

Perlakuan Udara Panas untuk Pengendalian Perkecambahan Spora *Tilletia indica* pada Gandum

Air Heat Treatment to Suppress Sporulation of *Tilletia indica* on Wheat

Nurul Dwi Handayani^{1*}, Taufan Tanto Setyawan¹, Salbiah¹,
Dono Wahyuno², Meity Suradji Sinaga³

¹Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian, Bekasi 17520

²Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor 16111

³Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Karnal bunt adalah penyakit pada gandum (*Triticum aestivum*) yang disebabkan cendawan *Tilletia indica*. Penyakit ini menjadi perhatian utama dalam perdagangan internasional karena dapat menurunkan kualitas gandum dan merupakan organisme pengganggu tumbuhan karantina yang belum terdapat di Indonesia. Biji gandum yang terinfeksi *Tilletia* spp. dapat menjadi pembawa teliospora. Penelitian bertujuan mendapatkan suhu dan lama paparan yang efektif untuk mengeliminasi *Tilletia* spp. yang terbawa biji gandum menggunakan perlakuan panas tanpa mengurangi kualitas gandum. Pengujian dilakukan secara *in vitro*, diawali dengan deteksi dan identifikasi *Tilletia* secara morfologi dilanjutkan uji viabilitas teliospora. Perlakuan udara panas menggunakan oven pada suhu 75, 80, 85 °C, dan kontrol (28 °C) selama 4 dan 6 jam dengan 3 ulangan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pemanasan biji gandum pada suhu 75 °C selama 4 jam dapat menekan perkecambahan teliospora sebesar 56.7–61.7% tanpa menurunkan kadar protein pada gandum.

Kata kunci: *karnal bunt*, organisme pengganggu tumbuhan karantina, teliospora, uji viabilitas

ABSTRACT

Karnal bunt of wheat (*Triticum aestivum*) caused by *Tilletia indica* is a major concern in international trade because it can degrade quality significantly, and it is a quarantine pest for Indonesia. *Tilletia* infected seeds can be the source of fungal inoculum of other areas. The current research was aimed to determine the effectiveness of temperature and exposure time to control *Tilletia* using air heat treatment without reducing the quality of grain. The experiments were conducted *in vitro*, initiated by seed testing, including morphology-based detection and identification of *Tilletia* followed by a viability test of the seed. Air heat treatment was performed by adjusting the oven temperature at 75, 80, 85 °C and 28 °C (control) for 4 and 6 hr exposure time, each with three replications. The results showed that air heat treatment of the wheat at 75 °C for 4 hr was able to suppress teliospores germination of 56.7–61.7%, without denature protein content of the wheat.

Key words: karnal bunt, teliospores, quarantine pest, viability test

*Alamat penulis korespondensi: Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian, Jalan Raya Kampung Utan-Setu, Desa Mekarwangi, Cikarang Barat-Bekasi, Jawa Barat-17520
Tel: 021-82611619, Faks : 021-82618923, Surel: nurul@buttmkp.org

PENDAHULUAN

Gandum merupakan komoditas pangan alternatif yang strategis. Indonesia merupakan negara pengimpor gandum terbesar kedua di dunia setelah Mesir. Impor biji gandum selama tahun 2013 mencapai 6629 juta ton dan tahun 2014 mencapai 6689 juta ton. Gandum tersebut berasal dari negara Australia, Kanada, Amerika Serikat, India, Ukraina, dan Rusia. Volume impor gandum yang tinggi menimbulkan risiko kemungkinan terbawanya organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) dalam biji gandum. Patogen pada gandum yang penting secara ekonomi ialah *Tilletia indica*, *Fusarium* spp., *Ustilago nuda* var. *tritici*, *Clavibacter tritici*, *Anguina tritici*, *Septoria tritici*, *S. nodorum*, *S. avenae* f. sp. *triticea*, *Helminthosporium sativum*, *H. tritici-repentis*, *Alternaria triticina*, *F. nivale*, *Stagonospora nodorum*, *Claviceps purpurea*, *Xanthomonas campestris* pv. *Translucens* (Majumder *et al.* 2013).

Tilletia indica pertama kali dilaporkan ditemukan di Karnal India (Mitra 1931) dan sekarang telah tersebar di berbagai negara seperti Pakistan, Iran, Irak, Meksiko dan Amerika Serikat (Warham 1986). Kombinasi suhu dan kelembapan di lapang penting untuk terjadinya epidemi *T. indica*, karena akan memengaruhi perkecambahan teliospora sebelum terjadi infeksi (Stein *et al.* 2005) tetapi suhu yang tinggi akan mematikan teliospora *Tilletia* (Khan *et al.* 2010). Perlakuan udara panas (70 °C) dengan kelembapan relatif (RH) 50% selama 240 menit atau 80 °C dengan RH di bawah 50% selama 40 menit dinyatakan efektif mengeliminasi *T. caries* sebesar 100% di Cina (Lei *et al.* 2012). Di Indonesia, saat ini belum diketahui suhu dan waktu pada perlakuan udara panas yang efektif untuk mengendalikan *Tilletia* spp. yang terbawa pada gandum impor. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan suhu dan lama paparan yang efektif untuk mengendalikan *Tilletia* spp. yang terbawa biji gandum tanpa mengurangi kualitas gandum.

BAHAN DAN METODE

Deteksi dan identifikasi Cendawan *Tilletia* spp. pada biji gandum

Penelitian diawali dengan mencari biji gandum (*T. aestivum*) impor yang membawa teliospora *Tilletia* spp. Biji gandum yang terinfeksi *Tilletia* ditandai dengan adanya massa spora berwarna cokelat sampai hitam dan berbau busuk (Mansoori 2015). Keberadaan teliospora dideteksi menggunakan mikroskop dan dikumpulkan dengan cara pencucian benih (*washing test*). Sebanyak 50 g biji gandum dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan 0.01% larutan tween 20 dan 100 mL air destilasi. Erlenmeyer dikocok selama 3 menit dan larutannya disaring dengan kassa 2 lembar, dibilas menggunakan 20–50 mL air destilasi dan 0.01% tween 20 sebanyak 2 kali sampai bersih. Hasil saringan disaring kembali dengan menggunakan kertas Whatmann lalu dibilas air destilasi menggunakan botol semprot. Air bilasan tersebut dipindahkan ke dalam tabung mikro untuk disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit. Lapisan atas dibuang menggunakan pipet pasteur dan endapan ditambahkan air destilasi secukupnya kemudian diamati dengan mikroskop. Teliospora diidentifikasi secara morfologi berdasarkan karakteristik teliospora yang dibuat oleh Inman *et al.* (2003) untuk memastikan spesies *Tilletia* yang digunakan.

Uji viabilitas teliospora *Tilletia* spp.

Teliospora diuji viabilitasnya untuk memastikan bahwa teliospora yang digunakan masih aktif. Selain untuk mengetahui bentuk perkecambahan teliospora dan menentukan waktu pengamatan jumlah teliospora yang berkecambah setelah perlakuan pada uji *in vitro*. Uji viabilitas dilakukan dengan memasukkan 3 biji gandum yang terinfeksi *Tilletia* spp. ke dalam tabung yang berisi 1 mL air steril. Tabung tersebut dikocok menggunakan vorteks agar teliospora terlepas. Sebanyak 1 mL suspensi teliospora dituang

pada 2% medium agar-agar air (EPPO 2007) dan diinkubasi pada suhu 4 °C selama 1 jam (Sinaga 2015, komunikasi pribadi), kemudian diinkubasi kembali pada suhu 28 °C.

Pengamatan teliospora yang berkecambah dilakukan setiap hari hingga hari ke-7 dengan cara mengambil teliospora yang berada dalam medium agar-agar air kemudian diletakkan pada kaca objek dan diamati menggunakan mikroskop. Sebanyak 50 teliospora per hari dihitung persentase perkecambahannya dengan rumus:

$$\% \text{ perkecambahan teliospora} = \frac{A-B}{B} \times 100\%, \text{ dengan}$$

A, persentase asal perkecambahan; dan B, persentase kecambah setelah perlakuan. Teliospora yang berkecambah dicirikan dengan adanya promiselium (tabung kecambah) berwarna jernih yang keluar dari teliospora.

Uji *in vitro* perlakuan udara panas

Uji *in vitro* dilakukan untuk mendapatkan suhu dan lama paparan efektif yang dapat mematikan teliospora *Tilletia* spp. pada gandum. Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap faktorial. Kombinasi dari perlakuan suhu sebagai faktor pertama dan lama paparan sebagai faktor kedua. Kisaran suhu yang digunakan ialah 75, 80, 85 °C, dan kontrol (28 °C). Lama paparannya ialah 4 dan 6 jam sehingga terdapat 8 kombinasi perlakuan. Percobaan ini diulang 3 kali sehingga terdapat 24 kombinasi perlakuan dan pada masing-masing kombinasi perlakuan disertakan 50 g biji gandum sehat sebagai pembanding.

Sebanyak 10 biji gandum sehat, yang tidak terinfeksi cendawan ditulari 1 biji gandum terinfeksi *Tilletia* dengan cara memasukkan biji-biji gandum tersebut ke dalam tabung reaksi dan ditambahi 5 mL akuades. Selanjutnya tabung berisi biji tersebut dikocok menggunakan vorteks dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 detik sehingga teliospora terlepas dan menempel pada biji gandum yang sehat. Biji gandum yang telah diinokulasi dimasukkan ke dalam cawan petri dan diberi perlakuan udara panas oven bersama 50 g biji gandum yang sehat (Irena *et al.* 2013). Peubah yang diamati ialah jumlah teliospora yang

berkecambah dan kadar protein pada setiap perlakuan. Kadar protein diukur menggunakan metode Kjeldahl melalui tahapan destruksi, destilasi dan titrasi dengan alat uji Protein Foss Tecator Kjeltex 8400 dan Kjeltex BUCHI. Data pengaruh perlakuan (kombinasi suhu dan lama paparan) diuji dengan analisis ragam (anova). Uji lanjut untuk melihat perbedaan antarperlakuan digunakan uji Duncan pada α 5% dengan program SAS.

HASIL

Deteksi dan identifikasi *Tilletia* spp. pada biji gandum

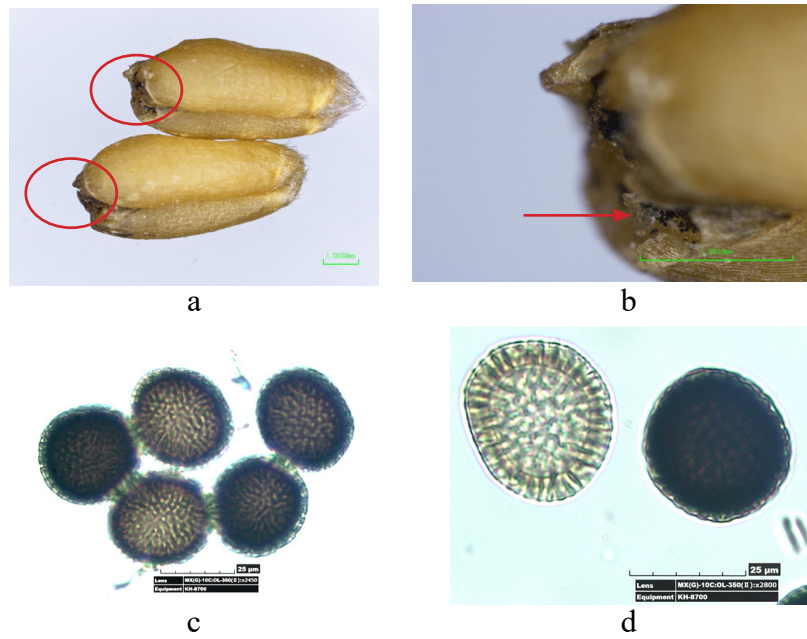
Pada biji gandum impor yang diamati, terdapat gejala bercak warna hitam di daerah suture (garis pemisah kotiledon) dan struktur mirip pasir warna hitam yang merupakan massa teliospora *Tilletia* (Gambar 1a dan 1b). Teliospora berdiameter 28.8–34.0 μm dan berwarna cokelat muda, cokelat tua hingga hitam. Tinggi ornamen teliospora ialah 1.5–5.0 μm yang dilapisi selubung hialin (transparan). Ornamen pada bagian luar permukaan spora terlihat seperti otak (*cerebriform*) (Gambar 1c) dan tersusun teratur seperti duri yang terpotong (Gambar 1d). Berdasarkan karakteristik ukuran, bentuk ornamen dan model perkecambahan maka cendawan tersebut diidentifikasi sebagai *Tilletia indica* sesuai dengan kunci identifikasi Inman *et al.* (2003).

Viabilitas Teliospora *Tilletia* spp.

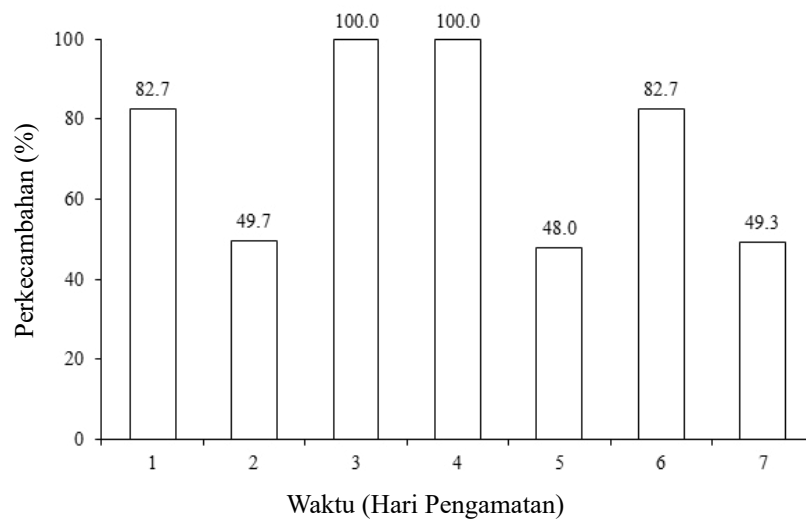
Viabilitas teliospora mencapai 100% pada hari ke-3 dan ke-4 (Gambar 2). Teliospora yang berkecambah dicirikan dengan adanya promiselium (tabung kecambah) yang keluar dari spora (Gambar 3). Berdasarkan kondisi tersebut, pengamatan teliospora pada saat perlakuan udara panas dilakukan pada hari ke-4.

Perlakuan Udara Panas *Tilletia* spp. secara *in vitro*

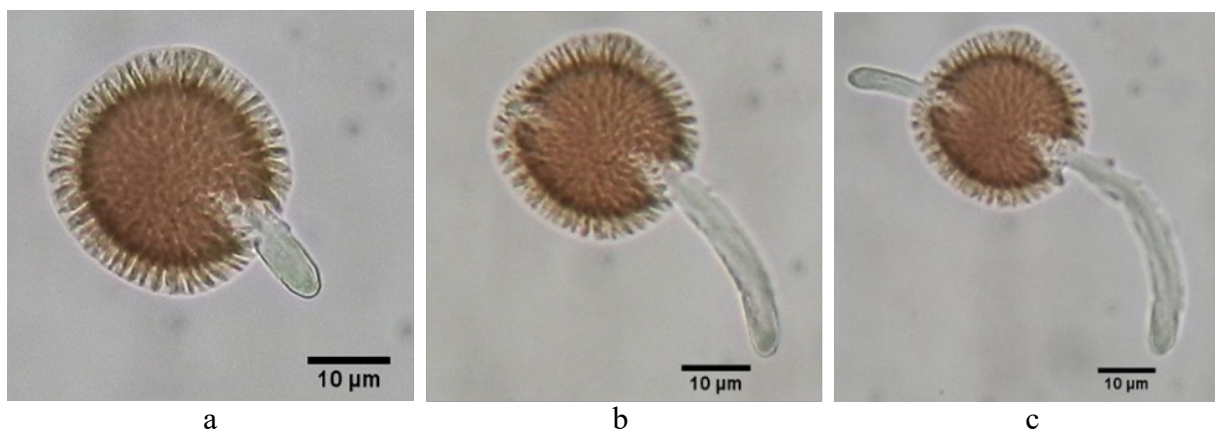
Hasil anova menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara faktor suhu dan lama paparan udara panas terhadap perkecambahan teliospora *T. indica* (Gambar 4) sehingga



Gambar 1 Biji gandum dan *Tilletia indica*. a, Gejala penyakit *karnal bunt*; b, Kumpulan teliospora pada daerah suture (→); c, Ukuran dan warna serta; d, Ornamentasi teliospora.



Gambar 2 Tingkat perkecambahan teliospora *Tilletia indica* pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-7.



Gambar 3 Perkembangan bentuk kecambah teliospora *Tilletia indica* sebelum diberi perlakuan udara panas. a, Menit pertama; b, Menit ketiga; c, Menit kelima.

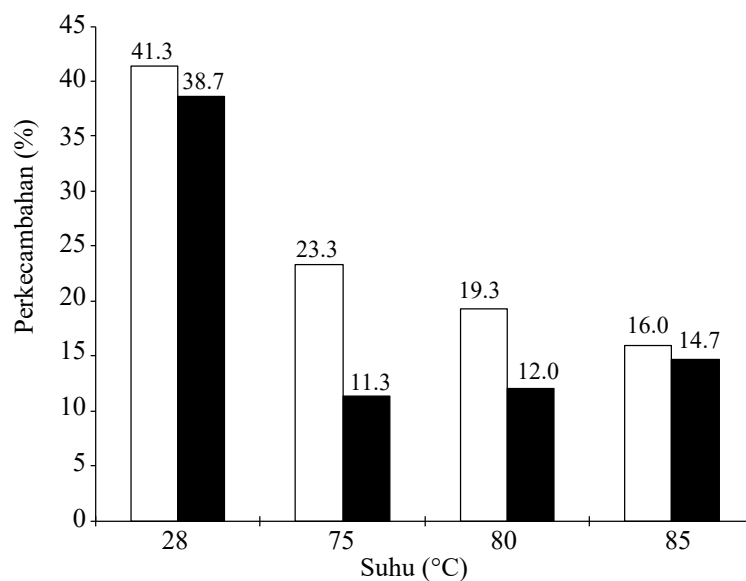
analisis lebih lanjut dilakukan pada masing-masing faktor. *Teliospora* masih mampu berkecambah setelah perlakuan udara panas selama 4 dan 6 jam (Gambar 5). Pada semua uji yang dilakukan, tidak ditemukan adanya bentuk perkecambahan yang berbeda antara *teliospora* yang telah diberi perlakuan udara panas dengan yang terdapat pada kontrol, yang berarti bahwa *teliospora* tersebut bersifat infeksi.

Pengaruh faktor suhu pada perlakuan udara panas mengakibatkan jumlah perkecambahan *teliospora* menurun tetapi belum mampu

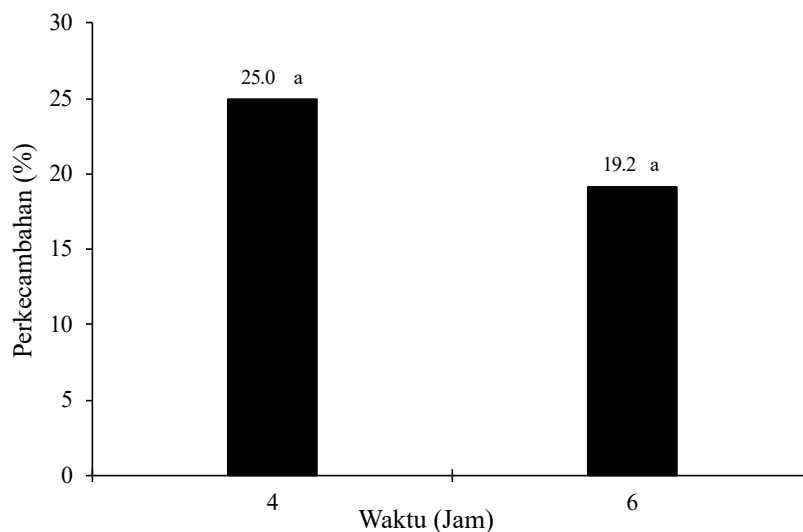
menekan hingga 100%. Hasil perlakuan udara panas pada uji *in vitro*, perlakuan suhu menurunkan jumlah perkecambahan *teliospora* secara nyata sebesar 56.7–61.7% dibandingkan dengan perkecambahan pada kontrol (40%) (Tabel 1).

Kadar protein gandum

Kadar protein gandum setelah perlakuan dibandingkan dengan kontrol menunjukkan tidak ada penurunan dari kadar protein (Tabel 1).



Gambar 4 Kombinasi perlakuan suhu dan waktu pemanasan (□, 4 jam; dan ■, 6 jam) terhadap tingkat perkecambahan *Tilletia indica* yang berkecambah.



Gambar 5 Lama waktu pemanasan terhadap tingkat perkecambahan *teliospora* pada uji *in vitro*. Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada α 5%.

Tabel 1 Perkecambahan teliospora (%) dan kadar protein gandum (%) pada uji *in vitro* dengan berbagai suhu.

Suhu (°C)	Perkecambahan (%)	Kadar protein (%)
28	40.00 a	11.22
75	17.33 b	12.00
80	15.67 b	11.85
85	15.33 b	-*
109	-	11.05

* Tidak dilakukan pengamatan.

Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada α 5%.

PEMBAHASAN

Tilletia yang terbawa pada gandum impor mempunyai teliospora dengan ukuran dan warna yang diidentifikasi sebagai *T. indica*. Ukuran diameter berada dalam kisaran yang dilaporkan oleh (EPPO 2013), yaitu 22–64 μm dengan rata-rata 35–41 μm . Cendawan *T. indica* termasuk dalam kategori OPTK A1 (Permentan 2015) dan teliosporanya dapat terbawa gandum yang diimpor. Oleh karena itu *T. indica* harus dicegah masuk ke dalam wilayah Indonesia.

Teliospora yang berkecambah akan menghasilkan sporidia dan apabila kondisi lingkungan sesuai, sporidia akan membentuk tabung kecambah. Sporidia yang terbawa angin akan menginfeksi dan menyebabkan penyakit *karnal bunt* jika menemukan tanaman inang yang sesuai dan kondisi lingkungan mendukung. Secara alami, teliospora *Tilletia* yang ada di tanah atau biji gandum yang terinfeksi akan melalui masa dorman selama musim dingin dan berkecambah di saat tanaman gandum mulai tumbuh di musim semi (Weichuan dan Gui-ming 2010). Suhu yang ideal bagi munculnya biji gandum juga ideal bagi perkecambahan teliospora *Tilletia* (Cunfer *et al.* 1997). Inkubasi pada medium agar-agar air dalam inkubator bersuhu 4 °C selama 1 jam dapat menstimulasi teliospora *Tilletia* berkecambah. Hal serupa juga dilaporkan Bonde dan Nester (1999) yang mendapatkan perkecambahan teliospora *T. indica* tertinggi terjadi pada hari ke-3 sampai ke-14 bergantung pada perlakuan yang diberikan. Teliospora *T. indica* yang sudah disimpan pada suhu

rendah mampu berkecambah dan segera menghasilkan sporidia sekunder dalam waktu singkat setelah diinkubasi pada suhu 20–22 °C, dengan kelembapan 70% (Mansoori 2015).

Uji perlakuan udara panas secara *in vitro* pada suhu 75, 80 dan 85 °C dengan waktu paparan 4 dan 6 jam belum mampu mengeliminasi *T. indica* hingga 100% pada gandum. Pemaparan pada suhu 85 °C selama 4 maupun 6 jam masih menghasilkan teliospora yang berkecambah antara 56.7–61.7%. Selain berfungsi sebagai alat penyebaran yang efisien, teliospora juga menjaga keberlangsungan hidup pada kondisi tidak menguntungkan. Dinding teliospora *Tilletia* yang tebal memungkinkan cendawan ini bertahan pada kondisi kering, paparan sinar matahari yang berlebih, suhu ekstrem dan bahkan menjadikannya tahan terhadap fungisida. Piepenbring *et al.* (1998) mendapatkan bahwa di dalam kelompok jamur api (*smut*), tipe *Tilletia* dan *Ustilago* mempunyai eksopora yang paling tebal dibandingkan dengan *Microbotryum* maupun *Enthorrhiza*. Dinding teliospora *T. indica* terdiri atas tiga lapis: endosporium, episporium dan perisporium. Dinding tebal yang berbilang-bilang terdapat pada endosporium dan tonjolan-tonjolan yang keras dan tebal pada episporium (Sharma dan Kumari 2017).

Perlakuan udara panas secara *in vitro* pada suhu 85 °C selama 4 jam belum efektif untuk eliminasi *T. indica* pada gandum sehingga perlu dilakukan pengujian pada suhu yang lebih tinggi dengan periode paparan yang lebih lama, atau kombinasi beberapa perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini berbeda dengan yang diperoleh oleh Lei *et al.* (2012)

yang menggunakan *T. caries*. Perbedaan hasil yang diperoleh mungkin disebabkan adanya perbedaan spesies *Tilletia* yang diuji atau kelembapan udara saat perlakuan panas diberikan. Waldow dan Jahn (2007) melaporkan bahwa perlakuan perendaman gandum ke dalam air panas (52–53 °C) selama 10 menit dapat menekan laju infeksi dan kejadian *common bunt* pada gandum akibat *T. tritici*. Sharma dan Kumari (2017) menyatakan bahwa perendaman biji gandum ke dalam air panas, penjemuran, dan fungisida efektif mematikan teliospora *T. indica*, tetapi cara ini tidak efektif selama sumber inokulum selalu ada di tanah. Populasi *Sphacelotheca*–penyebab gosong pada jagung–akan turun seiring dengan meningkatnya suhu dan kelembapan tanah (Matyac dan Kommedahl 1985). Bhuiyan *et al.* (2009) mendapatkan viabilitas teliospora *Ustilago scitaminea* penyebab penyakit gosong pada tebu menurun apabila berada di lingkungan yang lembap di dalam tanah dibandingkan dengan berada di tempat yang kering. Efektivitas perlakuan panas perlu ditingkatkan dengan cara melakukan kombinasi perlakuan, seperti peningkatan kelembapan udara atau perpanjangan waktu pemanasan. Kadar protein gandum pada perlakuan udara panas dengan suhu 109 °C selama 4 jam masih memenuhi standar (CODEX 2001).

Perlakuan udara panas pada gandum menggunakan suhu 75, 80, dan 85 °C selama 4 maupun 6 jam menekan perkecambahan teliospora *T. indica*. Pemanasan gandum selama 4 jam pada suhu 75 °C tidak menurunkan kadar protein pada gandum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian-Badan Karantina Pertanian yang telah memberikan dana penelitian. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian dan Balai Karantina Pertanian Kelas II Cilegon atas dukungan teknis yang telah diberikan kepada kami.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhuiyan S, Croft BJ, Cox MC. 2009. Survival of sugarcane smut teliospores under south east Queensland conditions. *Proc Aust Sugar Cane Technol.* 31:135–144.
- Bonde MR, Nester SE. 1999. Comparison of effects of acidic electrolyzed water and NaOCl on *Tilletia indica* teliospore germination. *Plant Dis.* 83(7):627–632. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.7.627>.
- CODEX. 2001. Codex standar for wheat protein product including wheat gluten. Codex stan 163-1987, Rev-2001.
- Cunfer BM, Deuce GK, Padgett GB, Miller AE. 1997. Karnal Bunt. *Tilletia (Neovossia) indica*. Los Angeles (US): USDA-APHIS-PPQ.
- [EPPO] European Plant Protection Organization. 2007. *Tilletia indica*. Bulletin EPPO. 37:503–520. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2338.2007.01158.x/epdf>. [diakses 17 Feb 2015]. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2007.01158.x>.
- [EPPO] European Plant Protection Organization. 2013. Data sheets on quarantine pests : *Tilletia indica*. http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Tilletia_indica/NEOVIN_ds.pdf [diakses 10 Jun 2013].
- Inman AJ, Hughes KJD, RJ. Bowyer. 2003. *Diagnostic Protocol for Organism Harmful to Plants*. Sand Hutton (UK): YO41 1LZ.
- Irena G, Jurate R, Mindaugas D, Rimantas S, Zenonas D, Skaidre S. 2013. The effect of strong microwave electric field on: wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and sanitation. *Zemdirbyste Agric.* 100(2):185–190. DOI: <https://doi.org/10.13080/z-a.2013.100.024>.
- Khan MA, MA Shakoor, N Javed, MJ Arif, M Hussain. 2010. A disease predictive model for karnal bunt of wheat based on two years environmental conditions. *Pak J Phytopathol.* 22(2): 108–112.
- Lei Zhu, Qu Haixia, Huang Yun. 2012. Effect of heat treatment on *Tilletia caries* in wheat.

- [Abstrak]. Journal Anhui Agricultural Science Bulletin. 13(2012):13. Tersedia pada: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-AHNB201213013.htm. [diakses 5 Feb 2015].
- Majumder D, Rajesh T, Suting EG, Debbarma A. 2013. Detection of seed borne pathogens in wheat: recent trends. *AJCS*. 7(4):500–507.
- Mansoori B. 2015. Biology and epidemiology of *Tilletia indica* inducing Karnal bunt (partial bunt) of wheat (*Triticum aestivum*). *IndPhytopathol*. 68(1):39–41. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-76-487>.
- Matyac CA, Kommedahl T. 1985. Survival of teliospores of *Sphacelotheca reiliana* in soil. *Phytopathology*. 76(5):487–490.
- Mitra M. 1931. A new bunt of wheat in India. *Ann Appl Biol*. 18:178–179. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1931.tb02294.x>.
- [PERMENTAN] Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia. 2015. Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 51/Permentan/KR.010/9/2015 tentang Perubahan atas Peraturan Menteri Pertanian Nomor 93/Permentan/OT.140/12/2011 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina.
- Piepenbring M, Bauer R, Oberwinkler F. 1998. Teliospore of smut fungi general aspects of teliospore walls and sporogenesis. *Protoplasma*. 204:155–169. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01280322>.
- Sharma R, R Kumari. 2017. Karnal bunt disease of wheat study from Jhunjhunu, Rajasthan. *Int J Adv Ideas Innov Technol*. 3(2):834–835.
- Stein JM, HW Maples, CM Rush. 2005. Epidemiology of *Tilletia indica* teliospores in regulated wheat fields in Texas. *Plant Dis*. 89(8):828–833 DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-89-0828>.
- Waldow F, Jahn M. 2007. Investigation in the regulation of common bunt (*Tilletia tritici*) of winter wheat with regard to threshold values, cultivar susceptibility and non-chemical protection measures. *J Plant Dis Protec*. 114 (6):269–275. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03356228>.
- Warham EJ. 1986. Karnal bunt disease of wheat: a literature review. *Trop Pest Management*. 32:229–242. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670878609371068>.
- Wei-Chuan Z, Gui-ming Z. 2010. Prediction of potential epidemiological areas in China prone to karnal bunt of wheat. *J Plant Pathol*. 92(2):363–373.