

# Markery molekularne w diagnostyce chorób podstawy źdźbła i korzeni zbóż

Lidia Irzykowska

Katedra Fitopatologii, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego,  
ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań  
e-mail: irzyk@au.poznan.pl

**Słowa kluczowe:** fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła i korzeni, łamliwość źdźbła, ostra plamistość oczkowa, zgorzel podstawy źdźbła, diagnostyka chorób zbóż, markery molekularne, PCR

## Choroby podstawy źdźbła i korzeni zbóż

---

W uprawie zbóż występuje szereg czynników mających istotny wpływ na wielkość i jakość plonu. Ważną przyczyną znacznych strat w plonie, zwłaszcza zbóż ozimych, jest występowanie chorób podstawy źdźbła i korzeni (tzw. chorób podsuszkowych) powodowanych przez *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae* – *Gga* i *G. graminis* var. *tritici* – *Ggt* (zgorzel podstawy źdźbła), *Fusarium* spp. (fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła i korzeni), *Ramulispora* (*Pseudocercospora*) *herpotrichoides* (łamliwość źdźbła) oraz *Rhizoctonia* spp. (ostra plamistość oczkowa).

Szkodliwość tych chorób polega na niszczeniu korzeni i podstawy pędów, co prowadzi do zaburzeń w pobieraniu i przewodzeniu wody z solami mineralnymi oraz utrudnień w przewodzeniu produktów fotosyntezy. W wyniku takich zakłóceń procesów fizjologicznych rośliny przedwcześnie zamierają. Ponadto, obecność grzybów rodzaju *Fusarium* w ziarnie zbóż może mieć szkodliwy wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt z uwagi na produkowane przez nie metabolity z grupy trichotecenów [6, 48].

Obniżenie plonu ziarna jest proporcjonalne do procentu porażonych roślin i stopnia porażenia, a także stopnia regeneracji porażonych organów [19]. Szacuje się, że straty w plonie spowodowane występowaniem na plantacji chorób podsuszkowych mogą sięgać 30%, a niekiedy nawet 50%. Najmniejszą szkodliwością charakteryzuje się ostra plamistość oczkowa, która powoduje straty w plonie nieprzekraczające zwykle 0,5% [22, 49].

Biorąc pod uwagę zróżnicowaną wrażliwość grzybów infekujących podstawę źdźbła i korzenie zbóż na stosowane fungicydy, skuteczność ochrony w dużej mierze zależy od prawidłowej oceny stopnia zagrożenia określoną chorobą, a zatem od wczesnej i precyzyjnej identyfikacji sprawców.

## Trudności w identyfikacji i charakterystyce patogenów

---

Klasycznej identyfikacji sprawców dokonuje się na podstawie objawów chorobowych występujących na zakażonych roślinach oraz morfologicznych, fizjologicznych lub serologicznych cech patogenów. Diagnoza chorób podstawy źdźbła i korzeni na podstawie objawów bywa trudna, zwłaszcza we wczesnej fazie, kiedy objawy powodowane przez *R. cerealis*, *R. herpotrichoides* i *Fusarium* spp. mogą być podobne [31]. Niestety, patogeny konkurują o nisze ekologiczne i często zasiedlają roślinę-gospodarza kompleksowo, co znacząco utrudnia, a niekiedy uniemożliwia przygotowanie czystych kultur. Szczególnie szybko rosnące na pożywkach gatunki rodzaju *Fusarium* często zupełnie zarastają wolno rozwijające się gatunki rodzajów *Gaeumannomyces* i *Ramulispora* [41]. Powszechnie znane są też trudności w różnieniu gatunków zaliczanych do kompleksu *Gaeumannomyces-Phialophora* [8, 11, 43], a oznaczanie gatunków rodzaju *Rhizoctonia* jest czasochłonne i zwykle obejmuje zastosowanie metod biochemicznych [40].

Dla ochrony zbóż istotne znaczenie ma ocena zróżnicowania genetycznego populacji patogenów. Im większy zakres zmienności stwierdza się w populacji, tym większa jest jej potencjalna zdolność do szybkiego przystosowywania się do zmieniających się warunków środowiska [27]. Z najlepiej przystosowanych osobników mogą z czasem wyewoluować zmodyfikowane populacje. W konsekwencji może to mieć wpływ na długofalową skuteczność fungicydów stosowanych w ochronie zbóż, ponieważ w silnie zróżnicowanej populacji patogenu, podlegającej presji selekcyjnej, znajdują się grupy osobników odpornych na dane substancje aktywne.

Donoszono już o bardzo wysokim poziomie zróżnicowania wewnątrzodmianowego izolatów *G. graminis* var. *tritici* pochodzących z Wielkopolski [44]. Stwierdzono też, że przemiana uprawa zbóż niewrażliwych (owies) i podatnych (pszenica, jęczmień) wprowadza zmiany w liczebności i składzie genotypowym populacji patogenu, prawdopodobnie na drodze selekcji genotypów sprawcy przystosowanych do określonego gatunku gospodarza [3].

W Europie Zachodniej zaobserwowano znaczący wzrost odporności grzyba *R. herpotrichoides* (typ R = *Tapesia acuformis*) na stosowane benzimidazole, dlatego obecnie do ochrony przed łamliwością źdźbła zbóż poleca się coraz częściej stosowanie triazoli [22]. W związku z powyższym wydaje się w pełni uzasadnione i potrzebne monitorowanie zmienności genetycznej polskich populacji sprawców chorób podstawy źdźbła i korzeni.

Stosując klasyczne metody identyfikacji i charakterystyki patogenów napotyka się wiele trudności. Dokonując identyfikacji gatunku na podstawie oceny morfologii należy zdawać sobie sprawę, że wartość ocenianej cechy zależnej od ekspresji genu, może znacząco różnić się w odniesieniu do izolatów tego samego gatunku w zależności od warunków środowiska i stadium rozwojowego patogenu. Dodatkowym problemem u wielu gatunków jest brak rozmnażania generatywnego, bądź trudności jego uzyskania w warunkach laboratoryjnych, co znacząco ogranicza dostępność możliwych do obserwacji cech morfologicznych [44].

Współcześnie znane są liczne techniki molekularne umożliwiające wykrycie polimorfizmu materiału genetycznego, zarówno w obrębie sekwencji kodujących, jak i niekodujących. Wiele spośród nich wykorzystuje się do identyfikacji sprawców chorób oraz ich charakterystyki. Metody molekularne są stosunkowo szybkie, precyzyjne i pozwalają uniknąć wielu niedogodności związanych z klasyczną oceną patogenów. Analizy DNA są niezależne od warunków środowiska (np. oświetlenia, temperatury, wilgotności, pH, składu pożywki), stadium rozwojowego patogenu czy też jego wzajemnego oddziaływania z rośliną-gospodarzem [20]. Metody stosowane obecnie w diagnostyce chorób roślin są w większości oparte na łańcuchowej reakcji polimeryzacji (PCR).

## **RAPD – losowo amplifikowany polimorficzny DNA**

---

W charakterystyce patogenów najpowszechniej wykorzystywana jest analiza losowo amplifikowanego polimorficznego DNA (ang. random amplified polymorphic DNA – RAPD). Źródłem polimorfizmu markerów RAPD są zmiany sekwencji nukleotydowej w obrębie miejsca przyłączenia startera do matrycowego DNA (co może prowadzić do eliminacji lub utworzenia nowego miejsca hybrydyzacji startera), zmiany konformacyjne DNA powodujące zróżnicowanie efektywności hybrydyzacji startera lub procesu amplifikacji oraz niekiedy różnice w długości amplifikowanego fragmentu DNA [34].

Analiza RAPD nie wymaga żadnej wiedzy o sekwencji DNA badanego patogenu, ponieważ w reakcji stosuje się jeden, losowo dobrany starter długości około 10 nukleotydów. W matrycowym DNA występuje zazwyczaj więcej niż jeden region komplementarny do sekwencji startera, wskutek czego powstaje wiele, różnej długości produktów PCR. Produkty reakcji są najczęściej rozdzielane na żelu agarozowym, barwionym bromkiem etydyny. Fragmenty RAPD są zazwyczaj markerami dominującymi, a wykrywana za ich pomocą zmienność w badanej populacji objawia się obecnością lub brakiem produktów amplifikacji określonej długości [46]. RAPD stanowi wygodne narzędzie do wykrywania zmienności w obrębie gatunku, a nawet odmiany [18, 45]. Różnice obserwowane we wzorze produktów RAPD mogą stanowić wstępny etap w procesie identyfikacji gatunków lub odmian. Markery RAPD

znalazły zastosowanie w badaniu poziomu zróżnicowania genetycznego w kompleksie *Gaeumannomyces-Phialophora* [1, 43] jak również w obrębie gatunku *Rhizoctonia solani* [36], *Rhizoctonia cerealis* [28], *Fusarium graminearum* [33], *Ramulispora herpotrichoides* [29] i *G. graminis* var. *tritici* [24]. Analiza polimorfizmu markerów RAPD umożliwiła także rozróżnienie izolatów *Ggt*, *Gga* i *Ggg* (*G. graminis* var. *graminis*) [1, 13] i kilku gatunków rodzaju *Fusarium* [21].

Analiza RAPD jest wydajnym sposobem wykrywania nietypowych izolatów, różniących się właściwościami od izolatów typowych w obrębie gatunku. Weber i in. [44] uzyskali markery RAPD istotnie związane z wrażliwością izolatów *Ggt* na siltiofam. Irzykowska i in. [20] spośród uzyskanych fragmentów RAPD wyodrębnili markery istotnie związane z patogenicznością *R. cerealis*.

Metoda RAPD ma jednak pewne ograniczenia, do których w pierwszej kolejności należy zaliczyć trudności w uzyskiwaniu powtarzalnych wyników w różnych laboratoriach, co jest uzależnione od rodzaju stosowanej polimerazy oraz stężeń matrycowego DNA i startera [26]. Ponadto metoda RAPD, jak większość wieloproduktowych PCR jest bardzo wrażliwa na zanieczyszczenia DNA.

## SCAR – polimorfizm sekwencyjnie charakteryzowanych regionów

---

Sposobem zwiększenia użyteczności markerów RAPD okazała się ich konwersja w specyficzne markery SCAR (ang. sequence-characterized amplified region) dokonywana poprzez sekwencjonowanie wybranego fragmentu RAPD [34]. Na podstawie informacji o sekwencji projektuje się dwa dłuższe, około 24-nukleotydowe, specyficzne startery oskrzydlające amplifikowany fragment. Produktem PCR w analizie markerów SCAR jest zwykle 1 polimorficzny fragment DNA.

Zastosowanie starterów specyficznych dla gatunku umożliwia identyfikację patogenu w tkance roślinnej, często zanim jeszcze wystąpią objawy choroby. Do reakcji potrzebna jest niewielka ilość DNA patogenu, a wydajność amplifikacji zależy w znacznym stopniu od oczyszczenia genomowego DNA z inhibitorów PCR takich jak polisacharydy, związki fenolowe i białka enzymatyczne obniżające wydajność reakcji [47]. Opracowano gatunkowo specyficzne startery służące identyfikacji wielu sprawców chorób podstawy źdźbła i korzeni. Markery SCAR wykorzystano między innymi do wykrywania w zainfekowanych tkankach *Rhizoctonia cerealis* [28], *Fusarium culmorum* i *Fusarium graminearum* [25, 31], *Fusarium avenaceum* [7, 42], *Fusarium poae* [35]. Znalazły one także zastosowanie w identyfikacji *Tapesia yallundae* i *T. acuformis* [30].

## STS – miejsca znaczone sekwencyjnie

---

Sekwencjonowanie markera RAPD nie jest jedyną drogą projektowania specyficznych starterów. Można je także opracować na podstawie znanych sekwencji genów. Pomysł użycia miejsc znaczonych sekwencyjnie (ang. sequence tagged site – STS) jako punktów orientacyjnych w genomie wprowadzili Olson i in. [32]. Jako STS można użyć każdej sekwencji DNA, zajmującej unikalne miejsce w genomie. Fragment DNA jest amplifikowany za pomocą dwóch 18–24-nukleotydowych starterów o podobnej temperaturze topnienia, które zaprojektowano na podstawie znanych sekwencji genomowych lub sekwencji klonów cDNA [15].

Dzięki takiemu podejściu określono zdolność *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. poe* do produkcji toksyn z grupy trichotecenów, na podstawie obecności w genomach badanych izolatów genu *tri5*, kodującego syntazę trichodieniu – enzymu katalizującego pierwszy etap w szlaku biosyntezy trichotecenów [25]. Ponadto, analiza sekwencyjna regionu pomiędzy genami *tri5* i *tri6* umożliwiła zaprojektowanie specyficznych starterów służących identyfikacji dwóch fenotypów *F. culmorum* różniących się ilością produkowanego deoxyniwalenolu [2].

W genomie *Gga* zidentyfikowano gen (*AVNI*) kodujący awenacynazę (EC 3.2.1.21), enzym rozkładający toksyczną dla grzybów saponinę – awenacynę, obecną w korzeniach owsa [17]. W ten sposób zostaje przełamany mechanizm odporności rośliny-gospodarza na *Gga*. Na podstawie sekwencji genu *AVNI* zaprojektowano odmianowo specyficzne startery służące do identyfikacji *Gga*. Ponadto, na podstawie sekwencji genów podobnych do genu kodującego awenacynazę, opracowano specyficzne startery służące identyfikacji *Ggt* i *Ggg* [38].

Markery STS oraz ich modyfikacje uzyskane po trawieniu enzymami restrykcyjnymi, czyli markery CAPS (ang. cleaved amplified polymorphic sequence) wykorzystano także do konstruowania mapy genetycznej genomu *F. graminearum* [14].

## ITS – wewnętrzne regiony transkrybowane

---

Odmiernym podejściem do identyfikacji patogenów jest analiza wewnętrznych sekwencji transkrybowanych (ang. internal transcribed spacer – ITS). Sekwencje kodujące rybosomalny RNA (rDNA), powszechnie stosowane w taksonomii molekularnej, są na tyle konserwatywne, że można je wykorzystywać w taksonomii patogenów do identyfikacji rzędów [10]. Sekwencje rDNA występują w wielu kopiach, co zwiększa czułość identyfikacji [23]. Natomiast wewnętrzne sekwencje transkrybowane ITS-1 i ITS-2, występujące pomiędzy genami kodującymi 18S, 5.8S i 28S rRNA, różnią się zwykle u różnych gatunków w obrębie rodzaju [4, 5]. Różnice w regionie ITS mogą być spowodowane występowaniem delecji, substytucji lub

insercji. Analiza sekwencji ITS jest wydajną metodą służącą między innymi do odtwarzania relacji filogenetycznych pomiędzy gatunkami [9].

Markery ITS posłużyły do rozróżnienia *Ggt*, *Gga* i *Ggg* [12]. Izolaty *Ggt* zostały także podzielone na podgrupy R i N związane ze zdolnością izolatów do infekowania żyta. Ponadto filogenetyczna analiza przeprowadzona na podstawie sekwencji genów 18S rRNA, 5.8S rRNA oraz regionów ITS izolatów *Ggt* infekujących owies wykazała, że są one blisko spokrewnione z *Gga* [4].

Sekwencjonowanie regionu ITS pozwoliło na wyodrębnienie par starterów specyficznych dla patotypów W i R (*Tapesia yallundae* i *Tapesia aciformis*) *R. herpotrichoides* [37].

Opierając się na sekwencji ITS-2 zaprojektowano gatunkowo specyficzne startery służące do identyfikacji *F. avenaceum* w zainfekowanych tkankach roślin. Podobny eksperyment, w którym przedmiot badań stanowiły izolaty *F. culmorum* i *F. graminearum* zakończył się niepowodzeniem z powodu braku dostatecznego zróżnicowania sekwencji regionów ITS-1 i ITS-2 tych dwóch gatunków [39].

Różnice w długości i sekwencji regionów ITS-1 i ITS-2 wykorzystano także do identyfikacji izolatów *Rhizoctonia cerealis* i *R. solani* [20] oraz do rozróżnienia *G. graminis* var. *avenae* od innych patogenów zasiedlających korzenie zbóż [16].

## Podsumowanie

---

Systemy markerowe rozwijane i doskonalone przez lata wpływają znacząco na postęp osiągnięty w wielu dyscyplinach biologicznych w tym także w fitopatologii. Wykorzystanie relatywnie prostych metod opartych na PCR zwłaszcza w połączeniu z klasycznymi metodami stosowanymi w fitopatologii znacząco podnosi precyzję i skuteczność diagnostyki chorób roślin, a także wnosi wkład do taksonomii patogenów.

W niniejszej pracy przytoczono przykłady niektórych technik molekularnych opartych na PCR. Część z nich znajduje zastosowanie w identyfikacji gatunków patogenów powodujących choroby podstawy źdźbła i korzeni (ITS, SCAR). Inne pozwalają na monitorowanie zmian w populacji (RAPD, CAPS), co ma istotne znaczenie dla prognozowania epidemii i skutecznego zwalczania sprawców chorób. Miejsca znaczone sekwencyjnie (STS) są przydatne w mapowaniu jako markery referencyjne oraz służą do znakowania ważnych cech fizjologicznych.

Markery molekularne różnią się między sobą użytecznością i skutecznością wykrywania polimorfizmu. Wybór konkretnego systemu markerowego zależy od celu projektu badawczego, struktury populacji, dostępności informacji o sekwencji genomu patogenu, skali analiz, czasu przeznaczanego na analizę, stopnia trudności technicznych i kosztów w przeliczeniu na jednostkę informacji. Uwzględnianie wyżej wymienionych czynników niewątpliwie zwiększa efektywność badań.

## Literatura

- [1] Augustin C., Ulrich K., Ward E., Werner A. 1999. RAPD-based inter- and intravarietal classification of fungi of the *Gaeumannomyces-Phialophora* complex. *J. Phytopathol.* 147: 109–117.
- [2] Bakan B., Giraud-Delville C., Pinson L., Richard-Molard D., Fournier E., Brygoo Y. 2002. Identification by PCR of *Fusarium culmorum* strains producing large and small amounts of deoxynivalenol. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5472–5479.
- [3] Bateman G.L., Ward E., Hornby D., and Gutteridge R.J. 1997. Comparisons of isolates of take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, from different cereal sequences using DNA probes and non-molecular methods. *Soil Biol. Biochem.* 29: 1225–1232.
- [4] Bryan G.T., Daniels M.J., Osbourn A.E. 1995. Comparison of fungi within the *Gaeumannomyces-Phialophora* complex by analysis of ribosomal DNA sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 681–689.
- [5] Carter J.P., Spink J., Cannon P.F., Daniels M.J., Osbourn A.E. 1999. Isolation, characterization and avenacin sensitivity of a diverse collection of cereal-root-colonizing fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3364–3372.
- [6] Chełkowski J. 2004. Znaczenie mykotoksyn w hodowli zbóż. *Hod. Rośl. i Nas.* 3: 36–41.
- [7] Chełkowski J., Bateman G. L., Mirocha C. J. 1999. Identification of toxigenic *Fusarium* species using PCR assays. *J. Phytopathol.* 147: 307–311.
- [8] Cook R.J. 2003. Take-all of wheat (review). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 62: 73–86.
- [9] Cooke D.E.L., Duncan J.M. 1997. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on ITS1 and ITS2 sequences of the ribosomal RNA gene repeat. *Mycol. Res.* 101: 66–677.
- [10] Crawford A.R., Bassam B.J., Drenth A., Maclean D.J., Irwin J.A.G. 1996. Evolutionary relationships among *Phytophthora* species deduced from rDNA sequence analysis. *Mycol. Res.* 100: 437–443.
- [11] Elliott M.L., Des Jardin E.A., Henson J.M. 1993. Use of a polymerase chain reaction assay to aid in identification of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* from different grass hosts. *Phytopathology* 83: 414–418.
- [12] Fouly H.M., Wilkinson H.T. 2000. Detection of *Gaeumannomyces graminis* varieties using polymerase chain reaction with variety-specific primers *Plant Dis.* 84: 947–951.
- [13] Fouly H.M., Wilkinson H.T., Domier L.L. 1996. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of *Gaeumannomyces* species. *Soil Biol. Biochem.* 28: 703–710.
- [14] Gale L.R., Bryant J.D., Calvo S., Giese H., Katan T., O'Donnell K., Suga H., Taga M., Usgaard T.R., Ward T.J., Kistler H.C. 2005. Chromosome complement of the fungal plant pathogen *Fusarium graminearum* based on genetic and physical mapping and cytological observations. *Genetics* 171: 985–1001.
- [15] Ganal M., Czihal R., Hannappel U., Kloos D.U., Polley A., Ling H.Q. 1998. Sequencing of cDNA clones from the genetic map of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Genome Res.* 8: 842–847.
- [16] Goodwin P.H., Hsiang T., Xue B.G., Liu H.W. 1995 Differentiation of *Gaeumannomyces graminis* from related turf fungi with oligonucleotide primers from ribosomal internal transcribed spacers. *Plant Pathol.* 44: 384–391.

- [17] Harvey P.R., Langridge P., Marshall D.R. 2001. Genetic drift and host-mediated selection cause genetic differentiation among *Gaeumannomyces graminis* populations infecting cereals in southern Australia. *Mycol. Res.* 105: 927–935.
- [18] Hornby D. 1998. Take-all disease of cereals. CAB International, Wallingford, UK: 384 ss.
- [19] Huber D.M. 1981. Incidence and severity of take-all of wheat in Indiana. *Plant Dis.* 65: 734–737.
- [20] Irzykowska L., Żółtańska E., Bocianowski J. 2005. Use of molecular and conventional techniques to identify and analyze genetic variability of *Rhizoctonia* spp. isolates. *Acta Agrobot.* 58: 19–32.
- [21] Khalil M.S., Abdel-Sattar M.A., Aly I.N., Abd-Elsalam K.A., Verreet J.A. 2003. Genetic affinities of *Fusarium* spp. and their correlation with origin and pathogenicity. *African Journal of Biotechnology* 2: 109–113.
- [22] Korbas M. 2004. Choroby podstawy żdźbła – możliwości i perspektywy zwalczania. *Postępy w Ochronie Roślin* 44: 147–154.
- [23] Kulik T., Fordoński G., Pszczółkowska A., Płodzień K., Łapiński M. 2004. Development of PCR assay based on ITS2 rDNA polymorphism for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichoides*. *FEMS Microbiol. Lett.* 239: 181–186.
- [24] Lebreton L., Lucas P., Dugas F., Guillerm A.Y., Schoeny A., Sarniguet A. 2004. Changes in population structure of the soilborne fungus *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* during continuous wheat cropping. *Environ. Microbiol.* 6: 1174–1185.
- [25] Łukanowski A., Sadowski C. 2005. Wykorzystanie metody PCR do badania jakości ziarna pszenicy ozimej uprawianej w systemach ekologicznym, integrowanym, konwencjonalnym oraz monokulturze w aspekcie fitopatologicznym. *Acta Agrobot.* 58: 55–70.
- [26] MacPherson J., Eckstein P.E., Scoles G.J., Gajadhar A.A. 1993. Variability of the random amplified polymorphic DNA assay among thermal cyclers and effects of primer and DNA concentration. *Mol. Cell. Probe.* 7: 293–299.
- [27] McDonald B.A., Miles J., Nelson L.R., Pettway R.E. 1994. Genetic variability in nuclear DNA in field populations of *Stagonospora nodorum*. *Phytopathology* 84: 250–255.
- [28] Nicholson P., Parry D.W. 1996. Development and use of a PCR assay to detect *Rhizoctonia cerealis*, the cause of sharp eyespot in wheat. *Plant Pathol.* 45: 872–883.
- [29] Nicholson P., Rezanoor H.N. 1994. The use of random amplified polymorphic DNA to identify pathotype and detect variation in *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Mycol. Res.* 98: 13–21.
- [30] Nicholson P., Rezanoor H. N., Simpson D.R., Joyce D. 1997. Differentiation and quantification of the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis* using a PCR assay. *Plant Pathol.* 46: 842–856.
- [31] Nicholson P., Simpson D.R., Weston G., Rezanoor H.N., Lees A.K., Parry D. W., Joyce D. 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiol. Mol. Plant P.* 53: 17–37.
- [32] Olson M., Hood L., Cantor C., Doststein D. 1989. A common language for physical mapping of the human genome. *Science* 245: 1434–1435.
- [33] Ouellet T., Seifert K.A. 1993. Genetic characterization of *Fusarium graminearum* strains using RAPD and PCR amplification. *Phytopathology* 83: 1003–1007.
- [34] Paran I., Michelmore R.W. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.* 85: 985–993.



- [35] Parry D.W., Nicholson P. 1996. Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. *Plant Pathol.* 45: 383–391.
- [36] Pasqual C.B., Toda T., Raymondo A.D., Hyakumachi M. 2000. Characterization by conventional techniques and PCR of *Rhizoctonia solani* isolates causing banded leaf sheath blight in maize. *Plant Pathol.* 49: 108–118.
- [37] Poupard P., Simonet P., Cavelier N., Bardin R. 1993. Molecular characterization of *Pseudocercospora herpotrichoides* isolates by amplification of ribosomal DNA internal transcribed spacers. *Plant Pathol.* 42: 873–881.
- [38] Rachdawong S., Cramer C.L., Grabau E.A., Stromberg V.K., Lacy G.H., Stromberg E.L. 2002. *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae*, *graminis* and *tritici* identified using PCR amplification of avenacinase-like genes. *Plant Dis.* 86: 652–660.
- [39] Schilling A.G., Möller E.M., Geiger H.H. 1996. Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathology* 86: 515–522.
- [40] Sneh B., Burpee L., Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, S. Paul, Minnesota, USA: 7–28 ss.
- [41] Solarska E., Grudzińska M. 2005. Ocena metod diagnozowania chorób korzeni i pochwy liściowej pszenicy ozimej. *Acta Agrobot.* 58: 271–276.
- [42] Turner A.S., Lees A.K., Rezanoor H.N., Nicholson P. 1998. Refinement of PCR-detection of *Fusarium avenaceum* and evidence from DNA marker studies for phenetic relatedness to *Fusarium tricinctum*. *Plant Pathol.* 47: 278–288.
- [43] Ulrich K., Augustin C., Werner A. 2001. Genetic classification of isolates of the *Gaeumannomyces-Phialophora* complex in relation to phenotypic characteristics. Proc. 5th Congress Eur. Found. Plant Pathol.: 113–116.
- [44] Weber Z., Irzykowska L., Bocianowski J. 2005. Analysis of mycelial growth rates and RAPD-PCR profiles in a population of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* originating from wheat plants grown from fungicide-treated seed. *J. Phytopathol.* 153: 318–324.
- [45] Williams J.G., Kubelik L.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tigney S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531–6535.
- [46] Williams J.G.K., Reiter R.S., Young R.M., Scolnik P.A. 1993. Genetic mapping of mutations using phenotypic tools and mapped RAPD markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531–6535.
- [47] Wilson I.G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3741–3751.
- [48] Wiśniewska H., Perkowski J., Kaczmarek Z. 2004. Scab response and deoxynivalenol accumulation in spring wheat kernels of different geographical origins following inoculation with *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathology* 152: 613–621.
- [49] Żółtańska E., Woźna H. 2000. Patogeniczność wybranych izolatów grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* pochodzących z pszenicy. *Rocz. AR Pozn. CCCXX, Roln.* 57: 193–202.

## **Molecular markers in diagnostics of cereal foot and root diseases**

---

**Key words:** brown foot rot, eyespot, sharp eyespot, take-all, cereal diseases diagnostics, molecular markers, PCR

### **Summary**

Cereal stem base and root diseases cause significant reduction in yield. Different methods are used to identify the causal agents of cereal root and foot rot. In presented paper the main problems in diagnostics of eyespot, sharp eyespot, take-all and brown foot rot were mentioned. A number of molecular methods have been developed to find the subtle differences on DNA level. Some of them, based on polymerase chain reaction (PCR), useful for precise identification and characterization of causal agents of foot and root rot were reviewed.