

Received: 06.05.2016 / Accepted: 25.08.2016

## Virulence assessment of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* isolates derived from winter oilseed rape towards selected plants from Brassicaceae family

### Ocena wirulencji izolatów *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* pochodzących z rzepaku ozimego wobec wybranych roślin z rodziny Brassicaceae

Marcin Wieczyński\*, Zbigniew Karolewski

#### Summary

Stem canker is one of the most important diseases of oilseed rape, caused by two pathogens – *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*. The purpose of the study was virulence characterization of *L. maculans* and *L. biglobosa* on plants from Brassicaceae family. The isolates from *L. maculans* (isolates: I, II, III) and *L. biglobosa* (isolates: IV, V, VI) were obtained from stems and leaves with blackleg symptoms from six cultivars of winter oilseed rape plants. In a greenhouse experiment seeds of Brassicaceae plants were sown into soil inoculated with *L. maculans* and *L. biglobosa*. *Raphanus sativus* L. var. *niger* (3,2) and *Brassica oleracea* convar. *capitata* f. *alba* (3,4) showed the highest infection degree, while *Lepidium sativum* and *Brassica oleracea* var. *botrytis* subvar. *asparagooides* demonstrated the highest percent of infected plants, 87% and 92% respectively. The isolate IV (*L. biglobosa*) was the most virulent isolate on examined plant species. A linear growth of mycelium of *L. maculans*, *L. biglobosa* was assessed at various temperatures: 12, 23 and 30°C in a laboratory conditions. The largest daily growth of mycelium had been found for the isolate number IV (*L. biglobosa*) at each of tested temperatures. The correlation between the growth *in vitro* and pathogenicity of both species was examined as well. A positive correlation between these two traits for *L. biglobosa* was proved for all tested plants with the exception of *Sinapis alba*, *Brassica oleracea* convar. *acephala* and *Brassica rapa* var. *rapa*. A positive correlation for *L. maculans* occurred only for *R. sativus* var. *niger*.

**Key words:** *Leptosphaeria maculans*; *Leptosphaeria biglobosa*; Brassicaceae; correlation; winter oilseed rape

#### Streszczenie

Sucha zgnilizna kapustnych jest jedną z najważniejszych chorób rzepaku, jej sprawcami są dwa patogeny – *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa*. Celem badań było określenie wirulencji *L. maculans* i *L. biglobosa* wobec roślin należących do rodziny Brassicaceae. Izolaty dwóch gatunków grzyba *L. maculans* (izolaty: I, II, III) i *L. biglobosa* (izolaty: IV, V, VI) zostały wyizolowane z liści i łodyg sześciu odmian rzepaku ozimego z objawami chorobowymi. W warunkach szklarniowych nasiona roślin z rodziny Brassicaceae wysiewano do gleby inokulowanej przez *L. maculans* i *L. biglobosa*. W największym stopniu porażane były rośliny *Raphanus sativus* L. var. *niger* (3,2) i *Brassica oleracea* convar. *capitata* f. *alba* (3,4), natomiast w przypadku *Lepidium sativum* i *Brassica oleracea* var. *botrytis* subvar. *asparagooides* stwierdzono najwyższy procent porażonych roślin – odpowiednio (87%) i (92%). Największą wirulencją wobec badanych roślin wykazał się izolat IV (*L. biglobosa*). W doświadczeniu laboratoryjnym oceniono wzrost liniowy grzybni w temperaturach: 12, 23 i 30°C. Spośród badanych izolatów największym dobowym przyrostem grzybni we wszystkich badanych temperaturach charakteryzował się izolat IV (*L. biglobosa*). Zbadano korelacje między wzrostem *in vitro* a wirulencją obu gatunków. Wykazano dodatnią korelację między tymi cechami u *L. biglobosa* dla wszystkich badanych roślin z wyjątkiem *Sinapis alba*, *Brassica oleracea* convar. *acephala* i *Brassica rapa* var. *rapa*. Korelacja dodatnia między tymi cechami dla *L. maculans* występowała tylko u *R. sativus* var. *niger*.

**Słowa kluczowe:** *Leptosphaeria maculans*; *Leptosphaeria biglobosa*; Brassicaceae; korelacja; rzepak ozimy

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa  
Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

\*corresponding author: wieczynski.marcin@gmail.com

## Wstęp / Introduction

Sucha zgnilizna kapustnych występuje na wielu gatunkach roślin z rodziny Brassicaceae. Sprawcami choroby są dwa gatunki grzybów: *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. i *Leptosphaeria biglobosa* (Shoemaker i Brun 2001). Pierwotnym źródłem porażenia są najczęściej zarodniki workowe powstałe w pseudotecjach znajdujących się na resztkach poźniwnych, a także grzybnia pochodząca z resztek poźniwnych oraz nasion (West i wsp. 2001; Aubertot i wsp. 2006). Wtórny źródłem porażenia są zarodniki konidialne powstałe w piknidiach tworzących się na liściach w okresie wegetacji (McGee i Petrie 1978; Hammond i Lewis 1987). Sucha zgnilizna kapustnych wywołuje największe szkody na całym świecie na rzepaku ozimym i jarym (Fitt i wsp. 2006). Choroba występuje również na innych roślinach uprawnych z rodziny Brassicaceae, takich jak: kalafior, brokuł, kapusta pekińska, kapusta głowiasta, rzodkiew, gorczyca, rzepik oraz chrzan (Kochman i Węgorok 1997), czy chwastach: tobołki polne, rzodkiew świrzepa, pszonak, stulisz oraz pieprznica (Rouxel i wsp. 1995). Patogeny te powodują objawy chorobowe na różnych organach – szyjkach korzeniowych, hypokotylach, liścieniach, liściach, łodygach, łuszczynach oraz kwiatach (Karolewski 1998; Jędryczka 2006; Starzycki i wsp. 2006; Karolewski i wsp. 2007; Kryczyński i Weber 2011; Mitrovic i wsp. 2014).

Istotne dla praktyki rolniczej jest stwierdzenie, czy w obecnie występujących populacjach *L. maculans* oraz *L. biglobosa* znajdują się izolaty mogące zakazać inne rośliny kapustowate. Zjawisko to mogłoby powodować przetrwanie patogenów oraz sprzyjać ich zmienności.

Celem badań była ocena zdolności do porażenia szyjki korzeniowej roślin z rodziny Brassicaceae przez izolaty *L. maculans* oraz *L. biglobosa* wyizolowane z roślin rzepaku ozimego oraz porównanie ich wzrostu liniowego grzybni w różnych temperaturach.

## Materiały i metody / Materials and methods

Fragmety roślin z objawami choroby pozyskano w maju 2014 roku z poletek doświadczalnych Wielkopolskiego Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Sielinku. Podczas kwitnienia zebrano po 10 łodyg i liści z każdej z pięciu odmian rzepaku ozimego z widocznymi objawami suchej zgnilizny kapustnych: mieszańcowych – Anderson,

Albatros, Artoga, Visby i populacyjnej – Arot (tab. 1). Odmiana Anderson posiada gen odporności *Rlm7* na *L. maculans*. Z każdej rośliny wycinano od 1 do 6 fragmentów zainfekowanej tkanki liści i łodyg o średnicy 1 cm. Materiał roślinny był zanurzany w roztworze podchlorynu sodu na czas 1 min. 30 s celem odkażenia. Następnie za pomocą skalpela z każdego zainfekowanego fragmentu rośliny wykrawano po 5 skrawków z granicy chorej i zdrowej tkanki. Skrawki umieszczono na płytkach Petriego z pożywką PDA (Potato Dextrose Agar). W warunkach szklarniowych rośliny z rodziny Brassicaceae wysiano do doniczek z glebą zdezynfekowaną przez parowanie (tab. 2). Nasiona po uprzednim odkażeniu w 3% roztworze podchlorynu sodu w czasie 3 minut, umieszczano na krążkach z pożywką PDA o średnicy 5 mm przerośniętych przez grzybnie danego izolatu, następnie umieszczano je w glebie na głębokości 2 cm. W ten sposób wysiewano po 15 nasion (5 do jednej doniczki) wszystkich badanych roślin, używając 6 izolatów. Do badań użyto 3 izolatów *L. maculans* (I, II, III) i 3 izolaty *L. biglobosa* (IV, V, VI). Kontrolę stanowiły rośliny nieinokulowane. Gdy rośliny były w fazie 3–5 liści właściwych oceniono liczbę chorych roślin, stopień porażenia za pomocą skali 0–6 (0 – rośliny zdrowe; 1 – szyjka korzeniowa zbrunatniała na części obwodu; 2 – szyjka korzeniowa zbrunatniała na całym obwodzie, jeżeli jej przewężenie nie jest większe niż 15%; 3 – szyjka korzeniowa zbrunatniała na całym obwodzie, a jej przewężenie w stosunku do części podliścieniowej wynosi 16–25%; 4 – szyjka korzeniowa zbrunatniała na całym obwodzie, a jej przewężenie w stosunku do części podliścieniowej wynosi 26–50%; 5 – szyjka korzeniowa zbrunatniała na całym obwodzie, a jej przewężenie w stosunku do części podliścieniowej wynosi więcej niż 50%; 6 – roślina zamarała (Karolewski i Weber 1993). W warunkach laboratoryjnych na płytce Petriego z jednakową ilością 15 ml niezakwaszonej pożywki PDA (Difco) wszczepiono trzy izolaty *L. maculans* (I, II, III) oraz trzy izolaty *L. biglobosa* (IV, V, VI). Na środku płytki Petriego umieszczano 5 mm krążki pożywki przerośniętej przez grzybnie danego izolatu. Po 5 płytek z każdym izolatem umieszczono w termostatach o temperaturach: 12, 23 i 30°C. Średnice kolonii mierzono po 21 dniach. Cechy morfologiczne określono na podstawie obserwacji makroskopowych i mikroskopowych, opisano zdolność do wytwarzania grzybni powietrznej, regularność kolonii, zdolność do wytwarzania owocników oraz zdolność do wytwarzania żółtego pigmentu.

Tabela 1. Izolaty *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* pozyskane z odmian rzepaku ozimego

Table 1. Isolates of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* collected from cultivars of winter oilseed rape

Gatunek patogena Pathogen species	Nr izolatu No. isolate	Odmiana rzepaku ozimego Cultivar of winter oilseed rape	Organ rośliny z objawami suchej zgnilizny kapustnych Organ plants with symptoms of blackleg
<i>Leptosphaeria maculans</i>	I	Albatros	łodyga – stalk
<i>Leptosphaeria maculans</i>	II	Arot	łodyga – stalk
<i>Leptosphaeria maculans</i>	III	Artoga	liść – leaf
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	IV	Anderson	łodyga – stalk
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	V	Arot	łodyga – stalk
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	VI	Visby	łodyga – stalk

Tabela 2. Wykaz roślin z rodziny Brassicaceae inokulowanych *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa*  
 Table 2. List of plants from Brassicaceae family inoculated with *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*

<i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>	kapusta głowiasta czerwona – red cabbage
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>rapa</i>	rzepa – turnips
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>sativus</i>	rzodkiewka – radish
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>asparagoides</i>	brokuł – broccoli
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>acephala</i>	jarmuż – kale
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>	kapusta głowiasta biała – white cabbage
<i>Brassica napus</i> L.	rzepak ozimy – winter oilseed rape
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	kalafior – cauliflower
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>	kalarepa – kohlrabi
<i>Sinapis alba</i> L.	gorczyca biała – white mustard
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>niger</i>	rzodkiew – Spanish black radish
<i>Lepidium sativum</i> L.	rzeżucha – cress
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i>	kapusta brukselska – brussels sprouts
<i>Brassica pekinensis</i>	kapusta pekińska – chinese cabbage

Podczas doświadczenia szklarniowego średni poziom temperatur wyniósł 19,6°C. Przez pierwsze 3 tygodnie średnia temperatura wynosiła około 21°C, w ostatnim tygodniu notowany był widoczny spadek temperatury do około 15°C. Wilgotność względna w szklarni oscylowała między 50 a 60%, jedyny skrajny przypadek miał miejsce w 10. dniu badań, gdzie wilgotność wzrosła do 69%. Średni procent wilgotności względnej podczas doświadczenia wyniósł 56,8%.

Do oceny wyników w doświadczeniu szklarniowym zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji, wykorzystując test Duncana na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . W doświadczeniu laboratoryjnym wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji, oddzielnie dla każdej temperatury, wykorzystując test Duncana na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Do określenia związku między wzrostem grzybni na pożywce PDA w warunkach laboratoryjnych *L. maculans* i *L. biglobosa* a ich wirulencją wobec roślin z rodziny Brassicaceae w warunkach szklarniowych, wykorzystano macierz korelacji na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Wzrost *in vitro* wyrażony był średnią (mm/dobę) w 3 badanych temperaturach (12, 23, 30°C) dla obu badanych gatunków grzyba. Wszystkie obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu programu STATISTICA v. 10.

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Umieszczenie nasion roślin z rodziny Brassicaceae w glebie na krążkach przerośniętych grzybnią izolatów *L. maculans* i *L. biglobosa* nie zahamowało wschodów roślin. Szyjki korzeniowe młodych roślin najsilniej porażał izolat IV – *L. biglobosa* (tab. 3). Istotnie statystycznie porażenie w porównaniu z roślinami nieinokulowanymi, wyrażone stopniem porażenia przez izolat IV stwierdzono w przypadku 78,6% badanych roślin (tab. 4). Istotny statystycznie procent roślin z objawami porażenia stwier-

dzono u 71,4% badanych roślin (tab. 5). W największym stopniu porażone przez izolat IV (*L. biglobosa*) zostały rośliny rzodkwi zwyczajnej (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) (3,2) i kapusty głowiastej czerwonej (*Brassica oleracea* convar. *capitata* f. *rubra*) (3,4), natomiast rzeżucha zwyczajna (*Lepidium sativum*) i brokuł zwyczajny (*Brassica oleracea* var. *botrytis* subvar. *asparagoides*) uległy porażeniu w największym procencie – odpowiednio 87 i 92%. Średnio w najmniejszym stopniu i procencie porażana była gorczyca biała (*Sinapis alba*). W badaniach Marcroft i wsp. (2002) na terenie Australii gatunek *S. alba* posłużył jako półprodukt do stworzenia linii odpornych *B. napus* na *L. maculans*. Objawów chorobowych również nie zaobserwowano na jarmużu (*Brassica oleracea* convar. *acephala*). Spośród zebranych izolatów *L. maculans* największą wirulencją w stosunku do badanych roślin wykazał się izolat III, nie zaobserwowano roślin porażonych przez izolat II, natomiast izolat I porażał tylko rzodkiew zwyczajną (*Raphanus sativus* L. var. *niger*). Niniejsze wyniki wskazują, że *L. biglobosa* ma większą zdolność do porażania młodych roślin z rodziny Brassicaceae niż *L. maculans*. Tę zależność stwierdził też Karolewski (1998), który badał w doświadczeniu szklarniowym podatność rzepaku ozimego oraz innych roślin z rodziny Brassicaceae na porażenie przez grzyby rodzaju *Leptosphaeria*. Do podobnych wniosków doszła Jędrzycka (2006), która badała podatność siewek rzepaku na *L. maculans* i *L. biglobosa* w teście glebowym. Z kolei Starzycki i wsp. (2006) stwierdzili znacznie silniejsze porażenie części podliścieniowej siewek rzepaku przez *L. maculans*, przy niższym udziale w porażeniu *L. biglobosa*. Weber i Karolewski (1997) udowodnili w swoich badaniach, że sprawcy suchej zgnilizny kapustnych bytują na resztkach poźniowych z poprzedniego sezonu i mogą stanowić inokulum pierwotne. W badaniach Karolewskiego (1998) prowadzono ocenę występowania suchej zgnilizny kapustnych na roślinach z rodziny Brassicaceae w warunkach

Tabela 3. Wirulencja *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* wobec roślin z rodziny Brassicaceae  
Table 3. The virulence of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* towards plants from Brassicaceae family

Gatunek grzyba Species of fungus	Numer izolatu Number of isolate	Średni procent porażonych roślin Mean percentage of infected plants	Średni stopień porażenia roślin Mean degree of infected plants
<i>Leptosphaeria maculans</i>	I	0,36 a	0,05 ab
	II	0,00 a	0,00 a
	III	11,81 b	0,56 bc
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	IV	45,54 c	2,01 d
	V	7,99 b	0,56 bc
	VI	18,07 b	0,90 c

Jednakowymi literami w kolumnach oznaczono wartości nieróżniące się istotnie statystycznie ( $\alpha = 0,05$ )  
Values in columns marked with the same letters do not differ significantly ( $\alpha = 0.05$ )

Tabela 4. Stopień porażenia roślin z rodziny Brassicaceae przez *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa*  
Table 4. Infection degree of plants from Brassicaceae family caused by *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*

Rośliny Plants	Średni stopień porażenia roślin przez The average degree of infection of plants by						kontrola control
	<i>Leptosphaeria maculans</i>			<i>Leptosphaeria biglobosa</i>			
	I	II	III	IV	V	VI	
<i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,1 <sup>d</sup>	3,4 <sup>i</sup>	0,9 <sup>d</sup>	0,6 <sup>cd</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>rapa</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,3 <sup>b</sup>	1,2 <sup>b</sup>	1,1 <sup>e</sup>	2 <sup>i</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>sativus</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,4 <sup>b</sup>	2,2 <sup>ef</sup>	0,8 <sup>d</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>asparagoides</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,6 <sup>f</sup>	2,3 <sup>f</sup>	1,1 <sup>e</sup>	1,8 <sup>h</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>acephala</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	2,6 <sup>gh</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica napus</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,4 <sup>c</sup>	1,3 <sup>f</sup>	1,3 <sup>g</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,3 <sup>e</sup>	2,6 <sup>gh</sup>	1,3 <sup>f</sup>	0,7 <sup>de</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	2,5 <sup>g</sup>	0,5 <sup>c</sup>	0,8 <sup>e</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Sinapis alba</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,4 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>niger</i>	0,7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	3,2 <sup>i</sup>	0,5 <sup>c</sup>	2 <sup>i</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Lepidium sativum</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,7 <sup>c</sup>	2,1 <sup>de</sup>	0 <sup>a</sup>	0,5 <sup>bc</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0,7 <sup>c</sup>	2 <sup>d</sup>	0 <sup>a</sup>	1 <sup>f</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica pekinensis</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,4 <sup>e</sup>	2,7 <sup>h</sup>	0,3 <sup>b</sup>	1,4 <sup>g</sup>	0 <sup>a</sup>

Jednakowymi literami w kolumnach oznaczono wartości nieróżniące się istotnie ( $\alpha = 0,05$ )  
Values in columns marked with the same letters do not differ significantly ( $\alpha = 0.05$ )

polowych. Najmniejszy procent porażonych roślin odnotowano u lnianki ozimej odmiana Przybrodzka II (1,7%) oraz kalarepy odmiana Dworskiego (2,3%). W największym procencie porażony był rzepak ozimy odmiany Bolko (15%). Pozostałe rośliny z rodziny Brassicaceae były porażane w podobnym procencie. Stopień porażenia wszystkich badanych roślin był niski, między 1,0 a 1,7%. W doświadczeniu laboratoryjnym badano wzrost liniowy grzybni w temperaturach: 12, 23 i 30°C. Izolaty *L. biglobosa* rosły średnio trzy razy szybciej niż izolaty *L. maculans*. Izolat numer IV (*L. biglobosa*) charakteryzował się największym dobowym przyrostem grzybni we wszystkich badanych temperaturach (tab. 6). Karolewski (1998) badał wzrost liniowy grzybni w temperaturach: 10, 20 i 25°C. We wszystkich temperaturach wzrost grzybni izolatów niezabarwiających pożywkę (*L. maculans*) był wolniejszy niż izolatów zabarwiających pożywkę PDA (*L. biglobosa*). Badania Gwiazdowskiego (2008) potwierdzają tendencje *L. biglobosa* do szybszego wzrostu liniowego grzybni niż

w przypadku *L. maculans*. Jędrzycka (2006) badała wzrost liniowy grzybni, także w temperaturach: 10, 20 i 25°C. Dobowy przyrost *L. biglobosa* był około 2,5-krotnie większy niż u *L. maculans*. Jest to wynik zbliżony do uzyskanego w niniejszych badaniach. Starzycki i wsp. (2006) badając szybkość wzrostu obu patogenów w temperaturze pokojowej, zaobserwował wolniejszy wzrost *L. maculans*.

W doświadczeniu laboratoryjnym dokonano także makro- i mikroskopowej charakterystyki morfologicznej obu gatunków grzybów. *L. maculans* cechował się nieregularnym kształtem kolonii, wszystkie izolaty wytwarzały owocniki stadium konidialnego – piknidia. Zdolność do wytwarzania piknidiów u *L. biglobosa* posiadał izolat IV. Izolaty *L. biglobosa* wytwarzały ponadto żółty pigment zabarwiający pożywkę oraz obfitą grzybnię powietrzną, czego nie obserwowano u *L. maculans*. Literatura podaje podobną charakterystykę morfologiczną w stosunku do badań własnych dla obu gatunków grzyba (Jędrzycka 2006; Starzycki i wsp. 2006; Chen i wsp. 2010). Badania

Tabela 5. Procent porażonych roślin z rodziny Brassicaceae przez *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa*  
 Table 5. The percentage of infected plants from Brassicaceae family caused by *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*

Rośliny Plants	Procent porażonych roślin przez The percentage of infected plants by						kontrola control
	<i>Leptosphaeria maculans</i>			<i>Leptosphaeria biglobosa</i>			
	I	II	III	IV	V	VI	
<i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	21 <sup>d</sup>	79 <sup>h</sup>	21 <sup>e</sup>	21 <sup>cd</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>rapa</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	30 <sup>f</sup>	30 <sup>b</sup>	20 <sup>e</sup>	40 <sup>cde</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>sativus</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	47 <sup>c</sup>	13 <sup>d</sup>	7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>asparagoides</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	87 <sup>h</sup>	93 <sup>i</sup>	20 <sup>e</sup>	40 <sup>fg</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>acephala</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	77 <sup>g</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica napus</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	53 <sup>d</sup>	33 <sup>g</sup>	33 <sup>def</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	47 <sup>c</sup>	27 <sup>f</sup>	20 <sup>cd</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongyloides</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	27 <sup>e</sup>	60 <sup>e</sup>	13 <sup>d</sup>	20 <sup>cd</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Sinapis alba</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	6,7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>niger</i>	12,5 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	67 <sup>f</sup>	11 <sup>c</sup>	50 <sup>g</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Lepidium sativum</i> L.	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	13 <sup>c</sup>	87 <sup>i</sup>	0 <sup>a</sup>	13 <sup>bc</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	54 <sup>g</sup>	54 <sup>d</sup>	0 <sup>a</sup>	23 <sup>cde</sup>	0 <sup>a</sup>
<i>Brassica pekinensis</i>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	29 <sup>f</sup>	53 <sup>d</sup>	6,7 <sup>b</sup>	36 <sup>efg</sup>	0 <sup>a</sup>

Jednakowymi literami w kolumnach oznaczono wartości nieróżniące się istotnie ( $\alpha = 0,05$ )  
 Values in columns marked with the same letters do not differ significantly ( $\alpha = 0.05$ )

Tabela 6. Wzrost grzybni izolatów *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* na pożywce PDA w temperaturze 12, 23 oraz 30°C (ocena po 21 dniach)

Table 6. The growth of mycelium of isolates of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* on PDA medium at various temperatures 12, 23 and 30°C (assessment after 21 days)

Gatunek grzyba Species of fungus	Numer izolatu Number of isolate	Temperatura – Temperature [°C]			Średnio Mean
		12	23	30	
		wzrost grzybni [mm/dobę] growth of mycelium [mm/day]			
<i>Leptosphaeria maculans</i>	I	0,2 a	1,5 b	0,9 a	0,9 a
	II	0,2 a	0,8 a	0,8 a	0,6 a
	III	0,1 a	0,7 a	1,1 a	0,6 a
	średnio – mean	0,17	1,0	0,93	0,7
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	IV	2 d	3 d	3,2 d	2,7 c
	V	1,2 c	2,1 c	2,6 c	1,7 b
	VI	1,1 b	2 bc	2,1 b	1,7 b
	średnio – mean	1,43	2,37	2,63	2,14

Jednakowymi literami w kolumnach oznaczono wartości nieróżniące się istotnie ( $\alpha = 0,05$ )  
 Values in columns marked with the same letters do not differ significantly ( $\alpha = 0.05$ )

własne, szklarniowe, skonfrontowane z badaniami polowymi i szklarniowymi innych autorów sugerują, że siewki różnych roślin z rodziny Brassicaceae, w tym chwasty, mogą być gospodarzem dla sprawców suchej zgnilizny kapustnych. W naturalnych warunkach taka sytuacja może wystąpić, gdy w wierzchniej warstwie gleby znajduje się inokulum w postaci nieprzyoranych resztek poźniowych rzepaku ozimego porażonego przez *L. maculans* i *L. biglobosa* w poprzednim sezonie wegetacyjnym. Z nich pochodzić może inokulum patogenów w postaci grzybni, zarodników workowych i konidialnych. Niniejsze badania oraz badania Karolewskiego (1998) potwierdzają, że więk-

sze znaczenie w infekowaniu siewek roślin uprawnych grzybnią ma *L. biglobosa*. Jędryczka (2006) przeprowadziła symulacje wzrostu grzybni *L. maculans* i *L. biglobosa* według założeń Huang w tkankach roślin rzepaku. Badania te wykazały szybsze przerastanie grzybni *L. biglobosa* (0,9 mm/dobę) w roślinach niż *L. maculans* (0,5 mm/dobę). W niniejszych badaniach sprawdzono korelacje między wzrostem grzybni *in vitro* w badanych temperaturach a wirulencją obu gatunków grzyba. Wykazano dodatnią korelację między tymi cechami u *L. biglobosa* dla wszystkich badanych roślin z wyjątkiem gorczycy białej i rzepy zwyczajnej oraz brak korelacji dla kapusty

Tabela 7. Macierz korelacji określająca związek między wzrostem grzybni dwóch patogenów *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* a ich wirulencją wobec roślin z rodziny BrassicaceaeTable 7. The correlation matrix defining the association between the growth of the mycelium of two pathogens; *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*, and their virulence for plants from Brassicaceae family

Rośliny – Plants	<i>Leptosphaeria maculans</i>	<i>Leptosphaeria biglobosa</i>
<i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>	-0,41	0,99*
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>rapa</i>	-0,32	-0,36
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>sativus</i>	-0,35	0,94*
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>asparagoides</i>	-0,41	0,82*
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>acephala</i>	–	–
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>	–	0,99*
<i>Brassica napus</i>	–	0,64
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	-0,41	0,95*
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>	–	0,99*
<i>Sinapis alba</i>	-0,10	-0,45
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>niger</i>	0,90*	0,83*
<i>Lepidium sativum</i>	-0,39	0,97*
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	-0,39	0,86*
<i>Brassica pekinensis</i>	-0,41	0,89*

\*wartości różniące się na poziomie istotności ( $\alpha < 0,05$ ) – values differ significantly at  $\alpha < 0,05$ 

właściwej z powodu braku objawów chorobowych na tej roślinie. Korelacja dodatnia między tymi cechami dla *L. maculans* występowała tylko u rzodkwi (tab. 7). Zależność między silniejszym wzrostem w warunkach *in vitro* a większą wirulencją *L. biglobosa* względem siewek roślin z rodziny Brassicaceae, przy jednocześnie niższej wirulencji tego gatunku w stosunku do łądy rzepaku od *L. maculans* jest wciąż niewystarczająco wyjaśniona w literaturze.

## Wnioski / Conclusions

1. W doświadczeniu szklarniowym stwierdzono, że *L. maculans* i *L. biglobosa* pochodzące z rzepaku ozimego są zdolne do infekowania badanych roślin z rodziny Brassicaceae. Izolaty *L. biglobosa* charakte-

ryzowały się jednak większą wirulencją w stosunku do szejki korzeniowej siewek badanych roślin z rodziny Brassicaceae niż izolaty *L. maculans*.

2. Najsilniej porażane przez *L. biglobosa* były rzodkiew zwyczajna (*R. sativus*) i kapusta głowiasta czerwona (*B. oleracea* convar. *capitata* f. *rubra*), a najslabiej gorczyca biała (*S. alba*). Nie zaobserwowano objawów chorobowych na jarmużu (*B. oleracea* var. *sabellica*).
3. Grzybnia izolatów *L. biglobosa* przyrastała średnio 3 razy szybciej na pożywce PDA niż grzybnia izolatów *L. maculans*, niezależnie od temperatury.
4. Zaobserwowano, że izolaty *L. biglobosa* charakteryzujące się większą wirulencją wobec badanych roślin rosły szybciej na pożywce PDA niż izolaty *L. maculans*. Uzyskane wartości współczynnika korelacji mogą wskazywać na związek między tymi dwoma cechami.

## Literatura / References

- Aubertot J.N., West J.S., Bousset-Vaslin L., Salam M.U., Barbetti M.J., Diggle A.J. 2006. 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 (1): 91–106.
- Chen J.Y., Wu C.P., Li B., Su H., Zhen S.Z., An Y.L. 2010. Detection of *Leptosphaeria maculans* from imported Canola seeds. *Journal of Plant Diseases and Protection* 117: 173–176.
- 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 (1): 3–15.
- Gwiazdowski R. 2008. Hamowanie wzrostu *Leptosphaeria maculans* i *Leptosphaeria biglobosa* przez wybrane fungicydy w testach płytkowych. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* 29 (1): 68–73.
- Hammond K.E., Lewis B.G. 1987. The establishment of systemic infection in leaves of oilseed rape by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Pathology* 36 (2): 135–147.
- Jędrzycka M. 2006. Epidemiologia i szkodliwość suchej zgnilizny kapustnych na rzepaku ozimym w Polsce. *Rozprawy i Monografie. Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk* 17, 150 ss.
- Karolewski Z. 1998. Ekologia i zwalczanie cylindrosporiozy rzepaku (*Pyrenopeziza brassicae* Sutton Rawlinson) i suchej zgnilizny kapustnych (*Leptosphaeria maculans* Desm, Ces Et de Not). *Rozprawa doktorska. Akademia Rolnicza w Poznaniu*, 95 ss.

- Karolewski Z., Walczak D., Kosiada T., Lewandowska D. 2007. Occurrence of *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* in oilseed rape leaves with different symptoms of stem canker. *Phytopathologia Polonica* 44: 43–50.
- Karolewski Z., Weber Z. 1993. Podatność odmian rzepaku na sztuczne i naturalne zakażenie przez *Phoma lingam*. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* 14: 219–225.
- Kochman J., Węgorz W. 1997. *Ochrona roślin*. Plantpress, Kraków, 701 ss.
- Kryczyński S., Weber Z. (red.). 2011. *Fitopatologia*. Tom 2. Choroby roślin uprawnych. PWRiL, Poznań, 314 ss.
- Marcroft S.J., Wratten N., Purwantara A., Salisbury P.A., Potter T.D., Barbetti M.J., Howlett B.J. 2002. Reaction of a range of Brassica species under Australian conditions to the fungus, *Leptosphaeria maculans*, the causal agent of blackleg. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 42: 587–594.
- McGee D.C., Petrie G.A. 1978. Variability of *Leptosphaeria maculans* in relation to blackleg of oilseed rape. *Phytopathology* 68: 625–630.
- Mitrovic P., Milovac Z., Marjanovic Jeromela A., Trkulja V., Marinkovic R., Mihic Salapura J., Terzic S. 2014. Rapeseed flowers wilt caused by pathogenic fungi *Leptosphaeria maculans* in Serbia. *Book of Proceedings Fifth International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2014”*. Bosnia and Herzegovina, Jahorina, October 23–26, 2014: 508–516.
- Rouxel T., Balesdent M.H., Seguin-Swartz G., Gugel R. 1995. How many pathogens cause blackleg of crucifers? *Blackleg News* 4: 1–7.
- Shoemaker R.A., Brun H. 2001. The teleomorph of the weakly aggressive segregate of *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Botany* 79: 412–419.
- Starzycki M., Starzycka E., Jedryczka M., Irzykowski W., Pszczola J., Solecka D. 2006. Identyfikacja i porównanie patogeniczności gatunków *Leptosphaeria maculans* [Desm.] Ces. et de Not. i *Leptosphaeria biglobosa* [Shoemaker i Brun] po inokulacji rzepaku ozimego w warunkach polowych i laboratoryjnych. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* 27 (1): 51–62.
- Weber Z., Karolewski Z. 1997. Porażone fragmenty roślin rzepaku ozimego z poprzedniego sezonu wegetacyjnego jako źródło suchej zgnilizny kapustnych (*Leptosphaeria maculans* Desm, Ces et de Not). *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* 18 (2): 321–324.
- West J.S., Kharbanda P., Barbetti M.J., Fitt B.D.L. 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in Australia, Canada and Europe. *Plant Pathology* 50: 10–27.