Zwalczanie zgnilizny powodowanej przez grzyby z rodzaju *Penicillium*

H. BORECKA

Instytut Sadownictwa, Skierniewice

(Otrzymano dn. 15 VI 1976 r.)

H. Borecka (*Research Institute of Pomology, 96-100 Skierniewice*)
Acta Agrobotanica 30 (2): 299-238, 1977.

Control of Penicillium apple rot

Control of *Pezizula* spp. fungi reduced *Penicillium* apple rot. The *Penicillium* apple rot process began slowly under the modified atmosphere of 5% CO₂ and 3% O₂. The lower concentration of Benlate — 0.05% did not influence this fungicide's effectiveness. The lower concentration — 0.05% of Topsin M decreased the effectiveness of this fungicide.

The resistant strains of *Penicillium* spp. to benzimidazole fungicides under laboratory conditions were obtained.

WSTĘP

Zgnilizny owoców powodowane przez grzyby z rodzaju *Penicillium* stanowią jeden z trudniejszych problemów w sadownictwie. Straty powodowane przez te grzyby są szczególnie duże w USA, gdzie dochodzą do 10% przechowywanych jabłek. Również w Polsce zgnilizny te są bardzo rozpowszechnione i zaliczamy je, obok grzybów z rodzaju *Pezizula*, do głównych przyczyn strat owoców w przechowalniach i chłodniach.

Najskuteczniejszą metodą zwalczania grzybów niszczących owoce w przechowalni jest metoda chemiczna. Liczne prace badawcze, wykonane przeważnie w USA, dotyczą skuteczności stosowania kąpiei owoców w fungicydach w celu zapobiegania gniciu (Spalding and Hardenburg 1971; Hardenburg 1974; Szkolnik 1971). Zabieg ten nie może być stosowany w Polsce, gdyż obowiązują u nas ściśle przepisy dotyczące stosowania fungicydów, mające na celu ochronę zdrowia konsumenta. W Polsce zwalczanie gnicia jabłek, którego sprawcami są grzyby z rodzaju *Penicillium*, opiera się głównie na unikaniu skaleczeń

skórki. Każde, nawet najmniejsze, skałeczenie skórki jest miejscem, przez które pędzlaki zasiedlają gospodarza.

W związku z coraz szerzej stosowanymi fungicydami systemicznymi pojawia się zjawisko tolerancji grzybów na te fungicydy. Zjawisko tolerancji opisane przez Bollen a (1973) jest także szeroko badane w uniwersytetach USA. Istota tego zjawiska nie jest jeszcze wyjaśniona, istnieje hipoteza o możliwości genetycznego uwarunkowania tej cechy. W Polsce nie stwierdzono jeszcze w warunkach polowych występowania tolerancji u grzybów z rodzaju *Penicillium*.

Owoce porażone przez grzyby z rodzaju *Penicillium* stwarzają wiele kłopotów w handlu, ze względu na mokry rodzaj zgnilizny, a także konsumentom, gdyż owoce nawet częściowo porażone nabierają przykrego zapachu, nie mówiąc już o szkodliwości takich owoców dla zdrowia. Szkodliwość ta wiąże się z powstawaniem w gniących tkankach mikotoksyn, a wśród nich patuliny, wykazującej działanie rakotwórcze (Beer i Amand 1974, Sommer i in. 1974). Dlatego też wykonano różnorodne obserwacje mające na celu zredukowanie występowania grzybów z rodzaju *Penicillium* na jabłkach w okresie przechowywania.

DOŚWIADCZENIA POŁOWE

Celem przeprowadzonych doświadczeń było ustalenie możliwości ograniczenia porażenia owoców przez grzyby z rodzaju *Penicillium* poprzez zwalczanie pierwotnych czynników chorobotwórczych wywołujących zgnilizny przechowywanych owoców, głównie grzybów z rodzaju *Pezicula*, a także ograniczenie porażenia poprzez stosowanie najbardziej skutecznych fungicydów.

Doświadczenie I

Materiał i metodyka. Obserwacje ze zwalczaniem gnicia przechowywanych jabłek przeprowadzono w sadzie doświadczalnym Instytutu Sadownictwa w Świerkłańcu na siedmioletnich drzewkach odmiany Golden Delicious. Drzewa opryskiwano w drugiej połowie lata w następujących terminach: 1 sierpień, 20 sierpień i 15 wrzesień; ten ostatni termin opryskiwania wypadał dwa tygodnie przed zbiorem owoców. Poletko doświadczalne składało się z trzech drzew; doświadczenie przeprowadzono w czterech powtórzeniach. Po zbiorze owoce przechowywano w chłodni w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$. Z każdego powtórzenia przechowywano po 40 kg owoców; skuteczność przeprowadzonych zabiegów określano po okresie przechowywania, na podstawie liczby gniących i zdrowych owoców. Wyniki procentowe transponowano na stopnie Blissa i analizowano metodą wariancyjną. Przebadano następujące programy opryskiwań:

3 opryskiwania	1 VII	20 VII	15 IX
2 opryskiwania		20 VIII	15 IX
1 opryskiwanie			15 IX

Wyniki. Tabela 1 przedstawia wpływ stosowania opryskiwań w sadzie na występowanie gnicia owoców w okresie przechowywania. Ograniczenie gnicia uzyskano już przy jednorazowym stosowaniu opryskiwania preparatem z grupy pochodnych benzimidazolu, lepsze wyniki dawało dwukrotne stosowanie opryskiwania, podczas gdy trzykrotne opryskiwanie nie dawało już zwiększenia skuteczności zabiegu. Stosowanie fungicydów systemicznych z grupy związków benzimidazolowych stało się rewelacją w zwalczaniu gorzkiej zgnilizny owoców, a także w zwalczaniu grzybów z rodzaju *Penicillium*.

Porównanie porażenia przez grzyby z rodzaju *Pezicula* i przez grzyby z rodzaju *Penicillium* wskazuje na wyraźną zależność proporcjonalną pomiędzy występowaniem tych dwóch rodzajów pasożytów grzybowych.

Tabela 1 — Table 1

Skuteczność fungicydów stosowanych w sadzie w zwalczaniu grzybów z rodzaju *Penicillium* i *Pezicula* występujących na jabłoniach odmiany Golden Delicious

The effectiveness of fungicide treatments in orchard in control of *Pezicula* and *Penicillium* apple rot. Apples Golden Delicious cv. Świerklaniec 1974

Kombinacja Combination				Średni % porażonych owoców przez: Average % of fruit damaged by:	
				<i>Penicillium</i> spp.	<i>Pezicula</i> spp.
Kontrola — Control				2,82 b	35,0 c
Benlate 50 WP	0,1%	3×		0,15 a	0,5 a
Topsin 70 WP	0,1%	3×		0,17 a	0,5 a
Benlate 50 WP	0,1%	2×		0 a	0 a
Topsin 70 WP	0,1%	2×		0,30 a	1,0 a
Benlate 50 WP	0,1%	1×		1,65 ab	2,0 ab
Topsin 70 WP	0,1%	1×		1,22 ab	3,0 b

P=0,05

Doświadczenie II

Materiał i metodyka. Doświadczenie wykonano w Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Sadownictwa w Sinołce na dwudziestoletnich drzewach odmiany Golden Delicious. Porównano skuteczność opryskiwań w dwóch programach; w pierwszym preparat został użyty sześciokrotnie, z czego dwukrotnie w drugiej połowie lata, w drugim — preparat został użyty tylko dwukrotnie w drugiej połowie lata. Porów-

nano skuteczność obydwóch programów z programem opartym jedynie na środkach prewencyjnych (Kaptan 50; Syllit) użytych w pierwszej połowie lata do zwalczania parcha jabłoni. Terminy opryskiwań wykonanych fungicydami Topsin M 70 WP i Benlate 50 WP w stężeniu 0,1‰ były następujące: 24 maj, 5 i 23 czerwiec, 14 lipiec, 11 i 25 wrzesień; w programie obejmującym dwa opryskiwania zabiegi wykonano 11 i 25 września; ostatnie opryskiwanie wypadło w terminie dwa tygodnie przed zbiorem owoców. Drzewa kontrolne były opryskiwane w pierwszych czterech terminach Kaptanem 50 w stężeniu 0,2‰ i Syllitem w stężeniu 0,1‰.

Doświadczenie wykonano w czterech powtórzeniach, gdzie „poletkiem” było jedno drzewo. Przechowywano po 2 skrzynki z 20 kg owoców z każdego powtórzenia. Owoce przechowywano w chłodni, w temperaturze +4°C.

Wyniki. Wpływ wykonanych w sadzie opryskiwań na gnicie owoców w okresie przechowywania przedstawia tabela 2. Nie uzyskano istotnych różnic pomiędzy gniciem owoców zebranych z drzew opryskiwanych sześć razy i z drzew opryskiwanych dwa razy, natomiast uzyskano wyraźnie lepszą skuteczność preparatu Benlate niż preparatu Topsin M. Obydwa fungicydy wyraźnie ograniczały występowanie pędzłaków na jabłkach w okresie przechowywania.

Tabela 2 — Table 2

Wpływ stosowania fungicydów w sadzie na gnicie jabłek odmiany Golden Delicious w okresie przechowywania
The effect of fungicide treatments in orchard on the Golden Delicious cv. apple rot in storage
Sinołęka 1974

Kombinacja Combination			Procent zgniłych jabłek Percent or rottent apples
Topsin M 70 WP	0,1‰	6×	2,96 b
Benlate 50 WP	0,1‰	6×	0,92 a
Topsin 70 WP	0,1‰	2×	4,11 b
Benlate 50 WP	0,1‰	2×	0,52 a
Kontrolna nie opryskiwana fungicydami systemicznymi			7,84 c
Control sample not treated systemic fungicides			

P=0.05

Terminy zabiegów (Dates of treatments):

6× — 24 V, 5 VI, 23 VI, 14 VII, 11 IX, 25 IX,

2× — 11 IX, 25 IX.

DOŚWIADCZENIA LABORATORYJNE

Celem doświadczeń wykonanych w laboratorium była ocena skuteczności różnych stężeń fungicydów w zwalczaniu gnicia owoców, którego sprawcą był *P. expansum*.

Materiał i metodyka. Owoce opryskiwano badanym fungicydem, następnie wycinano z nich krążek skórki o średnicy 12 mm, który umieszczano w szalce na pożywce agarowej zaszczerpionej za pomocą wodnej zawiesiny zarodników grzyba *P. expansum*. Po upływie trzech dni mierzono strefę hamowania wzrostu kultury; wielkość tej strefy wskazywała na aktywność stężenia kultury; wielkość tej strefy wskazywała na aktywność stężenia fungicydu. Zbadano dwa preparaty systemiczne Benlate 50 WP i Topsin M 70 WP w następujących stężeniach czystego składnika: 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,01%, 0,001%.

Wyniki analizowano statystycznie za pomocą testu Duncana.

Wyniki. Wpływ stężenia fungicydu na wielkość strefy hamowania wzrostu grzyba *P. expansum* przedstawia tabela 3. Zmniejszenie skuteczności preparatu Benlate stwierdzono w przypadku obniżenia stężenia czystego składnika poniżej 0,025%; w przypadku preparatu Topsin M, obniżenie stężenia czystego składnika poniżej 0,5% dawało wyraźne zmniejszenie wielkości strefy hamowania wzrostu grzyba.

Tabela 3 — Table 3

Wpływ stężenia benomylu i metyltiofanatu na wielkość strefy hamowania wzrostu grzyba *Penicillium expansum*

The effects of benomyl and methylthiophanate concentrations on the size of the inhibition zone of growth of *Penicillium expansum* fungus

Benomyl Benlate 50 WP		Metylotiofanat Thiophanate methyl (Topsin M 70 WP)	
stężenie concentration % a.i.	strefa hamowania wzrostu grzyba inhibition zone of fungus growth mm	stężenie concentration % a.i.	strefa hamowania wzrostu grzyba inhibition zone of fungus growth mm
0,1	4,9 b	0,1	1,0 b
0,05	4,6 b	0,05	0,6 ab
0,025	4,1 b	0,025	0,4 a
0,1	0,9 a	0,01	0,4 a
0,001	0,4 a	0,001	0,4 a

DOSWIADCZENIE PRZEPROWADZONE W OKRESIE PRZECHOWYWANIA

Celem tych doświadczeń było zbadanie wpływu zmodyfikowanych atmosfer stosowanych w czasie przechowywania owoców na przebieg gnicia, którego sprawcą był grzyb *P. expansum*.

Materiał i metodyka. Jabłka odmiany Landsberska zakażano opryskując wodną zawiesiną zarodników grzyba *P. expansum* w miejscu wyciętej korkoborem skórki (krążek o średnicy 4 mm), a następnie umieszczano w słojach, przez które przepływała mieszanina gazów CO_2 i O_2 . Po upływie dziesięciu dni owoce wyjmowano i mierzono wielkość plamy gnilnej. Zbadano wpływ następujących zmodyfikowanych atmosfer: 0% CO_2 : 3% O_2 , 5% CO_2 : 3% O_2 , 5% CO_2 : 21% O_2 i atmosferę normalną.

W tych samych warunkach przechowywano jabłka opryskiwane przed zakażeniem Benlatem w stężeniu 0,1%. Metoda zakażenia polegała tak samo, jak w poprzednim wypadku, na zakażeniu przez opryskiwanie miejsca pozbawionego skórki zawiesiną zarodników grzyba. Zakażano po 20 sztuk owoców w każdej kombinacji. Słoje z jabłkami umieszczano w temperaturze $+4^\circ\text{C}$. Po upływie 10 dni przechowywania mierzono wielkość plamy gnilnej. Wyniki analizowano statystycznie za pomocą testu Duncana.

Wyniki. Wpływ zmodyfikowanych atmosfer na rozwój zgnilizny wywołanej przez grzyb *P. expansum* przedstawia tabela 4. Stwier-

Tabela 4 — Table 4

Wpływ zmodyfikowanych atmosfer na proces gnicia jabłek odmiany Landberska spowodowany przez grzyb *Penicillium expansum*

The effects of modified atmosphere conditions on the rot of Landsberska cv. apples caused by *Penicillium expansum*

Atmosfera Atmosphere		Wielkość plamy Size of rotten mm	
% CO_2	% O_2	jabłka opryskiwane Benlatem apples sprayed with Benlate 50 WP	jabłka nie opryskiwane unsprayed apples
0	3	7,4 b	12 c
5	3	6,4 a	9 bc
5	21	7,5 b	15 d
Normalna Normal	—	7,6 b	14 d
P=0,05			

dzono wyraźny wpływ zwiększonego stężenia dwutlenku węgla, przy jednoczesnym zmniejszeniu stężenia tlenu w stosunku 5:3, na hamowanie procesu gnilnego jabłek przez grzyb *P. expansum*. Mniej skutecznie, choć lepiej od pozostałych warunków, hamowała gnicie atmosfera pozbawiona dwutlenku węgla i małej, 30% zawartości tlenu. Zgnilizna rozwijała się najlepiej w warunkach wysokiej zawartości tlenu, zwiększenie zawartości dwutlenku węgla nie miało w tym przypadku wpływu na przebieg gnicia.

Opryskiwanie jabłek Benlatem znacznie hamowało rozwój plamy gnilnej, lecz nie zapobiegało infekcji uszkodzonego owocu.

POWSTAWIANIE TOLERANCJI U GRZYBÓW Z RODZAJU *PENICILLIUM* W STOSUNKU DO BENZIMIDAZOŁOWYCH FUNGICYDÓW SYSTEMICZNYCH

Celem badań było ustalenie okoliczności, w których następowało przystosowanie się grzybów z rodzaju *Penicillium* do działania fungicydów systemicznych z grupy związków benzimidazolowych (czyli estru metylowego kwasu benzimidazolokarbaminowego). Zjawisko to jest znane w Polsce w przypadku grzyba *Botrytis cinerea* Pers., który izolowano z plantacji truskawek i malin opryskiwanych Benlatem. Zagadnienie to, szeroko rozpracowywane zwłaszcza w Holandii (Bollen 1973), wymagało opracowania w naszych warunkach, gdyż coraz więcej i chętniej stosujemy w sadach fungicydy systemiczne.

Materiał i metodyka. Cztery gatunki grzybów z rodzaju *Penicillium*: *P. expansum*, *P. diversum*, *P. cyclopium* i *P. spinulosum* przeszczepiano na pożywkę brzeczkową z zawartością 0,1 ppm benomylu. Każdy grzyb po 10 dniach przeszczepiano ponownie na pożywkę brzeczkową z benomylem i bez benomylu. Doświadczenie wykonano czterokrotnie w dziesięciu powtórzeniach dla każdego grzyba. Wielkość średnicy kultury była miarą przystosowania się grzyba do benomylu zawartego w pożywce. Wzrost każdego gatunku grzyba porównywano ze wzrostem kultury grzyba, która nigdy nie miała styczności z fungicydami systemicznymi.

Wyniki przedstawiono w tabeli 5. Po pierwszym przeszczepieniu wszystkie grzyby reagowały silnie na obecność benomylu w pożywce; przy drugim i trzecim przeszczepieniu rosły coraz lepiej, a po czwartym przeszczepieniu przestały reagować na obecność benomylu w pożywce. Ciekawe zjawisko zaobserwowano u wszystkich badanych grzybów po dwukrotnym lub trzykrotnym przeszczepieniu na pożywkę z benomylem, a następnie po przeszczepieniu grzybów na pożywkę bez benomylu; grzyby te wykazały bujniejszy wzrost w porównaniu z kulturą, która nigdy nie rosła na pożywce z benomylem. Natomiast grzy-

Tabela 5 — Table 5

Powstawanie tolerancji u grzybów z rodzaju *Penicillium* w stosunku do benomylu w stężeniu 0,1 ppm (przeciętna średnica kultury grzyba w cm)
Penicillium tolerance to Benomyl in concentration of 0.1 ppm (average diameter of fungus culture gives in cm)

Kombinacje — Combinations		Przeciętna średnica kultury — Average diameter of culture, cm			
przeszczepione po pożywkę: transplanted to a medium:					
liczba prze- szczepeń No. of transplan- tations	pożywka medium	<i>Penicillium</i> <i>expansum</i>	<i>Penicillium</i> <i>diversum</i>	<i>Penicillium</i> <i>cyclopium</i>	<i>Penicillium</i> <i>spinulosum</i>
1	z benomy- lem with benomyl	0,66 a	0,28 a	0,41 a	0,27 a
2		2,09 b	0,26 a	0,34 a	0,35 a
3		2,33 c	0,69 b	0,63 b	0,48 b
4		2,75 e	1,32 d	1,12 d	1,02 d
1	bez beno- mylu without benomyl	2,62 d	1,42 e	0,92 c	0,78 c
2	z benomy- lem i bez benomylu with beno- myl and without benomyl	2,85 f	1,67 f	1,04 d	1,02 d
3		2,91 g	1,72 g	1,43 e	1,14 e
Kontrola: brzezczkowa Control: malt extract medium		2,77 e	1,03 c	0,96 c	0,81 c

P=0,05

by, które były przeszczepione tylko jeden raz na pożywkę z fungicydem, po przeszczepieniu na normalną pożywkę rosły słabiej lub tak samo jak kultura kontrolna.

Porównano wygląd zewnętrzny kultury grzyba *P. expansum* rosnącej na pożywce brzezczkowej z dodatkiem 0,1 ppm benzomylu z kulturą rosnącą na pożywce brzezczkowej z dodatkiem metylotiofanatu w tym samym stężeniu. Stwierdzono, że pod wpływem metylotiofanatu kolor kultury stawał się ciemnozielony, trzonki konidialne rosły w sposób bardziej zwarty, a kultura miała postrzępione brzegi; pas zarodnikujący przy frędzli (rys. 1) stawał się jasnoszarzielony; nie stwierdzo-

Rys. 1. Schemat wzrostu kultury grzyba

a — pas środkowy kultury grzyba; b — centrum kultury grzyba; c — pas zarodnikujący przy frędzli; d — frędzla

Fig. 1. Diagram of fungus colony growth

a — middle ring of colony; b — central part of fungus colony; c — margin of colonidial area; d — colony margin

no gutacji. W przypadku przeszczepienia grzyba na pożywkę brzezkową z benomyłem kultura miała centrum wzniesione kremowe, a strefa zarodnikująca była szarozielona, skupienia trzonków konidialnych nieznaczne, a brzeg — gładki.

Wzrost *P. expansum* na pożywce brzezkowej bez fungicydów był luźny, koremia ułożone kuliście, skupienia zarodników szarozielone, frędzla biała nikła, brzegi kultury faliście postrzępione; kultura promieniście rowkowana, wytwarzała liczne krople gutacji.

WNIOSKI

1. Fungicydy benzimidazolowe są bardzo skuteczne w zapobieganiu zgniliznom jabłek w okresie przechowywania. Najlepsze wyniki daje dwukrotne opryskiwanie jabłoni, miesiące i dwa tygodnie przed zbiorom owoców. Benlate i Topsin M użyte w stężeniu 0,1% dały podobne wyniki w młodych sadach. W starych sadach Benlate był skuteczniejszy.

2. Skład atmosfery w okresie przechowywania w chłodni ma duży wpływ na proces gnicia jabłek. Wzrost zawartości dwutlenku węgla, przy jednoczesnym obniżeniu zawartości tlenu, hamuje gnicie. Zahamowanie to nie następuje po zwiększeniu zawartości dwutlenku węgla przy normalnym poziomie tlenu.

3. Hodowla grzybów z rodzaju *Penicillium* na pożywkach z małą

zawartością związków benzimidazolowych wywołuje szybkie przystosowanie się grzybów do tych fungicydów. Kultury grzybów przystosowane do wzrostu na pożywce z benomyłem rosną lepiej na pożywce bez benomyłu od grzybów, które nie miały kontaktu z tym fungicydem. Benomyl dodany do pożywki powoduje zmiany wzrostu, wyglądu i zarodnikowania kultur grzybów z rodzaju *Penicillium*.

SUMMARY

Benzimidazole fungicide treatments in orchard, one month and two weeks before the fruit picking, limited the *Penicillium* apple rot in storage because the control *Pezicula* fungi. On *Pezicula* spots *Penicillium* fungi easily developed.

The *Penicillium* fruit rot process was decreased by modified atmosphere in storage. A significantly slower fruit rot process began under low concentration of oxygen and high concentration of carbon dioxide (3:5).

The effectiveness of different concentrations of fungicides has been tested under laboratory conditions. The lower concentration of Benlate (0.05%) did not decrease the effectiveness of this fungicide, while the lower concentration (0.05%) of Topsin M significantly reduced its antifungal activity.

Tolerant strains to benzimidazole fungicides of *Penicillium* fungi were not noticed in storage but such strains were easily obtained under laboratory conditions.

LITERATURA

- Beer S. V. and Amand J. K., 1974. Production of the mycotoxin patulin in mature fruits of five apple cultivars infected by *Penicillium expansum*. Report from Annual Meeting American Phytopathological Society, 40th Session Canadian Phytopathological Society August 11-15, Vancouver, British Columbia nr 376: 222.
- Bollen G. J., 1973. Antagonism of benomyl-resistant fungi towards *Botrytis cinerea* on cyclamen, sprayed with the fungicide. Report from *Botrytis* Meeting, Polska, Pr. Inst. Sad. seria E, nr 2.
- Hardenburg E. E., 1974. Benomyl and thiabendazole treatments reduce decay of apples in polyethylene consumer bags. J. Am. Soc. Hort. Sci. 99 (3): 236-238.
- Sommer N. F. and Buchanan J. R., and Fortlage R. J., 1974. Production of patulin by *Penicillium expansum*. Appl. Microbiology 28. (4): 589-593.
- Spalding D. H. and Hardenburg R. E., 1971. Postharvest chemical treatments for control of blue mold of apples in storage. Phytopath. 61 (10): 1308-1309.
- Szkolnik M., 1971. Apple blue mold (*Penicillium expansum*), gray mould (*Botrytis cinerea*) scald (physiological). Fungicide and Nematocide tests Vol. 27.