulescu	Monografia *Ustilaginalelor,* vol I-II Editura Academiei, Bucureşti
1957-1958	Rădulescu E. Munteanu I.	Studii privind helminthosporioza orzului cu privire la evoluţia atacului şi efectul tratării seminţei cu diferite produse chimice.
1960	Bobeş I.	Cercetări asupra tăciunilor orzului
1961	Hulea Ana	*Fusarioza grâului*. Probleme agricole, vol.XIII, Editura Ceres, Bucureşti.
1964-1967	Comes I.	Studii privind biologia şi combaterea patogenului care produce mălura orzului.
1967	Rădulescu E., Negru A.	Indrumător pentru determinarea bolilor şi dăunătorilor la seminţe, Editura Agro-silvică, Bucureşti
1968	Rădulescu E.	Cercetări privind specializarea fiziologică a ciupercii

		Ustilago tritici (Pers.)Jens punând în evidenţă 20 de grupe de rase fiziologice în România.
1969	Rădulescu E., Răfăilă C.	Tratat de Fitopatologie agricolă, în 4 vol., Editura Academiei.
1973	Rădulescu E.	Septoriozele din România, Editura Academiei.
1973	Hulea Ana., Negru Al., Severin A.	Principalele boli ale culturilor semincere, Editura Ceres
1978	Raicu Cristina., Baciu Doina	Patologia seminţei, Editura Ceres.
1982	Hulea Ana, Taşcă Gh., Beratlief C.	Bolile şi dăunătorii produselor agricole şi hortiviticole la recoltare
1986	Hatmanu M., Bobeş I.	Protecţia plantelor cultivate, Editura Ceres
1986	Munteanu şi colab.	Probleme noi de patologia seminţei şi ecologia producţiei la grâu şi orz
1988	Florian V.	Cercetări privind rhynchosporioza la orz.
1988	Şandru I.	Cercetări privind comportarea unui sortiment de soiuri şi linii la *Ustilago avenae* (Pers.) Rostr. şi *Ustilago kolleri* (Wille).
1990	Ioniţă A., Iliescu H.	Elaborarea unei metode de prognoză şi avertizare pentru combaterea făinării şi rynchosporiozei orzului.
1994	Beratlief C., Oprea Maria	Caracteristici ale ecosistemelor depozitelor de produse agricole şi implicaţii sanitare
1997	Trif V.	Cercetări referitoare la ecologia pătării reticulare *Pyrenophora teres* (Sacc.)Drechs. şi la elaborarea sistemului de protecţie integrată a culturilor de orz.
1997	Cristea Steluţa	Studii privind biologia şi combaterea ciupercii *Pyrenophora graminea* (Rabh.)Ito et Kurib în culturile de orz de toamnă.
1998	Elena Nagy, Trif V.	Cercetări privind prevenirea şi combaterea bolilor transmise prin sămânţă la cereale păioase în condiţii din Transilvania, Probleme de protecţia plantelor.
1999	Beratlief C., Mateiaş M.C	"Protecţia produselor agroalimentare depozitate în gospodăriile rurale"
2000	Roşca I., Costică C., Beatrice I.	Combaterea integrată a bolilor, buruienilor şi dăunătorilor culturilor agricole Editura Didactică şi Pedagogică R.A Bucureşti

CAPITOLUL 2

FACTORI CE INFLUENŢEAZĂ APARIŢIA ŞI DEZVOLTAREA MICROMICETELOR PE SEMINŢELE DE CEREALE PĂIOASE

2.1 Starea culturală şi sanitară a culturilor de cereale înainte de recoltare

O recoltă sănătoasă obţinută ca urmare a respectării verigilor tehnologice, a aplicării tratamentelor fitosanitare în timpul vegetaţiei rezistă mai bine la păstrare, durata de depozitare a acesteia fiind mai îndelungată. De asemenea, o recoltă slabă provenită din culturi în cadrul cărora nu s-au respectat unele verigi tehnologice, ce prezintă procent ridicat de elemente bolnave sau lipsite de vigoare nu rezistă la păstrare sau timpul de păstrare va fi foarte scurt. Sunt situaţii în care patogenii infectează plantele spre sfârşitul vegetaţiei sau există ani cu condiţii climatice ce favorizează apariţia infecţiilor cu puţin timp înainte de recoltare, acestea devenind vizibile numai după înmagazinare, infecţii ce pot fi oprite prin uscare naturală sau artificială, înainte de depozitare (Hulea Ana şi colab., 1982). Pe lângă atacul patogenilor, calitatea recoltelor de cereale păioase în câmp şi în timpul păstrării, poate fi afectată şi de condiţiile de mediu şi culturale, cum ar fi: temperaturi extreme, ploi abundente, practicele culturale necorespunzătoare (fertilizarea insuficientă, excedentară sau unilaterală), compoziţia şi reacţia solului etc.

De exemplu, pe soluri foarte acide (lipsite de calciu) spicele de cereale prezintă cariopse mici, deformate uneori pătate.Temperaturile ridicate din timpul perioadei de înspicat şi după aceea duc la obţinerea de cariopse mici, uneori chiar şi şiştave. Astfel de seminţe sunt debile, se păstrează mai greu şi sunt invadate de mucegaiuri .

Aşadar, condiţiile climatice şi culturale prezintă un rol însemnat pentru păstrarea seminţelor după depozitare. De asemenea, introducerea în depozite a cariopselor de cereale recoltate umede, favorizează germinaţia sporilor. În plus, umezeala de pe seminţe trece în atmosfera depozitului determinând germinarea sporilor şi a altor fructificaţii ale ciupercilor aflate pe pereţi şi pardoseală invadând apoi masa de seminţe.

2.2. Gradul de coacere şi conţinutul în umiditate al seminţelor (cariopselor)

Umiditatea optimă la recoltarea cariopselor de cereale este de 15-18%. Dacă recoltarea are loc înainte de perioada optimă, la un conţinut în umiditate mai ridicat de 20%, se impun operaţii suplimentare de uscare, înainte de depozitare. De aceea, pentru ca seminţele de cereale să nu sufere pierderi calitative şi cantitative, trebuie stabilit cu multă exactitate gradul optim de maturare pentru fiecare specie, ţinându-se seama de scopul recoltării şi de durata de păstrare (Bucurescu N., 1968). Seminţele recoltate ceva mai de timpuriu, înainte de a ajunge la maturitatea completă, conţin de regulă un procent de umiditate cu atît mai ridicat cu cât recoltarea s-a făcut mai devreme. Chiar şi atunci când recoltarea s-a făcut la maturitatea deplină procentul de umiditate al seminţei poate să crească dacă în momentul recoltării sau după aceasta, în timp ce sămânţa se găseşte încă în câmp, survine o vreme umedă, ploioasă, după care sămânţa este îmagazinată fără o prealabilă zvântare (Rădulescu E., 1967).

2.3. Condiţiile climatice din perioada de maturare, din timpul şi imediat după recoltare.

Condiţiile climatice prezintă un rol însemnat în depozitarea seminţelor. Introducerea în depozite a seminţelor de cereale recoltate umede, favorizează germinaţia sporilor uşurându-le pătrunderea în straturile de celule periferice. În plus, ploile din timpul recoltării, diminuează greutatea seminţelor, decolorează seminţele, depreciază însuşirile de panificaţie, favorizează încolţirea seminţelor în spic şi dăunează parcurgerii repausului seminal. Perioadele ploioase ce intervin în momentul recoltării cerealelor îngreunează tăierea paielor, favorizează scuturarea seminţelor şi creşterea în umiditate a acestora. Vremea foarte secetoasă şi foarte călduroasă în prejma şi în timpul recoltării provoacă numai în câteva zile şiştăvirea şi scuturarea seminţelor la cereale.

2.4. Metoda de recoltare

Metoda de recoltare poate constitui o cauză a apariţiei micoflorei de depozit în timpul păstrării. Recoltarea mecanică a cerealelor poate provoca spargerea sau crăparea cariopselor constituind adevărate porţi de intrare pentru micromicetele parazite şi saprofite. Acest lucru se întâmplă când combinele nu sunt reglate şi turaţia este prea mare sau dacă piesele active nu sunt bine rodate.

În timpul treieratului există mari posibilităţi de contaminare a cariopselor de cereale cu patogeni sau saprofiţi aflaţi pe părţile recoltabile ale plantelor sau pe

seminţele bolnave fiind inevitabil riscul transferului micromicetelor de la seminţele infestate la cele sănătoase cu care vin în contact.

2.5 Condiţionarea seminţelor după recoltare.

Condiţionarea seminţelor după treierat reduce mult cantitatea patogenilor aflaţi pe seminţe, elimină scleroţii de *Claviceps*, seminţele mici şi deformate, fructificaţiile din resturile de ţesuturi, etc. (Sackston I., 1950).

Dimensiunile şi culoarea anormală a seminţelor cât şi greutatea lor hectolitrică scăzută constituie un factor pentru rezistenţă la păstrare, de aceea, sămânţa cu deficienţe nu trebuie amestecată cu cea sănătoasă. Sămânţa condiţionată va fi uscată prin întindere la soare, în locuri special amenajate, bine aerisite şi curate. Stratul de seminţe nu trebuie să fie mai gros de 15 cm, iar sămânţa se va răsfira periodic prin lopătare, pentru uniformizarea umidităţii şi îndepărtarea temperaturii acumulate între cariopse. Atât la cereale, cât şi la alte specii, seminţele se vor usca până la 13 - 14,5% umiditate.

2.6 Tipuri de depozitare a seminţelor.

Păstrarea cerealelor se face în cele mai multe cazuri în silozuri de mare capacitate, înzestrate cu cele mai moderne instalaţii de reglare a condiţiilor de păstrare şi cu utilaje mai mult sau mai puţin automatizate de încărcare – descărcare şi de mişcare a seminţelor. Cantităţile mai mici de cereale se înmagazinează în depozite mai mult sau mai puţin amenajate, prevăzute sau nu, cu instalaţii speciale pentru reglarea condiţiilor de stocare, dar şi în magazii, poduri, hambare etc., în saci sau în vrac. În fiecare din aceste locuri de depozitare, apar dificultăţi în ceea ce priveşte păstrarea.

Cerealele păioase se stochează conform standardelor internaţionale, la un conţinut de umiditate de 13 -14,5% într-un echilibru de 70-75% umiditate relativă a aerului. În cazul în care depozitarea cerealelor se face la o umiditate relativă a atmosferei mai ridicată (peste 80%) sau când recoltarea cerealelor se face la un conţinut în umiditate de 16 -18% şi se depozitează fără o prealabilă uscare, sunt create condiţii optime pentru degradarea masei de seminţe de către ciupercile parazite şi saprofite. Conservarea genetică a seminţelor în bănci de germoplasmă reprezintă o strategie importantă în lume şi în ţara noastră, determinând reducerea deteriorării genetice şi asigurarea amelioratorilor cu material genetic viabil ce are ca rezultat final crearea de soiuri noi, hibrizi şi creşterea producţiei de sămânţă comercială (FAO, 1989).

După Agarwal L. şi Sinclair (1987) o parte din agenţii patogeni pot rămâne viabili şi în astfel de condiţii de depozitare datorită organelor de rezistenţă sau a miceliilor din interiorul seminţei.

În România, din anul 1990 funcţionează Banca de Resurse Genetice Vegetale Suceava, unitate care are ca obiectiv principal, alături de alte activităţi, conservarea resurselor genetice vegetale. Pentru seminţele destinate conservării genetice, condiţiile de păstrare trebuie să fie următoarele (IPGRI, 1977):

- pentru conservare pe termen mediu, T = +4,5 °(±1°) şi umiditatea relativă a aerului = 30-40%;
- pentru conservare pe termen lung, T = - 15° C; - 20° C (±1° C) şi umiditatea relativă a aerului = 30%.

Umiditatea cariopselor de cereale păioase depozitate trebuie să fie de 8-10%. În astfel de depozite are loc controlul simultan al temperaturii şi umidităţii relative a aerului, aceştia fiind factori esenţiali în menţinerea viabilităţii şi sănătăţii seminţei.

2.7 Condiţiile de mediu specifice de depozit

Înmulţirea, creşterea şi activitatea de degradare a micromicetelor parazite şi saprofite sunt favorizate de condiţiile de mediu specifice fiecărui tip de depozit în care trăiesc, cum ar fi:

- *substratul nutritiv unde se dezvoltă(masa de seminţe);*
- *temperatura şi lumina;*
- *umiditatea relativă din atmosfera depozitului şi a spaţiilor intergranulare;*
- *ventilaţia aerului şi compoziţia atmosferei din depozit.*

Substratul nutritiv ca mediu de dezvoltare al micromicetelor este reprezentat de masa de seminţe unde seminţele lovite, sparte, puternic infectate, impurităţile, seminţele de buruieni sunt într-un procent mai ridicat, oferindu-le condiţii favorabile pentru desfăşurarea activităţii lor de biodegradatori. Ca rezultat al acestei activităţii, se produc în seminţe acizi organici care dau cunoscutul miros de "mucegai" ce face ca seminţele de cereale să fie de neconsumat (Cahagnier B., 1995).

În privinţa temperaturii, micromicetele parazite şi saprofite pot creşte, sporula şi activa, între limite destul de largi, care variază totuşi de la gen la gen şi de la specie la specie, unele fiind mai active la temperaturi mai scăzute (15-20ºC) altele dimpotrivă desfăşurând o activitate mai intensă între 25ºC şi 35ºC.

Un rol important pentru dezvoltarea mucegaiurilor o are nu numai temperatura din mediu, ci şi cea din masa de seminţe. Temperaturile foarte scăzute, chiar şi cele de -20ºC (depozite frigorifice) nu omoară micromicetele în totalitate ci numai inhibă activitatea şi evoluţia lor. Hewett (1987), Faiad şi Piaulino (1989), afirmau că unii

patogeni au supravieţuit în seminţe depozitate la -20ºC timp de 14 ani. După creşterea temperaturii aşa cum se întâmplă în unele ferestre ale iernii sau după scoaterea seminţelor din depozitul frigorific, acestea, îşi reiau activitatea vitală, cresc şi se înmulţesc normal. Wallace (1973) - citat de Hulea Ana (1982), prezenta o clasificare completă a ciupercilor din punct de vedere al reacţiei la temperatură (tabel 1).

Tabelul 1

Clasificarea ciupercilor în funcţie de limitele de temperatură la care se pot dezvolta (Wallace, 1973).

Grupul de ciuperci	**Temperatura (º C)**		
	Minimă	**Optimă**	**Maximă**
Psychrofile	- 8 - 20	10 - 20	25 – 30
Mezofile	5 - 20	20 - 40	40 – 45
Termofile	25 - 40	50 - 60	70 – 80

Lumina are importanţă mai redusă pentru dezvoltarea ciupercilor. Sunt specii de ciuperci care cresc şi sporulează la fel de bine la lumină şi la întuneric, dar sunt specii care sporulează mult mai abundent la întuneric, fapt important pentru înmulţirea şi răspândirea lor în depozit (Leach C.M.,1967). Specii precum *Alternaria alternata* (Fr.)Keiss. sporulează mai rapid la lumină decât la întuneric. Uneori lumina difuză este cea mai prielnică pentru creşterea şi sporularea ciupercilor.

Umiditatea relativă din atmosfera depozitului şi din spaţiile intergranulare este un factor important în dezvoltarea micromicetelor care afectează seminţele de cereale păioase în timpul depozitării. Atât înmulţirea şi răspândirea lor rapidă, cât şi creşterea activităţii fiziologice şi biochimice sunt favorizate de umiditatea relativă (UR) a mediului din depozit, de conţinutul în umiditate (CU) al masei de seminţe, între care există un echilibru. Harrington J.F. (1972), prezenta în acest sens relaţiile între umiditatea relativă a aerului şi conţinutul în umiditate a seminţelor de grâu (Harringthon J.F., 1972) (tabel 2). La grâu, la temperatura de 20ºC, conţinutul în umiditate al seminţelor trebuie să fie de 14,5% pentru a fi în echilibru cu o umiditate a aerului de 75%.

În tabelul 3 sunt prezentate limitele inferioare de umiditate relativă a aerului, pentru câteva din speciile de *Aspergillus* (Link.) şi *Penicillium* (Link.) ce se dezvoltă pe seminţe în timpul depozitării.

Tabelul 2

Conţinutul în umiditate al cariopselor de grâu şi valorile corespunzătoare ale umidităţii relative a aerului, la T= 20 ºC.

CU (%)	9.3	9.7	10.2	10.7	11.1	11.7	12.3	13.1	14.0	15.2	16.5	19.0	21.6	25.0
UR (%)	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95

Tabelul 3

Limita inferioară a umidităţii relative a aerului pentru dezvoltarea unor specii de *Aspegillus* (Link) şi *Penicillium* (Link) (Christensen şi Kaufman, 1974)

Specia de micromicetă	**Limita inferioară a umidităţii relative în %**
Aspergillus halophilicus Crist.,Pap.& Benj.	68
Aspergillus restrictus Smith	70
Aspergillus glaucus (grup)Link	73
Aspergillus candidus Link şi ochraceus Wilh.	80
Aspergillus flavus Link	85
Penicillium spp.	

Umiditatea masei de cereale este reprezentată de apa liberă dintre spaţiile intergranulare şi poate fi determinată prin metoda gravimetrică sau cu ajutorul umidometrului. Harrington**,** în lucrarea "Seed Biology" (1972), arată că la depozitarea seminţelor trebuie să se ţină cont de relaţia ce există între umiditatea relativă a aerului şi conţinutul în umiditate al masei de seminţe, existând două reguli de bază:

- cu fiecare procent de reducere al conţinutului în umiditate se dublează viaţa seminţelor;

- pentru fiecare scădere a temperaturii de păstrare cu 5ºC, se dublează viaţa seminţelor.

Ventilaţia aerului şi compoziţia atmosferei din depozit se generalizează prin raportul dintre O_2 şi CO_2, cu rol important în dezvoltarea ciupercilor. Cea mai mare parte dintre micromicete sunt aerobe având nevoie de oxigen pentru a trăi. Prin respiraţie, ciupercile consumă oxigenul şi eliberează CO_2 şi căldură astfel că într-un spaţiu închis etanş, oxigenul fiind repede consumat, cantitatea de CO_2 se acumulează tot mai mult până devine nocivă pentru ciuperci. Pe acest principiu se bazează metoda păstrării în depozitele frigorifice cu atmosferă condiţionată în care proporţia de oxigen este de 3% iar cea de CO_2 de 5%, unde seminţele sunt apărate împotriva degradării. Compoziţia chimică a atmosferei din depozit este foarte greu de controlat mai ales în depozite, magazii etc., unde reglarea acestor componenţi se face după posibilităţi , uneori cu mijloace primitive .

2.8 Prezenţa dăunătorilor în masa de seminţe în timpul depozitării

Cercetările efectuate de Bulla J. şi alţii (1973) au scos în evidenţă rolul important pe care îl au insectele, acarienii, gărgăriţele şi chiar nematozii şi larvele acestora, atât în vehicularea ciupercilor cât şi în favorizarea, pătrunderii lor în boabe prin înţepăturile şi rănile care le fac. Ciupercile servesc drept hrană pentru dăunători şi se cunosc cazuri în care aceştia se înmulţesc pe seama lor şi invers, acestea din urmă beneficiind în mod special de umiditatea creată prin respiraţia insectelor. După Baicu I., (1996), rolul cel mai mare îl au dăunătorii din depozite şi silozuri de cereale datorită numărului mare de genuri şi specii şi datorită condiţiilor optime create pentru înmulţirea micromicetelor.

CAPITOLUL 3

MECANISMUL PRODUCERII INFECŢIEI LA SEMINŢELE DE CEREALE PĂIOASE

3.1 Contaminarea seminţei

Contaminarea seminţelor prin spori asexuaţi, ascospori sau miceliu în câmp reprezintă faza incipientă a unei infecţii. Aceste forme de rezistenţă determină contaminări superficiale sau interne, rămânând în stare latentă atâta timp cât condiţiile de dezvoltare nu sunt prielnice, reluîndu-şi activitatea la semănat sau în timpul depozitării. Contaminarea seminţelor se produce adesea în funcţie de condiţiile agroclimatice din regiune putând apărea diferenţe de infestare de la o regiune la alta sau de la o parcelă la alta. Aceste diferenţe apar în cantitatea de inocul din sămânţă, ca procentaj de seminţe infectate.

Utilizarea seminţelor contaminate de micromicete în timpul vegetaţiei, la recoltare, pe durata conservării determină în fiecare an, pierderi însemnate ce afectează atât randamentul cât şi calitatea producţiei recoltate şi depozitate.

Sămânţa este contaminată în majoritatea cazurilor de organele de reproducere ale micozelor ce se găsesc pe straturile superficiale ale seminţei, în interiorul lor sau în amestec cu acestea (fig.1) cum ar fi: oospori-zoospori, ascospori, miceliu din câmp, picnidii-picnospori, peritecii-ascospori, clamidospori, scleroţi.

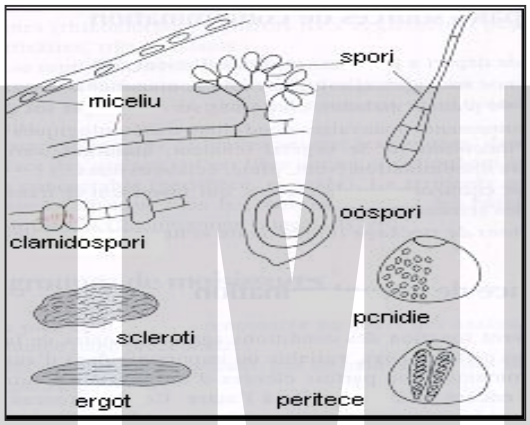

Fig. 1 Organe de reproducere ale ciupercilor prezente pe seminţe, în seminţe sau în amestec (Champion R., 1997)

După afirmaţiile făcute de Champion R.(1997) inoculul prezent pe seminţele de cereale are ca punct de plecare diverse origini:

- sămânţa mamă- mijloc de contaminare înainte de semănat;
- resturile de plante bolnave sau samulastra apărută după recoltare este mijloc de contaminare în timpul geminaţiei seminţei şi apariţiei tinerelor plantule;
- mediul abiotic – condiţiile meteorologice (temperaturi ridicate, umiditate ridicată) favorizează producerea de inocul în timpul vegetaţiei sau diseminarea acestuia prin vânt sau ploaie;
- lucrările agrotehnice – sunt mijloace de contaminare pe toată durata vegetaţiei, recoltarea având rol în transportul de spori şi infestarea seminţei;
- condiţiile de depozitare – temperatura de depozitare şi umiditatea seminţei sunt factori fizici ce influenţează contaminarea seminţei.

Micoflora asociată seminţelor de cereale aflată uneori în stare latentă este capabilă să-şi reia activitatea în condiţii favorabile diminuând viabilitatea seminţei, şi implicit, determinând mai multe tipuri de contaminare: a). externă b). internă c). mixtă - externă şi internă d). cu resturi de plante atacate e). după recoltare .

a. *Contaminarea externă* - este o formă neaparentă de infestare ce se manifestă prin aderarea sporilor sau a altor forme de rezistenţă a agenţilor patogeni de suprafaţa tegumentului sau pericarpului seminţei. Exemple tipice sunt micozele –agenţii patogeni ce produc:

- măluri - *Tilletia caries* (DC.)Tul. , *Tilletia controversa* (Kulrm), *Tilletia pancici* (Bubak şi Ranoj);
- tăciunii - *Ustilago hordei* (Pers)Lagerth., *Ustilago nigra* (Tapke), *Urocystis occulta* (Wallr.)Rabe *Nh., Ustilago kolleri* (Will);
- septoriozele - *Septoria nodorum* (Muller)
- fusarioza –*Fusarium roseum* (Link Sn et H.)
- helminthosporiozele – *Helminthosporium sativum* (Ito and Kurib)(*black-point), Helminthosporium teres* (Drechs.), *Helminthosporium avenae* (Ito and Kurib);
- sporii patogenilor aflaţi în pătura arabilă a solului.

În cazul contaminării externe cu specii ale genului *Tilletia sp.*, începând din faza de germinaţie a seminţelor de grâu şi orz, teliosporii acestei ciuperci dau naştere la filamente de infecţie care pătrund în plăntuţele tinere (infecţie germinală). Miceliul ciupercii creşte împreună cu planta, ajunge în viitorul spic, apoi în ovare şi în scurt timp distruge organele atacate pe care le transformă într-o masă neagră de spori (Rădulescu E., Negru A. 1967).

Contaminarea externă prin spori care aderă la suprafaţa pericarpului este specifică fusariozelor, helminthosporiozelor, etc. La grâu, orz, ovăz *Helminthosporium sativum* (Ito and Kurib) în asociaţie cu *Cladosporium herbarum* (Pers.)Link ex. S.F Gray şi *Alternaria alternata* (Fr.)Kessler produce o pigmentaţie neagră în zona embrionului numită black-point (Raicu C.,1978).

Contaminarea cu *Fusarium roseum* (Link Sn et H.) se manifestă prin seminţe mai deschise la culoare, fără luciu, şiştave cu viabilitate scăzută comparativ cu cele normale, atacul fiind mai puternic în perioada de răsărire şi chiar mai târziu când plantulele atacate se îngălbenesc şi mor în câteva zile (Rădulescu E., Negru A., 1967).

Seminţele de orz contaminate cu *Helminthosporium teres* (Drechs.) şi *Helminthosporium graminea* (Ito and Kurib), cele de ovăz cu *Helminthosporium avenae* (Ito and Kurib) nu manifestă simptome exterioare însă odată cu germinaţia seminţei, germinează şi sporii ciupercii care produc miceliu ce pătrunde în plantă prin coleoptil realizându-se infecţia primară.

Pe plantele bolnave apar sporii ce se răspândesc pe frunzele proaspăt formate producându-se infecţia secundară şi apoi infecţia seminţelor (Rădulescu E., 1969).

Contaminarea externă realizată de sporii micozelor aflaţi în pătura arabilă a solului este caracterizată de mai mulţi autori prin diferite aspecte. După Rădulescu E. şi Negru A., (1967) în anumite situaţii, patogenii aflaţi în imediata apropiere a seminţei prin acţiunile lor negative, sinergice, pot determina scăderea viabilităţii şi vigorii seminţelor. Zona din vecinătatea seminţei numită spermosferă prezintă două straturi:

- un strat mucilaginos ce se formează la începutul germinaţiei seminţei în contact cu umiditatea solului;
- stratul teluric (stratul de sol) ce vine în contact cu sămânţa.

Între cele două straturi apar relaţii de schimb, la nivelul stratului mucilaginos creându-se condiţii favorabile pentru dezvoltarea unor microorganisme semisaprofite şi saprofite din sol ce se înmulţesc şi infectează sămânţa sau tânăra plantulă rezultată din aceasta. Micozele patogene din pătura telurică a spermosferei contribuie şi ele la acţiunea de reducere a germinaţiei sau de întârziere a acesteia respectiv îmbolnăvirea plantulelor apărute.

După Hatman M. (1986) în pătura telurică se pot găsi spori de: *Fusarium culmorum* (Link Sn et H.), *Tilletia controversa* (Kulrm), *Helminthosporium sativum* (Ito and Kurib), *Helminthosporium gramineea* (Ito and Kurib) sub acţiunea cărora încă de la începutul răsăririi atât rădăcinile cât şi tulpinile sunt atacate şi în cele din urmă putrezesc. Există cazuri în care spermosfera poate juca rol pozitiv deoarece crează condiţii favorabile pentru intrarea în acţiune a unor micoze antagoniste din apropierea seminţei ce inhibă dezvoltarea micozelor existente pe sămânţă. De exemplu

Trichoderma viridis (Pers ex. Fr.), *Aspergillus sp*. (Link.), *Penicillum sp*. (Link.), *Paecillomyces, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida* etc., inhibă acţiunea micozelor patogene (Seşan Tatiana, 1983).

b.***Contaminarea internă*** - este rezultatul pătrunderii miceliului în interiorul seminţei acesta localizându-se într-o zonă bine definită. Există două tipuri de contaminare internă: superficială şi profundă.

Contaminarea internă superficială se manifestă prin localizarea sporilor în ţesuturile superficiale ale seminţei influenţând într-o măsură redusă germinaţia seminţelor. Ca rezultat a acestei contaminări apar pete, uneori delimitate, striate sau necrotice, colorate în gri, roz, violaceu, roşu sau brun şi chiar negru. Uneori aceste pete sunt mai profunde producând chiar deteriorarea embrionului. Remi Champion (1977), afirmă că acestea se datoresc unor factori ca:

- gradul de patogenitate;
- condiţiile climatice;
- stadiul de vegetaţie al plantei gazdă;
- momentul fructificării şi pătrunderii sporilor în ţesuturile seminţei.

Ustilago avenae (Pers.)Jens este un caz tipic de contaminare internă superficială care nu duce la infecţia embrionului. Sporii se prind de stigmat, germinează iar hifele cresc de-a lungul stilului însă nu ajung în embrion şi endosperm, ci se răspândesc în parenchimul glumelor şi în epiderma cariopselor sub formă de miceliu de rezistenţă (Raicu Cristina, 1978).

Contaminarea internă profundă se manifestă prin pătrunderea miceliului în ţesuturile endospermului şi cotiledoanelor infectând embrionul. Infecţia embrionară este de două tipuri: primară şi secundară

a) Infecţia embrionară primară este tipică micozelor *Ustilago nuda* (Jens.)Rostr pe orz şi *Ustilago tritici* (Pers.)Rostr pe grâu (Raicu Cristina, 1978). Aceste micoze produc pe plantele gazdă infecţii florale. Tuburile infecţioase ce provin din conjugarea tuburilor germinative ale teliosporilor pătrund prin stigmat şi cresc intercelular prin stil. Hifele infecţioase pătrund direct prin peretele ovarului, traversează parenchimul pericarpului către integument, ajung în nucelă de unde trec în scutelum şi apoi în meristemele embrionului unde rămân în stare latentă până la semănat.

b) Infecţia embrionară secundară apare atunci când infecţiile primare iniţial superficiale se adâncesc treptat în cursul formării şi maturării seminţei sau în timpul păstrării, când filamentele miceliene ajung până la embrionul seminţei ducând la pierderea viabilităţii seminţei.

c. ***Contaminare mixtă- externă şi internă*** se regăseşte la *Fusarium roseum* (Link Sn et H.) care produce roşeaţa spicelor la grâu, orz, ovăz şi secară (Munteanu I. şi colab.,1970).

Contaminarea internă are loc în spic, micoza formează o pâslă micelianăroz sau roz carmin, pe care se dezvoltă puternic o cantitate mare de spori ce invadează cariopsele reprezentând un pericol pentru seminţele germinate şi plantule. Odată infectate, acestea nu pot răsări şi putrezesc în pământ.

Contaminarea externă superficială are loc în timpul recoltatului când sporii din spicele bolnave infestează seminţele din spicele sănătoase ducând la posibile infecţii după câteva luni de depozitare.

d. ***Contaminări cu resturi de plante ce conţin spori de ciuperci sau micelii.***

Cantităţile de resturi vegetale rămase în câmp după recoltare reprezintă adevărate focare de contaminare a plantulelor la încolţire sau în timpul dezvoltării plantelor (Champion R., 1997).

Samulastra este un mediu purtător de infecţie pentru plantele de cultură cât şi pentru semînţe.

Majoritatea micozelor ce se transmit prin seminţe supravieţuiesc ca saprofiţi pe resturile de plante atacate, nu se descompun în sol şi iernează sub formă de organe de rezistenţă cum ar fi:

- fusarioza şi mălura pitică la grâu;
- helminthosporiozele la grâu, orz, ovăz;

Resturile vegetale, uneori se găsesc sub formă de impurităţi în amestec cu seminţele de cereale, fragmentele de plante atacate de diferiţi paraziţi ajung printre seminţe în timpul recoltatului, transmiţând infestarea pe această cale la cultura următoare (Negru A., Rădulescu E., 1967). Alte forme de rezistenţă cum sunt scleroţii diferitelor micromicete -*Claviceps purpurea* (Fr.ex Fr.)Tul -la secară (foto 9) sunt deseori prezenţi în loturile de seminţe.

După, Rădulescu E. şi Negru A. (1967) scleroţii întregi sau fragmentele de scleroţi aflaţi în amestec cu sămânţa de secară sau cei care iernează în sol, germinează odată cu sămânţa formând corpuri stromate cu peritecii ce conţin asce cu ascospori ducând la contaminarea plantelor în timpul vegetaţiei.

e. ***Contaminarea după recoltare.***

Unele micoze, în special cele saprofite, în timpul depozitării în condiţii necorespunzătoare, contribuie la degradarea seminţelor. Micoflora de depozit ce aparţine speciilor: *Penicillum* (Link.), *Mucor sp.* (Micheli), *Trichotecium roseum* (Link.), *Alternaria alternata* (Fr.)Kessler, *Cladosporium herbarum* (Pers.)Link, *Epicoccum purpurascens* (Ehrenb ex Schlecht), evoluează în interiorul seminţelor

când acestea sunt recoltate cu un conţinut de umiditate ridicat sau sunt conservate în depozitele cu umiditatea relativă a aerului ridicată.

Din cercetările efectuate de Ana Hulea şi colab. 1982 s-a constatat o sporulare abundentă a acestor micoze în condiţii favorabile, mai ales la nivelul ţesuturilor embrionare unde conţinutul de umiditate este mai mare decât în endosperm, embrionul fiind distrus iar endospermul degradându-se biochimic.

După Beratlief C. (1982) seminţele de cereale şi leguminoase pentru boabe depozitate după recoltare în locuri insuficient aerate sau în straturi foarte groase, devin sursa de infecţie a mucegaiurilor de depozit şi a patogenilor proveniţi din micoflora de câmp înzestraţi cu putere celulolitică mare de degradare a calităţii seminţelor.

3.2 Căi de transfer ale micromicetelor în timpul contaminării seminţei

a.***Transfer de la sămânţă la sămânţă***. După Raicu Cristina (1978) contaminarea de la sămânţă la sămânţă poate avea loc de la recoltat până la semănat. În timpul treieratului unii spori ca, cei de *Tilletia sp. Ustilago sp*. *Fusarium graminearum* (Schw.) se pot răspândi odată cu praful pe tegumentul seminţelor aceluiaşi lot care este deja infestat sau, pot contamina seminţele din loturi cu un grad diferit de infestare pentru că s-a folosit acelaşi echipament de recoltare, căruia nu i s-a făcut o curăţire prealabilă.

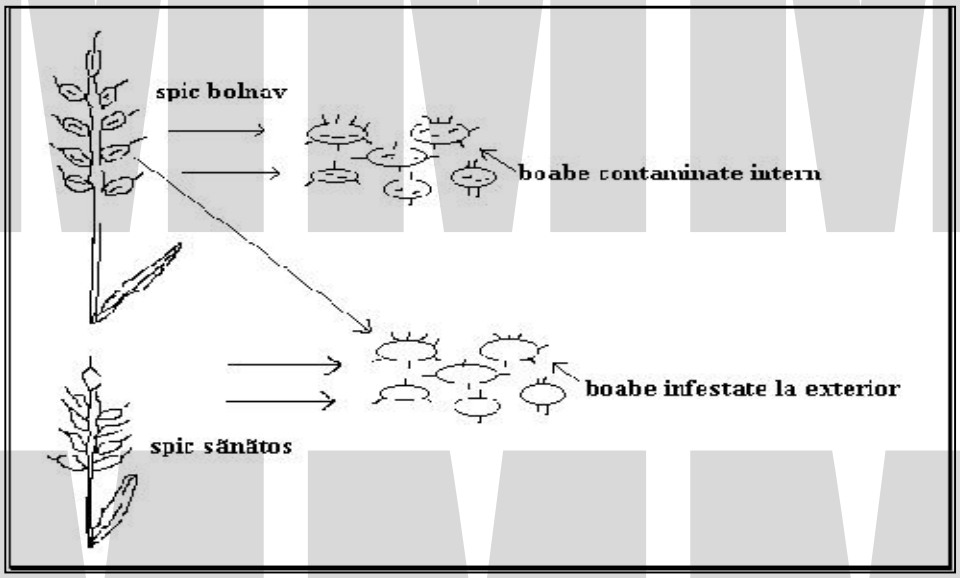

Fig. 2 Contaminarea seminţei cu micromicete în timpul recoltării.

În alte situaţii se pot amesteca loturi diferite de seminţe în vederea realizării unei uniformităţi de culoare, pentru creşterea procentului de germinaţie, sau pentru a completa o anumită cantitate solicitată, realizându-se în acest mod transferul de agenţi patogeni de la un lot la altul. În timpul semănatului, prin folosirea unei semănători

contaminate cu diferiţi patogeni de la un anumit lot de seminţe, se poate realiza transferul acestor agenţi la un lot mai puţin infestat.

b. ***Transfer de la sămânţă la plantă*** Transferul de la sămânţă la plantulă are ca origine infecţia locală sau sistemică generată de aderarea sporilor pe cariopsele de cereale şi seminţele de leguminoase. Argumente în acest sens aduce Raicu Cristina şi colab. (1978) dând ca exemplu pe *Ustilago tritici* (Pers.)Rostr la grâu (*fig 3*); *Ustilago nuda* (Jens.)Rostr. la orz, referindu-se în special la anul al doilea al ciclului evolutiv când ciuperca sporulează în organele florale. Miceliul ciupercii existent în embrion, în timpul germinaţiei seminţei, se dezvoltă intercelular, urmează punctul de creştere în sus prin tulpină, ajunge în primordiile spicului, unde în locul cariopselor formează o masă pulverulentă de spori.

Sporii care se localizează în afara embrionului (endosperm, tegument) de exemplu: helminthosporiozele la orz, fuzarioza la grâu şi orz, pot evolua într-o infecţie sistemică. Miceliul ciupercilor fiind localizat în tegument sau endosperm, în timpul germinaţiei seminţelor, creşte, pătrunde adânc în regiunea embrionului (*Fusarium sp*.) sau atacă coleoptilul (*Septoria nodorum* (Muller), *Helminthosporium sp*.) pătrunzând în plantulă (Seşan Tatiana, Baicu T., 1995).

Sporii care aderă la suprafaţa cariopselor de cereale, de exemplu : *Tilletia caries* (DC.)Tul., *Ustilago hordei* (Pers)Lagerh., *Ustilago avenae (*Pers.)Jens, *Urocystis oculta* (Wallr.)Rabe Nh., *Ustilago koleri* (Will) determină ulterior o evoluţie sistemică a infecţiei (Ana Hulea şi colab., 1982).

Transferul acestora pe plantă are loc în momentul germinării seminţei când se formează filamente de infecţie ce pătrund în plantulă prin coleoptil şi se dezvoltă intercelular până ajung la spic, transformându-l într-o masă de clamidospori.

c.*Transfer de la sol-sămânţă-plantă* Conform cercetărilor efectuate de Champion R. (1992) rezultă că o parte din agenţii patogeni ce contaminează profund sau superficial sămânţa, în amestec cu aceasta, pot rămâne în sol o perioadă de timp ca saprofiţi sub formă de ascospori sau scleroţi, după care germinează şi infectează plantele tinere. Exemple tipice pot fi: *Fusarium sp., Helminthosporium sp., Tilletia controversa* (Kühn), *Claviceps purpurea* (Fr.)Tul. etc.

După Hatman M. şi colab (1989), transferul ascosporilor de *Claviceps purpurea* (Fr.)Tul care s-au format din scleroţii aflaţi în sol şi au germinat în condiţii favorabile de umiditate şi temperatură, are loc în perioada de înflorire a secarei. Cu ajutorul curenţilor de aer aceştia ajung pe stigmat, germinează, miceliul invadează ovarele, în locul unor cariopse de secară formându-se scleroţii de *Claviceps purpurea* (Fr.)Tul. *(fig 4).*

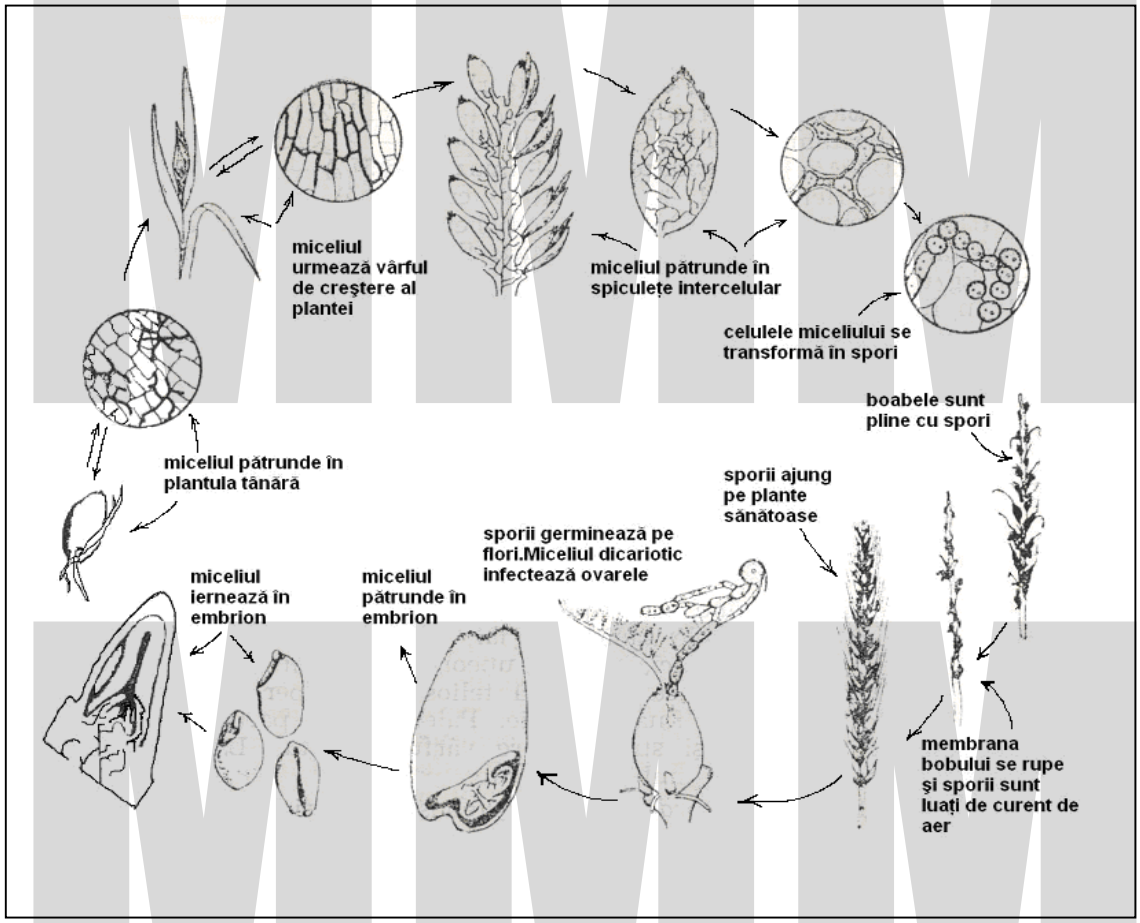

Fig. 3 -*Ustilago tritici* (Pers.) Jens.- ciclul evolutiv (după Agrios, 1978).

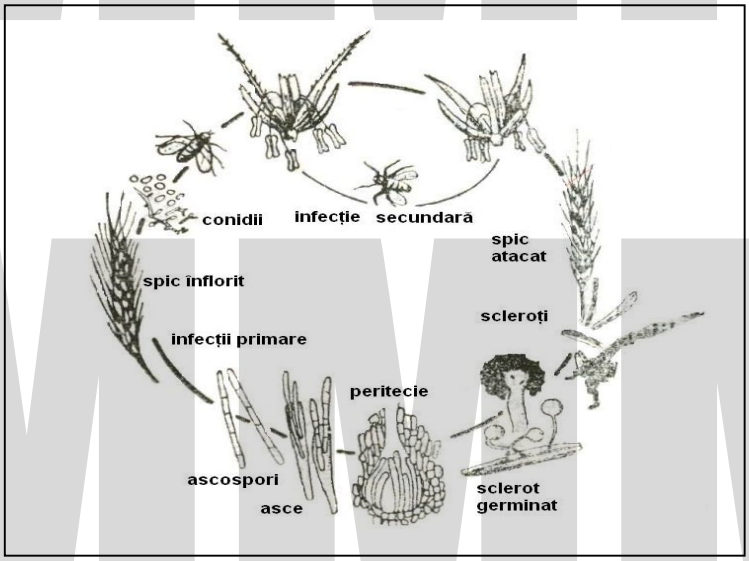

Fig. 4 - Infecţii la spic cu scleroţi de *Claviceps purpurea* (Fr.)Tul din sol (Hatman M. şi colab., 1989).

3.3 Localizarea micromicetelor în sămânţa de cereale

În loturile de seminţe de cereale sursele de contaminare a seminţei sunt foarte variate, inoculul purtat de acestea fiind format din mai multe tipuri de micromicete ce influenţează vigoarea. Micromicetele transmise prin seminţele de cereale în funcţie de biologia lor şi de condiţiile întâlnite infestează tegumentul şi pericarpul la exterior, embrionul sau rămân în sămânţă sub formă de micelii (*foto 1*- a, b, c).

Foto 1 Seminţe de grâu contaminate
(foto Dr.Christensen C.M., Department of Plant Pathology, University of Minnesota, 2002)
a.seminţe sănătoase **b**.seminţe cu infecţie în pericarp **c**. seminţe cu infecţie în embrion

Localizarea infecţiei este dependentă de locul de pătrundere specific fiecărei micromicete şi de anatomia seminţei care variază de la un gen la altul (Trif V., 1998) (*foto 2)*.

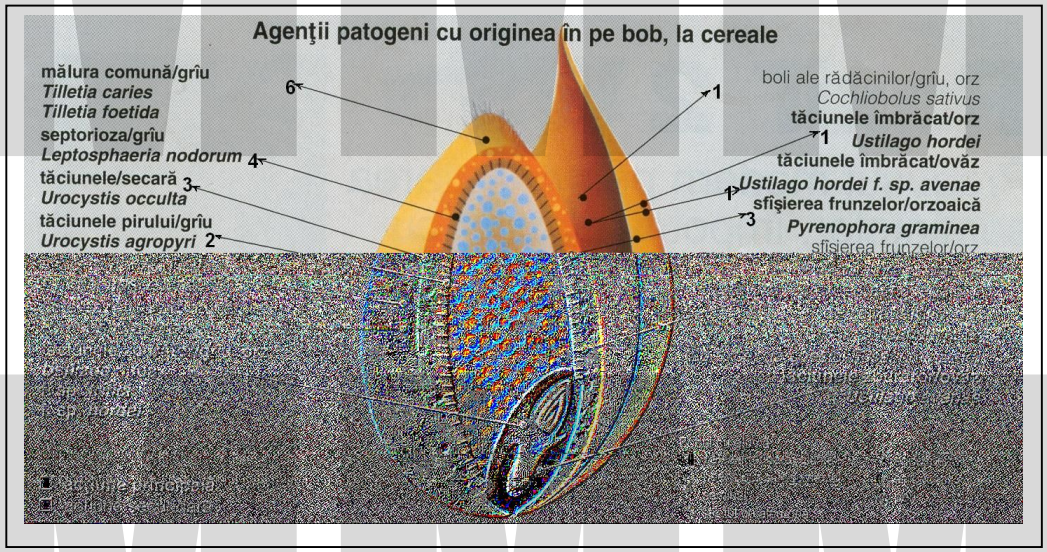

Foto 2- Localizarea agenţilor patogeni pe sămânţa de cereale (Raxil – Bayer- România, 1998)

La orz sămânţa este infectată diferit de patru agenţi patogeni diferiţi: *Ustilago nuda* (Jens) Rostr. produce infecţie florală şi se localizează în embrion, *Ustilago*

hordei (Pers) Lagerh. contaminează mecanic sămânţa localizându-se între glume, *Pyrenophora teres* (Drechs)., *Pyrenophora graminea* (Ito; Kurib) se stabilesc sub formă de miceliu de rezistenţă în pericarp.

Tegumentul seminţelor de cereale este frecvent infectat de micromicete din genul: *Fusarium nivalis* (Schaffnit), *Fusarium graminearum* (Schw), *Fusarium avenaceum* (Fr) Sacc, *Fusarium culmorum* (WG.Smith) Sacc, *Leptosphaeria nodorum* (Muller), *Rhynchosporium secalis* (Link).

Micromiceta *Cocchiobolus sativus* (Ito and Kurib) se găseşte sub formă de miceliu latent în pericarpul seminţelor de grâu şi orz iar *Ustilago avenae* (Pers.) se localizează sub formă de miceliu în ţesuturile interioare ale paleelor de ovăz.

Speciile de micromicete din genul *Tilletia sp*., se întâlnesc pe suprafaţa seminţelor, ataşate de tegument, în şanţul ventral sau pe perişorii de la vârf.

Micromicetele saprofite şi de depozit din genurile: *Alternaria tenuis* (Nees), *Cladosporium herbarium* (Link), *Epicoccum purpurascens* (Link), *Trichoderma viride* (Person), *Aspergilius sp* (Micheli) Link, *Rhyzopus sp*. (Ehrenberg), *Mucor sp*. (Micheli), *Stachybotrys atra* (Corda) se găsesc răspândite pe tegumentul cariopselor de cereale.

Capitolul 4

TIPURI DE MICROMICETE CE INFECTEAZĂ SĂMÂNŢA LA PLANTELE DE CEREALE PĂIOASE

4.1 Clasificarea şi caracterele specifice micromicetelor întâlnite pe seminţele de cereale.

După modul de acţiune asupra plantei gazdă şi asupra seminţei pot exista mai multe grupe de micromicete cum ar fi: micromicete parazite, saprofite, oportuniste, antagoniste şi producătoare de micotoxine. Fiecare dintre acestea infestează învelişurile exterioare ale seminţei sau produc infecţii în interior la nivelul embrionului influenţând facultatea germinativă şi vigoarea plantelor în câmp (fig 5).

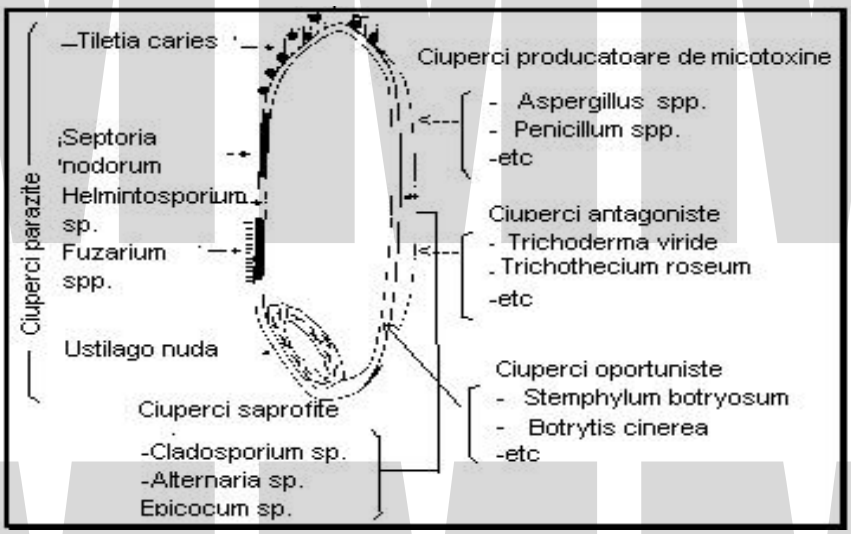

Fig. 5-Grupe de micromicete ce contaminează sămânţa la speciile de cereale păioase (Champion R.,1997)

Micromicetele parazite sunt componente ale micoflorei de câmp ce apar în timpul vegetaţiei plantelor producând pierderi de randament, scăderea masei a o mie de boabe, reducerea vigorii şi calităţii seminţei.

De asemenea, acestea produc putrezirea seminţei înainte de apariţia radicelei când sunt incubate şi determină apariţia de plante anormale la răsărit.

După răsărit, micromicetele parazite, atacă plantele mamă, organele reproducătoare şi seminţele. Ele sunt de origine criptogamică şi contaminează sămânţa înainte de recoltare şi în perioada de păstrare. Din studiile efectuate pe seminţele de cereale s-a dovedit că patogenii cei mai frecvenţi şi mai păgubitori aparţin genurilor *Tilletia sp., Ustilago sp., Fusarium sp., Septoria sp.* respectiv *Drechslera sp*., producând pierderi ale viabilităţii seminţei sau moartea plantulelor după răsărire (Diehl, 1983; Silva, 1983). Aceştia determină în anii favorabili deprecieri calitative cum ar fi :

- transformarea seminţelor într-o masă de spori neagră cu miros de trifenilamină (mălurile);
- apariţia de spice cu aspect prăfos negru alcătuite din sporii ciupercii patogene în loc de cariopse (tăciunii);
- existenţa unor spice total sau parţial albite cu miceliu alb sau roz la baza spiculeţelor cu boabe mici, uşoare, şiştave (fusariozele);
- apariţia unor spice brunificate parţial cu boabe mici, ridate, cu pigmentaţie în zona embrionului (helmintosporiozele);

Micromicete oportuniste (secundare). Acestea sunt specii ce se instalează la sfârşitul perioadei de vegetaţie, pe seminţe, în funcţie de gradul de favorabilitate al condiţiilor de mediu. În cazul unor atacuri puternice apar germeni anormali la răsărit sau aceştia sunt neviabili. Distincţia între o ciupercă parazită veritabilă şi una oportunistă este foarte dificilă. Micromicetele oportuniste cum ar fi: *Cladosporium herbarum* (Link)*, Stemphylium botryosum* (Wallr.)*, Alternaria tenuis* (Nees)*, Helminthosporium sativum* (Ito; Kurib) determină apariţia la sfârşitul perioadei de vegetaţie a unor simptome pe spice sub forma unor aglomerări de miceliu brun, pe boabe şiştăvite, cu înnegrire accentuată la vârf şi în dreptul embrionului.

Micromicete saprofite. Acestea contaminează în mod frecvent sămânţa infectând-o în întregime. Pe aceeaşi cariopsă pot fi întâlnite mai multe specii de saprofiţi, fără să determine diminuarea accentuată a facultăţii germinative sau a densităţii la răsărit, apărând când sămânţa este ajunsă la maturitate şi uscată.

Speciile de ciuperci saprofite care apar cu frecvenţă ridicată la cereale, şi accentuează efectele negative determinate de patogeni în scăderea facultăţii germinative sunt : *Alternaria spp., Aspergillus spp., Cladosporium herbarum* (Pers.)Link*., Rhyzopus stolonifer* (Ehrb)*, Mucor spp., Trichoderma viride* (Pers ex Fr.), *Epicocum sp.* (Munteanu I., 1982).

Micromicete producătoare de micotoxine. Micotoxinele sunt metaboliţi sintetizaţi de însăşi o parte din numeroasele mucegaiuri, determinate de micromicetele

întâlnite pe plante înainte de recoltare, în momentul recoltatului, în timpul păstrării, funcţie de condiţiile de depozitare (Richard –Molard D., 1992).

Principalele micromicete producătoare de micotoxine sunt cele din grupul *Aspergillus sp., Penicillium sp., Fusarium sp.* Micotoxinele produse de acestea duc la apariţia unor sindroame, specificate în patologia animală şi umană ca: sindroame hepatice şi nefrotice, nervoase, hemoragice, oestrogenice etc.

Micromicete antagoniste Sunt hiperparaziţi ce duc la eliminarea unor patogeni ai plantelor de cultură diminuând pierderile provocate de aceştia.

După Baker şi Cook (1974), Kuhlman (1980) o ciupercă antagonistă se caracterizează prin:

- capacitate mare de inhibare şi distrugere a patogenului ţintă, înainte ca acesta să producă pagube;
- producerea unor cantităţi mari de inocul;
- capacitate de diseminare rapidă;
- capacitate ridicată de supravieţuire în condiţii extreme;
- nu este patogen pentru plantă, antibioticele produse de ciupercă nu afectează planta în cursul perioadei de vegetaţie.

Dintre ciupercile cu proprietăţi antagoniste care afectează mai ales facultatea germinativă a seminţelor depozitate sunt: *Trichoderma viride* (Pers.ex Fr.), *Trichotecium roseum* (Pers)Link., *Gliocladium roseum (*Link.)Thom, *Aspergillus clavatus* (Dersm), *Epicoccum purpurascens* (Ehrenb), *Chaetomium spp.*. Berjak (1987), într-un studiu efectuat pe seminţe din diferite spaţii de depozitare afirmă că în ţările cu climat tropical şi subtropical, 5-30 % din seminţele produse în fiecare an îşi pierd germinaţia datorită acestor fungi de depozit.

4.2 Descrierea principalelor boli ale cerealelor păioase determinate de micromicete ce se transmit prin sămânţă

a. MĂLURA GRÂULUI

Mălura este una din cele mai vechi boli ale grâului. Cunoscută de multă vreme, în toate ţările cultivatoare de grâu, este o boală păgubitoare, deoarece plantele atacate nu mai dau recoltă, în locul seminţelor formându-se sporii ce o produc.Ca urmare, culturile puternic atacate dau o producţie scăzută şi fără valoare, cu seminţe negre, întrucât sunt acoperite în timpul recoltării cu sporii proveniţi din cariopsele mălurate. Pentru a putea fi totuşi consumat, cel puţin ca hrană pentru animale, un astfel de grâu ar trebui spălat şi apoi uscat, lucrări greoaie, nepractice şi neeconomice. În ţara noastră, există două tipuri de mălură:

1. ***Mălura comună***- produsă de micromicetele:

- *Tilletia caries* Frey. (sin.*Tilletia tritici)* ce prezintă teliospori sferici de 19-21µm, bruni, cu episporul reticulat, formaţi din 36-60 de ochiuri, pereţii reţelei având 1,6- 2µm înălţime (*foto3 c*).

- *Tilletia foetida* Schröt sin. (*Tilletia laevis)* cu clamidospori sferici, ovali sau eliptici, cu diametrul între 15-18µm, de culoare brună şi cu o vacuolă în interior. Episporul este neted (*foto 3 d*)

2. ***Mălura pitică-*** produsă de ciuperca *Tilletia controversa* (Kühn) (sin.*Tilletia nanifica*) prezintă clamidospori sferici cu diametrul de 20-25µm, episporul reticulat cu 35-65 ochiuri poligonale, cu pereţii despărţitori de 1,5-2,5µm înălţime şi acoperiţi cu un strat gelatinos ce ajunge până la 1,5- 4µm grosime (*foto 4c*).

Plantele atacate de mălura comună sunt mai scunde au, de regulă, înfrăţire mai slabă, sunt mai închise la culoare, înspică mai devreme iar spicele stau drepte, spre deosebire de cele sănătoase care se apleacă sub greutatea seminţelor. La maturitate, spicele bolnave (*foto 3a*) îşi menţin culoarea verde-albăstruie mai multă vreme, sunt mai late, mai răsfirate, au glumele şi paleele mai desfăcute iar seminţelor evidente (Puşcaşu A., 1998). La soiurile aristate, de multe ori, spicele mălurate îşi pierd aristele datorită fragilităţii acestora.

Seminţele mălurate au o culoare cenuşie, sunt mai umflate, mai rotunjite şi mai scurte decât cele normale, şanţul ventral este foarte slab pronunţat, nu au luciu şi sunt mai uşoare (*foto 3b*). Ele sunt pline cu o masă de culoare brun-negricioasă, cu miros caracteristic de peşte stricat, la început unsuroasă iar apoi pulverulentă, într-o singură sămânţă mălurată găsindu-se milioane de asemenea spori. În combină, seminţele mălurate sunt sfărâmate şi astfel, unii spori aderă la suprafaţa cariopselor de grâu iar alţii sunt luaţi de curenţii de aer, ajungând în final în sol, unde în condiţii de uscăciune îşi pot păstra capacitatea de germinare şi de infecţie mai mulţi ani.

Foto 3-Mălura comună(*Tilletia caries* Frey*)*

a- spice sănătoase(stânga), infestate (dreapta), **b**. boabe sănătoase (stânga), infestate (dreapta), **c.**clamidospori **d**.clamidospori-*Tilletia foetida* (Schröt)

Plantele atacate de mălura pitică sunt mult mai scunde, au o înfrăţire mult mai mare, iar fraţii sunt mai rigizi. Spicele sunt mai mici şi mai subţiri (*foto 4a*), iar

seminţele cresc mai repede, ajungând la dezvoltarea completă în timpul înfloritului plantelor sănătoase.Cariopsele mălurate sunt mai mici şi mai rotunde decât cele afectate de mălura comună, iar conţinutul lor este mai aglutinat, mai puţin prăfos, dar cu acelaşi miros de peşte stricat (*foto 4b*). La recoltare, sporii din seminţele contaminate ajung atât pe seminţele de grâu, cât, mai ales, în sol, deoarece plantele mălurate, fiind mult mai mici, nu sunt secerate sau, dacă totuşi sunt tăiate, rămân în cea mai mare parte pe câmp. Sporii rezistă în sol 3-9 ani, în funcţie de gradul de uscăciune al solului.

Foto 4 Mălura pitică (*Tilletia controversa* Kühn.*)*

a. spic infestat **b**.boabe infestate **c**. clamidospori

Ciclul biologic (*fig* 5). Mălura comună şi mălura pitică sunt produse în urma unei infecţii germinale (Iacob Viorica, 1998), micromicetele parazite de pe cariopse sau din sol pătrund în colţul bobului de grâu în curs de germinare prin coleoptil. Odată pătrunse, aceste micromicete se dezvoltă în paralel cu planta, până ajung la spicul în formare, în ovarele florilor, unde, în locul endospermului, formează un miceliu puternic ramificat din care rezultă masa de teliospori caracteristică seminţelor mălurate.

Fig.5 -Ciclul evolutiv al micromicetei *Tilletia caries* Tul. (Plant Phatology, Zurich, 2001)

Între biologia paraziţilor care produc mălura comună şi biologia micromicetelor ce produc mălura pitică există, totuşi, anumite diferenţe:

- micromicetele parazite ce produc mălura comună au temperatura optimă de germinare de 15-20°C, cea de infecţie a plantelor de grâu de 10-18°C, iar pentru germinare nu au nevoie de lumină;

- micromiceta parazită care produce mălura pitică germinează şi infectează plantele de grâu la temperaturi mult mai mici de 0-10°C cu un optim de 5°C, iar pentru germinare are nevoie de lumină. Infecţia cu acest parazit se face mai ales prin germinarea sporilor de la suprafaţa solurilor contaminate şi mai puţin prin sporii introduşi odată cu samânţa.

b. *FUZARIOZA GRÂULUI*

Fuzarioza este o boală comună tuturor cerealelor păioase, în condiţiile ţării noastre este mai gravă la grâu, mai ales atunci când atacă spicul, în anii cu umiditate ridicată, în ultima parte a perioadei de vegetaţie. Pagubele produse de această boală sunt atât cantitative cât şi calitative, deoarece seminţele atacate sunt toxice pentru om şi animale, pierderile sunt cu atât mai mari cu cât atacul este mai timpuriu (Puşcaşu, 1998).

La grâu, fuzarioza este produsă de trei micromicete şi anume:

- *Fusarium graminearum f. cerealis* (Cke.)Snyder et Hansen cu forma perfectă *Gibberella zeae* (Schw.)Petch ce formează sporodochii roz-portocalii cu conidiofori scurţi, cu macroconidii fusiforme, uşor curbate, hialine, de 40-80 x 4-6 µm, cu 3-5 septe (*foto 5c*)

- *Fusarium culmorum* (W.Sm.)Sacc. prezintă microconidii unicelulare sau bicelulare, hialine, de 5-12 x 2,5 -3µm drepte sau uşor curbate şi macroconidii de 25-50x 4,5-7,5µm.

- *Fusarium nivale* (Fr.)Sor. sin. *Calonectria nivalis* (Berk. et Br.)Wr. formează sporodochii ce au conidiofori cu conidii hialine, fusiforme, ascuţite la capete, cu 1-3 septe transversale ce măsoară 25-29 x 5,3-5,8 µm. Periteciile sunt globulare de 100-200 µm diametru, conţin asce cu ascospori hialini de 10-20 x 2-4 µm, pluricelulari, cu 2-3 septe transversale.

Toate aceste trei specii sunt micromicete care atacă şi alte plante cultivate sau din flora spontană şi persistă de la un an la altul în sol, pe resturile plantelor, fie pe sămânţă.

Ca urmare, există peste tot suficientă rezervă biologică pentru producerea de infecţii când apar condiţii climatice prielnice.

Fuzarioza se manifestă pe toate organele plantelor atacate rădăcină, tulpină, frunză, spic iar agenţii patogeni cauzali pot ataca plantele de grâu în toate fazele de

dezvoltare, de la germinarea seminţelor până la la înspicare şi chiar la maturarea seminţelor.

Foto 5. Fusarium graminearum f. cerealis (Cke.)Snyder et Hansen *(Richard M., Crops and Livestock Research Centre, University Ave.,Charlottetown, 2004).*
a.spice atacate **b**. boabe infestate, stânga sănătoase, în centru - şiştave, dreapta cu pigmentaţie roz **c**.conidii

Ciclul biologic Intensitatea atacului depinde de momentul producerii infecţiei (*fig 6*).

Dacă aceasta se produce în cursul germinării seminţelor, tinerele plăntuţe nu mai reuşesc să străpungă suprafaţa solului şi putrezesc. Când infecţia se produce mai târziu, după răsărire, coletul se brunifică, rădăcinile sunt distruse şi tinerele plante se prăbuşesc, având loc în ambele cazuri o reducere a densităţii culturii. Infecţiile care se produc primăvara târziu duc la brunificări ale ţesuturilor atacate pe teci, tulpini, noduri şi mai rar pe frunze. După înspicare, agenţii patogeni atacă şi spicul, parţial sau în întregime. Spiculeţele atacate se usucă, se albesc şi pe vreme umedă, la baza lor şi între organele florale apare o pâslă de culoare albă roz formată din miceliu şi conidii (*foto 5a*).

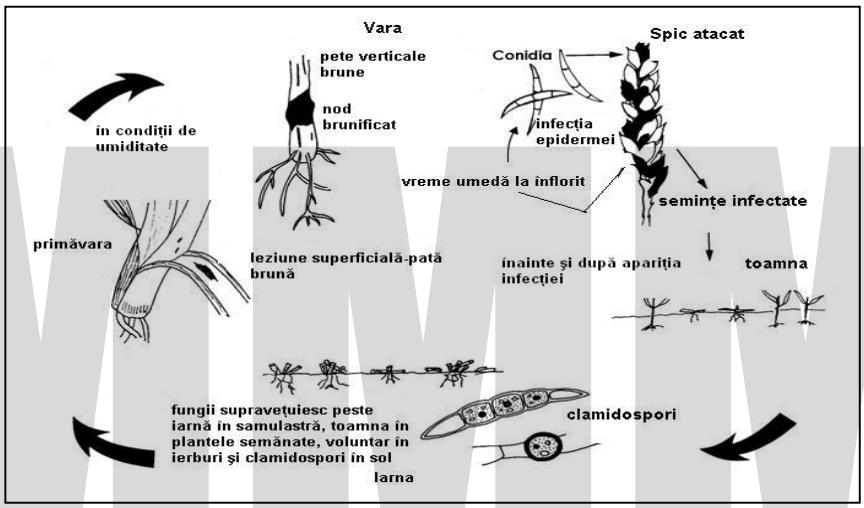

Fig.6 -Ciclul evolutiv *Fusarium sp.*

În cazul unei infecţii tardive se formează boabe dar prezintă o culoare albicioasă sau brun cenuşiu deschis (*foto 5b*), atacul în această fază poate distruge în totalitate recolta datorită seminţelor şiştave, toxice.

c. TĂCIUNII ORZULUI

Tăciunii sunt bolile cele mai grave ale orzului, deoarece plantele atacate au spicele distruse, în locul seminţelor formându-se sporii micromicetelor care le produc, ce constituie rezerva biologică a paraziţilor pentru noi infecţii. Datorită acestui fapt, pierderile de recoltă sunt foarte mari putând ajunge până la 2/3 din producţia potenţială. În zonele de cultură ale orzului din ţara noastră infecţia la spic este produsă de trei tipuri de tăciuni:

-tăciunele zburător produs de ciuperca ***Ustilago nuda*** (Jensen)Rostrup. , cu infecţie embrionară. Teliosporii sunt mici, de 6-9 µm, sferici sau ovoidali, cu membrană brună acoperită cu verucozităţi fine*(foto 6b)*.

-tăciunele negru (zburător negru sau semizburător) produs de ciuperca ***Ustilago nigra*** (Tapke), cu infecţie tot embrionară.Teliosporii sunt sferici sau subsferici, de 5-8 x 5- 6,5 µm cu membrana fin echinulată, de culoare brună-închis (*foto 7b*).

-tăciunele îmbrăcat, produs de ciuperca ***Ustilago hordei*** (Pers.)Lagerh**.**, cu infecţie germinală.Teliosporii sunt sferici, de 6- 11µm, cu membrană netedă de culoare brună-închis.

Plantele atacate de <u>tăciunele zburător</u> (***Ustilago nuda*** (Jensen)Rostrup) sunt mai scunde, au ultima frunză, care înveleşte burduful, de culoare mai deschisă şi înspică mai devreme. Spicele sunt erecte, mai mici, de culoare neagră (*foto 6a*) şi au seminţele, glumele , paleele şi aristele distruse, în locul lor formându-se o masă negricioasă, prăfoasă, constituită din sporii ciupercii, care se răspândesc prin vânt, şi astfel din spic rămâne numai rahisul.

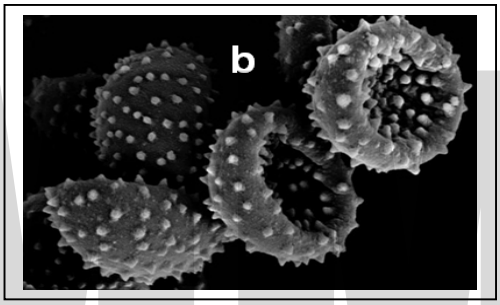

Foto 6. Ustilago nuda **(**Jensen)Rostrup (*Shivas R.G, Pest and Disease Image Library, 2001*)
a- spice atacate **b**- spori de rezistenţă

Ciclul biologic (*fig 7).* Micromiceta se răspândeşte în timpul înspicării prin sporii luaţi de vânt. Sporii ajung pe florile plantelor sănătoase, germinează şi infectează, în final, embrionul cariopsei nou formate, unde rămâne sub formă de miceliu de rezistenţă. Dacă orzul se seamănă fără a fi tratat, odată cu germinarea seminţei atacate, ciuperca se dezvoltă în interiorul noii plante, invadează noul spic, formând o masă micelianã, din care, prin fragmentare şi îngroşarea pereţilor vor apărea sporii în locul cariopselor.

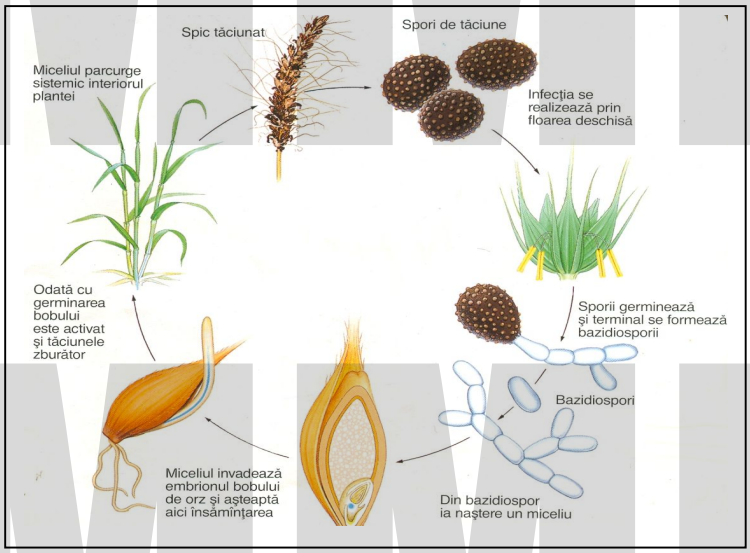

Fig 7 Ustilago nuda **(**Jensen)Rostrup ciclul evolutiv (Curierul protecţiei plantelor,1998)

Tăciunele negru (*Ustilago nigra* (Tapke) induce în general acelaşi simptome ca şi cel, zburător, singura deosebire vizibilă fiind aceea că plantele atacate îşi păstrează înălţimea normală. Ciclu evolutiv este de asemenea identic, boala transmiţându-se prin sămânţă.

Plantele atacate de tăciunele îmbrăcat (*Ustilago hordei* (Pers.)Lagerh) sunt mai scunde decât cele sănătoase, dar înspică în acelaşi timp. Spicele, mai scurte, au poziţie erectă şi ariste albicioase, apropiate de spic (*foto 7a*). Deseori, este atacat şi rahisul spicului. Ovarele florilor sunt transformate într-o masă de spori brună-negricioasă, tare, compactă, mai târziu prăfoasă. La maturitate, membrana care acoperă sporii se rupe (mai ales la treierat).

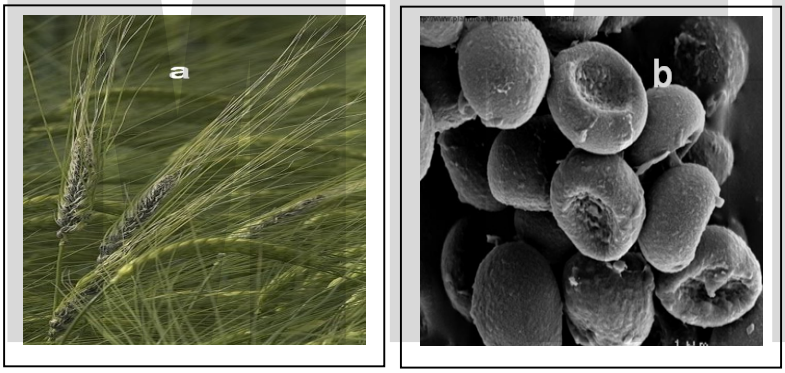

Foto 7 Ustilago hordei (Pers.)Lagerh (*Shivas R.G, Pest and Disease Image Library, 2001*)
a. spice atacate
b. spori de rezistenţă

Ciclul biologic Fungii se răspândesc în timpul recoltării, infecţia se propagă la germinarea seminţelor, când aceasta infectează coleoptilul tinerei plante în care se dezvoltă, ciclul încheindu-se prin formarea unei noi generaţii de spori. Patogenul se transmite deci prin sporii din sămânţă şi din sol.

d. HELMINTHOSPORIOZA ORZULUI

Helminthosporioza este o boală întânită pe toate cerealele dar este mai gravă la orz, şi mai ales la orzul de primăvară. Se întâlneşte în toate culturile în care nu s-au luat măsuri de combatere şi poate produce pagube însemnate. Boala este frecventă în anii cu primăveri reci şi umede. Helminthosporioza orzului este cauzată în special de trei micromicete şi anume:

-***Helminthosporium sativum*** (King and Bakke) ***f.c Drechslera sorokiniana*** (Ito *et* Kurib) ce prezintă conidiofori bruni, scurţi, erecţi ce poartă 1-6 conidii.Conidiile sunt elipsoidale, brun-închis, drepte sau uşor curbate, capetele rotunjite, cu o cicatrice evidentă la vârful celulei bazale, au 6-9 pereţi transversali, măsurând 68,0-98,6 x 17,0-23,8 µm (*foto 8d*).

-***Helminthosporium gramineum*** (Rab.) ***, sin. Pyrenophora graminea*** (Rabenh.)Ito *et* Kurib**, *f.c. Dreschlera graminea.*** Conidioforii ciupercii sunt brun-închis, drepţi, cu lanţuri de 2-3 conidii. Conidiile sunt mai închise la culoare decât conidioforii (bruni – olivacei), cilindrice, cu capetele rotunjite, cu celula bazală scurtă şi lată, cu 1-4 septe, de 27,2-64,6 x 11,9- 18,7µm (*foto 9c*).

-***Helminthosporium teres*** (Sacc.)***, sin.Pyrenophora teres*** Sacc.***, f.c Drechslera teres***

Conidioforii ciupercii sunt drepţi, brun-închis până la negru, în majoritatea cazurilor singulari. Conidiile sunt mai deschise la culoare decât conidioforii (brun-olivaceu-deschis), cilindrice-drepte, celula bazală umflată, cu cicatrice evidentă, cu 1-5 septe, măsurând 32,3-100,3x 13,6-18,7µm (*foto 10c*).

Micromiceta *Helminthosporium sativum* (King and Bakke) afectează toate părţile plantei producând diferite simptome de la vătămarea plantulelor şi rădăcinilor, la black-pointul de pe boabe producând pagube de 1-3%. Infecţiile timpurii se întâlnesc la plantule (*foto 8b*) când apar pete maronii ciocolatii până la negru, pe baza tecilor ce acoperă frunzele apropiate de linia solului. Aceste infecţii pot progresa până când plantulele se îngălbenesc şi mor, fiecare înainte sau după răsărire, reducând desimea plantelor. Infecţiile târzii sunt mai frecvente. Plantulele afectate pot fi pitice, slăbite, frunzele au culoarea verde închis, rădăcinile coronare sunt maronii închis. La infecţii severe ale plantulelor, acestea sunt slab dezvoltate, spicele nu pot creşte complet iar seminţele sunt siştave. Plantele de orz scăpate de infecţiile majore ale patogenului se dezvoltă normal până aproape de înspicat, când începând de la frunzele

bazale apar leziuni (*foto 8a*), pete de forme şi mărimi diferite. Zona centrală la fiecare pată este maronie închisă, culoarea decolorându-se treptat spre margine aproape de verdele normal al frunzei, având forme ovale sau lenticulare. Când leziunile cresc produc pete mari, neregulate, ce duc la uscarea frunzelor şi moartea prematură a plantelor. Pe vreme umedă pe zonele centrale ale petelor, apar perniţe verzi–oliv reprezentând miceliul ciupercii pe care se dezvoltă conidiile (sporii de vară). Acestea luate de vânt ajung pe frunzele mai tinere, pe glumele spicelor, pe seminţele în curs de maturare pe care le infectează. Seminţele infectate în faza de coacere în lapte sau ceară, au o pigmentaţie neagră în zona embrionului denumită black-point, miceliul ciupercii găsindu-se şi în tegument şi endosperm (*foto 8c*).

Foto 8 Helminthosporium sativum (King and Bakke) (*Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, 1980*): **a**-atac pe frunze **b**-atac pe plantule **c**-atac pe boabe **d**-conidii

Dintre toate helminthosporiozele cea care produce sfâşierea frunzelor (*Pyrenophora graminea* Rabenh.) este mai păgubitoare. Aceasta se manifestă, la început, prin dungi longitudinale pe toată lungimea limbului, de culoare galbenă, apoi brune-deschis şi, în cele din urmă brune-închis (*foto 9b*). În această fază ţesuturile se necrozează, se usucă şi se sfâşie; frunzele apar zdrenţuite de unde şi denumirea bolii. Dacă infecţia este puternică, plantele se opresc din creştere (*foto 9a*), iar spicele rămân total sau parţial în burduf; dacă totuşi reuşesc să iasă, fie nu mai formează cariopse, fie formează seminţe mici, şiştave şi se brunifică total sau parţial.

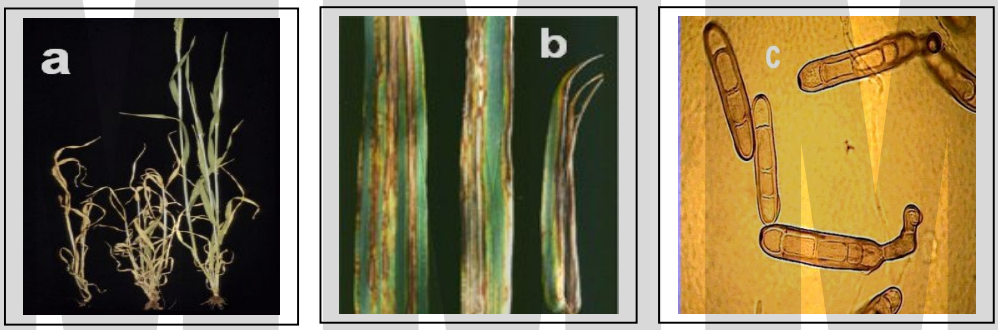

Foto 9 Helminthosporium gramineum Rab. (Zilinschy J.T.,1983) **a**-dreapta plantă neatacată, stânga-plante bolnave;**b**-frunze atacate **c**-conidii

Pe vreme umedă, pe dungile brune de pe frunze se dezvoltă conidiile (forma de înmulţire vegetativă), care luate de vânt, cad pe spicele în curs de maturare. Aici conidiile germinează, iar miceliul pătrunde între glume şi sămânţă, pe care o infectează.

Helminthosporium teres (Sacc.) - se manifestă pe frunze sub forma unor pete alungite, brun-roşcate, striate longitudinal şi transversal de linii mai închise ce formează o reţea (*foto 10a*). Pe măsură ce atacul se intensifică, petele cresc, se unesc, şi aspectul de pete striate dispare, apărând în schimb, nişte dungi mari, brune închis cu marginile neregulate. Pe vreme umedă pe aceste dungi se formează conidiile care răspândite de vânt produc infecţii secundare pe frunze sau spice. Pe spice apar de asemenea, pete, dar mai mici şi brune deschis, fără reţea.

De pe glume infecţia trece şi pe seminţe, pe care formează pete brune închis necaracteristice (*foto 10b*). Pe resturile plantelor infectate de aceşti patogeni apare, uneori forma perfectă a ciupercilor periteciile, cu numeroase asce şi ascospori, dar acestea nu prezintă importanţă practică pentru iernarea şi transmiterea ciupercilor.

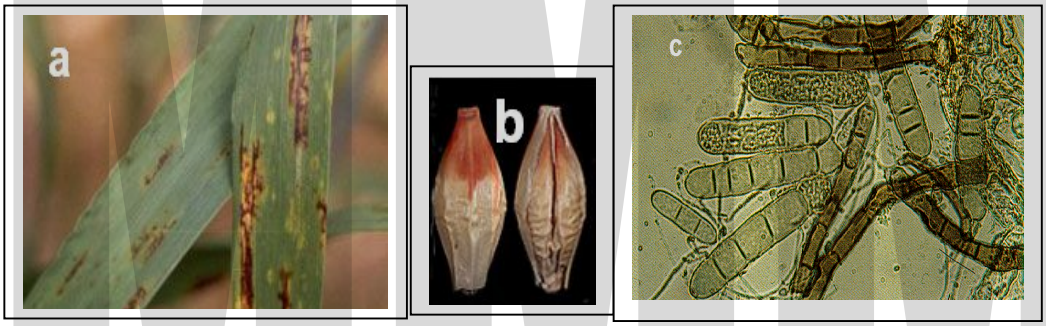

Foto 10 Helminthosporium teres Sacc. (foto Zilinschy J.T, 1983)
a-frunze atacate **b**-boabe atacate **c**-conidii şi conidiofori

Ciclul biologic (*fig 8*). Helmintosporiozele orzului se transmit de la un an la altul prin sămânţă(infecţie germinală), miceliul ciupercii din sămânţa în curs de germinare pătrunde în colţul seminţei de orz prin coleoptil şi apoi creşte odată cu plantula până ajunge la mugurii foliari, pe care-i infectează, infecţie primară ce se manifestă pe prima frunză.Conidiile care se formează pe prima frunză răspândesc boala la celelalte frunze ale plantelor (infecţie secundară). Infecţiile secundare pot fi produse şi de sporii ce supraveţuiesc pe resturile de plante bolnave, dar aportul acestei rezerve biologice la procesul de infecţie este mult mai redus decât aportul rezervei de pe sămânţă.

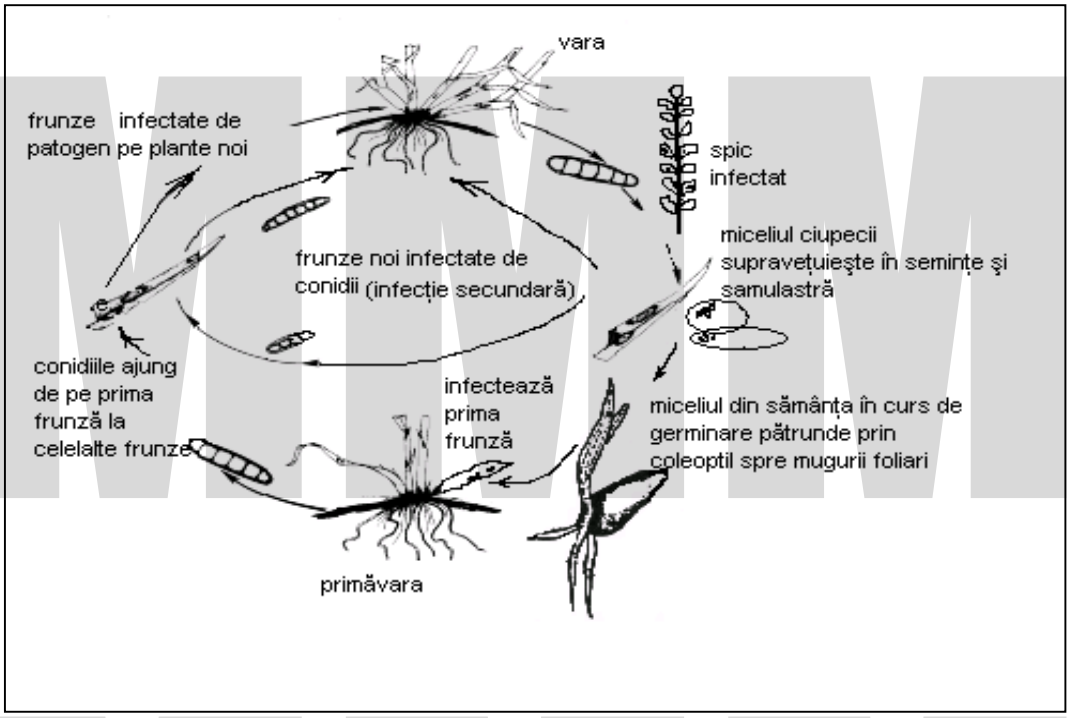

Fig.8 Ciclu evolutiv al micromicetelor din genul *Helminthosporium sp*. la orz.

e. ***PĂTAREA BRUNĂ SAU SEPTORIOZA***

Septorioza spicului este o boală frecvent întâlnită în culturile de cereale păioase la toate speciile, cu o frecvenţă a atacului la spic de 5.8 % fiind mai răspândită în zonele umede.

Este produsă de micromiceta *Septoria nodorum* (Berk) f.c. *Leptosphaeria nodorum* (Müller). Miceliul ciupercii se dezvoltă în spaţiile intercelulare ale plantei gazdă, este hialin în stadiul tânăr şi brun la maturitate. Picnidiile sunt sferice sau piriforme, cu diametrul de 60 -170 µm (*foto A*) conidiile cilindrice alungite, cu capetele rotunjite, drepte sau curbate, hialine cu 3 septe, măsoară 18-40 × 3- 4,5 µm (*foto 12B*). Periteciile sunt globuloase, de culoare neagră (*foto 12C*), ascele cilindrice (*foto 12D*), cu 8 ascospori fusiformi, tetracelulari, bruni de 20-30 × 5-6 µm (*foto 12E*).

Atacul de *Septoria nodorum* (Berk.) apare în toate fazele de dezvoltare, manifestându-se pe toate organele aeriene, dar într-o măsură mai mare pe spice (palee) şi pe tulpini (noduri).

La plantele tinere, după 2-4 săptămâni de la răsărire, apar primele simptome pe coleoptil, sub forma unor pete brune, alungite în formă de liniuţe, care ajung până la vârful acestuia (*foto 11a*). Dacă temperatura şi umiditatea sunt favorabile, boala progresează şi coleoptilul se brunifică în întregime şi piere. La plantele mai dezvoltate sunt atacate teaca şi limbul frunzelor (*foto 11b*). Pe teci apar pete brune închis, care alternează cu porţiuni de culoare mai deschisă, petele confluează şi acoperă suprafeţe

mari din teacă. Pe limbul frunzelor apar pete de infecţie elipsoidale, cu contur regulat sau sinuos care prezintă în centru o porţiune de 1-2,5 mm colorată în brun-negricios.Ţesuturile frunzelor atacate se necrozează înainte de apariţia picnidiilor. Pe tulpină, în locurile unde s-au produs infecţiile, pe internodii şi pe noduri, apar pete la început în formă de liniuţe, de culoare brună-violetă, care cresc repede, se contopesc şi acoperă părţi mari din pai spre maturitate pe acestea găsindu-se picnidiile negre (*foto 11c*). Atacul pe spice se manifestă la timp scurt după înspicare, prin apariţia de pete punctiforme, brune, pe palee(*foto 11 d*).

Seminţele ce se formează sunt şiştave, mici, zbârcite, au o culoare mai închisă şi sunt sticloase, şanţul ventral are marginile mult adâncite încât cariopsa capătă formă de luntre (*foto 11e*). În seminţe ciuperca se localizează în straturile superficiale ale tegumentului sub formă de miceliu de rezistenţă.

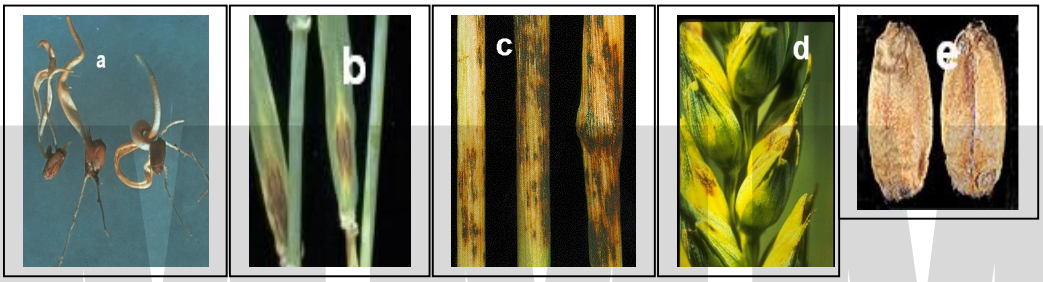

Foto 11 Septoria nodorum Berk.(Symons S.J, 2002),
a-atac pe plantule **b**-atac pe frunze **c**-atac pe tulpini **d**- atac la spic **e**-atac pe boabe

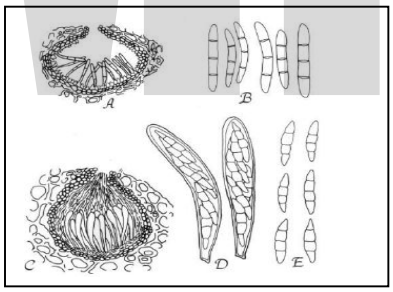

*Foto 12 Septoria nodorum (*Berk.)
(Report on plant diseases,University of Illiniois, Canada, 1998)
A-picnidie cu picnospori
B-conidii
C- peritecie cu asce
D- asce cu 8 ascospori fiecare
E- ascospori tetracelulari

Ciclul biologic -Patogenul se transmite de la un an la altul prin resturile de plante atacate în care ciuperca se poate menţine în viaţă în condiţii nefavorabile o perioadă mai îndelungată sub formă de miceliu şi de conidii în picnidii (*foto12A, 12B*).

Se mai poate transmite în anul următor prin sămânţă, miceliul ciupercii găsindu-se în tegument. După semănat, în cursul germinării seminţelor, ciuperca trece de pe seminţele contaminate de anul trecut, pe plantele tinere ieşite din acestea, pe care le infectează (infecţie germinală). Pe plantele infectate din toamnă patogenul poate ierna sub formă de miceliu, formând picnidii cu picnospori, care în primăvară infectează şi

răspândesc boala. Constantele termice pentru germinarea picnosporilor sunt: minim 4°C, optim 24°C, maxim 32°C.

Conidiile formate în picnidii sunt puse în libertate şi transportate de vânt pe alte plante unde produc noi infecţii. Boala este favorizată de vremea umedă şi de condiţiile de mediu nefavorabile care măresc sensibilitatea plantelor.

d. *CORNUL SECAREI*

Cornul sau pintenul secarei este o boală răspândită în regiunile umede şi semiumede ale ţării noastre. Se întâlneşte mai frecvent la secară şi mai rar la grâu, orz, ovăz şi alte graminee sălbatice, producând pagube în general reduse cantitativ, deprecierile calitative fiind de importanţă majoră (Iacob Viorica, 2002).

Cornul secarei este produs de micromiceta *Claviceps purpurea* (Fr.)Tul.-*f.c.Sphacelia segetum* (Lév.). Scleroţii au 2-4 cm lungime şi 3-6 cm grosime, au structură densă fiind alcătuiţi din micelii împletite strâns, sunt tari, brăzdaţi de crăpături longitudinale şi transversale. La exterior sunt de culoare neagră-violacee iar interiorul este alb (*foto 13b*).

Boala se manifestă în perioada dintre înflorire şi maturare. Primele simptome apar pe spicele tinere în timpul şi imediat după înflorire. Din florile infectate se scurge un lichid vâscos şi dulceag, plin cu conidiile ciupercii, care se adună la baza florii sub forma unei picături. Pistilul florii este acoperit de un înveliş micelian lax şi de sterigme pe care se formează conidii mici, ovoide, unicelulare. Atacul devine mai evident spre sfârşitul perioadei de vegetaţie a plantelor, când în florile infectate se dezvoltă corpuri scleroţiale drepte sau curbate, acestea luând locul cariopselor. Scleroţii sunt mai lungi decât cariopsa de secară şi ies mult afară din spiculeţ. Într-un spic se pot forma unul sau câţiva scleroţi (*foto 13a*).

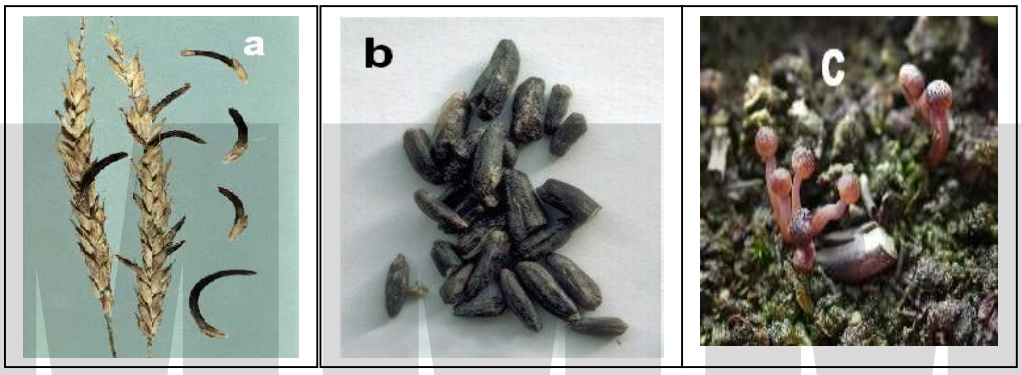

Foto13 Claviceps purpurea (Dr.Thomas J., Departament of plant diseases, NIAB,Cambridge,U.K.) **a**-spic de secară cu sleroţi **b**-scleroţi **c**-scleroţi germinaţi

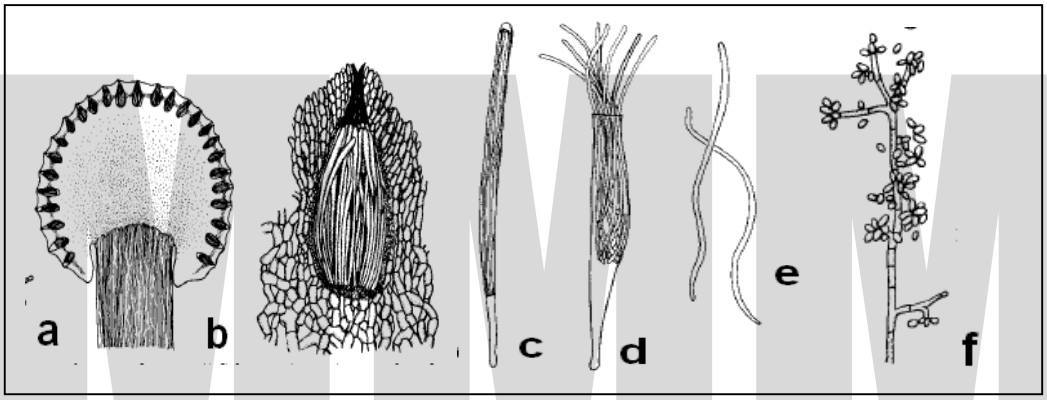

Fig 9 Claviceps purpurea (Lenore Gray, 1998, Report on plant diseases, University of Illiniois Urbana Champaign Canada) **a**-secţiune printr-un corp stromatic cu numeroase peritecii încrustrate în jurul marginii exterioare **b**-peritecie cu asce **c**-asca cu 8 ascospori **d**-ască cu ascospori puşi în libertate **e**-ascospori **f**-conidii pe miceliu

Ciclul biologic La recoltatul şi treieratul secarei o parte din scleroţi se scutură şi cad pe pământ, unde iernează, o altă parte rămân în sămânţa de secară cu care ajunge la semănat în sol. Primăvara scleroţii germinează şi formează corpuri stromatice roz-purpurii (*foto13c*), de formă globuloasă susţinute de pedunculi lungi. Pe un sclerot se dezvoltă 10-20 de corpuri stromatice în care se formează periteciile ciupercii(*foto 9a*). Periteciile sunt de 275-300 x 80-110µm (*foto 9b*) ascele sunt cilindrice de 69-90 x 2,5-4,5 µm (*foto 9c, 9d*) cu câte 8 ascospori filamentoşi, multicelulari, hialini (*foto 9e*). Ascosporii ajung pe stigmatul florilor, germinează, dau naştere la un filament de infecţie care pătrunde în ovar unde se dezvoltă abundent. Pe masa micelială se formează conidii ovoide, hialine, unicelulare (*foto 9f*).

Micromiceta odată cu formarea conidiilor secretă un suc zaharat sub forma unor picături la baza spiculeţelor în care conţine conidii. Acest lichid este căutat de insecte, este transportat de acestea pe alte flori şi astfel boala se propagă în perioada de înflorire. Conidiile infectează la fel ca şi ascosporii putând fi transportate şi de vânt. Când plantele se apropie de maturitate, miceliul nu mai formează conidii trecând la formarea scleroţilor care iau locul bobului de secară.

CAPITOLUL 5

ANALIZA STĂRII SANITARE A SEMINŢELOR DE CEREALE

5.1 Factori implicaţi în analiza stării sanitare a seminţelor de cereale

5.1.1 Influenţa stării sanitare asupra viabilităţii seminţelor de cereale

Analiza fitosanitară a seminţelor de cereale păioase are drept scop determinarea procentului de seminţe contaminate de către una sau mai multe ciuperci patogene dintr-un lot de seminţe. Starea de sănătate a seminţei are un rol important în înfiinţarea noilor culturi la fel ca şi însuşirile de productivitate şi puritate. În perioada de vegetaţie, plantele de cereale pot suferi unele tulburări în funcţionarea şi în structura unor organe, sau a întregului organism datorită prezenţei unor paraziţi. În cazul în care sunt de scurtă durată, sau au caracter de adaptare, aceste tulburări sunt suportate relativ uşor de către plante. De multe ori însă, tulburările sunt de durată şi au drept rezultat o deviere în desfăşurarea funcţiilor vitale ale plantelor. Aceste tulburări sunt cauzate de efectele patogenilor ducând la modificări cantitative puţin perceptibile, care însă, printr-o accentuare treptată duc la schimbări calitative şi cantitative evidente. Patogenii existenţi în şi pe sămânţa de cereale acţionează încă din faza de germinaţie şi pornire în vegetaţie. Cei care se instalează în zona coletului determină o creştere slabă a rădăciniţei şi tulpiniţei.

Infecţiile seminţei cu *Fusarium sp*. determină scăderea ratei răsăririi grâului cu 0,31% pentru fiecare procent de infecţie, cele determinate de *Tilletia foetida* (Bauer)Liro diminuează procentul de plante răsărite şi ieşite din iarnă cu 10, 04% respectiv 4,6%, *Ustilago nuda* (Jens)Rostr şi *Pyrenophora gramineea* (Rabh.)Ito et Kurib. la orz acţionează asupra răsăririi plantelor micşorând procentul de plante răsărite cu 0,38% pentru fiecare procent de grad de infecţie (Rotaru V,1998).

Cercetările efectuate de Faiad M. şi Wetzel V. în perioada 1982-1992 în Brazilia pe 633 probe de grâu şi 691 probe de orz înainte de depozitare au evidenţiat existenţa fungilor pe seminţe din genurile *Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Rhyzopus, Fusarium, Drechslera sp.,* majoritatea dintre acestea fiind responsabile pentru deteriorarea plantulelor preemergent şi postemergent.

Speciile genului *Fusarium sp*. au fost detectate cu o frecvenţă mare în probele analizate, din seminţele infectate au rezultat plantule cu rădăcini deteriorate, care au dus la putrezirea şi mucegăirea hipocotilelor.

Munteanu şi colab. în anul 1982, într-un studiu privind starea fitosanitară a seminţelor şi implicaţiile acesteia în realizarea densităţii optime arăta, că în perioada germinaţiei în sol şi la formarea viitoarei plantule, micromicetele trec din stadiul de repaus la viaţa activă, invadează cariopsele, trec pe radiculă şi embrion determinând uneori moartea embrionului şi a plantulelor, diminuând astfel densitatea la răsărire.

Ca urmare, a studiilor efectuate la Banca de Resurse Genetice Suceava, în perioada anilor 1998 - 2004 pe probe de grâu, orz, ovăz, secară colectate din diferite regiuni ale ţării şi depozitate timp de 8 ani respectiv 12 ani la T=+4°C s-au determinat diferite tipuri de micromicete ce au influenţat scăderea germinaţiei seminţelor analizate.

Astfel, micromicete ca: *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. and Jain, *Alternaria alternata* (Fr.)Kessler*, Cladosporium herbarum* (Pers.) Link*, Epicocum sp., Trichoderma viride* (Pers. ex Fr)*, Acremoniella atra* (Corda) Sacc. au influenţat semnificativ diminuarea facultăţii germinative atât la probele proaspăt colectate cât şi la cele depozitate (Plăcintă Domnica, 2005).

Un mijloc eficace pentru prevenirea răspândirii multor boli transmisibile prin sămânţă îl constituie analiza sanitară, fiind singurul mod prin care se poate aprecia valoarea culturală a seminţei contribuind astfel la stabilitatea culturilor din punct de vedere al calităţii şi productivităţii (Raicu Cristina, 1978).

5.1. 2. Influenţa umidităţii seminţei în momentul analizei sanitare

Păstrarea seminţelor după recoltare chiar numai câteva zile cu un conţinut de umiditate mai ridicat, (peste 18%) produce scăderea germinaţiei sub limita STAS (de 90%) eliminând astfel posibilitatea folosirii acestora pentru înfiinţarea unei noi culturi. Umiditatea din sămânţă, temperatura ridicată a aerului, grosimea prea mare a stratului de cariopse depozitate, pot determina o evoluţie rapidă şi intensă a infecţiilor, astfel încât, în numai câteva zile, sămânţa poate fi invadată de patogenii prezenţi pe tegument, ducând la scăderea germinaţiei şi la deprecierea semnificativă a valorii biologice şi agronomice a acesteia.

Neergaard (1977) afirma că microflora fungică a seminţelori depozitate este dependentă în mare măsură de conţinutul de umiditate şi temperatura din timpul depozitării.

Longevitatea micromicetelor parazite şi saprofite şi viabilitatea acestora depind de aceşti doi factori. Astfel, pe probe de grâu şi orz depozitate timp de 8 ani respectiv 12 ani la T=+4°C s-au semnalat micromicete saprofite ca *Penicillium sp.,*

Gonatobotrys atra (Corda), *Chaetomium sp*., ce au fost influenţate de valori ale umidităţii puţin peste umiditatea standard de conservare (Plăcintă Domnica, 2005).

5. 1.3. Influenţa duratei de păstrare a seminţei în momentul analizei sanitare

Din rezultatele unor analize efectuate la Universitatea de Stat din Mississipi (Delouche J., 1973) s-a constatat că seminţele au vigoarea cea mai ridicată la maturitatea lor, iar după aceea în cursul păstrării ele se deteriorează continuu şi ireversibil. Ritmul de deteriorare depinde de factorii genetici, de tratamentele care se aplică seminţelor, de factorii de mediu din cursul păstrării, cei mai periculoşi fiind umiditatea şi temperatura ridicată. Din analize rezultă că deteriorările ce au loc în seminţe păstrate o perioadă lungă de timp se reflectă prin:

- diminuarea activităţii metabolice;
- creşterea sensibilităţii la condiţiile nefavorabile de mediu (micromicete);
- creşterea numărului de germeni anormali;
- pierderea capacităţii de germinaţie;

Gradul de îmbătrânire al seminţelor poate produce o schimbare în relaţia sămânţă-parazit din cauza diferenţei de longevitate a microflorei ce poate determina contaminarea seminţei, uneori prezenţa antagoniştilor influenţează negativ dezvoltarea patogenilor aflaţi sub observaţie. Viabilitatea inoculului purtat de sămânţă este legată în majoritatea cazurilor de vârsta acesteia. Acesta poate fi prezent în procente foarte mari în seminţele proaspăt recoltate, infecţia reducându-se considerabil după un an de păstrare (Van der Spek, 1965). Astfel, după 12 ani de depozitare în condiţii controlate de temperatură (+4°C), s-a remarcat o scădere cantitativă a inoculului produs de micromicetele saprofite *Alternaria alternata* (Fr.) Keesler şi *Cladosporium herbarium* (Link.) la toate speciile de cereale studiate comparativ cu genurile *Epicoccum sp., Rhyzopus sp., Penicillium sp., Trichoderma viride* (Person) a căror longevitate a fost influenţată într-o măsură mai redusă de durata de păstrare (Plăcintă D., 2005).

5.2 Metode de analiză fitosanitară a seminţei de cereale păioase

5.2.1 Tipuri de metode

Determinarea infecţiei seminţelor de cereale cu diferiţi agenţi patogeni cuprinde două etape:

- punerea în evidenţă a micromicetelor şi identificarea lor (analiza calitativă)

-stabilirea gradului de infecţie a seminţelor cu diferiţi agenţi patogeni (analiza cantitativă). Pentru efectuarea acestor analize se utilizează diferite metode ce depind de o serie de factori cum ar fi: tipul seminţei analizate, patogenii studiaţi şi localizarea lor în seminţe, materialele disponibile şi ţinta analizei.

În literatura de specialitate sunt întâlnite trei grupe mari de metode:

- metode tradiţionale
- metode serologice
- metode de genetică moleculară.

Metodele tradiţionale pot fi grupate în două categorii:

a. metode ce nu necesită punerea pe substrat a seminţelor de cereale pentru incubaţie o perioadă de timp. Din această grupă fac parte:

- metoda analizei macroscopice în stare umedă şi uscată a seminţei ce are la bază principiul examinării seminţelor cu ochiul liber la lumina zilei, sub lupa binoculară sau stereomicroscop în vederea depistării infecţiilor de pe suprafaţa seminţelor, a scleroţilor, pungilor de tăciune şi de mălură etc.

- metoda suspensiei de spori ce constă în examinarea microscopică a suspensiilor de spori obţinute prin spălarea seminţei fără stabilirea gradului de contaminare fiind o metodă de analiză calitativă.

- metoda anatomică folosită pentru depistarea miceliului în ţesuturile interioare ale seminţei.

- metoda de analiză a embrionului pentru depistarea miceliului de *Ustilago sp.* în embrionii seminţelor de grâu şi orz.

b. metode ce necesită punerea la incubaţie a seminţelor pe mediu de cultură (agarizat, sugativă, celulozic, pământos) etc.

Aceste metode permit ca ciupercile prezente pe seminţe să se dezvolte sau să provoace simptome vizibile pe plantule. Din această categorie fac parte:

- metoda sugativei folosită în mod curent în analize fitosanitare şi teste de germinaţie;

- metoda plăcilor cu agar ce constă în identificarea şi izolarea micromicetelor existente pe samânţă folosind mediu pe bază de agar;

- metoda Hiltner ce foloseşte ca substrat zgură de cărămidă sterilă, analiza simptomelor de infecţie realizându-se pe germenii seminţelor;

- metoda solului standard la care substratul este sol de tip standard după o reţetă elaborată de Karlberg (1971), condiţiile de testare fiind foarte apropiate de cele naturale din câmp;

- metoda testării pe medii sterile diferite cum ar fi: perlita, vermiculita simptomele de infecţie apreciindu-se pe germeni;

- metoda standard a dezinfecţiei care utilizează o subprobă de seminţe tratată cu un dezinfectant standard şi o subprobă netratată, comparându-se gradul de infecţie între cele două subprobe.

Metodele serologice sunt tehnici utilizate mai ales pentru studiul bolilor bacteriene şi a virozelor transmise prin seminţe, în ultimul timp folosindu-se şi la

micromicete. Aceste metode sunt bazate pe recunoaşterea locurilor antigenice ale patogenilor prin anticorpi(ser) specifici acestor patogeni (bacterii, virusuri sau ciuperci). Această grupă de metode cuprinde:

a. metode de imunofluorescenţă.

Tehnicele caracterizate prin imunofluorescenţă folosesc două tipuri de metode:

1. reacţia de imunofluorescenţă(RIF)
2. metoda imunoperoxidazică (IPO)

1.Reacţia de imunofluorescenţă(RIF)

Metoda directă. Preparatul de examinat (spori, miceliu sau fragmente vegetale mojarate) se montează pe lamă (*fig 10*). Se adaugă conjugatele numite şi fluorocromii care sunt izotiocianatul de fluoresceină de culoare galben –verzui şi rodamina de culoare portocalie. În cazul în care se găsesc antigene corespunzătoare anticorpilor marcaţi, se formează complexele immune. Prin spălare se îndepărtează conjugatele nelegate. Preparatul se examinează la microscopul cu fluorescenţă. Dacă apar puncte fluorescente pe fond întunecat atunci antigenele căutate au fost prezente în preparat (rezultat pozitiv) iar absenţa punctelor fluorescente indică un rezultat negativ antigenele căutate nefiind prezente.

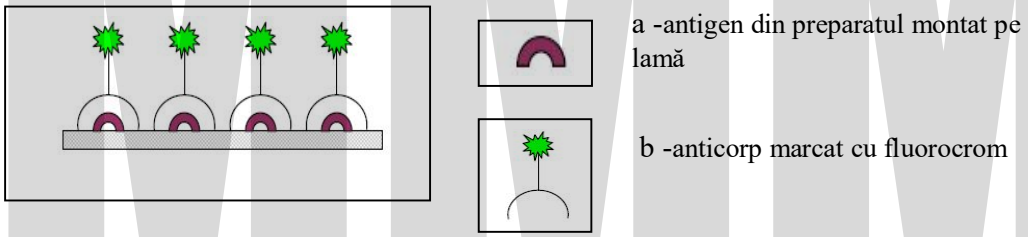

Fig.10 Metoda directă de imunofluorescenţă

Metoda indirectă (*fig 11*). La preparatul montat pe lamă se adaugă anticorpi specifici nemarcaţi (imunoser de iepure). În cazul în care există antigene corespunzătoare anticorpilor, se formează complexele immune. Prin spălare se îndepărtează anticorpii nelegaţi. Se adaugă anticorpi antiglobulinici (anticorpi de oaie) marcaţi cu fluorocrom. Dacă există în preparat complexe immune, conjugatele se vor lega de imunoglobuline. Examinarea la microscop este aceeaşi ca şi la metoda directă.

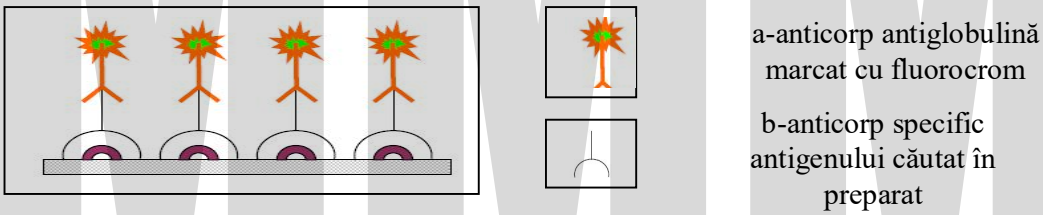

Fig.11 Metoda indirectă de imunofluorescenţă

2. Metoda imunoperoxidazică (*IPO, fig 12*). Preparatul de examinat (spori, miceliu sau fragmente vegetale mojarate) se montează pe lamă. Se adaugă substratul cromogen şi peroxidaza (marcare enzimatică), rezultând un precipitat maroniu, insolubil, vizibil la microscopul optic. Examinarea la microscop este aceeaşi ca şi la metoda RIF.

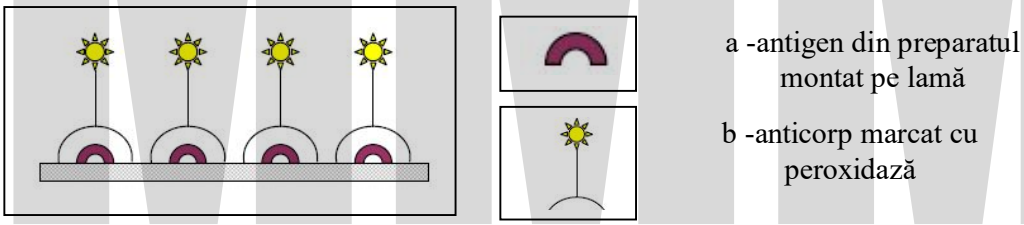

Fig.12 Metoda imunoperoxidazica

Metoda reacţiei de imunofluorescenţă s-a folosit pentru analiza micromicetei *Rhynchosporium secalis* (Oud.)Davis pe seminţele de orz. Mille B. (1989) a efectuat studii extrem de interesante cu ajutorul antiserului obţinut din sporii, miceliul şi toxinele ciupercii *Rhynchosporium secalis* (Oud.)Davis, rezultatele obţinute făcând posibilă utilizarea metodei pe seminţele de orz îmbătrânite.

b.metode imunoenzimatice (*foto14*). Tehnica utilizată este reprezentată prin testul DAS-ELISA. Acesta constă în plasarea extractelor de seminţe ce urmează a fi analizate în capsulele unei plăci de microtitraţie din polistiren la nivelul căreia s-a absorbit serul specific(*foto14a*). După mai multe spălări al doilea strat de anticorpi specifici, marcaţi de enzimă este depus pe extract. Extractul de seminţe se găseşte între două straturi de anticorpi asemeni unui sandwich (double antibody sandwich). După spălare este adăugat substratul pe care s-a agitat enzima ce modifică coloraţia. Dacă anticorpii enzimatici recunosc antigenele extractului de seminţe se observă o reacţie de colorare (viraj spre galben) la spectrofotometru (*foto14b*). Metoda este folosită în prezent la detectarea principalilor viruşi transmişi prin sămânţă fiind utilizată şi la majoritatea ciupercilor.

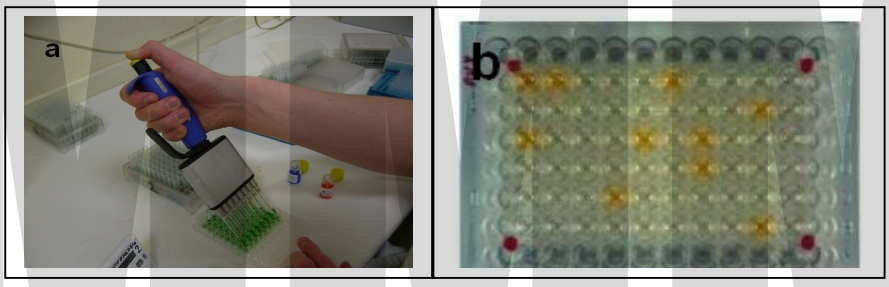

Foto 14 Metoda imunoenzimatică (DAS ELISA) a-plasarea extractelor de seminţe în capsulele unei plăci de microtitraţie b-reacţia de colorare (viraj spre galben) în momentul recunoaşterii antigenelor extractului de anticorpii enzimatici.

Metodele de genetică moleculară prin RAPD-PCR (random amplified polymorphic-DNA polymerase chain reaction) sunt tehnici de investigaţii moleculare ce au recurs la detectarea de acizi nucleici folosiţi pentru studiul bacteriilor şi virusurilor transmişi prin seminţe. Mai târziu aceste tehnici au fost folosite şi la ciupercile transmise prin seminţe.

Punerea în evidenţă a micromicetelor se face numai prin antigenele lor, manifestându-se pe fiecare secvenţă de nucleotide a acizilor nucleici. Kramer I. şi Kopahnke (1997) au caracterizat izolate de *Drechslera teres* (Sacc.)Shoem de pe diferite varietăţi de orz colectate din unele regiuni ale Germaniei analizând deosebirile de virulenţă prin DNA(RAPD) modele bandate. Au fost identificaţi markeri genetici ADN specifici pentru *Drechslera teres-teres* şi *Drechslera teres-imaculata.*

Dr.Kenyon D. şi dr.Thomas J. (2002) de la NIAB (National Institute of Agricultural Botany) din Cambridge, U.K, în studiul privind determinarea calitativă şi cantitativă a speciilor de *Pyrenophora teres* (Drechs.) *şi Pyrenophora graminea* (Ito and Kurib) pe seminţele de orz a utilizat metoda PCR ce are la bază Light Cycler™ care permite cuantificarea probelor necunoscute infestate natural cu cele două micromicete prin compararea cu standardele amplificate în reacţii paralele. Cercetările s-au facut corelând rezultatele obţinute din testele pe mediu de agar utilizate de ISTA cu cele rezultate prin tehnica PCR. Ca urmare a studiului s-au remarcat unele avantaje ale folosirii tehnicilor PCR cum ar fi :

- testele PCR pot confirma rezultatele finale în câteva zile faţă de cele pe mediu agarizat care durează 7 zile;

- la un singur ciclu Light Cycler™ se poate determina un număr mare de probe (300 probe/zi);

- testele PCR oferă precizie maximă în diferenţierea speciilor de ciuperci ale aceluiaşi gen, ceea ce este dificil prin testele pe agar;

- oferă oportunităţi fermierilor şi comercianţilor de sămânţă din U.K pentru determinarea stării de sănătate a seminţelor în timp scurt, permiţând luarea unor decizii pentru efectuarea tratamentelor în scopul evitării riscurilor provocate de boli.

5.2.2 Descrierea principalelor metode utilizate în mod frecvent în analiza sanitară

Metoda analizei macroscopice a seminţei

Proba de analiză este examinată pentru determinarea impurităţilor în care se includ din punct de vedere fitosanitar, resturi de plante infectate, scleroţi, seminţe şiştave, cu pete, fără luciu, seminţe tăciunate şi mălurate. Mărimea probei diferă de la caz la caz, fiind în aşa fel formată încât procentul mediu al seminţelor contaminate să se apropie cât mai mult de media ideală a frecvenţei seminţelor contaminate din întregul lot. Probele prelevate pentru determinarea stării sanitare se ambalează în vase

închise ermetic (borcane de sticlă, cutii de metal) realizându-se analiza lor într-un timp cât mai scurt, nu mai târziu de 48 de ore de la primire pentru a nu se produce modificări în micoflora existentă pe sămânţă.

Când aceste probe sunt ţinute mai mult timp în condiţii necorespunzătoare pe seminţe se pot dezvolta ciuperci saprofite (*Penicillium sp., Aspergillus sp., Rhyzopus sp*. etc.) care cresc repede împiedicând determinarea fungilor paraziţi. Probele care nu sunt bine uscate pot fi păstrate o perioadă de timp în frigider, la temperaturi de 1-3°C până la efectuarea analizei.

Mod de lucru Din proba medie prelevată, se ia o cantitate corespunzătoare de seminţe care se pune pe o placă de sticlă (40 x 40 cm) se amestecă bine, apoi se întinde într-un strat de grosime uniformă (1 cm) care se împarte în pătrăţele (*foto 15a*). Formarea subprobei se face după metoda şahului, din fiecare pătrăţel se iau câte 10 - 20 de seminţe care se amestecă bine, din aceasta se iau la întâmplare câte 2 - 4 cariopse din mai multe locuri realizând o cantitate de 100 seminţe de analizat. Formarea subprobelor se repetă pentru obţinerea a 4 repetiţii pentru fiecare probă de analizat. La manipularea seminţei se va dezinfecta sticla pe care se aşează seminţele cu alcool sanitar în cazul probelor diferite.

Subproba de analizat se întinde pe masă şi se examinează mai întâi cu ochiul liber sau cu ajutorul unei lupe de mână sau binoculare pentru a se stabili dacă există impurităţi sau alte elemente de infecţie (*foto 15b*). Cu ajutorul unei spatule sau unei pensete mari se separă impurităţile infecţioase vizibile aflate în amestec cu sămânţa (*foto 15c*).

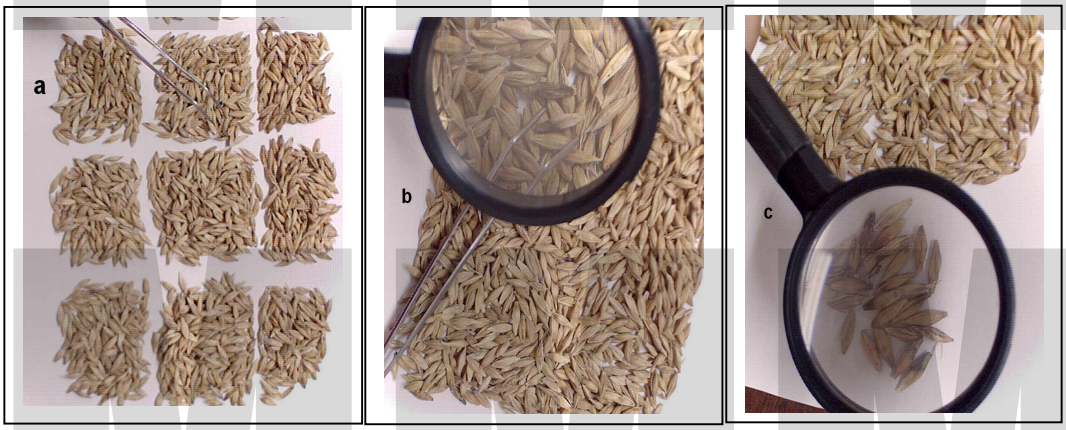

Foto 15 Metoda macroscopică a-împărţirea probei în pătrate de şah pentru obţinerea subprobelor b-separarea seminţelor bolnave din subprobă c- seminţe atacate separate din subprobă

Prin această metodă se depistează: scleroţi şi fragmente de scleroţi de *Claviceps purpurea* (Fr. ex Fr.) Tul. din seminţele de secară mai rar grâu, orz, ovaz, fragmente de seminţe ce conţin spori de mălură comună (*Tilletia foetida* (Wallr.) Liro şi *Tilletia caries* (DC.) Tul.) sau conglomerate cu spori de mălură pitică (*Tilletia controversa* Kuhn.), sporodochii de *Fusarium sp.,* seminţe cu pete de decolorare (înnegrirea embrionului seminţelor de grâu şi orz- black-point) produse de infecţia cu *Helminthosporium sp., Alternaria sp., Cladosporium sp*., seminţe şiştave, albicioase infectate de *Septoria nodorum* (Berk.).Toate aceste categorii de impurităţi"patogene" şi seminţelor suspecte de infecţie vor fi numărate sau cântărite şi puse în pungi separate, prezenţa lor în sămânţă fiind dată procentual.

Examenul macroscopic, singur, de cele mai multe ori nu poate asigura o determinare precisă a agenţilor patogeni care infectează sămânţa, mai ales atunci când în proba respectivă nu se găsesc structuri mature şi tipice ale acestora. De aceea, în foarte multe cazuri acest examen furnizează numai primele date despre infecţia seminţei, urmând ca determinarea definitivă, precisă a micromicetelor să se realizeze cu ajutorul celorlalte metode.

Metoda suspensiei de spori

În principiu această metodă de analiză constă în examinarea microscopică a suspensiilor de spori obţinute prin spălarea seminţei fără a stabili gradul de contaminare a seminţelor fiind o tehnică de analiză calitativă.

Mod de lucru Din proba de analiză se iau la întâmplare 100 de seminţe care se impart în patru grupe de 25. Fiecare grup de seminţe se pune într-un balon de sticlă de 100 ml, se adaugă 10 ml apă distilată, după care se agită puternic timp de 10 minute. Suspensia din cele două baloane se transferă în două tuburi de centrifugă (fiecare tub trebuie să conţină acelaşi volum) şi se ţin la 2000-2500 turaţii/min timp de 10-15 min. Apoi supernatantul se decantează şi sedimentul din fiecare tub de centrifugă se examinează astfel:se iau din fiecare tub câte 4 picături şi se pun în câte 4 picături de lactofenol pe 4 lame microscopice (fiecare lamă câte o picătură). Lamele se examinează la microscop pentru determinarea tipurilor de spori (analiza calitativă) iar pentru a determina intensitatea infestării suprafeţei seminţei (analiza cantitativă) se examinează câte 10 câmpuri microscopice din 10 puncte diferite ale preparatului, repartizate după metoda şahului. Se obţine media aritmetică a sporilor dintr-un câmp microscopic. Se calculează apoi suprafaţa lamelei şi a câmpului optic al microscopului şi se stabileşte apoi numărul de spori aflaţi într-o picătură. Acesta se înmulţeşte cu numărul picăturilor din cantitatea dată de suspensie şi se află numărul de spori prezenţi pe cele 100 de boabe spălate. Pentru a afla numărul de spori prezenţi pe un bob se împarte la 100. Metoda suspensiilor este limitată numai în cazul contaminărilor de

suprafaţă produse de micromicetele din genul *Tilletia sp.*şi *Ustilago sp*. care duc la infecţii majore în câmp în condiţii climatice favorabile.

Metoda analizei pe hârtie sugativă

Pentru determinarea infecţiilor de suprafaţă este recomandată hârtia sugativă, aceasta fiind mai puţin indicată în cazul micromicetelor care pătrund şi se localizează în ţesuturile interioare ale seminţei care prin dezvoltarea lor înceată pot fi mascate sau inhibate complet de creşterea abundentă a fungilor saprofiţi. Hârtia sugativă ca mediu de incubare trebuie să aibă calitatea de a asigura condiţii de umiditate, aceleaşi, pe toată durata analizei. În loc de hârtie sugativă se mai poate folosi hârtie de filtru în două sau trei straturi, pentru a asigura umiditatea necesară.

Mod de lucru Proba de analizat trebuie să conţină 400 de seminţe care se numără randomizat în repetiţii de 100, 50 sau 25 seminţe, minimul admis este de 200 seminţe divizate în 4-6 repetiţii. În analizele de stare sanitară ce folosesc ca mediu hârtia sugativă, dezinfecţia superficială a seminţelor înainte de punerea la incubat se practică numai în cazurile în care aspectul fizic al seminţei poartă amprenta unei păstrări necorespunzătoare, prezenţa şi mai ales abundenţa saprofiţilor de suprafaţă ar putea produce greutăţi în citirea rezultatelor. Obişnuit se foloseşte în acest scop o soluţie de hipoclorit de sodiu în concentraţie de 1-2%, fiind recomandat ca soluţia să fie pregătită în momentul folosirii.

Pentru incubare se folosesc o varietate de vase de diferite forme şi mărimi, confecţionate din sticlă, material plastic sau metal. Pe lângă vasele Petri cu diametru de 6-8-10-12-15 cm, se mai folosesc tăviţe din zinc sau alt material inoxidabil, de formă dreptunghiulară (11 x 26 cm) cu fundul perforat în care se aşează rondele, benzi dreptunghiulare de hârtie sugativă umezită.

Pentru testare în vasele Petri (*foto 16a*) de diferite dimensiuni se aşează rondele de hârtie sugativă care în prealabil s-au cufundat în apă distilată şi s-au scurs înainte de a fi aşezate pentru menţinerea umidităţii mediului cât mai uniformă pe toată perioada de incubare. Distribuirea seminţelor pe mediu (*foto 16b*) se face în funcţie de mărimea seminţei, viteza de creştere a coloniei agentului patogen şi de lungimea perioadei de incubare. În general, distanţa dintre seminţe se cere să fie minimum 1,5-2 cm, iar numărul de seminţe/vas variază cu mărimea seminţei: la vasul Petri cu diametru de 10 cm se pun la incubat 10 seminţe mici şi 20-25 de seminţe foarte mici. Apropierea mai mare a seminţelor îngreunează citirile şi afectează chiar rezultatele. În cazul tăviţelor din metal cu dimensiuni de 11 x 26 cm distribuirea seminţelor pe sugativă se face cu ajutorul unor plăci din plastic perforate care se aşează pe mediu iar în orificiile acestora sunt puse seminţele, după care placa se ridică. Plasarea seminţelor pe substrat în vasele Petri se face cu pensete sterile.Vasele Petri cu seminţe sunt puse în pungi din

plastic şi incubate timp de 7 zile la temperatura de 20-22°C pentru depistarea adecvată a celor mai mulţi agenţi patogeni. Perioada standard de incubare poate să crească sau să fie redusă în funcţie de nivelul de dezvoltare al coloniilor. Normele Internaţionale de Controlul Seminţelor (1967) în ce priveşte lumina în timpul incubării recomandă un ciclu alternativ de 12 ore lumină cu 12 ore întuneric, folosindu-se în acest scop lămpi ultraviolete ce emit spectru de radiaţii continui şi lămpi fluorescente care dau lumină de zi.

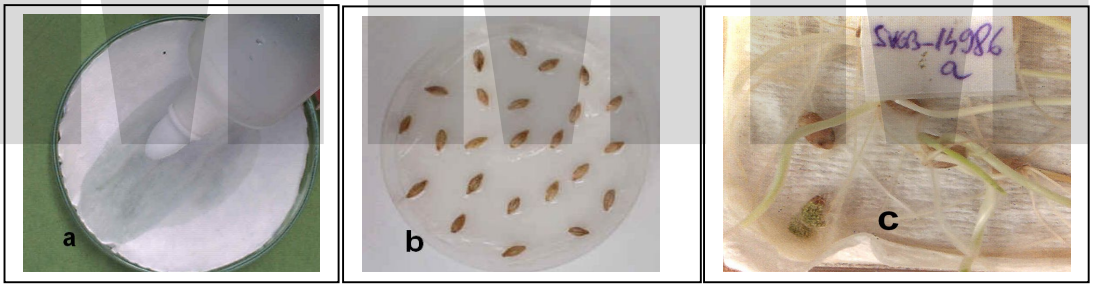

Foto 16 Metoda analizei pe sugativă a-vas Petri cu hârtie umezită b-seminţe distribuite pe substrat c-colonii de micromicete apărute pe seminţe incubate pe hârtie sugativă

După perioada de incubare observaţiile cu privire la prezenţa sau lipsa infecţiei pe sămânţă se fac la stereomicroscopic. Procentul de infecţie este dat atât de prezenţa micromicetelor pe sămânţă cât şi de simptomele de pe germeni (*foto 16 c*).

În regulile ISTA (1993) sunt recomandate mai multe tipuri de metode pe hârtie sugativă ce pun în evidenţă fungii existenţi pe sămânţă. Pentru seminţele de cereale sunt specificate :

- metoda pe hârtie sugativă umezită cu apă distilată la care s-a adăugat 0,4 ml acid acetic glacial la 1l de apă, utilizată în special pentru sporularea micromicetei *Helminthosporium graminea* pe seminţele de orz;

- metoda prin osmoză descrisă de Jorgensen J., (1982) pentru evidenţierea speciilor de *Helminthosporium gramineum* (Rab. ex. Schlecht.) Shoem. şi *Helminthosporium teres* (Sacc.) pe seminţele de orz şi *Helminthosporium tritici-repentis* pe seminţele de grâu. Pentru umectarea sugativei se foloseşte o soluţie formată din acetat de sodiu, apă distilată şi sucroză cristalizată.

Metoda sugativei are dezavantajul că favorizează dezvoltarea de saprofiţi care denaturează estimarea rezultatelor.Cu toate aceste limitări, testul pe sugativă rămâne o metodă indispensabilă, frecvent folosită, în lucrările de rutină cu privire la starea sanitară a seminţelor.

Metoda plăcilor cu agar

Principiul metodei constă în izolarea şi identificarea agenţilor patogeni purtaţi de sămânţă, pe mediu agarizat. Malone şi Muskett (1941) a folosit iniţial ca mediu de cultură extract de malţ-agar această metodă fiind cunoscută sub numele de metoda Ulster. În prezent, cel mai frecvent sunt folosite mediile din extract cartof-agar şi extract malţ-agar. Mediul (CGA) cartof-glucoză-agar este frecvent utilizat în micologie, fiind foarte favorabil pentru creşterea majorităţii ciupercilor, datorită efectului combinat al tuturor componentelor.Această metodă este mai completă decât metoda sugativei deoarece oferă condiţii optime pentru creşterea miceliului şi sporularea ciupercilor din ţesuturile interioare ale seminţelor analizate.

Mod de lucru Probele de analizat fiecare conţinând câte 400 de seminţe se numără în 4 repetiţii de câte o 100 de seminţe. Dezinfecţia superficială a seminţelor este o necesitate în analizele ce folosesc ca substrat de incubare mediu nutritiv cu agar. Cel mai des recomandat şi utilizat dezinfectant este soluţia normală de hipoclorit de sodiu în concentraţie de 0,5-1% în care seminţele se ţin 5-15 minute. După dezinfecţie seminţele se distribuie în vase Petri cu mediu de cartof-glucoză-agar în interiorul unei hote sterile (*foto 17a*). În analizele pe mediu cu agar se folosesc aproape în exclusivitate vase Petri confecţionate din sticlă care înainte de utilizare necesită sterilizare în etuvă timp de 3 ore la t=160°C. Reţeta standard (Constantinescu O., 1974) pentru obţinerea unui litru de mediu cuprinde următoarele componente: 200g cartofi, 20g dextroză, 20g agar, 1000 ml apă distilată. Astfel, se spală şi se curăţă tuberculii şi se taie în cuburi de 12mm. Se cântăresc 200 g, se clătesc repede în apă şi se fierb, într-un vas de sticlă sau smălţuit, timp de o oră până se înmoaie. Se sfărâmă şi se strecoară cât mai multă pulpă printr-o sită fină sau tifon. Ca agent de solidificare se foloseşte agarul, care este un hidrat de carbon obţinut din alge marine (Booth, 1971) ce se fierbe până la dizolvare. În extractul de cartof obţinut se adaugă agarul dizolvat şi dextroza amestecându-se până ce se obţine o suspensie. Se completează până la un litru cu apă distilată şi se agită pentru a se uniformiza distribuindu-se apoi în vase Petri.Vasele Petri cu mediu se sterilizează în autoclav la temperatura de 120°C, timp de 20 de minute. După sterilizare se lasă 12 ore pe masă în laborator pentru solidificarea mediului şi eliminarea excesului de umiditate. Probele de seminţe distribuite pe mediu de cultură în condiţii sterile sunt incubate în termostat timp de 7 zile la t=22°C. Pentru sporularea unor tipuri de micromicete este necesar ca în ultimele trei zile să se efectueze un ciclu alternativ de 12 ore întuneric cu 12 ore lumină fluorescentă.

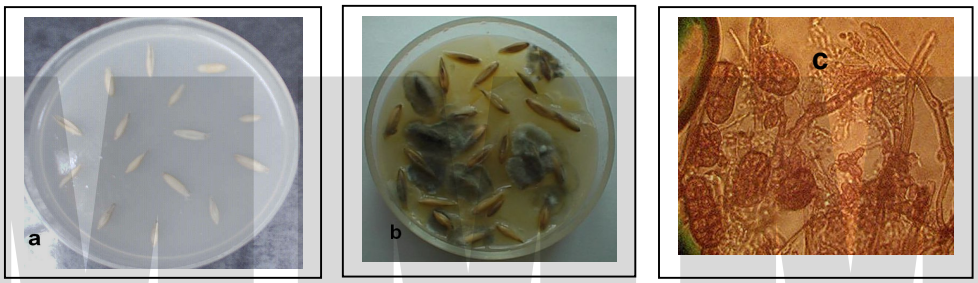

Foto 17 Metoda plăcilor cu agar a-petriu cu mediu CGA însămânţat; b-colonii de micromicete pe seminţe după 7 zile de incubare; c-conidii şi conidiofori

Estimarea infecţiei se face prin examinarea macroscopică a coloniei pe ambele feţe ale vasului, la stereomicroscop (*foto 17b*) şi examinarea microscopică a formelor conidiene ale micromicetelor prin efectuarea de preparate microscopice (*foto 17c*).

CAPITOLUL 6

MĂSURI DE PREVENIRE ŞI COMBATERE A MICROMICETELOR ÎN SISTEM INTEGRAT LA CEREALE PĂIOASE

Lupta integrată aplicată culturilor de cereale păioase presupune utilizarea tuturor posibilităţilor de prevenire a atacului produs de patogeni prin aplicarea de măsuri: agrotehnice (tehnologice), chimice, biologice şi de prevenire a infecţiei în condiţii de depozitare.

6.1 Măsurile agrotehnice (tehnologice) au drept scop protejarea culturilor de cereale păioase încă de la înfiinţare, faţă de atacul patogenilor ce se transmit prin sămânţă şi sol. Chiar dacă în condiţiile unei agriculturi moderne, seminţele trebuie tratate chimic de către toţi producătorii agricoli, respectarea altor cerinţe tehnologice este, de asemenea, obligatorie. Nerespectarea acestor măsuri agrotehnice cu rol important în combaterea integrată duce la obţinerea unor culturi slabe din punct de vedere al densităţii, al stării de vegetaţie şi al sănătăţii plantelor, afectând în final producţia, atât cantitativ cât şi calitativ. Factorii implicaţi în cadrul măsurilor agrotehnice sunt:

a. Zonarea culturilor şi a soiurilor

Cele mai bune recolte de grâu şi orz se obţin pe terenurile plane sau cu pante domoale, în soluri cu textură medie (cernoziomuri, lăcovişti, aluviuni fertile), cu apa freatică la adâncime medie şi în absenţa temperaturilor extreme.

În solurile prea umede şi grele se înregistrează atacuri de agenţi patogeni ai rădăcinilor şi bazei tulpinilor şi chiar agenţi patogeni ce produc boli la frunze şi spic.

Culturile de ovăz sunt mai puţin pretenţioase faţă de reacţia solului permiţând amplasarea lor pe terenuri acide, de natură podzolică cu condiţia ca reacţia acestora să fie corectată cu amendamente pe bază de carbonat de calciu. Secara se adaptează bine pe solurile podzolice şi cu aciditate ridicată din zona subcarpatică şi colinară a ţării. Condiţiile de microclimat ce se realizează în perioada de vegetaţie la ovăz şi secară favorizează în anii cu climat umed şi rece dezvoltarea de patogeni ce influenţează calitatea recoltei.

În ce priveşte zonarea soiurilor, aceasta vizează realizarea unei concordanţe cât mai bune între resursele pedoclimatice ale fiecărei zone şi particularităţile biologice ale soiurilor de care dispunem.

b. Rotaţia culturilor are ca efect evitarea cultivării pe aceleaşi sole, mai mulţi ani la rand, a cerealelor păioase de toamnă. Sub acest aspect este de arătat că în ultima perioadă s-a manifestat o tendinţă pronunţată de cultivare a cerealelor păioase în monocultură, ceea ce a determinat în anumite situaţii pierderi mari de producţie, în special din cauza intensificării atacului unor patogeni polifagi care se transmit prin sămânţă şi sol. În acest sens, se impune o reducere accentuată a ponderii înfiinţării culturilor de cereale în monocultură, cu atât mai mult în monocultură prelungită mulţi ani. Această recomandare devine şi mai stringentă datorită actualei structuri a câmpurilor, cu numeroase parcele mici în care culturile sunt intercalate, ceea ce face dificil de stabilit rolul asolamentului şi al rotaţiei culturilor în monitorizarea şi dinamica patogenilor (Popov C., 2006).

Efectul rotaţiei nu poate să reducă total gradul de răspândire a unor patogeni însă unele plante folosite ca premergătoare pot influenţa în anumite limite starea de sănătate a culturilor.

În cultura grâului, speciile de *Fusarium sp*. sunt favorizate de monocultura de grâu sau succesiunea sa cu orzul, fapt ce poate duce la creşterea rezervei de inocul în sol în măsură foarte mare. Micromicetele *Septoria nodorum* (Berk.) *Rhizoctonia solani, Helminthosporium triticii* se înmulţesc în sole cu 2-3 ani monocultură la grâu.

Plante bune premergătoare pentru întreruperea monoculturii la grâu sunt considerate: leguminoasele pentru boabe (fasolea, mazărea, soia), plantele industriale (floarea soarelui, sfecla, cartoful, tutunul, inul), leguminoasele perene (lucerna, trifoiul). Aşadar pentru culturile de grâu este preferabil un asolament stabil, cu durată de 2-6 ani, adaptat structurilor de cultură din fiecare zonă.

Rotaţiile de 3-6 ani, în care grâul urmează după leguminoase sau alte culturi timpurii, sunt cele mai potrivite. Ţinând seama că suprafeţe mari se cultivă cu porumb, se impune ca, după 3-4 cicluri, rotaţia grâu-porumb să fie întreruptă prin cultivarea unei plante leguminoase sau a florii soarelui.

La orz – planta premergătoare are un rol deosebit în evitarea contaminării seminţei şi infestării culturii. Nu se recomandă revenirea orzului după orz, orzoaică, grâu, ovăz şi secară deoarece în sol odată cu miriştile rămân rezerve de inocul. Bune premergătoare pentru orz sunt plantele care părăsesc terenul devreme şi nu au patogeni comuni.

La ovăz de obicei planta premergătoare este porumbul cu condiţia să nu fi fost erbicidat cu produse pe bază de Atrazin, în acest caz nu poate reveni decât după doi, trei ani .

Pentru secară cele mai bune premergătoare sunt culturile care nu au boli comune ca: leguminoasele pentru boabe şi furaj, inul pentru fibră, cartoful, porumbul. Nu este recomandabilă monocultura şi revenirea după grâu, ovăz, orz pentru că în sol permanentizează patogeni comuni.

c. Izolarea solelor la culturile semincere. Este o măsură preventivă în producerea de seminţe libere de virusuri şi patogeni diseminaţi prin vânt sau insecte.

Distanţele minime de izolare prevăzute în normele tehnice (1997) sunt:

-la soiurile de cereale păioase (grâu,orz,ovăz) faţă de alte specii, soiuri şi alte categorii biologice distanţa minimă de izolare trebuie să fie de 4 m.

- la secară faţă de alte specii păioase, soiuri de secară, triticale şi de alte categorii biologice ale aceluiaşi soi trebuie păstrată o distanţă de 4 m. Pentru culturile semincere bază distanţa de izolare trebuie să fie de 300 m şi de 250 m pentru culturile certificate.

d. ***Lucrările solului*** după recoltarea plantei premergătoare au pe lângă rolul de creare a unor condiţii bune pentru procesele biologice din sol şi un rol fitosanitar prin încorporarea adâncă sub brazdă a resturilor de plante de cereale pe care se găsesc numeroşi agenţi patogeni în diferite stadii de viaţă activă sau latentă. Pe samulastră se produc infecţii cu patogeni ca: *Erysiphe graminis, Septoria triticii, Septoria nodorum* şi îşi găsesc gazdă pentru hrană unele specii de afide, cicade etc. La cereale în cazul unor epifiţii grave cu *Pseudocercosporella, Fusarium* sp. se procedează, înainte de arat, la arderea miriştilor ca măsură radicală pentru patogenii foarte greu de combătut. În sol, resturile de plante încorporate sunt supuse acţiunii de descompunere a micoflorei iar antagoniştii distrug agenţii patogeni fără a mai fi necesare măsuri de combatere chimică.

e. ***Aplicarea îngrăşămintelor chimice sau organice şi a amendamentelor***

După Hulea Ana. şi colab (1973) îngrăşarea trebuie făcută în cantităţi potrivite şi bine proporţionate pentru a se evita dezechilibrul fiziologic provocat de cantitatea necorespunzătoare de elemente nutritive mărind în acest sens sensibilitatea plantelor la infecţii. În acest sens, utilizarea îngrăşămintelor şi a amendamentelor calcaroase trebuie făcută pe baza cartării agrochimice, ţinându-se seama de: planta premergătoare, fertilizarea aplicată anterior, gradul de aprovizionare cu apă, nivelul producţiei posibil de obţinut în zonă etc. Fertilizarea organică se recomandă la culturile premergătoare iar îngrăşămintele chimice se aplică pentru completarea necesarului de elemente nutritive ale plantelor. Modul de utilizare a îngrăşămintelor azotate are rol important în

starea fitosanitară a culturilor de cereale. Excesul de azot sau raportul neechilibrat cu fosforul favorizează o vegetaţie luxuriantă ce generează un microclimat în etajul inferior de frunze al plantelor care permite apariţia de timpuriu a unor boli ca făinarea, septoriozele, fusariozele, sfâşierea frunzelor.

f.Tratamentul chimic al seminţei înainte de semănat

Acest tratament efectuat înainte de semănat, reprezintă secvenţa tehnologică principală, eficace, economică şi puţin poluantă prin care se asigură o protecţie complexă a culturilor de cereale faţă de patogenii ce se transmit prin sămânţă şi sol.

Utilizarea unor seminţe netratate şi necertificate la înfiinţarea culturilor de cereale de toamnă este o mare eroare tehnologică cu urmări grave în cazul monoculturii. Oricare ar fi provenienţa seminţei chiar dacă la controlul calităţii sub aspect sanitar a fost certificată ca bună ea trebuie tratată cu produse chimice avizate în acest scop. După Popov C.(2000), tehnologiile actuale de cultură prevăd aplicarea diferenţiată a produselor de tratat seminţe, în funcţie de planta premergătoare:

- tratarea cu fungicide a seminţelor de cereale pentru culturile a căror premergătoare nu au fost cereale păioase;
- tratarea cu insectofungicide (sau cu insecticide în amestec cu fungicide) a seminţelor pentru culturile practicate în regim de monocultură, de unul sau mai mulţi ani, a cerealelor păioase;
- tratarea cu insectofungicide (sau cu insecticide în amestec cu fungicide) a seminţelor pentru culturile amplasate pe sole cunoscute ca fiind infestate cu larve ale viermilor de sârmă.

g. Epoca de semănat şi adâncimea de semănat

După Hulea Ana. şi colab. (1973) cerealele trebuie semănate în epoca optimă, funcţie de zona de cultură, condiţiile climatice ale anului respectiv, soi şi patogenii ce apar frecvent în zona respectivă.

Grâul de toamnă semănat înaintea epocii optime este atacat în proporţie mai ridicată de mălura comună (*Tilletia foetida* (Wallr.)Liro) datorită faptului că temperatura din sol la mijlocul lunii septembrie este cea mai apropiată de temperatura optimă de germinare a clamidosporilor ciupercii. Epocile foarte timpurii duc la atacuri puternice de *Fusarium culmorum* (Smith) Sacc. *şi Fusarium graminearum* (Schw.) iar cele târzii favorizează dezvoltarea mălurii pitice.

Adâncimea de semănat se stabileşte în funcţie de zona geografică, de condiţiile climatice şi structura solului. Semănatul superficial la 3-4 cm favorizează infecţia cu mălura pitică, teliosporii acesteia germinând foarte bine în stratul superficial unde cantitatea de oxigen este mai mare. Semănatul prea adânc favorizează infecţiile cu *Fusarium graminearum* (Schw.), *Helminthosporium sativum* (King and Bakke) etc.

La orz şi la secară epocile foarte timpurii favorizează atacul de făinare şi rugină.

***h. Desimea plantelor*,** la cereale se obţine prin respectarea normei de sămânţă/ha în momentul înfiinţării culturilor. Se poate asigura o densitate normală a plantelor cunoscându-se capacitatea de înfrăţire a soiurilor ce se cultivă în fiecare zonă repartizându-se la semănat un număr corespunzător de seminţe pe m².

Hatman M. şi colab. (1986) - afirma că în lanurile dese de cereale, aeraţia nefiind suficient de bine asigurată se creează un microclimat mai umed prielnic patogenilor.

Irigarea culturilor favorizează atacurile de patogeni numai în măsura în care factorul apă nu este bine corelat cu cantitatea de îngrăşăminte administrate culturii, cu temperatura solului şi aerului, cu desimea culturilor şi sensibilitatea soiurilor.

Epifiţii grave se produc în culturile irigate prin aspersiune deoarece impactul picăturilor de apă ajută la diseminarea sporilor de agenţi patogeni.

i. Recoltarea şi condiţionarea seminţei

După Raicu Cristina (1978) momentul recoltării culturilor de cereale păioase este important sub aspectul maturării, uscării seminţelor cât şi sub aspectul condiţiilor climatice din perioada de recoltat.

Umiditatea ridicată a seminţelor, recoltarea pe vreme ploioasă sau ceaţă favorizează dezvoltarea de saprofiţi precum: *Cladosporium herbarum* (Link.), *Epicoccum sp., Alternaria sp.*.

In scopul evitării contaminării cu patogeni recoltatul şi condiţionarea seminţelor trebuie să se facă separat pe fiecare parcelă, în special pentru cele lipsite de infecţie. Parcelele recoltate mai timpuriu, trebuie să se usuce în continuare în locuri aerisite, dezinfectate, ferite de umezeală (Hulea Ana. şi colab. 1973). Condiţionarea seminţei constă în sortarea, uscarea, precurăţirea, curăţirea şi calibrarea acesteia (Norme tehnice, 1997). Condiţionarea seminţelor după treierat reduce mult cantitatea patogenilor aflaţi pe seminţe, eliminându-se scleroţii de *Claviceps*, seminţele mici şi deformate, fructificaţiile ciupercilor din resturile de ţesuturi.Operaţia de condiţionare se execută cu ajutorul vânturătoarelor, selectoarelor şi trioarelor.

Seminţelor de cereale recoltate cu un conţinut de umiditate ridicat (peste 20%) înainte de depozitare necesită operaţia de uscare (Beratlief, 1982).

Uscarea naturală se va efectua prin expunerea seminţei în strat subţire de 15 cm în locuri uscate, sub acţiunea razelor solare, ferite de accesul animalelor, păsărilor, rozătoarelor şi se va lopăta de 2-3 ori pe zi pentru ca uscarea să se facă cât mai uniform.

Uscarea artificială se va efectua cu aer încălzit (staţii de uscare automate) la temperatura şi durata recomandată pentru fiecare specie de având grijă să nu se distrugă germinaţia seminţei.

6.2 Măsuri chimice

Având în vedere că la culturile de cereale păioase numeroşi agenţi patogeni se transmit prin sămânţă atacul manifestându-se încă din perioada de germinare-răsărire, pagubele însemnate cât şi compromiterea culturilor înfiinţate impun aplicarea de tratamente chimice la sămânţă şi în vegetaţie. În condiţiile actuale, de tranziţie spre economia de piaţă, diferiţi patogeni transmişi prin sămânţă şi sol găsesc cadrul ecologic favorabil înmulţirii lor masive cu consecinţe dezastruoase pentru culturi. De aici rezultă că, aplicarea corectă a tratamentului chimic alături de zonarea soiurilor şi hibrizilor şi de măsurile agrotehnice folosite poate contribui la protecţia culturilor de cereale păioase pentru obţinerea de recolte ridicate. Pentru o aplicare corectă şi integrală a măsurilor chimice, ca şi componente de bază a combaterii integrate, fermierul trebuie să posede un minim de cunoştinţe care să-i permită înţelegerea rolului şi necesităţii aplicării acestora. Concret, el trebuie să fie iniţiat în cunoaşterea: bolilor ce se transmit prin sămânţă şi sol, ce apar în timpul vegetaţiei, a ciclului biologic şi a modului de transmitere, atât de la un an la altul, cât şi de la o plantă la alta în cadrul aceleaşi sole sau de la o solă la alta, a daunelor produse şi a tipului de combatere (Bărbulescu A., 2002). După Puşcaşu A.(1999) prin tratamentul chimic la sămânţă se rezolvă mai multe cerinţe cum ar fi : -se distrug paraziţii de pe sămânţă reducând riscul unui atac germinal;

-se distrug paraziţii embrionari cu dezvoltare sistemică care nu ar putea fi combătuţi într-un alt mod;

-se distrug paraziţii aflaţi în solul din imediata apropiere a seminţei şi se ridică o barieră (formată din pesticidul activat în sol) în calea celor care ar veni de la distanţe mari, constituindu-se o zonă de protecţie în jurul plantelor;

-folosind pesticide sistemice, se asigură o protecţie de lungă durată (6-8 săptămâni) ce acoperă o fază critică, începând cu germinarea seminţei şi încheind cu stadiul de plantulă;

-prin aplicarea unor produse cu acţiune multiplă (fungicidă, insecticidă şi repelentă) se realizează protecţia culturilor împotriva păsărilor şi animalelor;

-utilizarea unor pesticide cu acţiune stimulativă asupra sistemului radicular, în special la cereale, asigură înfrăţirea optimă a culturilor;

Culturile de cereale provenite din sămânţă tratată pornesc în vegetaţie cu o densitate optimă, cu plante sănătoase şi viguroase. Preţul de cost al tratamentului la sămânţă este mult mai redus comparabil cu cel al tratării solului cu produse granulate

sau prin stropire, datorită consumului mult mai mic de substanţe şi costului scăzut al aplicării precum şi reducerii poluării mediului.Tratarea seminţelor nu se poate face cu orice fel de produse. Acestea trebuie să îndeplinească o serie de condiţii cum ar fi:

-să nu fie fitotoxice, să fie foarte bine tolerate de sămânţă, germeni şi plantule.

-să aibă spectrul de acţiune cât mai larg (printr-un singur tratament să se protejeze sămânţa şi tânăra plantă).

-să aibă remanenţă (durată de acţiune) spre a asigura sănătatea plantelor cât mai mult timp.

-să fie condiţionate încât să se preteze la forme cât mai moderne de tratare a seminţelor.

În funcţie de caracteristicile fizico-chimice produsele utilizate pot fi de mai multe tipuri:

-pulbere pentru tratare uscată (PTS, PP sau DS)

-lichide cu formulări: LS (lichide solubile), ES (emulsii), SC, FS sau CS (suspensii concentrate)

-pulbere dispersabilă în apă pentru mocirlire (PUS, PU, WS).

-pulbere solubilă în apă (SS).

Din punct de vedere tehnologic, ca metodă, tratamentul chimic al seminţei constă în acoperirea acesteia, prin aderarea la suprafaţa tegumentului sau fructului a produsului chimic condiţionat sub formele prezentate mai sus. În acest scop se întrebuinţează produsele condiţionate pentru următoarele tipuri de tratări ale seminţei:

-tratarea prin pulverizare care se face în instalaţii centralizate cu aparatură perfecţionată, capabilă să dozeze foarte precis produsul, cantitatea de lichid aplicat fiind foarte mică. Deoarece produsul nu se diluează, tratamentul nu duce la creşterea umidităţii seminţei.

-tratarea prin incrustare ce determină o bună distribuţie şi aderenţă pe sămânţă a substanţei utilizate. Se folosesc produse ce conţin adeziv inert, vâscos, miscibil sau nu cu apa care fixează substanţa activă mult mai bine pe sămânţă acoperind-o cu o peliculă solidă sub formă de crustă.

-tratarea prin mocirlire (slurry) ce se aplică în special seminţelor cu suprafaţă netedă (ex. cereale păioase). Se realizează cu aparatură specială, folosindu-se produse condiţionate sub formă de pulbere umectabilă amestecate cu un adeziv inert sub forma unui strat dens la suprafaţa seminţelor. Pentru asigurarea unei bune omogenităţi în acoperirea seminţelor se foloseşte o cantitate mică de apă, astfel încât cantitatea totală de lichid de tratare să fie de 6-10 l/t, maxim 12 l/t.Trebuie avut în vedere ca aportul suplimentar de umiditate să nu afecteze germinaţia.

-tratarea prin drajare este o metodă modernă prin care se realizează un tratament de calitate folosind o aparatură specială la un preţ de cost mai ridicat.

Pesticidul este depus pe suprafaţa seminţei în straturi succesive de substanţă activă, de lianţi şi de pulberi, într-un strat mai gros samânţa mărindu-şi dimensiunea şi devenind mai netedă.

Se recomandă ca tratarea seminţelor cu astfel de produse să se facă cu numai câteva zile înainte de semănat, deoarece păstrarea îndelungată a seminţelor tratate poate afecta germinaţia. Este intezisă folosirea pentru înfiinţarea culturilor de toamnă, a seminţelor tratate în anul precedent cu astfel de produse.

Deoarece produsele recomandate pentru tratarea seminţelor de cereale păioase sunt toxice, se impune ca manipularea şi depozitarea acestora, precum şi toate operaţiunile de tratare şi depozitare a seminţelor tratate, inclusiv efectuarea semănatului, să se execute cu respectarea obligatorie a tuturor măsurilor de protecţia muncii şi a normelor PSI prevăzute de reglementările în vigoare.

La stabilirea produsului chimic ce urmează să fie folosit pentru tratarea seminţei, trebuie luaţi în considerare patogenii şi dăunătorii ce trebuie combătuţi diferenţiat pe culturi şi planta premergătoare.

Pentru cereale semănate după alte plante decât cereale sunt avizate spre a fi utilizate în ţara noastră următoarele produse *(tabel 4*):

Tabel 4

Produsul chimic	**Doza**	**Cultura**	**Boala combătută**
AMIRAL 3 FS	1 l/t săm.	grâu	fuzarioză, mălură comună
DIVIDEND 030 FS	1 l/t săm	grâu	fuzarioză, mucegaiul de zapadă, mălură comună
DIVIDEND STAR 036 FS	1 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
LAMARDOR 400 FS	150 ml/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
ORIUS 6 FS	0,5 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
ORIUS ST 2WS	1,5 kg/t săm	grâu	fuzarioză, mălură
	1,5 kg/t săm	orz	tăciune zburător, sfâşiere
PANOCTINE 35 LS	2 l/t săm	grâu	fuzarioza, mălură comună
PANOCTINE GREEN 35			
RAXIL 060 FS	500 ml/t săm	grâu	mălură comună
		orz	tăciune zburător, sfâşierea frunzelor
SAVAGE 5 FS	1,5 l/t săm	grău	mălura, fuzarioza
		orz	tăciune zburător, sfâşiere
SOPRANO 125 SC	0,5 l/t sâm	grâu	fuzarioză, mălură comună
SEMNAL 80 PUS	1,75 kg/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
SEMNAL 500 FS	1,75 kg/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
SUMI -8 2 FL	1 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
TIRADIN 500 SC	2,5 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună

TIRAMET 60 PTS	3 kg/t săm	grâu, secară	fuzarioză, mălură comună
TIRAMET 600 SC	3 l/t săm.	triticale	fuzarioză, mălură comună
VITAVAX 200 FF	2,5 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună
VITAVAX 200 PUS	2,5 kg/t săm	cereale păioase	fuzarioză, sfâşierea frunzelor, tăciunele zburător al orzului şi grâului

Când se utilizează monocultura la cerealele păioase, trebuie luate măsuri de prevenire nu numai a bolilor, ci şi a acţiunii larvelor gândacului ghebos şi viermilor de sârmă fiind obligatoriu folosirea unor seminţe tratate cu următoarele insectofungicide avizate (*tabel 5*):

Tabel 5

Produsul chimic	**Doza**	**Cultura**	**Boala şi dăunătorul combătut**
TIRAMETOX 625 SC	3, 7	grâu, secară, triticale	mălura, fuzarioza, gândac ghebos, viermi sârmă
PROTILIN 460 FS	4,5 l	grâu, orz	mălura, fuzarioza,sfâşierea frunzelor, tăciunele zburător,gândacul ghebos, viermi sârmă
PROTILIN 81 PUS	3 kg	grâu, secară,	
SUMIDAN	1,8 l	orz, triticale	
NUPRID MAX AL 222 FS	2,5 l/t săm	grâu	fuzarioză, mălură comună, viermi sârmă, gândac ghebos
		orz	tăciune zburător, sfâşierea frunzelor, afidele cerealelor (în vederea prevenirii fenomenului de îngălbenire, piticire, aspermia cerealelor)
			tăciune zburător, sfâşierea frunzelor
YUNTA 246 FS	2 l/t săm	grâu	mălură comună, fuzarioză, viermi sârmă, gândac ghebos, afide
	2,5 l/t săm	orz	tăciune zburător, sfâşierea frunzelor, viermi sârmă, afide, gândac ghebos

Pentru combaterea bolilor foliare şi ale spicului momentele optime de aplicare a tratamentelor la cereale păioase sunt recomandate în diferite fenofaze de creştere ale plantelor (Şandru I, 1996).

Tratamentele în vegetaţie se aplică la avertizare, când plantele sunt într-un anumit stadiu de dezvoltare sau pe criterii economice când un patogen sau un grup de patogeni a ajuns la un anumit grad de atac de la care se produc pagube. În funcţie de fenofază se fac 1-2 tratamente terestre sau aeriene cum ar fi:

-pentru combaterea bolilor foliare, momentul optim pentru tratament este la sfârşitul împăierii. Dacă sunt condiţii favorabile (precipitaţii, temperaturi ridicate) pentru apariţia mai devreme a bolilor şi dacă acestea se manifestă acut, tratamentul poate fi aplicat şi la începutul împăierii.

-pentru protejarea spicului şi a ultimei frunze, se face un tratament la înspicare.

După Rotaru V., (2006) în funcţie de gradul de atac tratamentele se aplică cel târziu în fazele:

-când a treia frunză de la vârf este infectată în proporţie de 5% de făinare şi 1% de helminthosporioză.

-când oricare dintre frunze este infestată în proporţie de 1% de rugină.

-când boala este prezentă pe frunzele mai bătrâne în cazul septoriozei frunzelor sau a septoriozei glumelor.

-înainte de înflorire, mai ales când se aşteaptă vreme umedă în cazul fuzariozei.

În general, momentele optime care trebuie luate în considerare pentru a avea culturi de cereale păioase libere de patogeni sunt de la sfârşitul înfrăţirii până la apariţia primului internod pentru bolile de colet şi tulpină; de la burduf la înspicare pentru protecţia frunzei stindard când se produc infecţii cu septorioze şi fuzarioze ce afectează calitatea seminţei (*foto 18).*

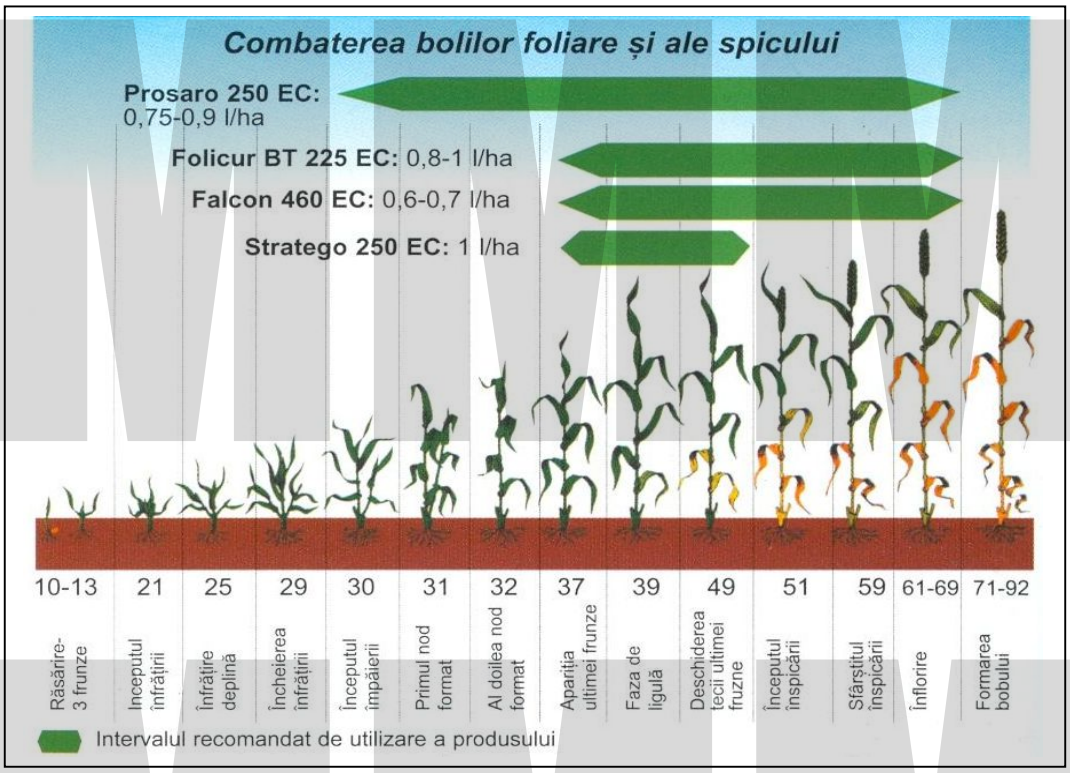

Foto 18 Intervalul de aplicare a produselor chimice recomandat în combaterea bolilor foliare şi ale spicului (Bayer CropScience, 2006).

Pentru combaterea complexului de boli foliare şi ale spicului în timpul perioadei de vegetaţie cu mijloace terestre se vor folosi 200 l amestec/ha, la presiune de cel puţin 1 atm iar pentru tratamente aeriene se va utiliza un amestec de soluţie de 50 l/ha.

Pentru combaterea complexului de boli foliare şi ale spicului în timpul perioadei de vegetaţie sunt avizate o serie de produse fitosanitare (*tabel 6*) cum ar fi:

Tabel 6

Produsul chimic	**Doza**	**Cultura**	**Boala combătută**
BAVISTIN 50 DF*)	0,6 kg/t săm.	grâu	fuzarioză, septorioza, rugină, făinare
BRIO	0,5 l/ha	grâu	fuzarioza
CARAMBA 60 SL	1 l/ha	grâu	fuzarioză, septorioza, rugină, făinare
CARBENDAZIM 500 SC*)	0,6 l/ha	grâu	fuzarioza, complex boli foliare şi ale spicului
FALCON 460 EC	0,7 l/ha	grâu	fuzarioza, complex boli foliare
FOLICUR BT 225 EC	1 l/ha	grâu	fuzarioza spicului
	0,8 l/ha		complex boli foliare
NATIVO 300 SC	1 l/ha	grâu	fuzarioza, complex boli foliare şi ale spicului
PROSARO 250 EC	0,9 l/ha	grâu	fuzarioza spicului
	0,75 l/ha		complex boli foliare şi ale spicului
SUMI-8 12,5 WP	0,4 l/ha	grâu	fuzarioza spicului, rugina, făinarea,septorioza
STRATEGO 250 EC	1 l/ha	grâu,orz	complex boli foliare
TOPSIN AL 70 PU	1 kg/ha	grâu, orz	complex boli foliare şi ale spicului
TOPSIN 500 SC	1, 25 l/ha		

*)-produsele pe bază de carbendazim sunt considerate de UE produse cu toxicitate ridicată şi nu sunt indicate să fie distribuite cu mijloace aeriene, trebuie manipulate şi aplicate numai de personae autorizate.

6.3. Măsuri biologice

Metodele biologice de protecţie prin rezistenţa genetică se bazează pe obţinerea soiurilor şi hibrizilor de plante rezistente sau tolerante la patogeni prin diferite mecanisme. Eficienţa încercărilor de limitare a patogenilor în culturi ar fi mult mai mare dacă s-ar recurge la un complex de măsuri ce ar include pe lîngă mijloacele agrotehnice şi chimice crearea şi cultivarea unor soiuri caracterizate prin rezistenţă genetică la atacul patogenilor în cauză. Această opţiune este susţinută de identificarea a peste 15 gene majore la grâul comun şi la unele specii înrudite. Unele dintre acestea s-au remarcat, în timp, printr-o eficacitate care nu depinde de specia sau rasa de

patogen cu care sunt confruntate ci de caracterul durabil al rezistenţei pe care-l conferă. Într-un efort permanent de adaptare a obiectivelor ameliorării la cerinţele agriculturii legate de dezvoltarea durabilă şi de integrarea europeană a agriculturii româneşti, Institutul de Cercetări pentru Cereale şi Plante Tehnice Fundulea urmăreşte de mai mulţi ani, intoducerea la soiurile adaptate de grâu a unor gene de rezistenţă la mălură, obţinute la Universitatea de Agricultură din Oregon (SUA). Practic, obiectivele prioritare constau în asocierea rezistenţei la mălură, conferite de anumite gene sau de anumite combinaţii complexe de gene, cu rezistenţa la rugina brună şi cu alte însuşiri agronomice. Rezultatele obţinute până în prezent sunt încurajatoare, o serie de linii de grâu comun, aflate în faze avansate de ameliorare, sunt în curs de testare ecologică (Ittu Mariana, 1999). În procesul de ameliorare a soiurilor de cereale păioase, rezistenţa faţă de boli a constituit unul din factorii principali de cercetare obţinându-se în decursul timpului o serie de soiuri mediu rezistente şi rezistente la unele boli ca fuzariozele, septorioze etc.(*tab 7*).

Tabel 7

Specia	**Soiuri rezistente**	**Soiuri mediu rezistente**	**Boli produse de ciuperci**
Grâu	Transilvania	Ulpia	Fuzarioza-*Fusarium sp.*
		Colina, Ulpia	Septorioza-*Septoria nodorum*
Orz	Avânt, Sonora, Barke	Dana	Sfâşierea frunzelor *Helminthosporium gramineea*
	Productiv, Miraj, Precoce		Mălura-*Tilletia pancicii*
Ovăz	Florina, Mureş, Someşan		Tăciunele îmbrăcat *Ustilago avenae*
Secara	Apart, Marlo, Rapid		Cornul secarei *Claviceps purpurea*

În prezent, combaterea biologică a agenţilor fitopatogeni se mai poate realiza şi cu ajutorul unor tratamente la sămânţă bazate pe antagonismul dintre microoorganisme.

După Tatiana Seşan (1986) tratarea seminţei pe cale biologică prezintă o serie de avantaje :

-cantitate minimă de produs;

-cheltuieli minime de aplicare;

-toxicitate redusă;

-uşurinţă de aplicare şi protejarea plantulelor faţă de atacul patogenilor din sol pentru o anumită perioadă de timp;

-stimularea germinării şi evitarea poluării mediului.

Prin acoperirea seminţei cu un inocul antagonist se asigură o bună eficacitate , imediată, limitând rezerva biologică a patogenilor din spermosferă şi rizosferă, efectul fiind de scurtă durată, protecţia plantei asigurându-se doar în faza de germinare-răsărire. Se recomandă pentru un tratament biologic reuşit aplicarea pe lângă doza de inocul antagonist şi a unei doze de fungicid. Un alt mod de aplicare îl constituie drajarea seminţelor utilizând substanţe selective favorizante pentru dezvoltarea antagoniştilor cu efect stimulator asupra germinării şi asigurării protecţiei plantulei în cursul vegetaţiei.

Aplicarea biopreparatelor pe bază de *Trichoderma viride* (Pers. Ex Fr.) *şi Coniothyrium minitans* la sol pentru cereale, au ca ţintă patogeni ca: *Fusarium spp., Fusarium culmorum* (Smith) Sacc. pentru grâu în diferite condiţii ecologice şi de cultură (Seşan, Baicu, 1995).

In România a fost obţinut primul biofungicid TRICHOSEMIN 25 PTS (Baicu T., Tatiana Seşan, Oancea, 1994) pe baza ciupercii antagoniste *Trichoderma viride* (Pers. Ex Fr.) izolatul Td 50 (omologat în 1995).

Antibioticele reprezintă un mijloc de luptă biologică ce exercită un antagonism prin intermediul substanţelor metabolice toxice pe care le posedă, fiind produse de unele mucegaiuri şi având o acţiune de inhibare a altor microorganisme.

Antibioticul testat în combaterea micozelor la cereale este trichotecina- produsă de *Trichotecium roseum* (Pers.) Link. Ex. Gray (Tatiana Seşan 1986) pentru *Ustilago nuda* (Jens.)Rostr. (orz), *Fusarium culmorum* (Smith)Sacc. (grâu), *Fusarium graminearum* Schw (grâu), *Helminthosporium sativum* (King and Bakke) (grâu, orz).

6.4. Măsuri de prevenire a infecţiilor în timpul depozitării

În timpul depozitării producţiei agricole de cereale păioase se iau o serie de măsuri de prevenire a infecţiilor cum ar fi:

1. *Măsuri de prevenire a infecţiilor în spaţiile de depozitare*

Spaţiile de condiţionare şi păstrare a seminţelor indiferent de tipul construcţiei trebuie recondiţionate pentru a nu putea pătrunde ploaia sau a nu se infiltra zăpada şi să nu intre rozătoarele din exterior.

Construcţiile în care compartimentele şi duşumelele sunt demontabile se desfac, se adună deşeurile acumulate şi se ard în afara depozitelor sau se îngroapă adânc în sol. Fisurile din elementele lemnoase ale construcţiei se acoperă cu bitum sau cu şipci iar cele din zidărie cu mortar sau cu ciment. La clădirile construite pe piloni (magazii orizontale şi pătule) terenul de sub construcţii va fi curăţat cu grijă, îndepărtându-se vegetaţia.

In depozitele cu ventilaţie mecanică sau în cele frigorifice operaţia de curăţire include toate instalaţiile, utilajele care sunt folosite la manipularea şi condiţionarea

produselor şi la realizarea parametrilor de păstrare îndepărtându-se cu grijă toate resturile acumulate.

După recondiţionarea depozitelor pentru distrugerea microorganismelor patogene şi saprofite ce pot rezista mai mulţi ani se face dezinfecţia acestora prin:

- văruirea pereţilor şi plafoanelor;

- arderea de pulbere sau cristale de sulf 30-100 g/m^3 pe tăvi de metal aşezate în diferite puncte ale spaţiilor;

- fumigare cu formaldehidă în amestec cu hipermanganat de potasiu (1g hipermanganat /10 l formalină) 1-1,7 l/ m^3 spaţiu. După 12 ore, depozitele se deschid şi se lasă să se aerisească bine până ce dispare mirosul de formol.

Stropirea pereţilor şi podelelor cu cloranil 1% sau cu soluţie apoasă de Acetim 0,2% (agent tip sare de amină), Catiotim N 0,2% (agent tensio-activ, tip sare cuaternară)

Întrucât ultimele două produse sunt nepoluante, tratamentul nu necesită măsuri speciale de protecţie, iar spaţiile dezinfectate pot fi folosite imediat.

Durata acţiunii acestor produse după stropire este de aproximativ 30 zile, timp în care instalarea mucegaiurilor în spaţiile tratate este foarte slabă.

2. Măsuri de prevenire a infecţiilor în timpul păstrării seminţelor.

Seminţele de cereale şi leguminoase recoltate şi condiţionate se păstrează în depozite amenajate silozuri, magazii (etc.) pentru conservarea temporară sau de lungă durată.

După Normele tehnice-1997, depozitarea şi păstrarea seminţelor de cereale şi leguminoase pentru boabe se face din momentul în care îndeplinesc condiţiile optime de umiditate(14%).

In funcţie de destinaţie, conţinutul de umiditate, calitate, seminţele se lotizează evitându-se amestecul acestora.

Depozitarea se face în: vrac, containere de diferite dimensiuni, saci ce se stivuiesc pe rafturi, etc. Mărimea şi înălţimea vracului de seminţe, a stivelor de saci sau a altor tipuri de ambalaj se face în funcţie de specie şi modul de depozitare încât să nu afecteze calitatea seminţei. Sămânţa stocată în vrac în celulele de siloz nu trebuie să fie depozitată mai mult de 30 zile (Norme tehnice, 1997).

În oricare dintre aceste sisteme de depozitare se lasă spaţii de acces în vederea controlului stării de păstrare ce se efectuează periodic. Principiul care stă la baza păstrării seminţelor depozitate este menţinerea unei temperaturi cât mai scăzute în depozit şi în masa de seminţe (câteva grade deasupra punctelor de îngheţ, specifice fiecărei specii) la fel şi a umidităţii relative a aerului pentru a fi în echilibru cu conţinutul de umiditate a seminţei (Harrington, 1972).

Acest principiu poate fi respectat printr-o aerisire bună, ventilare şi mişcare corespunzătoare a seminţei.

Oprea. Maria (1999), afirmă că trebuie asigurată în depozite o temperatură constantă de 12^0C pe toată durata păstrării seminţelor.

Calitatea seminţei rămâne nealterată dacă temperatura se menţine la un nivel scăzut (2-3^0C). Ridicarea temperaturii cu câteva grade duce la dezvoltarea unor specii de: *Aspergillus, Penicillium* sau *Mucoraceae* ducând la intensificarea respiraţiei seminţelor, creşterea umidităţii în masa de seminţe.

Introduse în depozite seminţele continuă un timp să respire, eliberând H_2O, CO_2 ce se acumulează în spaţiile intergranulare favorizând creşterea şi dezvoltarea ciupercilor.

Pentru evitarea apariţiei mucegaiurilor în proporţie ridicată în masa de seminţe se fac controale la 2-3 zile utilizând aparatură corespunzătoare (termometre de cameră, termometre cu tijă lungă) sau prin controlul automat al temperaturii. Este necesar controlul masei de seminţe prin luarea de probe pentru determinarea conţinutului de umiditate şi tatonarea temperaturii în mai multe puncte şi nivele ale lotului. Creşterea umidităţii cu 2-3 procente sau a temperaturii cu 2-3 grade necesită luarea unor măsuri pentru readucerea acestor parametri la normal.

Pentru seminţele păstrate în depozite frigorifice se vor respecta standardele de păstrare după cum urmează:

- pentru conservarea, pe termen mediu - T= + 4,5^0C (±1^0C), umiditatea relativă a aerului =60-70%;

- pe termen lung T= -20^0C (±1^0C), umiditatea relativă a aerului =30%

Umiditatea seminţelor depozitate trebuie să fie de 6-7% la fasole şi mazăre şi 8-10 % la cerealele păioase. În astfel de depozite are loc controlul simultan al temperaturii şi umidităţii relative a aerului, aceştia fiind factorii esenţiali ce determină menţinerea viabilităţii şi sănătăţii seminţelor.

3. Produse chimice pentru dezinsecţia spaţiilor de depozitare şi a producţiei depozitate

Producţia agricolă de cereale păioase depozitată în diverse spaţii, mai mult sau mai puţin adecvate, trebuie controlată periodic deoarece există în permanenţă pericolul infestării cu dăunători de depozit care produc pagube considerabile prin pierdere în greutate, reducerea germinaţiei, modificarea compoziţiei şi aspectului seminţelor.

Totodată, trebuie luate măsuri pentru dezinsecţia spaţiilor de depozitare şi combaterea dăunătorilor. În acest sens, sunt avizate o gamă largă de produse chimice care acoperă aspectele menţionate (*tabel 8*).

Tabel 8

Produse avizate pentru dezinfecţia spaţiilor de depozitare

Produsul	**Doza**	**Destinaţia**	**Organismul dăunător combătut**
ACTELLIC 50 EC	1 % 50- 100 ml/m²	spaţii de depozitare	Dăunători de depozit
	10 ml p.c/1 l apă/t cereale	cereale depozitate pentru consum	
RELDAN 40 EC	1,25 % 50 ml/ m²	spaţii goale de depozitare	Gărgăriţa grâului, gândacul făinii etc.
	12,5 ml/t produs 0,1-0,15 %	producţie depozitată pentru sămânţă sau consum	
ULTRAPHOS C	3-5 tablete/t produs	spaţii de depozitare, seminţe diverse	dăunători de depozit
Deratizarea depozitelor			
PROTECT B (pelets) PROTECT B (block)	20-50 g momeli/locaţie	spaţii de depozitare	şoareci şi şobolani
STORM BAIT BLOCK	50 g momeli/locaţie	depozite de produse agroalimentare	rozătoare de depozit
	20 g momeli/locaţie		şoareci de casă

BIBLIOGRAFIE

1. **Agrios G., 1978 -** *Plant Pathology*, ed II, Academic Press, New York, San Francisco, London, 703 p.
2. **Agarwal V.K, Sinclair, J.B. 1987 -** *Principles of seed pathology*. Vol.1 CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.176 p.
3. **Baicu T., Seşan Tatiana, 1996 -** *Fitopatologie Agricolă*, Ed. Ceres, Bucureşti.
4. **Baker K.F., Cook R.J., 1974 -** *Biological control of plant pathogens* N.H. Freeman and Company San Francisco 433 pp.
5. **Bărbulescu A., 2002 -** *Consideraţii generale privind tratamentul seminţelor culturilor de câmp împotriva bolilor şi dăunătorilor*. Revista Sănătatea Plantelor nr.52
6. **Berjak, P., 1987 -** *Stored seeds. The problems caused by microorganisms with particulare reference to the fungi*. International Advanced Course Abrates, 2, 21.
7. **Booth C., 1971 -** *Methods in Microbiology*. Vol. 4. Academic Press London, New-York.pag. 49-94.
8. **Bulla L.A. şi colab., 1977 -** *Insects and microorganisms in stored grain and their control*. Adv. Cereal Sci. Technolog., vol. II, Ed. Y. P
9. **Bucurescu N., 1968** – *Condiţionarea seminţelor destinate însămânţărilor*, Editura Agro-silvică, Bucureşti.
10. **Cahagnier B., 1995 -** *Les mycotoxines*. Comm pers.
11. **Constantinescu O., 1974 -** *Metode şi tehnici în micologie*. Editura Ceres, Bucureşti.
12. **Champion R., 1985** – *Les principaux champignons parasites transmis par les semences*. Degats au stade plantule. *Sel.fr*., 35, 43-58.
13. **Champion R., 1992 -** *Dix ans de qualitė sanitaire des semences de cereals* Le Bulletine de Semences no. 120; 32-35.
14. **Champion R., 1997 -** *Identifier les champignons transmis par les semences*. Institut national de la recherche agronomique INRA.
15. **Christensen C.M., Kaufmann H.H., 1974** - *Microflora in storage of cereal grains and their products*. Published by Amer. Assoc. Cereal Chemistis Inc. Minnesota . Editura C.M. Christensen.
16. **Delouche J.C, 1973 -** *Standardization of vigor tests*. Journal of Seed Technology, 1, 2, 75-85.
17. **Diehl. J.A 1983 -** *Response of some grass species to root rot caused by Cochliobolus sativus*. Fitopatologia Brasileira , 8, 9/12
18. **Faiad M.G.R., Wetzel M.M.V. and Piaulino L.E.V., 1989 -** *Pathogen viability on stored rice seeds*, Congresso Brasileiro de Sementes. 6, Brasilia, Abrates, p.118.
19. **Goga N., 2005 -** *Starea fitosanitara în 2005 a culturilor de câmp, în N-V României*, Revista Sănătatea Plantelor Editor, S.C Alcedo SRL, nr.12
20. **Hatmanu M.I., Bobeş I., Lazăr Al., Perju T., Săpunaru T., 1986** *Protecţia plantelor cultivate*, Editura Ceres, Bucureşti
21. **Hatmanu M., Bobes I., Lazăr Al., Gheorghies C., Glodeanu C., Severin V., Tusa Corina, Popescu I., Vonica I., 1989** - *Fitopatologie*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, p.468.
22. **Harrington J.F., 1972 -** *In Seed Biology* (Editura Tehnică Kozlowski) Acad Press New York şi Londra, **III,** 145-245.

23. **Hewett P.D., 1987 -** *Pathogen viability on seed in deep freeze storage*. Seed Science and Tehnology, 15, 73-77.
24. **Hulea Ana, 1961 -** *Fusarioza grâului*. Probleme agricole, vol.XIII, Editura Ceres, Bucureşti.
25. **Hulea Ana şi colab., 1973** – *Principalele boli ale culturilor semincere.* Editura Ceres, Bucureşti.
26. **Hulea Ana, Taşcă G., Beratlief C., 1982 -** *Bolile şi dăunătorii produselor agricole şi hortiviticole după recoltare*. Editura Ceres, Bucureşti.
27. **Iacob Viorica, Ulea E., Puiu I., 1998 -** *Fitopatologie agricolă*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iaşi.
28. **Iacob Viorica, 2002 –** *Bolile plantelor cultivate –prevenire şi combatere*- Editura Ion Ionescu de la Brad, Iaşi.
29. **Ittu Mariana, 1999 –** *Combaterea mălurii pe cale genetică* Revista Sănătatea Plantelor Editor S.C Alcedo S.R.L nr. 16
30. **Ittu Mariana, 2000 -** *Fuzarioza grâului o boală cu impact economic major*, Revista Sănătatea Plantelor, Editor S.C Alcedo SRL, nr.24.
31. **Jorgensen J., 1982 -** *The freezing blotter method in testing barley seed for inoculum of Pyrenophora graminea and P.teres*. Repeatability of test results.*Seed Sci.Technolo*., 10, 615-624.
32. **Karlberg S.,1971 –** *Studies on the blotter method for determination of seeding disease in cereals*. Int. Seed Test. Congr.27
33. **Kenyon D., Thomas Jane, 2002 -** *Detecţia cantitativă şi calitativă a speciilor de Pyrenophora sp. pe seminţele de orz utilizând PCR în testele de sănătate a seminţelor*. Department of Diseases Resistance and Diagnostics, National Institute of Agricultural Botany Cambridge.
34. **Kramer I. and Kopahnke, 1997** - *Caracterization of Drechslera teres isolates by virulence analysis and RAPD PCR*. J. Appl. Genet. 38B. pp. 153-159.
35. **Kuhlmang E.I., 1980 -** *Hypovirulence and hyperparasitisimum, in Horsfall* J.G I. Cowlinge B. Plant disease, in advansed treatise, Academic Press.
36. **Lazăr T., 1996 -** *Fărâmiţarea suprafeţelor agricole ca factor de criză*. Adevărul economic nr.35.
37. **Leach M., 1967 -** *Interaction of near ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi; Alternaria, Cercosporella, Fusarium, Helminthosporium and Stemphylium.* Can .J. Bot.
38. **Malone J.P., Muskett A.E., 1941 -** *The Ulster method for the examination of flax seed- for the presence of seed- borne parasites.* Annals Appl.Biol. 28:8-13.
39. **Mille B., 1989** – *La rhynchosporiose de l'orge a Rhynchosporium secalis* . These de Docteur-Ingenieur, Universite de Paris Sud.
40. **Munteanu I., şi colab., 1970 -** *Fusarioza grâului şi combaterea integrată a bolii*. Probleme de Protecţia Plantelor, vol. XXII, nr. 11, pag. 50-59.
41. **Munteanu I., 1982** - *Starea fitosanitară a seminţelor şi implicaţiile acesteia în realizarea densităţii optime la grâu*. Producţia vegetală, Cereale şi plante tehnice nr. 8.
42. **Neergaard P., 1977 -** *Seed Pathology*. The Macmillan Press Ltd. London , vol. 1
43. **Oprea Maria, 1999 -** *Protecţia produselor agricole depozitate, împotriva ciupercilor de mucegai*. Revista Sănătatea Plantelor, Editor S.C Alcedo S.R.L, nr.15.
44. **Popov C., 2000 -** *Tratarea seminţelor de grâu şi orz o prioritate a campaniei agricole de toamnă*. Revista Sănătatea Plantelor Editor S.C Alcedo S.R.L nr.27.

45. Popov C., 2006 – *Măsuri de prevenire a atacului de boli şi dăunători în culturile de cereale păioase*. Revista Sănătatea Plantelor, Editor S.C Alcedo S.R.L nr.100.

46. **Puşcaşu A., 1998 –** *Mălura grâului şi combaterea ei*. Revista Sănătatea Plantelor, Editor S.C Alcedo S.R.L nr.5
47. **Puşcaşu A., 1999 –** *Tratarea seminţelor, mijlocul cel mai economic de protecţie al culturilor*. Revista Sănătatea Plantelor, Editor S.C Alcedo S.R.L nr.11
48. **Placinta Domnica, 2005 –** *Contribuţii la studiul florei micologice parazite şi saprofite pe seminţele de cereale păioase şi leguminoase pentru boabe în timpul depozitării în vederea evitării pagubelor***.** Teză de doctorat., USAMV, Iaşi.
49. **Raicu Cristina, Baciu Doina, 1978 -** *Patologia seminţei.* Editura Ceres. Bucureşti
50. **Rădulescu E., Negru A., 1967 -** *Indrumător pentru determinarea bolilor şi dăunătorilor la seminţe*. Editura Agro-Silvică, Bucureşti.
51. **Rădulescu E., Răfăilă C., 1969 -** *Tratat de fitopatologie agricolă***.** vol. II. Editura Academiei R.S.R., Bucureşti.
52. **Richard - Molard D., Cahagnier B., 1992 -** *Microflore des cereales, croissance microbiene et hydratation, consequence du developpment des moissures*. Groupe de liaison sur conservation des grains. La Rochelle.
53. **Rotaru V., 1998 -** *Înbunătăţirea calităţii şi cantităţii producţiei la cereale prin tratarea seminţei.* Revista Sănătatea Plantelor. Editor S.C Alcedo S.R.L, nr.3
54. **Sackston I., Sprague R., 1950 -** *Diseases of cereals and grasses in North America*. The Ronald Press Company, New York.
55. **Săpunaru T. şi colab., 1998 -** *Boli şi dăunători la cultura de grâu, în Moldova.* Revista Sănătatea Plantelor. Editor S.C Alcedo S.R.L nr.2
56. **Seşan Tatiana, Iliescu H., 1983 -** *Combaterea biologică a micozelor plantelor de cultură*. Probleme de Protecţia Plantelor, 11 (2), 163-181.
57. **Seşan Tatiana, Baicu T., 1995 -** *Biological control of fungus diseases of cropped plants in Romania*. Eur. Y. Plant Pathology, Klwer Academic, Publishers, Abstracts of the International Symposium of the Plant Protections, Holand, 2-7.
58. **Seşan Tatiana, 1986 -** *Ciuperci cu importanţă practică în combaterea micozelor plantelor de cultură***.** (*Trichoderma viride* Pers ex. S.G. Gray)**.** Redacţia de Propagandă Tehnică Agricolă, Bucureşti.
59. **Şandru I.D. 1996 -** *Protejarea culturilor agricole cu ajutorul pesticidelor*. Editura Helicon, Timisoara.
60. **Trif V., 1998** - *Raxil 2WS fungicid eficace şi economic pentru tratarea seminţelor de cereale. Revista Sănătatea Plantelor*, Editor S.C Alcedo S.R.L nr.3.
61. **Van der Spek, J., 1965 -** *Botrytis cinerea also parasite van vals.* Wageningen, Pudce

*** **Bayer AG., 1998"** - *Curierul protecţiei plantelor*, nr. 1.

***Bayer CropScience, 2006 - *Catalog de produse pentru protecţia plantelor.*

*** **FAO, 1989 -** *Plant Genetic Resources: in situ conservation for human utilization*. 38 p. FAO, Roma.

*** **IBPGR, 1977 -** *Report of IBPGR Working group on engineering, design and cost aspect of long –term seed storage facilities IBPGR*, Rome.19 p.

*** **Normele tehnice, 1997 -** *Legislaţia seminţelor şi materialului săditor în România*. Inspecţia de Stat pentru Calitatea Seminţelor şi Materialului Săditor Bucuresti, Editura Sitech.

*** **Regulile ISTA, 1993 -** *ISTA Handbook on Seed Health Testing, section 2,*

Working Sheets. International Seed Testing Association, Zurich.

***Surse internet*:**

*** www.niab.com/research/disease /diagnostics
*** www.faem.ufpel.edu.br/…/detalhes
*** www.2.biologie.uni-halle.de/zool/dev_biol/proj
*** www.path-old.ethz.ch/.../crypto/basi
*** www.agric.gov.ab.ca/.../wheat_fhead
*** www.dottenfelderhof-forschung.de/fileadmin/us