

PLAMISTOŚĆ LIŚCI *CRASSULA MULTICAVA* I MOŻLIWOŚCI CHEMICZNEJ OCHRONY

The leaf spotting of *Crassula multica* and potential methods of their chemical control

Alicja Saniewska, Anna Jarecka-Boncela,
Marian Saniewski

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa im. Szczepana Pieniążka
ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice
e-mail: anna.jarecka@insad.pl

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the cause of leaf spotting of *Crassula multica* and potential methods of their control. The leaves of succulent *Crassula multica* growing in greenhouse conditions showed disease symptoms, yellow and gradually browning spots, and the disease was caused by *Pestalotiopsis guepinii*. The strobilurin fungicides, azoxystrobin (Amistar 250 SC), kresoxim-methyl (Discus 500 WG) and chlorotalonil with addition of zinc (Gwarant 500 SC) greatly inhibited the growth of *Pestalotiopsis guepinii*. Total inhibition of the mycelium growth was observed when azoxystrobin at concentration of 6 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ was added. Kresoxim-methyl and chlorotalonil with addition of zinc at a concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ limited the mycelium growth in 98% and 80% respectively. The inhibitory effect was greater for azoxystrobin than kresoxim-methyl and chlorotalonil. Preventively and curatively used of synthetic analogs of strobilurins and Gwarant greatly limited the development of *Pestalotiopsis guepinii*.

Key words: *Crassula multica*, *Pestalotiopsis guepinii*, azoksystrobin, krezoksymetylu, control

WSTĘP

Crassula multica to krzaczasty, bylinowy sukulent o owalnych, szaro-zielonych liściach, średnicy około 8 cm. Liczne grona małych gwiaździstych, różowych kwiatów na wydłużonych pędach pojawiają się wiosną.

W uprawie szklarniowej w latach 2007-2008 notowano symptomy suchej brązowej plamistości na liściach *Crassula multica*; początkowo drobne żółte plamki, stopniowo brązowieją i obejmują znaczną część górnej i dolnej strony liści (fot. 1).

Celem pracy była identyfikacja patogena powodującego plamistość liści *Crassula multica* oraz ocena fungicydów, syntetycznych analogów strobiluryny substancji wytwarzanej przez *Strobilurus tenacellus* (Pers. Fr.) Sing. i *Oudemansiella mucida* (Schrad. ex Fr.) Höhn. w ograniczaniu rozwoju choroby.

MATERIAŁ I METODY

Izolacja grzybów. Fragmenty (około 5 mm) chorych liści, po ich powierzchniowym odkażeniu, wykładano na pożywkę ziemniaczano-glukozową (PDA-Merck), po 10 szt. na szalkę i inkubowano w temperaturze 20-25 °C. Wyrastające kolonie grzybów przeszczepiano na skosy, a po wyrośnięciu segregowano makroskopowo na grupy. Wybrane izolaty z poszczególnych grup po doprowadzeniu do kultur jednocarodnikowych oznaczano do gatunku, posługując się monografiami i opracowaniami autorów Arx (1974), Barnett (1960) i Sutton (1980).

Ocena chorobotwórczości wybranych izolatów grzybów. Do doświadczeń wybrano po 10 izolatów pozyskanych gatunków; *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium oxysporum* Schlecht. i *Pestalotiopsis guepinii* (Desm.) Stey. Krążki grzybni o średnicy 3 mm wycinano z 7-dniowych kultur rosnących na pożywce PDA i nanoszono na odkażone liście *Crassula multica*. Inokulowane liście układano na siatce polietylenowej w tacach wyłożonych bibułą filtracyjną nasączoną wodą destylowaną. Kuwety przykrywano folią aluminiową w celu zwiększenia wilgotności. Liście inkubowano w temperaturze 25 °C. Do oceny chorobotwórczości każdego z badanych izolatów użyto 40 liści.

Doświadczenie wykonano w dwóch seriach w odstępie 30 dni. Po 10 dniach inkubacji wykonano pomiary długości nekrozy.

Wzrost grzybni *Pestalotiopsis guepinii* (C-8) *in vitro*. W pierwszym etapie określano wpływ rodzaju pożywki na wzrost grzybni. Badania prowadzono na pożywkach: agarowo-ziemniaczano-glukozowej (PDA), fasolowej zestalanej agarem (LBA), maltozowej (Malt-extract-agar) i pożywce mineralnej Czapka zestalanej agarem (CzDA) w temperaturze 20 °C. Pożywka z największym przyrostem liniowym grzybni posłużyła do określenia wpływu temperatury na wzrost grzybni, z określeniem temperatury optymalnej dla wzrostu i rozwoju patogena. Na środek szalki Petriego o średnicy 90 mm nanoszono 3 mm krążek grzybni pobrany z 7-dniowej kultury, po czym szalki umieszczano w termostatach w temperaturze od 7 °C do 35 °C na 8 dni. W czasie inkubacji mierzono średnicę grzybni. Na podstawie pomiarów obliczono powierzchnię grzybni. Doświadczenie prowadzono w dwóch seriach, stosując po 5 szalek dla każdej pożywki.

Oddziaływanie pochodnych strobiluryny w ograniczaniu wzrostu i rozwoju *Pestalotiopsis guepinii in vitro*. Do badań użyto azoksystrobinę – substancję aktywną preparatu Amistar 250 SC i krezoksym-metylu – substancję aktywną fungicydu Discus 500 WG. Jako preparat standardowy zastosowano chlorotalonil z dodatkiem cynku jako mikroelementu (Gwarant 500 SC).

Doświadczenie A – Oddziaływanie preparatów na wzrost grzybni *Pestalotiopsis guepinii in vitro*. Preparaty dodawano do pożywki PDA w ilości 2, 4, 6, 8, 10, 50, 100, 250, 500, 750 i 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Tak przygotowane szalki z pożywką szczepiono krążkami grzybni *Pestalotiopsis guepinii* (izolat C-8) o średnicy 3 mm. Po 2, 4, 6 i 8 dniach inkubacji w temperaturze 25 °C mierzono średnicę grzybni w dwóch prostopadłych kierunkach. Doświadczenie wykonano w 2 seriach, używając po 5 szalek dla każdego stężenia.

Doświadczenie B – Oddziaływanie preparatów stosowanych profilaktycznie i interwencyjnie w ograniczaniu rozwoju *Pestalotiopsis guepinii* na liściach *Crassula multica* w warunkach laboratoryjnych. Liście pobierano z roślin zdrowych uprawianych w warunkach szklarniowych. Profilaktycznie opryskano izolowane liście zawieszoną preparatów (w stężeniach podanych w tabeli), a następnie po osuszeniu

inokulowano je krążkami 7-dniowej grzybni *Pestalotiopsis guepinii* o średnicy 3 mm rosnącej na pożywce PDA. Interwencyjnie stosowano preparaty po 2 dniach od inokulacji krążkami grzybni *Pestalotiopsis guepinii*, tj. na liście z widocznymi objawami porażenia. Po inokulacji i zaprawieniu w preparatach liście układano na siatce polietylenowej w kuwetach wyłożonych wilgotną bibułą i przykrywano szczelnie folią aluminiową. Po 7 i 12 dniach inkubacji w temp. 25 °C mierzono średnicę nekrozy. Dla każdego preparatu testowano 40 liści (10 liści w 4 powtórzeniach). Doświadczenie wykonano w dwóch seriach w odstępach 30 dni.

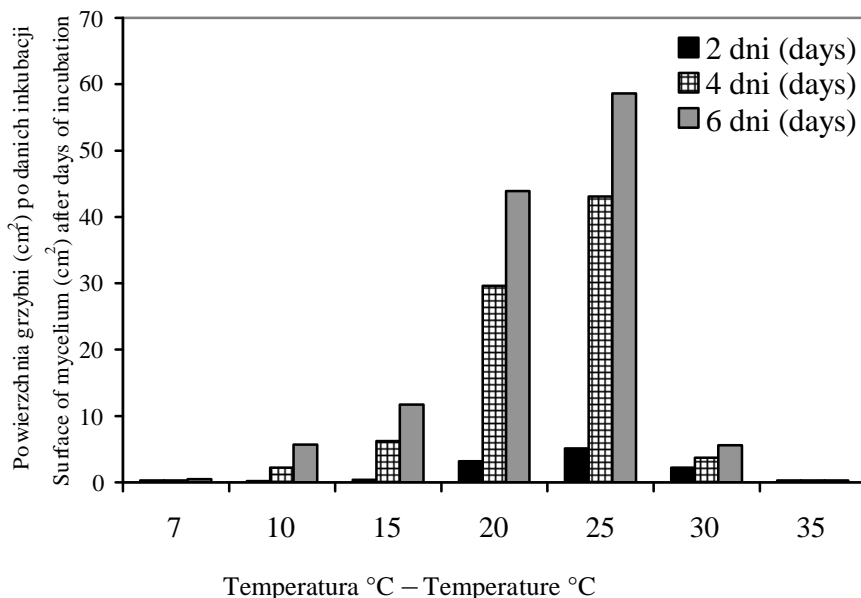
Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, posługując się metodą analizy wariancji. Do oceny istotności różnic między średnimi użyto testu t-Duncana, przyjmując poziom istotności 5%.

WYNIKI I DYSKUSJA

Z chorych liści *Crassula multica* z objawami brązowej zgorzelowej plamistości izolowano głównie *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium oxysporum* Schlecht. i *Pestalotiopsis guepinii* (Desm.) Stey. Przeprowadzone testy chorobotwórczości wykazały, że główną przyczyną początkowo drobnych żółtych plam stopniowo brązowiejących i obejmujących znaczną część powierzchni górnej i dolnej strony liścia jest grzyb *Pestalotiopsis guepinii*. W warunkach zwiększonej wilgotności na brązowych plamach obserwowano ciemne drobne wzniesienia skupień zarodników konidialnych *Pestalotiopsis guepinii*. Wszystkie badane izolaty patogena wywoływały objawy plamistości na liściach *Crassula multica*. Stwierdzono zróżnicowanie w ich wirulencji. Długość plam nekrotycznych w następstwie porażenia badanymi izolatami *Pestalotiopsis guepinii* mierzona po 14 dniach inkubacji liści w temperaturze 25 °C wahała się od 8 cm do 25 cm. Spośród badanych izolatów najbardziej agresywny w rozwoju choroby okazał się izolat C-8, który używano w dalszych badaniach.

Minimalny wzrost grzybni izolatu C-8 *Pestalotiopsis guepinii* obserwowano w temperaturze 7-10 °C oraz w 30 °C (rys. 1). Grzybnia badanego izolatu rozwijała się najszybciej w temperaturze 20-25 °C. Maksimum wzrostu grzybni stwierdzono w temperaturze 25 °C po 2, 4 i 7

dniach inkubacji (rys. 1). Najlepszą pożywką dla wzrostu *Pestalotiopsis guepinii* okazała się pożywka PDA i Malt-extract-agar. Nieco słabszy wzrost obserwowano na pożywce LBA, a najwolniej przebiegał wzrost liniowy grzybni na pożywce Czapka.



Rysunek 1. Wpływ temperatury na wzrost [cm²] grzybni *Pestalotiopsis guepinii* na pożywce agarowo-ziemniaczano-glukozowej (PDA-Merck) – Influence of temperature on the mycelium [cm²] growth of *Pestalotiopsis guepinii* on potato dextrose agar medium (PDA-Merck)

Stwierdzono, że w odciętych zdrowych liściach *Crassula multicava* trzymany na świetle w pozycji naturalnej lub odwróconej następowało nagromadzanie się antocyjanów o barwie czerwono-fioletowej, natomiast w odciętych zainfekowanych liściach przez *Pestalotiopsis guepinii* trzymany w tych samych warunkach antocyjany nie tworzyły się w odległości około 4-8 mm od zainfekowanych plam (Saniewski i wsp. 2007).

W warunkach *in vitro* pochodne strobiluryny wykazały silnie fungitoksyczny wpływ na wzrost liniowy grzybni *Pestalotiopsis guepinii* (tab. 1). Azoksystrobina w stężeniu 2 µg/cm³ hamowała wzrost grzybni patogena w 99%, a w stężeniu 6 µg/cm³ wystąpiło całkowite zahamowanie wzrostu grzybni. Krezoksym-metylu i chlorotalonil z dodatkiem cynku

jako mikroelementu w stężeniu $10 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ograniczał wzrost grzybni odpowiednio w 98% i 80%. Należy jednak dodać, że stosowane wyższe stężenia tych środków nie zahamowały całkowicie wzrostu grzybni patogena (tab. 1).

Tabela 1

Wpływ pochodnych strobiluryny i preparatu Gwarant na wzrost [cm^2] grzybni *in vitro* *Pestalotiopsis guepinii* – Influence of synthetic analogs of strobilurins and Gwarant on the mycelium [cm^2] *in vitro* growth of *Pestalotiopsis guepinii*

Traktowanie Treatment	Stężenie Concentration $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	Powierzchnia kolonii grzybni [cm^2] po dniach inkubacji Surface of mycelium growth [cm^2] after days incubation		
		2	4	6
Kontrola – Control	-	3,4 b	20,6 d	47,8 e
Gwarant 500 SC	10	0,3 a	4,0 c	9,5 d
Gwarant 500 SC	100	0,2 a	4,4 c	9,5 d
Gwarant 500 SC	250	0,2 a	0,9 b	2,0 c
Gwarant 500 SC	500	0,0 a	0,5 ab	1,0 bc
Gwarant 500 SC	1000	0,0 a	0,5 ab	0,9 bc
Amistar 250 EC	2	0,0 a	0,0 a	0,5 b
Amistar 250 EC	6	0,0 a	0,0 a	0,2 a
Amistar 250 EC	10	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Amistar 250 EC	50	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Amistar 250 EC	100	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Discus 500 WG	10	0,0 a	0,3 a	0,8 bc
Discus 500 WG	100	0,0 a	0,3 a	0,7 b
Discus 500 WG	250	0,0 a	0,2 a	0,7 b
Discus 500 WG	500	0,0 a	0,1 a	0,6 b
Discus 500 WG	1000	0,0 a	0,1 a	0,6 b

Objaśnienie: średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy (5%); wielokrotny test t-Duncana; Explanation: means in columns followed by the same letter do not differ at 5% level of significance; Duncan's multiple range test

Pochodne strobiluryny stosowane profilaktycznie silnie ograniczały rozwój *Pestalotiopsis guepinii* na liściach *Crassula multica* w porównaniu z liśćmi kontrolnymi nieopryskiwany. Efekt ochronny preparatu chlorotalonil z dodatkiem cynku był nieco słabszy niż pochodne strobiluryny, jednak również silnie ograniczał rozwój choroby (tab. 2). Preparaty zastosowane interwencyjnie do opryskania liści z objawami

plamistości od 2 mm do 4 mm ograniczały rozwój choroby w około 50% (tab. 3).

Tabela 2

Wpływ pochodnych strobiluryny i preparatu Gwarant stosowanych profilaktycznie na rozwój *Pestalotiopsis guepinii* na liściach *Crassula multica* – Influence of synthetic analogs of strobilurins and Gwarant preventively applied on the development of *Pestalotiopsis guepinii* on *Crassula multica* leaves

Traktowanie Treatment	Stężenie Concentration [%]	Długość nekrozy po dniach inkubacji Length of necrosis after days of incubation [mm]	
		7	12
Kontrola – Control	-	11,1 c	25,2 c
Gwarant 500 SC	0,2	3,6 b	4,8 b
Amistar 250 EC	0,05	1,8 a	2,3 a
Amistar 250 EC	0,1	1,6 a	2,3 a
Discus 500 WG	0,03	1,8 a	1,9 a
Discus 500 WG	0,06	1,6 a	1,9 a

Objaśnienie: Patrz tabela 1; Explanation see Table 1.

Tabela 3

Wpływ pochodnych strobiluryny i preparatu Gwarant zastosowanych interwencyjnie na rozwój *Pestalotiopsis guepinii* na liściach *Crassula multica* – Influence of synthetic analogs of strobilurins and Gwarant applied curatively on the development of *Pestalotiopsis guepinii* on *Crassula multica* leaves

Traktowanie Treatment	Stężenie Concentration [%]	Długość nekrozy po 2 dniach od inokulacji liści Length of necrosis after 2 days inoculation leaves [mm]	Długość nekrozy po 7 dniach od opryskania liści środkami ochrony Length of necrosis after 7 days spraying leaves [mm]
		Kontrola – Control	-
Gwarant 500 SC	0,2	2,6 a	13,1 a
Amistar 250 EC	0,05	3,2 a	13,1 a
Amistar 250 EC	0,1	3,5 a	14,1 a
Discus 500 WG	0,03	2,0 a	17,1 a
Discus 500 WG	0,06	3,0 a	16,1 a

Objaśnienie: Patrz tabela 1; Explanation: see Table 1

Wcześniejsze badania wykazały wysoką skuteczność fungicydów strobilurynowych w zwalczaniu między innymi rdzy chryzantemy

Puccinia horiana (Wojdyła 2007), rdzy wierzby *Melampsora epitea* (Wojdyła 2008a), mączniaka prawdziwego róż *Sphaerotheca pannosa* var. *rose* (Wojdyła 2008b) oraz czarnej plamistości róż *Diplocarpon rosae* (Wojdyła 2009). Azoksystrobina również całkowicie chroniła wyżlin przed porażeniem przez *Puccinia antirrhini* (Saniewska 2000) i *Ornithogalum umbellatum* przed *Puccinia liliacearum* (Saniewska i Jarecka 2005). W literaturze istnieje wiele informacji o wysokiej skuteczności grzybobójczej fungicydów typu strobiluryny. Jest to grupa związków wykazująca dobre działanie zapobiegawcze i wyniszczające. Poza bezpośrednim hamującym wpływem strobiluryny na grzyby związki te zmieniają równowagę hormonalną w roślinach (Grossmann i wsp. 1999).



Fot. 1. Plamistość liści *Crassula multicava* powodowana przez *Pestalotiopsis guepinii*. – Leaf spotting causes by *Pestalotiopsis guepinii* on *Crassula multicava*

WNIOSKI

Istnieje możliwość stosowania pochodnych strobiluryny zarówno do profilaktycznej, jak i interwencyjnej ochrony *Crassula multicava* przed *Pestalotiopsis guepinii*.

LITERATURA

Arx J.A. von 1974. The genera of fungi sporulating in pure culture. wyd. II. Cramer. Lehre, Vaduz, 315 pp.

- Barnett H.L. 1960. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minn.
- Grossmann K., Kwiatkowski J., Gaspar G. 1999. Regulation of phytohormone levels. leaf senescence and transpiration by the strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). J. Plant Physiol., 154: 805-808.
- Saniewska A. 2000. Oddziaływanie pochodnych strobiluryny na *Puccinia antirrhini* Diet. et Holw. Progress in Plant Protection/Postepy w Ochronie Roślin, 40 (2): 664-666.
- Saniewska A., Jarecka A. 2005. Pochodne strobiluryny w ograniczaniu rozwoju *Puccinia lilieacearum* Duby, patogena *Ornithogalum umbellatum* L. Progress in Plant Protection/Postepy w Ochronie Roślin, 45 (2): 1058-1060.
- Saniewski M., Saniewska A., Urbanek H. 2007. Inhibition of the anthocyanins accumulation in detached leaves of *Crassula multica* Lam. around the infected spots caused by *Pestalotia* sp. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 524: 393-400.
- Sutton B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with picnidia acervuli and stromata. IMI, Kew, 661 pp: 263-266.
- Wojdyła A.T. 2007. Wpływ związków strobilurynowych na rozwój *Puccinia horiana*. Progress in Plant Protection/Postepy w Ochronie Roślin, 47 (2): 366-370.
- Wojdyła A.T. 2008a. Wpływ związków strobilurynowych na rozwój *Melampsora epitea*. Progress in Plant Protection/Postepy w Ochronie Roślin, 48 (2): 548-551.
- Wojdyła A.T. 2008b. Wpływ związków strobilurynowych na występowanie mączniaka prawdziwego róży (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*). Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 529: 263-269.
- Wojdyła A.T. 2009. Wpływ związków strobilurynowych na rozwój *Diplocarpon rosae*. Progress in Plant Protection/Postepy w Ochronie Roślin, 49 (1): 301-304.