

The possible causes of leaf spotting of *Salvia farinacea* and protection possibility

Przyczyny plamistości liści *Salvia farinacea* i możliwości ochrony

Anna Jarecka Boncela

Summary

The aim of this work was to determine the casual agent of leaf spotting of *Salvia farinacea* and possible methods of its control. The leaves of *S. farinacea* grown in flowerbed conditions showed disease symptoms browning spots. The results of mycology analysis revealed that the disease as caused by *Alternaria alternata*. Piraklostrobin (Signum 33 WG), grapefruit extract (Biosept Active) and tiofanat-methyl (Topsin 500 M) greatly inhibited the growth and development of *A. alternata*. Total inhibition of the mycelium growth was observed after using piraklostrobin at the concentration of 250 µg/cm³. Grapefruit extract and tiofanat-methyl at the concentration of 250 µg/cm³ limited the mycelium growth in 70% and 80% respectively. Preventively and curatively use synthetic analogs of strobilurins Topsin and Biosept significantly reduced the development *A. alternata*.

Key words: *Salvia farinacea*, control, *Alternaria alternata*, fungicides

Streszczenie

Prezentowano przyczyny plamistości liści *Salvia farinacea* i możliwości ochrony. Na liściach *S. farinacea* rosnącej na rabatach kwiatowych wystąpiły symptomy chorobowe. Testy chorobotwórczości wykazały, że główną przyczyną czarnobrunatnych plam jest grzyb *Alternaria alternata*. Badane środki: piraklostrobina (Signum 33 WG), wyciąg z grejpfruta (Biosept Active) i tiofanat metylu (Topsin 500 M), silnie hamowały wzrost i rozwój *A. alternata*. Piraklostrobina w stężeniu 250 µg/cm³ całkowicie zahamowała wzrost grzybní. Wyciąg z grejpfruta i tiofanat metylu w stężeniu 250 µg/cm³ ograniczał wzrost grzybní odpowiednio w 80% i 70%. Syntetyczny analog strobiluryny, wyciąg z grejpfruta i tiofanat metylu zastosowane profilaktycznie i interwencyjnie, ograniczały rozwój *A. alternata*.

Słowa kluczowe: *Salvia farinacea*, *Alternaria alternata*, fungicydy

Institut Ogródnictwa
Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
Anna.Jarecka@inhort.pl

Wstęp / Introduction

Szałwia omączona – *Salvia farinacea* należy do rodziny Lamiaceae – Jasnotowate. Szałwia omączona pochodzi z Ameryki Północnej, gdzie jest byliną o wysokości 60–70 cm. W naszych warunkach klimatycznych uprawiana jest jako roślina jednoroczna. Jest silnie rozkrzewiona o strzelistym pokroju i wzniesionych pędach. Ma drobne, intensywnie fioletowe kwiaty, zebrane w smukłe kwiatostany, kwitnie długo i obficie. Na rabatach notowane są symptomy brązowej plamistości na liściach *S. farinacea*; początkowo drobne brązowe plamki, które powiększają się i stopniowo obejmują znaczną część powierzchni liści.

Celem pracy była identyfikacja patogenu powodującego plamistość liści *S. farinacea* oraz ocena skuteczności fungicydów w ograniczaniu rozwoju choroby.

Materiały i metody / Materials and methods

Izolacja grzybów

Fragmenty (około 5 mm) chorych liści, po ich powierzchniowym odkażeniu, układano na pożywkę agarowo-ziemniaczano-glukozową (PDA – Potato Dextrose Agar), po 10 sztuk 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 jednozarodnikowych oznaczano do gatunku, posługując się kluczem Ellisa (1971, 1976).

Ocena chorobotwórczości wybranych izolatów grzybów

Do doświadczeń nad patogenicznością wybrano po 10 izolatów pozyskanych gatunków: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis cinerea* Pers. i *Pestalotiopsis guepinii* (Desm.) Stey. Krążki grzybni o średnicy 3 mm wycinano z 7-dniowych kultur rosnących na pożywce PDA i nanoszono na powierzchniowo odkażone liście *S. farinacea*. 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 odstępach 30 dni. Po 10 dniach inkubacji wykonano pomiary długości nekrozy.

Oddziaływanie fungicydów w ograniczaniu wzrostu *A. alternata in vitro*

Do badań użyto piraklostrobinę – substancję aktywną preparatu (Signum 33 WG) i wyciąg z grejpfruta – substancję aktywną preparatu (Biosept Active). Jako preparat standardowy zastosowano tiofanat metylu – substancję aktywną preparatu (Topsin M 500 SC).

Doświadczenie A – oddziaływanie preparatów na wzrost grzybni *A. alternata in vitro*

Preparaty dodawano do pożywki PDA w ilości 100, 250 i 500 µg/cm³ pożywki. Tak przygotowane szalki z pożywką szczepiono krążkami kultur *A. alternata* (izolat A – 2) o średnicy 5 mm. Po 2, 4, 6 i 8 dniach inkubacji w temperaturze 25°C mierzono średnicę kultur w dwóch prostopadłych kierunkach. Doświadczenie wykonano w 2 seriach po 5 szalek dla każdego stężenia.

Doświadczenie B – oddziaływanie preparatów stosowanych profilaktycznie i interwencyjnie w ograniczaniu rozwoju *A. alternata* na liściach *S. farinacea* w warunkach laboratoryjnych

Liście pobierano z roślin zdrowych uprawianych w warunkach szklarniowych. Profilaktycznie opryskano izolowane liście zawiesiną preparatów 100, 250 i 500 µg/cm³, a następnie, po osuszeniu, inokulowano je krążkami 7-dniowej grzybni *A. alternata* o średnicy 3 mm rosnącej na pożywce PDA. Interwencyjnie, stosowano preparaty po 2 dniach od inokulacji krążkami grzybni *A. alternata*, tj. na liście z widocznymi symptomami porażenia. Po inokulacji i zaprawieniu w preparatach, liście układano na siatce polietylenowej w kuwetach wyłożonych wilgotną bibułą i przykrywano szczelnie folią aluminiową. Po 5 i 10 dniach inkubacji w temperaturze 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.

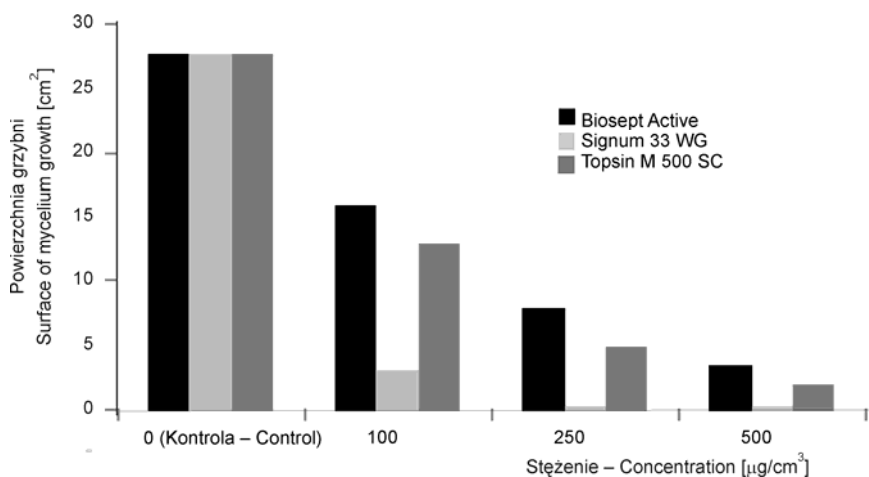
Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, posługując się metodą analizy wariancji. Do oceny różnic między średnimi użyto testu Duncana, przyjmując poziom istotności 5%.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Z chorych liści *S. farinacea* z objawami brązowej plamistości, izolowano głównie *A. alternata*, *B. cinerea*, *Fusarium oxysporum* i *Pestalotia* sp. Przeprowadzone testy chorobotwórczości wykazały, że główną przyczyną czarnobrunatnych plam, które łączą się ze sobą, tworząc duże nekrozy, jest grzyb *A. alternata*. W warunkach zwiększonej wilgotności, na powierzchni czarnobrunatnych plam obserwowano oliwkowobrunatny aksamitny nalot grzybni. Wszystkie badane izolaty *A. alternata* wywoływały objawy plamistości na liściach *S. farinacea*.

W warunkach *in vitro* pochodna strobiluryny wykazała silnie fungitoksyczny wpływ na wzrost liniowy grzybni *A. alternata*. Piraklostrobina w stężeniu 100 µg/cm³ pożywki hamowała wzrost grzybni patogena w 90%, a w stężeniu 250 µg/cm³ wystąpiło całkowite zahamowanie wzrostu grzybni (rys. 1). Tiofanat metylu i wyciąg z grejpfruta w stężeniu 250 µg/cm³ ograniczał wzrost grzybni odpowiednio w 80 i 70%. Należy jednak dodać, że wyższe stosowane stężenia tych środków ochrony nie zahamowały całkowicie wzrostu grzybni patogenu (rys. 1).

Pochodna strobiluryny stosowana profilaktycznie silnie ograniczała rozwój *A. alternata* na liściach *S. farinacea*

Rys. 1. Wpływ fungicydów na wzrost [cm²] kultur *in vitro* *A. alternata* po 8 dniach inkubacjiFig. 1. Influence fungicides on the growth of *A. alternata* cultures [cm²] *in vitro*, after 8 days of incubationTabela 1. Wpływ fungicydów stosowanych profilaktycznie na rozwój *A. alternata* na liściach *S. farinacea*Table 1. Influence of fungicides preventively applied on the development of *A. alternata* on *S. farinacea* leaves

Traktowanie Treatment	Stężenie Concentration [µg/cm³]	Długość nekrozy [mm] po dniach inkubacji Length of necrotic spot [mm] after days of incubation	
		7	12
Kontrola – Control	–	11,1 f	25,2 f
Signum 33 WG	100	1,6 a	2,2 b
Signum 33 WG	250	0,9 a	1,0 a
Signum 33 WG	500	0,9 a	1,0 a
Biosept Active	100	7,0 e	11,2 e
Biosept Active	250	4,3 d	9,2 d
Biosept Active	500	2,2 c	6,9 c
Topsin M 500 SC	100	6,5 e	10,8 e
Topsin M 500 SC	250	4,2 d	8,0 d
Topsin M 500 SC	500	1,8 b	5,8 c

Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy 5%; wielokrotny test t-Duncana

Means in columns followed by the same letter do not differ at 5% level of significance; Duncan's multiple range test

Tabela 2. Wpływ fungicydów zastosowanych interwencyjnie na rozwój *A. alternata* na liściach *S. farinacea*Table 2. Influence of fungicides applied curatively on the development of *A. alternata* on *S. farinacea* leaves

Traktowanie Treatment	Stężenie Concentration [µg/cm³]	Długość nekrozy [mm] po 2 dniach od inokulacji liści Length of necrotic spot [mm] after 2 days inculcation leaves	Długość nekrozy [mm] po 10 dniach od opryskania liści środkami ochrony Length of necrotic spot [mm] after 10 days spraying leaves
Kontrola – Control	–	4,2 a	28,4 e
Signum 33 WG	100	3,9 a	10,0 b
Signum 33 WG	250	3,9 a	5,8 a
Signum 33 WG	500	4,1 a	5,1 a
Biosept Active	100	4,3 a	18,1 d
Biosept Active	250	4,2 a	17,1 d
Biosept Active	500	4,3 a	16,1 d
Topsin M 500 SC	100	4,1 a	16,0 d
Topsin M 500 SC	250	4,0 a	13,1 c
Topsin M 500 SC	500	3,9 a	14,1 c

Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy 5%; wielokrotny test t-Duncana

Means in columns followed by the same letter do not differ at 5% level of significance; Duncan's multiple range test

w porównaniu do liści kontrolnych, nieopryskiwanych (tab. 1). Efekt ochronny tiofanatu metylu i wyciągu z grejpfruta był nieco słabszy niż pochodna strobiluryny, jednakże te środki ochrony również silnie ograniczały rozwój choroby (tab. 1). Badane preparaty zastosowane interwencyjnie do opryskiwania liści z symptomami plamistości od 2–4 mm, ograniczały rozwój choroby w około 50% (tab. 2).

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 róży – *Sphaerotheca pannosa* var. *rose* (Wojdyła 2008b) oraz czarnej plamistości róż – *Diplocarpon rosae* (Wojdyła 2009). W literaturze istnieje wiele informacji o wysokiej skuteczności grzybobójczej fungicydów typu strobiluryn. Jest to grupa związków wykazująca dobre działanie zapobiegawcze i wyniszczające. Poza bezpośrednim hamującym wpływem strobiluryn na grzyby, związki te zmieniają równowagę hormonalną w roślinach (Grossmann i wsp. 1999). W preparacie Biosept Active substancjami aktywnymi są przede wszystkim endogenne flawonoidy (Saniewska 2002) oraz alifatyczne aldehydy, monoterpiny i notkaton (Caccioni i wsp. 1998). Związki te w badaniach *in vitro* hamowały wzrost i rozwój wielu bakterii oraz grzybów, jak: *Penicillium*, *Colletotrichum* i *B. cinerea* (Esterio i wsp.

1992; Angioni i wsp. 1998; Caceres i wsp. 1998; Woedtke i wsp. 1999). Flawonoidy tworzące się w wielu gatunkach roślin w następstwie infekcji przez patogeniczne mikroorganizmy odgrywają ważną rolę w reakcji obronnej podczas rozwoju choroby. Związki te hamują kiełkowanie zarodników, wzrost strzępki rostkowej i strzępki grzybni poprzez uszkodzenie systemów membranowych (Dakora 1995). Wcześniejsze badania wykazały również fungistatyczny wpływ preparatu Citrosept na wzrost liniowy: *B. cinerea*, *B. tulipae*, *Phoma narcissi*, *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*, f. sp. *narcissi*, *P. poolensis*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Rhizoctonia solani* (Saniewska 2004; Saniewska i Jarecka 2006). Saniewska i wsp. (2005) wykazali wysoką skuteczność preparatu Biosept 33 SL w ograniczaniu rozwoju rdzy malwy ogrodowej.

Wnioski / Conclusions

1. Jest prawdopodobne, że preparat Biosept Active zawierający flawonoidy otrzymane z grejpfruta, może być wykorzystany do ochrony roślin przed plamistościami liści szalwi.
2. Preparaty Signum 33 WG i Topsin M 500 SC stosowane w warunkach *in vitro*, profilaktycznie i interwencyjnie silnie ograniczały wzrost i rozwój *A. alternata* w porównaniu do kontroli.

Literatura / References

- Angioni A., Cabras P., Hellewin G., Pirs F., Reniero F., Scirra M. 1998. Synthesis and inhibitory activity of 7 – geranoxycoumarin against *Penicillium* species in citrus fruit. *Phytochemistry* 47: 1521–1525.
- Caccioni D.R.L., Guizzardi M., Bindi D.M., Renda A., Ruberto G. 1998. Relationship between volatile component of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Int. J. Food Microbiol.* 43: 73–79.
- Caceres M.J., Martinez E., Torres F. 1998. Efecto de tiabendazol y extractos de semilla de toronja en el control de enfermedades de cucurba en pre y poscosecha en Nuevo Colon. *Fitopat. Colomb.* 22: 35–38.
- Dakora F.D. 1995. Plant flavonoids: biological molecules for useful exploitation. *Austr. J. Plant Physiol.* 22: 87–99.
- Ellis M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CAB International, Wallingford, UK: 354–357.
- Ellis M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. CAB International, Wallingford, UK: 244–248.
- Esterio M.A., Auger J.G., Vazquez E., Reyes M., Scheelje F., Verhoeff K. 1992. Efficacy of grapefruit extract BC – 1000 for control of *Botrytis cinerea* on table grapes in Chile. *Proc. 10th Int. Botrytis Symp. Greece, Crete, Heraclion, 10–15 September 1992*, 545, 10: 211–214.
- 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. 2002. Aktywność antygrzybowa endogennych flawonoidów grejpfruta (*Citrus paradise*). *Mat. Symp. Nauk. „Fitopatologia polska w Europie”*. Warszawa, 17–19 września 2002, 346, s. 62.
- Saniewska A. 2004. Antifungal activity of grapefruit (*Citrus paradisi*) endogenic flavonoids. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 496: 609–617.
- Saniewska A., Jarecka A., Marasek A. 2005. Biopreparat Biosept 33 SL w ograniczaniu rozwoju rdzy malwy ogrodowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 504: 689–696.
- Saniewska A., Jarecka A. 2006. Wpływ endogennych flawonoidów grejpfruta (*Citrus paradisi*) na wzrost i rozwój dwóch form specjalnych *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 46 (2): 517–520.
- Woedtke T., Schluter B., Pfeleger P., Lindequist U., Julich U.D. 1999. Aspects of the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract and its relation to preservative substances contained. *Pharmazie* 54 (6): 452–456.
- Wojdyła A.T. 2007. Wpływ związków strobilurynowych na rozwój *Puccinia horiana*. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 47 (2): 366–370.
- Wojdyła A.T. 2008a. Wpływ związków strobilurynowych na rozwój *Melampsora epitea*. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. 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*. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (1): 301–304.