

Romuald Gwiazdowski

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu

## Hamowanie wzrostu *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* przez wybrane fungicydy w testach płytkowych

### Inhibition of growth of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* in plating tests by some fungicides

Słowa kluczowe: patogeniczne grzyby *L. maculans*, *L. biglobosa*, aktywność fungistatyczna, fungicydy

*Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* to gatunki grzybów wywołujące suchą zgniliznę kapustnych, będącą jedną z najgroźniejszych chorób rzepaku. W pracy określano wpływ substancji aktywnych zawartych w środkach Horizon 250 EW, Sumilex 500 SC i Konker 415 SC na wzrost grzybni *L. maculans* i *L. biglobosa*. Zastosowane w prezentowanej pracy fungicydy istotnie hamowały wzrost badanych grzybów w porównaniu z kontrolą. Poza tym testowane środki nieznacznie różniły się między sobą skutecznością hamowania wzrostu w przypadku obydwu badanych grzybów, nie odnotowano również istotnych różnic we wrażliwości *L. maculans* i *L. biglobosa* na zastosowane dawki substancji aktywnych.

Key words: pathogenic fungi *L. maculans*, *L. biglobosa*, fungistatic activity, fungicide

*Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* are fungal species causing stem canker which is one of the most dangerous oilseed rape diseases.

This work presents the effect of active ingredients of three fungicides: Horizon 250 EW, Sumilex 500 SC and Konker 415 SC on the mycelium growth of these pathogens. The tested fungicides strongly inhibited the growth of both *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* in relation to the control while the differences in the efficacy of inhibition effects between them were insignificant. Similarly non-significant differences were observed in the case of sensitivity of these two pathogens to the used doses of active ingredients.

## Wstęp

Sucha zgnilizna kapustnych występuje na rzepaku ozimym, jarym oraz wielu innych, ważnych z gospodarczego punktu widzenia gatunkach roślin, takich jak brokuł, kapusta głowiasta i pekińska, kalafior, rzepik, rzodkiew, gorczyca, chrzan (Kochman, Węgorzek 1997). Uważa się, że chorobę tę wywołują dwa gatunki grzybów: *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. i *Leptosphaeria biglobosa* Shoemaker i Brun. Gatunki te różnią się chorobotwórczością wobec rzepaku, przy

czym *L. maculans* jest gatunkiem bardziej agresywnym, odpowiedzialnym za większe straty w plonie rzepaku niż *L. biglobosa* (Jędryczka i in. 2004).

W pracy określono wpływ substancji aktywnych zawartych w środkach Horizon 250 EW, Konker 415 SC i Sumilex 500 SC na wzrost grzybni *L. maculans* i *L. biglobosa*.

## Material i metody

Aktywność fungistatyczną środków Horizon 250 EW (s.a. tebukonazol), Konker 415 SC (s.a. winklozolina + karbendazym) i Sumilex 500 SC (s.a. procymidon) oznaczano na podstawie wpływu fungicydów na wzrost grzybni (Borecki 1984). W Polsce, w prowadzonych do tej pory badaniach skuteczności działania fungicydów nie rozróżniano poszczególnych gatunków powodujących suchą zgniliznę kapustnych. W celu sprawdzenia oddziaływania różnych substancji aktywnych na badane gatunki do doświadczenia wybrano zarówno środki zarejestrowane do zwalczania suchej zgnilizny kapustnych (Horizon 250 EW, Konker 415 SC), jak i środek, który takiej rejestracji nie posiadał (Sumilex 500 SC).

Wykonano dwie serie doświadczeń w pięciu powtórzeniach. Izolaty *L. maculans* i *L. biglobosa* wykorzystane w doświadczeniu oznaczano na podstawie cech morfologicznych.

Aktywność fungistatyczną środków w stosunku do grzyba *L. maculans* i *L. biglobosa* oznaczano na agarze glukozowo–ziemniaczanym. Do sterylnej pożywki o temperaturze około 50°C dodawano fungicydy w ilości pozwalającej uzyskać stężenie substancji aktywnej: 1, 10, 100 i 1000 ppm. W serii drugiej zastosowano te same fungicydy i stężenia z tym wyjątkiem, że zrezygnowano ze stężenia 1000 ppm w przypadku środka Horizon 250 EW i Konker 415 SC.

Płynną pożywkę z preparatem rozlewano na płytki Petriego. Kontrolę stanowiły płytki z podłożem bez dodatku fungicydu. Po zestaleniu podłoża na środek płytki nakładano krążek kultury badanego grzyba o średnicy 5 mm. Płytki inkubowano w temperaturze 24°C, wykonując co 3–4 dni pomiar średnic kultur. Gdy w kombinacji kontrolnej kultura grzyba dorosła do brzegów płytki (17 dzień), obliczano dzienny przyrost kultury według wzoru:

$$\text{Dzienny przyrost w mm} = \frac{\text{średnica kultury w mm} - 5 \text{ mm (średnica inokulum)}}{2 (\text{połowa średnicy płytki}) \times \text{wiek kultury w dniach}}$$

## Wyniki

---

W pierwszej serii doświadczenia laboratoryjnego obserwowano nieznaczne różnice we wzroście obydwu izolatów *Leptosphaeria* w próbach kontrolnych. Średnio dla okresu 17 dni szybszy wzrost zanotowano w przypadku *L. biglobosa* niż *L. maculans*, jednak tendencja ta nie została potwierdzona statystycznie (tab. 1).

Uzyskane rezultaty wykazały wrażliwość obu izolatów na wszystkie zastosowane fungicydy, ale stopień hamowania wzrostu zależał od rodzaju fungicydu i zastosowanej dawki.

Fungicydy Horizon 250 EW i Konker 415 SC już w stężeniu 10 ppm substancji aktywnych uniemożliwiały wzrost kultur obydwu grzybów. W przypadku fungicydu Sumilex 500 SC wzrost ten był bardzo mały, ale występował i był podobny przy stężeniach: 10, 100 i 1000 ppm.

W drugiej serii doświadczenia w kontroli stwierdzono istotnie szybszy wzrost grzybni *L. biglobosa* niż *L. maculans* (tab. 2). Substancja aktywna fungicydu Horizon 250 EW zastosowana w stężeniu 1, 10 i 100 ppm istotnie hamowała wzrost obydwu grzybów w porównaniu do kontroli. Nie stwierdzono natomiast różnic statystycznych we wzroście grzybni (przy wyżej wymienionych stężeniach) porównując średni przyrost dobowy obydwu badanych grzybów.

Zawarta w fungicydzie Sumilex 500 SC substancja aktywna zastosowana w stężeniach 10–1000 ppm istotnie ograniczyła wzrost grzybni zarówno izolatu *L. biglobosa*, jak i *L. maculans* w porównaniu do kontroli. W stężeniu 1 ppm tylko w przypadku *L. biglobosa* obserwowano istotne zahamowanie wzrostu grzybni.

Przyrost grzybni w kombinacji z zastosowaniem fungicydu Konker 415 SC obserwowano tylko w stężeniu 1 ppm. Był on istotnie mniejszy w porównaniu z kontrolą.

Wyniki doświadczeń opracowano statystycznie przy zastosowaniu analizy wariancji trójczynnikowej. Dla porównania średnich wykorzystano test Fishera–Snedecora i test Tukeya przy  $\alpha = 0,05$ .

## Dyskusja

---

W doświadczeniu na płytkach Petriego obserwowano tendencję szybszego wzrostu liniowego *L. biglobosa* niż *L. maculans*. Jest to zgodne z danymi literaturowymi, które wskazują na charakterystyczne dla *L. biglobosa* cechy: szybki wzrost kolonii, żółtobrazowy pigment, obfita grzybnia powietrzna. Natomiast izolaty *L. maculans* rosną powoli, tworzą skąpą grzybnię powietrzną, zazwyczaj obficie zarodnikują i nie tworzą charakterystycznego pigmentu (Domsch i Gams 1980, Jędryczka i in. 1997, 2001). Izolaty *L. maculans* wytwarzają fitotoksyczną, bezbarwną sirodesminę, będącą jednym z czynników wskazujących na agresywność

Tabela 1

Wpływ fungicydów na liniowy wzrost grzybni *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* w warunkach laboratoryjnych (seria I) — *The influence of fungicides on the growth of Leptosphaeria maculans and Leptosphaeria biglobosa in laboratory conditions (series I)*

Kombinacje — Variants			Średni przyrost dobowy kultur w mm w wieku (dni) *					
Obiekty Objects	stężenie concentration (ppm)	gatunek grzyba fungi species	Average growth of cultures in mm (days)					
			1–3	4–6	7–10	11–13	14–17	1–17
Kontrola Control	–	<i>L. biglobosa</i>	2,11 a	2,65 ab	2,68 bc	2,95 a	1,52 a	2,38 a
		<i>L. maculans</i>	2,11 a	2,96 a	2,46 bc	2,10 abc	1,41 ab	2,21 a
Horizon 250 EW	1	<i>L. biglobosa</i>	0,38 cd	1,25 c	1,26 e	1,30 cdef	1,11 abcd	1,06 d
		<i>L. maculans</i>	0,83 bc	1,33 c	1,33 de	1,36 bcde	1,07 abcd	1,18 cd
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
	1000	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
Sumilex 500 SC	1	<i>L. biglobosa</i>	1,03 b	2,68 ab	1,98 cd	0,98 cdefg	1,37 ab	1,60 bc
		<i>L. maculans</i>	1,66 a	2,75 ab	2,02 cd	2,20 abc	1,52 a	2,03 ab
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0,01 f	0,55 efg	0,83 abcd	0,27 ef
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0,16 f	0,13 fg	0,31 bcd	0,12 ef
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0,52 f	1,06 cdefg	1,17 abc	0,55 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0,01 g	0,08 cd	0,02 f
	1000	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0,07 f	0,83 defg	0,98 abcd	0,37 ef
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0,14 f	0,20 efg	0 d	0,07 f
Konker 415 SC	1	<i>L. biglobosa</i>	1,01 b	2,35 b	3,39 a	2,58 ab	1,71 a	2,20 a
		<i>L. maculans</i>	1,88 a	2,55 ab	2,81 ab	1,93 abcd	1,93 a	2,22 a
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
	1000	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 d	0 f	0 g	0 d	0 f

\* w kolumnach jednakowymi literami oznaczono wartości nie różniące się istotnie przy poziomie 0,05  
values marked with the same letters in columns differ significantly at the level 0.05

Tabela 2

Wpływ fungicydów na liniowy wzrost grzybni *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* w warunkach laboratoryjnych (seria II) — *The influence of fungicides on the growth of Leptosphaeria maculans and Leptosphaeria biglobosa in laboratory conditions (series II)*

Kombinacje — Variants			Średni przyrost dobowy kultur w mm w wieku (dni) *					
Obiekty Objects	stężenie concentration (ppm)	gatunek grzyba fungi species	Average growth of cultures in mm (days)					
			1-3	4-6	7-10	11-13	14-17	1-17
Kontrola Control	–	<i>L. biglobosa</i>	1,28 a	1,35 b	2,25 a	1,55 a	0,88 bc	1,46 a
		<i>L. maculans</i>	0,44 c	1,86 a	1,73 b	0,95 bc	0,67 cd	1,13 b
Horizon 250 EW	1	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0,06 e	0,01 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0,08 d	0,03 e	0,02 e
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0,04 e	0,01 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0,06 d	0,02 e	0,02 e
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e
Sumilex 500 SC	1	<i>L. biglobosa</i>	0,53 c	0,91 c	1,21 c	1,30 ab	1,18 a	1,02 b
		<i>L. maculans</i>	0,68 b	0,76 c	1,16 c	1,25 ab	0,99 ab	0,97 b
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0,03 d	0,01 e	0,01 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0,02 ef	0,04 d	0,01 e	0,01 e
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0,08 d	0,01 e	0,02 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0,10 e	0,08 ef	0,05 d	0,11 e	0,07 e
	1000	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0,08 d	0,04 e	0,02 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0,95 bc	0 e	0,19 e
Konker 415 SC	1	<i>L. biglobosa</i>	0,01 d	0,81 c	0,46 de	0,58 c	0,59 d	0,49 c
		<i>L. maculans</i>	0 d	0,56 cd	0,85 cd	0,90 bc	0,77 bcd	0,62 c
	10	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e
	100	<i>L. biglobosa</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e
		<i>L. maculans</i>	0 d	0 e	0 f	0 d	0 e	0 e

\* w kolumnach jednakowymi literami oznaczono wartości nie różniące się istotnie przy poziomie 0,05  
values marked with the same letters in columns differ significantly at the level 0.05

grzyba (Koch i in. 1989). Z kolei nieagresywne izolaty *L. biglobosa* wytwarzają szereg innych metabolitów, takich jak phomaligole, phomaligadiony (Pedras i in. 1993), phomapyrony (Pedras i in. 1994) i phomaliginę A (Pedras i in. 1995). Niektórzy autorzy wskazują przy tym na fitotoksyczne oddziaływanie izolatów nieagresywnych wobec liścieni rzepaku ozimego (Karolewski i in. 1994).

Ograniczanie wzrostu grzybni przez badane środki było zróżnicowane i zależało zarówno od rodzaju preparatu, jak i zastosowanej dawki. Horizon 250 EW i Konker 415 SC całkowicie hamowały wzrost liniowy grzybni w stężeniu od 10 do 1000 ppm, natomiast Sumilex 500 SC przy tych stężeniach jedynie znacznie ograniczał jej wzrost. Skuteczność badanych środków na płytkach w warunkach laboratoryjnych potwierdzają jednocześnie wyniki polowe, charakteryzujące się dużym ograniczeniem patogena w uprawie rzepaku (kilkuletnie doświadczenia polowe prowadzone przez autora).

Zastosowane w prezentowanej pracy fungicydy w niewielkim stopniu różniły się skutecznością hamowania wzrostu obydwu grzybów. Badania innych autorów mówią o zróżnicowanym oddziaływaniu fungicydów zawierających różne substancje aktywne na rozwój *L. biglobosa* i *L. maculans*. W doświadczeniach przeprowadzonych przez Eckert i in. (2004) badane izolaty były bardziej wrażliwe na flusilazol niż na tebukonazol. Dane literaturowe wskazują również na różnice we wrażliwości na fungicydy pomiędzy izolatami *L. biglobosa* i *L. maculans*. Cavalier i in. (1999) obserwowali, że większe dawki flutriafolu były konieczne dla zahamowania wzrostu izolatów *L. biglobosa* niż *L. maculans*, odwrotnie natomiast było w przypadku stosowania difenkonazolu, prochlorazu i azoxystrobiny. Eckert i in. (2004) podają, że izolaty *L. maculans* były bardziej wrażliwe na flusilazol i tebukonazol niż izolaty *L. biglobosa*.

W obydwu przeprowadzonych seriach doświadczenia wystąpiły różnice w szybkości wzrostu grzybni, jak i szybkości wzrostu poszczególnych izolatów. Różnice te trudno wytłumaczyć. Jedną z hipotez tłumaczących to zjawisko może być wiek kultur lub różna reakcja grzybów na termin, w jakim wykonano poszczególne serie doświadczenia: seria I — w okresie letnim, seria II – w okresie zimowym. Należy jednak zwrócić uwagę, że tendencje hamowania wzrostu grzybni po zastosowaniu fungicydów w obydwu seriach są podobne.

## Wnioski

---

1. Fungicydy: Horizon 250 EW, Konker 415 SC i Sumilex 500 SC skutecznie hamowały wzrost grzybni *L. biglobosa* i *L. maculans*.
2. Z badanych fungicydów najsłabsze działanie w hamowaniu wzrostu grzybni wykazał środek Sumilex 500 SC.
3. Nie odnotowano istotnych różnic we wrażliwości izolatów *L. biglobosa* i *L. maculans* na substancje aktywne zawarte w zastosowanych fungicydach.

## Literatura

---

- Borecki Z. 1984. Fungicydy stosowane w ochronie roślin. PWN, Warszawa.
- Cavelier N., Crespel L., Brun H. 1999. Variability in fungicide sensitivity of *Leptosphaeria maculans*, the causal agent of blackleg in oilseed rape. In: Sisler D.H. (ed.) Modern fungicides and antifungal compounds II. Intercept, Andover, UK: 305-311.
- Domsch K.H., Gams W. 1980. Compendium of soil fungi: 404-406.
- Eckert M., Fitt B., Selley A. 2004. *Leptosphaeria maculans*, *L. biglobosa* and fungicides: preliminary results from *in vitro* and field observations. Working Group "Integrated protection in oilseed crops" Biennial Meeting 2004 at Rothamsted Research, UK 30-31 march 2004.
- Jędrzycka M., Lewartowska E., Kachlicki P. 2001. Skład populacji grzyba *Phoma lingam* z porażonych łodyg rzepaku ozimego w Chorwacji. Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, XXIII: 65-67.
- Jędrzycka M., Matysiak R., Bandurowski R., Rybacki D. 2004. SPEC – system wspierający ochronę rzepaku przed suchą zgnilizną kapustnych w Polsce. Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, XXV (2): 637-646.
- Jędrzycka M., Rouxel T., Balesdent M.H., Mendes-Pereira E., Bertrand J. 1997. Charakterystyka molekularna polskich szczepów grzyba *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. Et de Not. Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, XVIII (2): 303-314.
- Karolewski Z., Szelerska M., Foremska E., Goliński P., Weber Z. 1994. The phytotoxicity of metabolites of *Phoma lingam* non-aggressive isolate. Roczn. Nauk Roln. Ser. E, 24, 1/2: 9-13.
- Koch E., Badaway H.M.A., Hoppe H.H. 1989. Differences between aggressive and non-aggressive single spore lines of *Leptosphaeria maculans*, cultural characteristic and phytotoxins production. J. Phytopathol., 124: 52-62.
- Kochman J., Węgorz W. 1997. Ochrona roślin. Plant Press, Kraków.
- Pedras M.S.C., Morales V.M., Taylor J.L. 1994. Three metabolites from the blackleg fungus. Phytochem., 36: 1315-1318.
- Pedras M.S.C., Taylor J.L., Morales V.M. 1995. Phomaligin A and yellow pigments in *Phoma lingam* and *P. wasabie*. Phytochem., 38: 1215-1222.