

Received: 13.03.2014 / Accepted: 20.10.2014

Concentration of ascospores of *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* in the region of Wielkopolska in autumn 2011–2013

Stężenie askospor grzybów workowych *Leptosphaeria maculans* i *L. biglobosa* w Wielkopolsce jesienią 2011–2013

Joanna Kaczmarek¹, Andrzej Brachaczek², Małgorzata Jędrzycka^{1*}

Summary

Two fungal species *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* cause stem canker of brassicas, one of the most important diseases of oilseed rape in Poland and worldwide. Ascospores are the primary inoculum responsible for the first leaf spot symptoms on plants. These spores originate from pseudothecia – sexual fruiting bodies formed on oilseed rape stubble from the previous season's crop. Monitoring of ascospore release enables identification of the optimal time for plant protection by fungicide application. The aim of this work was to assess the risk of infection of oilseed rape in relation to ascospore concentration in the air. Experiments were performed in autumn 2011–2013 in the region of Wielkopolska. In subsequent years of studies the maximum concentration of ascospores per cubic meter of the air were: 86 (2011), 68 (2012), 30 (2013). In 2011 and 2012 the peak concentrations of spores were observed in October (9 October 2011, 23 October 2012) and in 2013 – on 27 September. In the period from the beginning of September to the end of November, ascospores were present in the air for *c.a.* 65% of days. The results indicate that oilseed rape fields in Great Poland are at great risk of stem canker, caused by *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* species complex.

Key words: ascospores; decision support system; oilseed rape; stem canker

Streszczenie

Dwa gatunki grzybów *Leptosphaeria maculans* i *L. biglobosa* są przyczynami suchej zgnilizny kapustnych, jednej z najgroźniejszych chorób rzepaku w Polsce i na świecie. Pierwotnym źródłem porażenia roślin są zarodniki workowe zwane askosporami, które powstają w pseudotecjach – owocnikach stadium doskonałego tworzonych na resztkach poźniwnych z poprzedniego sezonu wegetacyjnego. Monitorowanie uwalniania zarodników pozwala na precyzyjne określenie optymalnego terminu zwalczania choroby przez zastosowanie ochrony chemicznej. Celem pracy była ocena ryzyka infekcji rzepaku w zależności od obecności zarodników workowych *Leptosphaeria* spp. w powietrzu. Badania wykonano w latach 2011–2013 w okresie jesiennym w Wielkopolsce. W poszczególnych latach najwyższe stężenie askospor w 1 metrze sześciennym powietrza wynosiło odpowiednio 86 (2011), 68 (2012), 30 (2013) zarodników. W latach 2011 i 2012 najwyższe stężenie zarodników workowych w powietrzu obserwowano w październiku (9 października 2011, 23 października 2012), natomiast w 2013 roku był to 27 września. W okresie od początku września do końca listopada zarodniki były obecne w powietrzu przez około 65% dni. Takie wartości parametrów dowodzą, że w Wielkopolsce występuje bardzo duże zagrożenie rzepaku suchą zgnilizną kapustnych powodowaną przez kompleks grzybów *Leptosphaeria maculans* i *L. biglobosa*.

Słowa kluczowe: askospory; system wspomagania decyzji; rzepak; sucha zgnilizna kapustnych

¹Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk
Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

*corresponding author: mjed@igr.poznan.pl

²DuPont Poland Sp. z o.o.
Postępu 17b, 02-676 Warszawa
andrzej.brachaczek@pol.dupont.com

Wstęp / Introduction

Sucha zgnilizna kapustnych jest jedną z najgroźniejszych chorób rzepaku w Polsce i na świecie (Fitt i wsp. 2006; Kaczmarek i Jędrzycka 2011). Przyczyną są dwa pokrewne gatunki grzybów: *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. oraz *L. biglobosa* (Shoemaker i Brun 2001), które przeżywają na resztkach poźniowych w formie grzybni i owocników stadium konidialnego zwanych piknidiami oraz owocników stadium generatywnego zwanych pseudotecjami (Weber i Karolewski 1997; Dawidziuk i wsp. 2010). Rozmnażanie generatywne zachodzące w pseudotecjach skutkuje wytwarzaniem zarodników workowych zwanych askosporami (Petrie 1995). Uwalniające się z pseudotecjów askospory są głównym źródłem porażenia roślin rzepaku (Huang i wsp. 2005). Na liściach tworzą się wówczas szarozielone lub beżowe plamy, czasem otoczone brunatną obwódką. W obrębie plam występują piknidia, tj. owocniki stadium konidialnego, w których powstają zarodniki konidialne, powodujące dalsze porażenie tej samej rośliny lub roślin sąsiednich (Jędrzycka 2006). W warunkach sprzyjających rozwojowi patogena grzyb kolonizuje tkanki liści, a następnie przez ogonek liściowy przerasta do łodygi (Hammond i wsp. 1985). Od terminu porażenia i szybkości wzrostu grzyba w tkankach rośliny, warunkowanej m.in. temperaturą otoczenia i odpornością roślin, zależy nasilenie objawów i szkodliwość choroby. Cykl rozwojowy grzybów *Leptosphaeria* spp., w tym uwalnianie askospor z owocników jest uzależnione od warunków pogodowych, w związku z czym różni się w poszczególnych lokalizacjach i sezonach badawczych (Toscano-Underwood i wsp. 2001; Aubertot 2006a). Znajomość terminów maksymalnego uwalniania askospor stanowi ważny czynnik przy podejmowaniu decyzji dotyczącej ochrony rzepaku przed suchą zgnilizną kapustnych (Kaczmarek i wsp. 2011).

W 2004 roku z inicjatywy Instytutu Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk oraz DuPont Poland powstał System Prognozowania Epidemii Chorób (SPEC), którego zadaniem jest określenie optymalnego terminu wykonania zabiegów fungicydowych na podstawie wyników monitoringu inokulum pierwotnego patogenów (Jędrzycka i wsp. 2009). Obecnie w dziewięciu miejscach w Polsce – odpowiadających dziewięciu regionom klimatycznym – działają pułapki wolumetryczne, które wychwytyją zarodniki workowe. Jedną z pułapek działa na terenie Wielkopolski, która jest jednym z najważniejszych regionów produkcyjnych rzepaku w Polsce.

Celem pracy była ocena ryzyka porażenia roślin rzepaku przez grzyby powodujące suchą zgniliznę kapustnych na podstawie analizy stężenia askospor *Leptosphaeria* spp. w powietrzu, w latach 2011–2013, w tym regionie.

Materiały i metody / Materials and methods

Badania wykonano jesienią w latach 2011–2013 na polu Instytutu Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Oznaczanie zmian w dobowym stężeniu askospor chorobotwórczych grzybów *L. maculans* i *L. biglobosa*

w powietrzu prowadzono metodą wolumetryczną (objętościową) z wykorzystaniem pułapki Burkarda (Burkard Manufacturing Ltd., Wielka Brytania). Urządzenie to ustawiono na wysokości gruntu i otoczono 0,35 m³ słomy rzepakowej porażonej przez grzyby *L. maculans* i *L. biglobosa*. Porażony materiał roślinny zebrano z okolicznych plantacji. Konstrukcja aparatu umożliwiała zasysanie 10 litrów powietrza na minutę. Wewnątrz aparatu umieszczono bęben, który dzięki mechanizmowi zegarowemu poruszał się z prędkością 2 mm/h. Co tydzień na bębnie montowano taśmę celofanową typu Melinex, którą pokrywano warstwą lepiku opartego na bazie wazeliny i heksanu. Taśmę zmieniano o stałej porze w cyklu siedmiodniowym. Oznaczenia liczby askospor grzybów *Leptosphaeria* spp. wykonano za pomocą mikroskopu świetlnego przy powiększeniu 200x (Zeiss Axiostar, Niemcy). Do wyznaczenia stężenia tych zarodników w 1 m³ powietrza zastosowano metodę przeliczania opisaną przez Lacey i Westa (2006). Metoda mikroskopowa umożliwia określenie łącznego stężenia zarodników workowych obu gatunków grzybów w powietrzu, ponieważ pod względem morfologicznym askospory *L. maculans* i *L. biglobosa* są prawie identyczne.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W badaniach skoncentrowano się na zależnościach występujących jesienią, gdyż w tym właśnie okresie występowanie askospor jest największe i może powodować silne porażenie liści rzepaku (Fitt i wsp. 2006).

Warunki pogodowe w badanym okresie były bardzo zróżnicowane, głównie pod względem ilości i rozkładu opadów. W lipcu 2011 i 2012 roku miesięczna suma opadów była 2,5–3,4-krotnie wyższa niż w roku 2013, a opady stwierdzono w ponad 60% dni. W lipcu średnia miesięczna temperatura wahała się od 17,9–20,7°C. W sierpniu opady występowały w 35,5% dni w 2013 roku, w 41,9% w 2012 i aż w 48,4% dni w 2011 roku. Mokry i ciepły lipiec oraz sierpień, szczególnie w latach 2011 i 2012 sprzyjały rozwojowi owocników na słomie rzepakowej pochodzącej z poprzedniego sezonu wegetacyjnego.

We wszystkich sezonach badawczych w powietrzu stwierdzano obecność zarodników workowych grzybów *L. maculans* i *L. biglobosa*. Przebieg uwalniania askospor w poszczególnych latach był zróżnicowany, zwłaszcza pod względem terminu i wielkości ich najwyższego stężenia.

W poszczególnych sezonach data pierwszej detekcji askospor znacznie się różniła. Najwcześniej zaobserwowano je jesienią 2013 roku (5 września), a najpóźniej w roku 2011 (10 września) (tab. 1). Dane te wskazują na coraz wcześniejszy termin uwalniania pierwszych askospor. Model matematyczny stworzony na podstawie tych danych wskazuje na silny związek pomiędzy terminem uwalniania askospor, warunkami meteorologicznymi i zachodzącymi zmianami klimatu (Aubertot i wsp. 2006a; Dawidziuk i wsp. 2013). Wyniki takie mogą także sugerować, że w populacji patogena łatwiej przeżywają te formy, które są zdolne do wczesnego tworzenia pseudotecjów, a następnie uwalniania askospor.

Tabela 1. Warunki pogodowe w okresie od żniw do spoczynku zimowego 2011–2013
Table 1. Weather conditions in the period from harvest to winter dormancy 2011–2013

Rok Year	Miesiąc Month	Opady Rainfall [mm]		Procent dni z deszczem Percent of rainy days [%]	Temperatura Temperature [°C]	
		średnia mean	suma sum		średnia mean	suma sum
2011	Lipiec – July	3,7	113,8	61,3	17,9	554,4
	Sierpień – August	1,0	36,8	48,4	19,0	588,2
	Wrzesień – September	0,6	16,8	30,0	15,7	470,0
	Październik – October	0,5	15,2	32,3	0,5	15,2
	Listopad – November	0,1	1,6	20,0	0,1	1,6
2012	Lipiec – July	4,9	152,1	64,5	19,8	614,3
	Sierpień – August	1,3	38,9	41,9	19,2	595,1
	Wrzesień – September	1,1	32,5	32,3	14,9	446,3
	Październik – October	0,9	28,4	32,3	8,7	271,1
	Listopad – November	2,0	59,9	54,8	5,6	169,3
2013	Lipiec – July	1,5	45,0	38,7	20,7	641,5
	Sierpień – August	1,2	35,8	35,5	19,8	612,7
	Wrzesień – September	2,5	71,6	46,7	13,1	394,0
	Październik – October	0,5	15,5	26,7	10,8	334,8
	Listopad – November	1,3	39,4	43,3	1,3	39,4

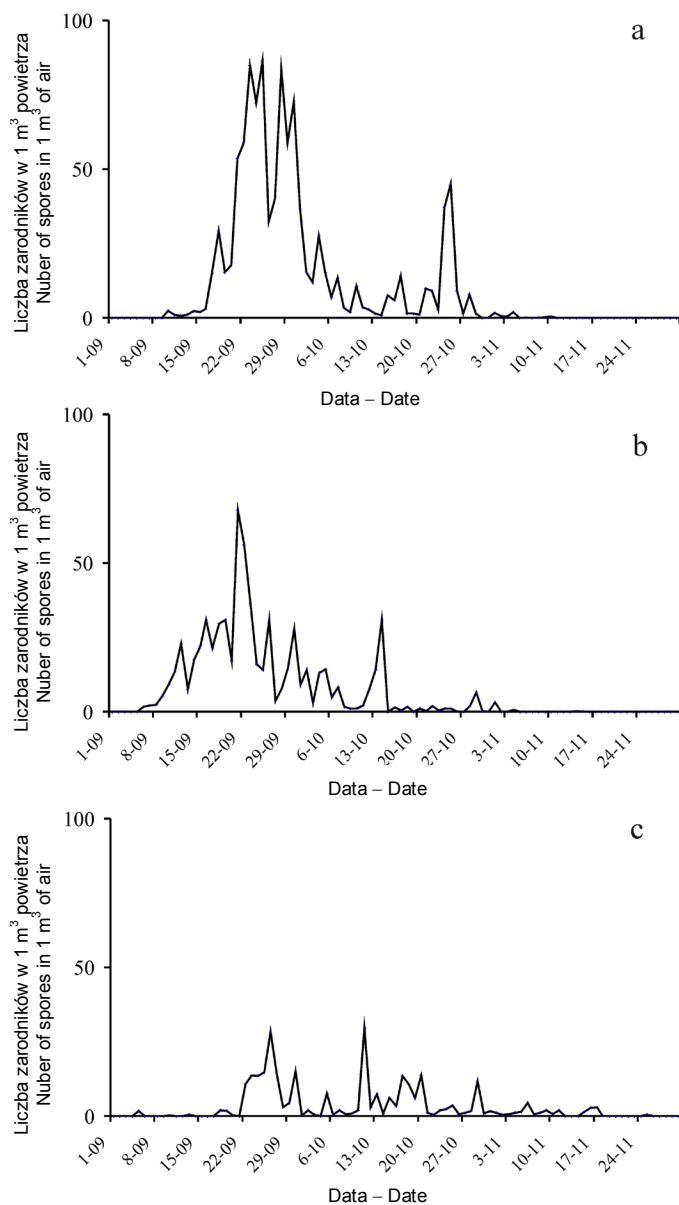
Tabela 2. Charakterystyka przebiegu uwalniania askospor grzybów *L. maculans* i *L. biglobosa* w Poznaniu w badanym okresie
Table 2. Characteristic of *L. maculans* and *L. biglobosa* ascospore release in Poznan in the period of study

Parametr – Parameter	Jesień – Autumn		
	2011	2012	2013
Data detekcji pierwszych askospor Date of the detection of the first ascospores	10.09	06.09	05.09
Data detekcji maksymalnego stężenia askospor Date of the detection of the maximum concentration of ascospores	09.10	23.10	27.09
Najwyższe stężenie askospor w 1 m ³ powietrza The highest concentration of ascospores in 1 m ³ of air	86	68	30
Liczba dni z askosporami w powietrzu Number of days with ascospores in the air	59	57	61
Liczba dni z askosporami powyżej 10 szt./m ³ powietrza Number of days with ascospore concentration > 10/m ³	24	22	12
Liczba dni z askosporami powyżej 25 szt./m ³ powietrza Number of days with ascospore concentration > 25/m ³	15	9	2
Liczba dni z askosporami powyżej 50 szt./m ³ powietrza Number of days with ascospore concentration > 50/m ³	8	2	0

Najwcześniej maksymalne stężenie zarodników *L. maculans* i *L. biglobosa* (30 w 1 m³ powietrza) stwierdzono w dniu 27 września 2013 roku (rys. 1). W 2012 roku maksymalne stężenie wynoszące 68 zarodników w 1 m³ powietrza odnotowano najpóźniej (23 października). W badanych latach najwyższe stężenie wynoszące 86 askospor w 1 m³ powietrza stwierdzono w 2011 roku (9 października), co świadczy, że ryzyko infekcji w tym roku było najsilniejsze, a warunki pogodowe sprzyjały rozwojowi

infekcji (rys. 1). Stężenie askospor jest nie tylko uzależnione od inokulum rozmieszczonego wokół pułapki, lecz również od obecności źródeł infekcji na okolicznych polach. Zarodniki workowe *Leptosphaeria* spp. mogą się przemieszczać wraz z wiatrem na odległość około 5 kilometrów (Hall 1992), lecz ich większość osiada w promieniu 500 metrów od źródła infekcji (Aubertot i wsp. 2006b).

W okresie jesiennym w latach 2011–2013 różnica między datami, w których odnotowano najwyższe stężenia



Rys. 1. Dynamika uwalniania askospor grzybów *Leptosphaeria* spp. w Poznaniu, w okresie jesieni, w latach 2011 (a), 2012 (b) i 2013 (c)
 Fig. 1. Ascospore release profile of *Leptosphaeria* spp. in Poznań, in autumn of 2011 (a), 2012 (b) and 2013 (c)

askospor w powietrzu wynosiła 26 dni. Liczba dni, w których obserwowano askospory była bardzo zbliżona i wahała się od 57 (2012) do 61 (2013) (tab. 1). Stężenie wyższe niż 10 askospor w 1 m^3 powietrza odnotowano aż przez 24 dni w 2011 roku, natomiast w roku 2013 jedynie przez 12 dni. Stężenia wynoszące powyżej 25 askospor w 1 m^3 stwierdzano przez 2 (2013) do 15 (2011) dni. Stężenia powyżej 50 askospor w 1 m^3 odnotowano jedynie jesienią 2011 i 2012 roku (tab. 1, rys. 1).

Uzyskane wyniki wskazują, że w Wielkopolsce występują warunki korzystne dla rozwoju grzybów powodujących suchą zgnilizną kapustnych, choć obserwuje się zróżnicowanie nasilenia występowania inokulum w poszczególnych latach prowadzenia monitoringu. W badanym okresie uwalnianie askospor zachodziło bez przeszkód. Z praktycznego punktu widzenia ważne było określenie liczby dni, w których obserwowano je w największym oraz

najmniejszym nasileniu. Oznaczanie stężenia askospor *L. maculans* i *L. biglobosa* za pomocą urządzeń wolumetrycznych jest ważnym narzędziem do wskazania właściwego terminu wykonania zabiegu fungicydowego w celu ochrony rzepaku przed suchą zgnilizną kapustnych.

Wnioski / Conclusions

1. Zagrożenie rzepaku suchą zgnilizną kapustnych w Wielkopolsce jest wysokie.
2. Ze względu na długie okresy uwalniania askospor grzybów rodzaju *Leptosphaeria*, wykonanie tylko jednego zabiegu fungicydowego jesienią może nie być wystarczające do skutecznego ograniczenia tej choroby.

Literatura / References

- Aubertot J.N., Salam M.U., Diggle A.J., Dakowska S., Jędrzycka M. 2006a. SimMat, a new dynamic module of Blackleg Sporacle for the prediction of pseudothecia maturation of *L. maculans*/*L. biglobosa* species complex. Parameterisation and evaluation in Polish conditions. IOBC-WPRS Bulletin 29 (7): 279–287.
- Aubertot J.N., West J.S., Bousset-Vaslin L., Salam M.U., Barbetti M.J., Diggle A.J. 2006b. Improved resistance management for durable disease control: A case study of phoma stem canker of oilseed rape (*Brassica napus*). European Journal of Plant Pathology 114: 91–106.
- Dawidziuk A., Aubertot J.N., Kaczmarek J., Jędrzycka M. 2013. Prediction of *Leptosphaeria maculans* – *L. biglobosa* pseudothecial maturation in Poland. IOBC-WPRS Bulletin 92: 135–141.
- Dawidziuk A., Kasprzyk I., Kaczmarek J., Jędrzycka M. 2010. Pseudothecial maturation and ascospore release of *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* in south-east Poland. Acta Agrobotanica 63 (1): 107–120.
- Fitt B.D.L., Brun H., Barbetti M.J., Rimmer S.R. 2006. World-wide importance of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). European Journal of Plant Pathology 114: 3–15.
- Hall R. 1992. Epidemiology of blackleg of oilseed rape. Canadian Journal of Plant Pathology 14: 46–55.
- Hammond K.E., Lewis B.G., Musa T.M. 1985. A systemic pathway in the infection of oilseed rape plants by *Leptosphaeria maculans*. Plant Pathology 34: 557–565.
- Huang Y.J., Fitt B.D.L., Jędrzycka M., West J.S., Gladders P., Steed J.M., Li Z.Q. 2005. Patterns of ascospore release in relation to phoma stem canker epidemiology in England (*Leptosphaeria maculans*) and Poland (*Leptosphaeria biglobosa*). European Journal of Plant Pathology 111: 253–277.
- Jędrzycka M. 2006. Epidemiologia i szkodliwość suchej zgnilizny kapustnych na rzepaku ozimym w Polsce. Rozprawy i Monografie IGR PAN 17, 150 ss.
- Jędrzycka M., Brachaczek A., Kaczmarek J., Dawidziuk A., Mączyńska A., Podleśna A., Kasprzyk I., Karolewski Z., Lewandowski A. 2009. SPEC – system wspomaganie decyzji w ochronie rzepaku przed suchą zgnilizną kapustnych w Polsce. s. 19–32. W: „Systemy wspomaganie decyzji w zrównoważonej produkcji roślinnej” (A. Harasim, red.). IUNG – PIB Puławy. Studia i Raporty IUNG – PIB 16, 117 ss.
- Kaczmarek J., Brachaczek A., Jędrzycka M. 2011. Wpływ terminu stosowania fungicydu zawierającego flusilazol na skuteczność ochrony rzepaku ozimego przed suchą zgnilizną kapustnych. Rośliny Oleiste – Oilseed Crops 32 (2): 153–166.
- Kaczmarek J., Jędrzycka M. 2011. Characterization of two coexisting pathogen populations of *Leptosphaeria* spp., the cause of stem canker of brassicas. Acta Agrobotanica 64 (2): 3–14.
- Lacey M., West J.S. 2006. The Air Spora: a Manual for Catching and Identifying Airborne Biological Particles. Springer-Verlag GmbH, 156 pp.
- Petrie G.A. 1995. Patterns of ascospore discharge by *Leptosphaeria maculans* (blackleg) from 9- to 13-month-old naturally infected rapeseed/canola stubble from 1977 to 1993 in Saskatchewan. Canadian Plant Disease Survey 75: 35–43.
- Shoemaker R.A., Brun H. 2001. The teleomorph of the weakly aggressive segregate of *Leptosphaeria maculans*. Canadian Journal of Botany 79: 412–419.
- Toscano-Underwood C., West J.S., Fitt B.D.L., Todd A.D., Jędrzycka M. 2001. Development of phoma lesions on oilseed rape leaves inoculated with ascospores of A-group or B-group *Leptosphaeria maculans* (stem canker) at different temperatures and wetness durations. Plant Pathology 50: 28–41.
- Weber Z., Karolewski Z. 1997. Porażone fragmenty roślin rzepaku ozimego z poprzedniego sezonu wegetacyjnego jako źródło suchej zgnilizny roślin kapustnych (*Leptosphaeria maculans* Desm. Ces. et de Not.). Rośliny Oleiste – Oilseed Crops 18 (2): 321–324.