

**BIOECOLOGIA CIUPERCII *PHOMOPSIS OCCULTA*,
AGENTUL ETIOLOGIC AL PIEIRII CONIFERELOR,
NOU SEMNALAT ÎN ROMÂNIA (NOTA III)
Aspecte de combatere chimică și biologică**

TATIANA EUGENIA ȘESAN*, MARIA OPREA*, I. TĂUT**

Abstract: Testing *in vitro* the biological action of some fungicides for seed treatment on the fungus *Ph. occulta* in the Laboratory of Mycology at R.I.P.P. Bucharest it was concluded that the most toxic against the pathogen were the products: Bavistin DF, Konker, Curzate Manox, Tiramet 60 PTS, Tiracarb 60 PTS, Tirametox 90 PTS, followed by Gammavit 85 PSU, Sancozeb 80 WP, Ronilan DF and Sumilex 50 WP.

It has been established the *in vitro* relationships between the fungus *Ph. occulta* and various taxa of saprophytic fungi (*Trichoderma*, *Gliocladium*, *Trichothecium*, *Coniothyrium*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Sordaria*), with a view to selecting strongly antagonistic isolates showing capacity of biological agents for controlling the pathogen, test having priority in special literature. Only *Trichoderma viride* isolates and mutants and *Sordaria fimicola* proved a strong antagonistic capacity against the test-fungus *Ph. occulta*.

Key words: *Phomopsis occulta*, conifers, fungicides, antagonistic fungi

Introducere

Cercetările pe care le grupăm în lucrarea de față, după stabilirea parametrilor biologici de dezvoltare *in vitro* (Ș e s a n, O p r e a & T ă u t, 1999 a, b), au abordat în continuare alte aspecte cu importanță practică deosebită, mai ales cele de combatere a ciupercii patogene *Phomopsis occulta*, și anume:

1) Testarea acțiunii biologice *in vitro* a unor fungicide pentru tratarea semințelor, asupra ciupercii *Ph. occulta*;

2) Stabilirea relațiilor *in vitro* dintre ciuperca *Ph. occulta* și diferiți taxoni de ciuperci saprofite (*Trichoderma*, *Trichothecium*, *Gliocladium*, *Coniothyrium*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Sordaria*), în scopul selectării izolatelor puternic antagoniste cu proprietăți de agenți biologici de combatere a patogenului, experiențe cu caracter de prioritate în literatura de specialitate.

Material și metode

Ca material biologic s-a folosit izolatul nostru de *Ph. occulta* din semințele de *Larix decidua*, purificat și cultivat pe mediul CGA și un număr de 33 izolate aparținând la 8 specii de ciuperci antagoniste (tabelul 3). Toate lucrările experimentale s-au executat în laboratorul de micologie al Institutului de Cercetări pentru Protecția Plantelor București (România).

* Institutul de Cercetări pentru Protecția Plantelor București

** Institutul de Cercetări și Amenajări Silvice – Stațiunea de Cercetare și Producție Silvică Cluj-Napoca

1) Acțiunea biologică *in vitro* a unui număr de 10 produse fitofarmaceutice străine și românești (6 fungicide, 2 amestecuri fungicide și 2 amestecuri insecto-fungicide), mai ales dintre cele utilizate pentru tratamentul seminței (tabelele 1-2), a fost testată prin metoda includerii produselor în mediul nutritiv CGA, în doza recomandată de *Codexul produselor de uz fitosanitar omologate pentru utilizare în România* (1999) și trei diluții succesive la jumătate. Observațiile s-au efectuat prin măsurarea diametrului coloniilor ciupercii-test până în momentul acoperirii complete de către aceasta a suprafeței mediului de cultură al plăcilor Petri din varianta martor (fără fungicid). Aprecierile s-au făcut calculând concentrația letală (CL 50, CL 90) prin metoda logaritm-doză, probit-mortalitate.

2) Pentru punerea în evidență a relațiilor *in vitro* dintre *Ph. occulta* și speciile de ciuperci saprofite s-a folosit metoda culturilor duble pe mediul CGA (J o u a n și colab., 1964; H u l e a, 1973). Aprecierile s-au făcut prin calcularea raportului (coeficientului) x dintre razele interne (i) și externe (e) ale ciupercii-test (A) și a celor antagoniste (B), după formula $x = iA/iB \times eB/eA$. Experiențele au fost organizate în variante cu minimum 3 repetiții, datele fiind prelucrate statistic prin analiza varianței.

Rezultate și discuții

1) Acțiunea biologică *in vitro* a unor fungicide pentru tratarea semințelor asupra ciupercii *Ph. occulta*. Au fost testate *in vitro* un număr de 6 fungicide (Ronilan DF, Bavistin DF, Sumilex 50 WP, Sancozeb 80 WP, Konker, Curzate Manox), 2 amestecuri fungicide (Tiramet 60 PTS, Tiracarb 60 PTS) și 2 amestecuri insecto-fungicide (Tirametox 90 PTS, Gammavit 85 PSU) față de *Ph. occulta* (tabelul 1, planșa 1).

Din cele 10 fungicide și insecto-fungicide testate, majoritatea au avut o acțiune inhibitoare puternică asupra ciupercii *Ph. occulta* (Bavistin DF, Konker, Curzate Manox, Tiramet 60 PTS, Tiracarb 60 PTS, Tirametox 90 PTS), două s-au comportat ca toxice până la moderat toxice (Gammavit 85 PSU, Sancozeb 80 WP), iar alte două (Ronilan DF, Sumilex 50 WP) au fost moderat toxice.

Acțiunea biologică, în general, puternic inhibitoare față de ciuperca-test – *Ph. occulta* –, a produselor testate este exprimată și prin ecuația liniilor de regresie și valorile concentrațiilor limită (CL 50 și CL 90), ca și prin coeficienții de corelație, parametri reprezentați în tabelul 2.

Tabelul 1
Procentul de inhibiție *in vitro* a ciupercii *Phomopsis occulta* de către produse fungicide și insecto-fungicide

Produsul	Doza Concentrația	Procentul de inhibiție	Gradul de toxicitate
RONILAN 50 DF PU (50% vinclozolin – BASF – Germania)	0,200	80,6	MT (moderat toxic)
	0,100	72,4	
	0,050	68,6	
BAVISTIN 50 DF PU (50% carbendazim – BASF – Germania)	0,200	90,7	T (toxic)
	0,100	89,9	
	0,050	89,6	
SUMILEX 50 WP (procimidon 50%) – SUMITOMO – Japonia)	0,100	58,6	MT
	0,050	52,8	
	0,025	47,6	
KONKER (vinclozolin 250 g/l + carbendazim 165 g/l – BASF – Germania)	0,200	90,6	T
	0,100	89,8	
	0,050	89,5	

CURZATE MANOX (cimoxanil 5% + mancozeb 18% + oxicleorură de cupru 50% - CIG Turda + ALCEDO România)	0,200 0,100 0,050	90,5 89,8 89,5	T
SANCOZEB 80 WP (mancozeb 80% - SANACHEM – Africa de Sud)	0,200 0,100 0,050	90,0 77,1 71,4	T/MT
TIRAMET 60 PTS (tiofanat metil 20% + tiuram 40% - OLTCHIM S.A. Rm. Vâlcea – România)	0,200 0,100 0,050	90,6 89,8 89,6	T
TIRACARB 60 PTS (tiuram 40% + carbendazim 20% - OLTCHIM S.A. Rm. Vâlcea – România)	0,200 0,100 0,050	90,5 89,8 89,6	T
TIRAMETOX 90 PTS (lindan 35% + tiuram 35% + tiofanat metil 20% - OLTCHIM S.A. Rm. Vâlcea – România)	0,200 0,100 0,050	90,6 89,8 89,6	T
GAMMAVIT 85 PSU (carboxină 25% + TMTD 25% + lindan 35% - OLTCHIM S.A. Rm. Vâlcea – România)	0,200 0,100 0,050	90,0 82,8 81,4	T/MT

Tabelul 2
Ecuatiile liniilor de regresie ale acțiunii biologice *in vitro* a unor produse fitosanitare
față de ciuperca *Phomopsis occulta* de pe *Larix deciduas*

Produsul	Ecuatia liniei de regresie	CL 50 mg/l	CL 90 mg/l	Coefficient de corelație
RONILAN DF	$y = 6,26 + 0,62 * x$	0,0090	1,0494	0,971
BAVISTIN DF	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
SUMILEX 50 WP	$y = 5,67 + 0,46 * x$	0,0342	20,5380	0,999
KONKER	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
SANCOZEB 80 WP	$y = 6,99 + 1,33 * x$	0,0217	0,2352	0,953
CURZATE MANOX	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
TIRAMET 60 PTS	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
TIRACARB 60 PTS	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
TIRAMETOX 90 PTS	$y = 6,37 + 9,48 * x$	> 0,001	0,0952	0,970
GAMMAVIT 85 PSU	$y = 6,65 + 0,61 * x$	0,0020	0,2458	0,913

Aceste rezultate, care demonstrează activitatea toxică a produselor testate față de ciuperca *Ph. occulta*, care sunt și primele rezultate de acest fel din literatura de ocrotirea pădurilor, permit ca cele 10 produse fitofarmaceutice să poată fi recomandate pentru tratarea semințelor de conifere, înainte de semănat în pepinierele silvice, în scopul asigurării protecției în perioada de germinare-răsărire.

2) Relațiile *in vitro* dintre ciuperca *Ph. occulta* și diferite ciuperci saprofite antagoniste. Dintre cele 33 de izolate și mutante (Td A Td O) aparținând la 8 specii de ciuperci saprofite testate, numai două specii au dovedit în diferite grade antagonism față de *Ph. occulta*, și anume *T. viride* ($x = 0,410 - 0,871$) și *S. fimicola* ($x = 0,445$). Toate celelalte specii (*T. roseum*, *G. roseum*, *C. minitans*, *E. purpurascens*, *Chaetomium sp.*, *V. tenerum*) au fost neantagoniste față de micromiceta-test (tabelul 3, planșele 2-3). Aceste rezultate conduc la continuarea cercetărilor pentru obținerea mijloacelor biologice de combatere a acestui patogen cu izolatele și mutantele de *T. viride* și *S. fimicola*.

Tabelul 3
**Relațiile *in vitro* dintre unele ciuperci saprofite și *Phomopsis occulta*,
exprimate prin coeficientul x**

Specie izolată mutantă	x Semnificație	Diferență față de martor	Aprecierea interrelațiilor
1	2	3	4
<i>Trichoderma viride</i>			
Td 5	0,751***	-0,249	A
Td 45	0,766***	-0,234	A
Td 50	0,866***	-0,134	A
Td Norvegia (Nv.)	0,816***	-0,184	A
Td A	0,750***	-0,250	A
Td B	0,868***	-0,132	A
Td C	0,726***	-0,274	A
Td D	0,692***	-0,308	A
TdE	0,410***	-0,590	PA
Td F	0,857***	-0,143	A
Td G	0,847***	-0,153	A
Td H	0,745***	-0,255	A
Td I	0,446***	-0,554	PA
Td J	0,871***	-0,129	A
Td K	0,733***	-0,267	A
Td L	0,866***	-0,134	A
Td M	0,781***	-0,349	A
Td N	0,652***	-0,108	A
Td O	0,432***	-0,568	PA
1	2	3	4
<i>Trichothecium roseum</i>			
Tt 1	1,000	0	N
Tt 2	1,000	0	N
<i>Gliocladium roseum</i>			
Gl 1	1,000	0	N
Gl 2	1,000	0	N
<i>Epicoccum purpurascens</i>			
Ep. 1	1,000	0	N
Ep. 2	1,000	0	N
Ep. 3	1,000	0	N
Ep. 4	1,000	0	N
Ep. 5	1,000	0	N
<i>Coniothyrium minitans</i>			
CR	1,000	0	N
IVT 5	1,000	0	N
<i>Sordaria fimicola</i>	0,445***	-0,555	PA
<i>Chaetomium sp.</i>	1,000	0	N
<i>Verticillium tenerum</i>	1,000	0	N
MARTOR	1,000	0	-

Legenda: x < 1 - antagonism cu atât mai puternic cu cât valorile sunt mai mici (A); PA = puternic antagonist;
x = 1 - relații neantagoniste (N)

Aceste date sunt primele din literatura românească privind selectarea de tulpini de ciuperci antagoniste față de ciuperca patogenă pe larice – *Ph. occulta* (Ș e s a n, 1985, 1986; Ș e s a n și B a i c u, 1993, 1996).

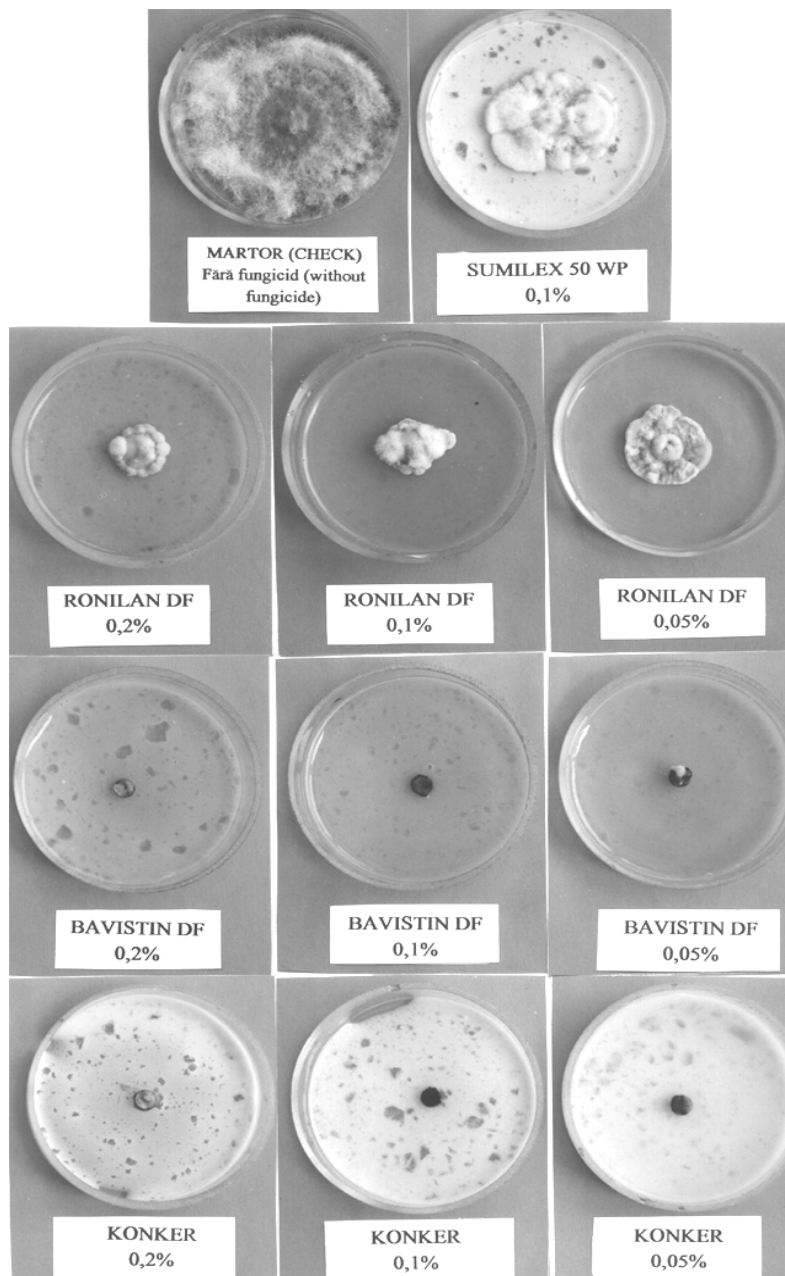
Concluzii

Pe baza rezultatelor prezentate, se pot trage următoarele concluzii:

- Cea mai toxică acțiune *in vitro* față de ciuperca *Ph. occulta* au avut-o fungicidele: Bavistin DF, Konker, Curzate Manox, Tiramet 60 PTS, Tiracarb 60 PTS, Tirametox 90 PTS, urmate de Gammavit 85 PSU și Sancozeb 80 WP, care s-au comportat ca toxice și moderat toxice, și de Ronilan DF și Sumilex 50 WP, ce s-au dovedit moderat toxice.
- Dintre cele 33 de izolate și mutante aparținând la 8 genuri de ciuperci saprofite, s-au dovedit antagoniste numai *Trichoderma viride* și *Sordaria fimicola*, potențiali agenți biologici de combatere a acestui patogen al coniferelor.
- Toate datele din lucrarea de față reprezintă date prioritare pentru literatura de protecția plantelor, în general, și de protecția pădurilor din țara noastră, în special.

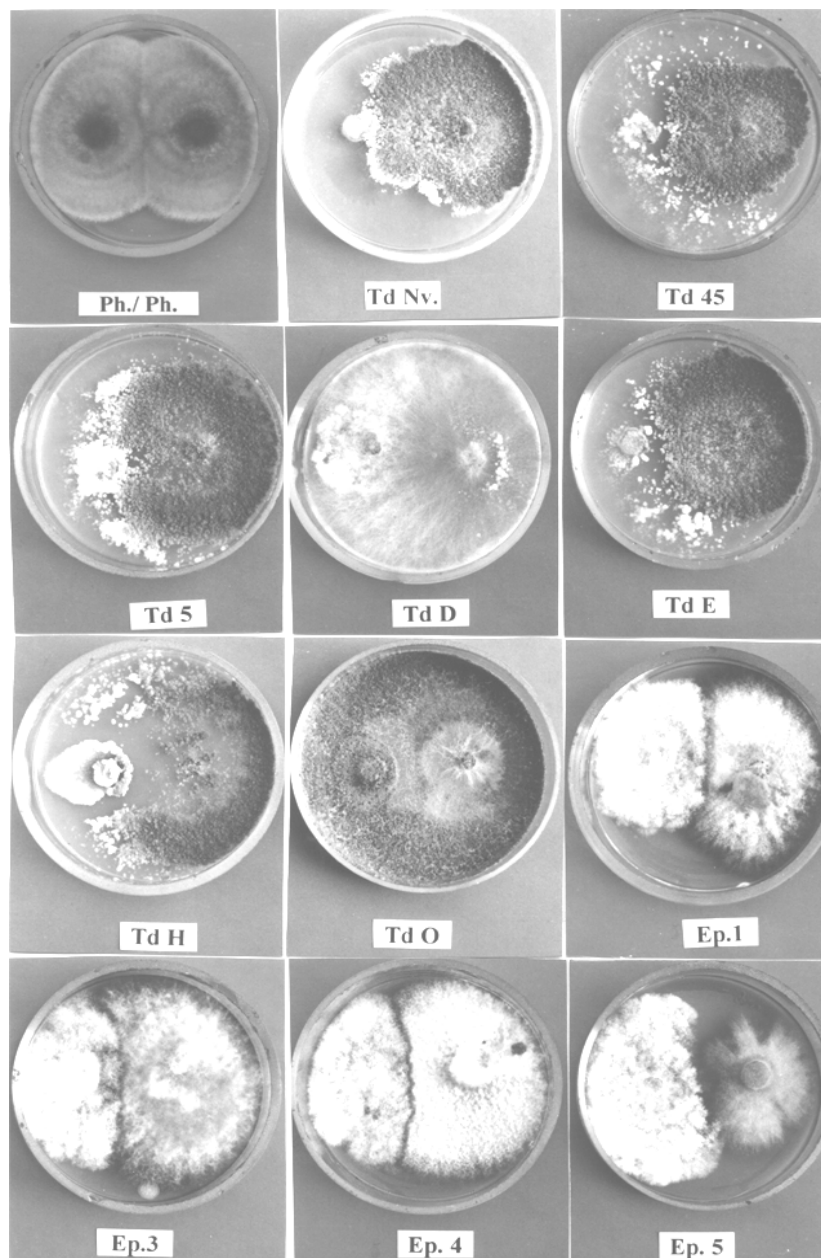
Bibliografie

1. HULEA ANA, 1973 – Relations établies *in vitro* et *in vivo* entre différentes especes de champignons vivant en association dans les tiges de maïs et produisant le stalk-rot - Rev. Roum. Biol. - Botanique, **18 (1): 47-53**
2. JOUAN B., LEMAIRE J. M., ARNOUX J. , 1964 – Eléments d'appréciation des interactions entre champignons cultivés *in vitro* - Phytiatric-Phytopharmacie, **13: 185-195**
3. ȘESAN TATIANA, 1985 – Studiul biologic al speciilor de ciuperci cu acțiune antagonistă față de unii patogeni ce produc micoze la plante, teză de doctorat, ICE Biol. Buc., **189 p., 46 pl.**
4. ȘESAN TATIANA, 1986 – Ciuperci cu importanță practică în combaterea biologică a micozelor plantelor. *Trichoderma viride Pers., ex S. F. Gray*, Red. Prop. Tehn. Agr., Buc., **67 p., 15 pl.**
5. ȘESAN TATIANA, BAICU T., 1993 – Protecția mediului înconjurător prin mijloace de combatere biologică a micozelor plantelor cultivate, Mediul Înconjurător, **IV (1): 49 - 53**
6. ȘESAN TATIANA EUGENIA, BAICU T., 1996 – Combaterea biologică a micozelor plantelor cultivate în România, Protecția Plantelor, **VI (23-24): 15 - 24**
7. ȘESAN TATIANA EUGENIA, TĂUT I., 1998 – Micoflora asociată cu semințele și plantulele de conifere, Revista Pădurilor, **113 (1): 7-16 + coperta 2-3**
8. ȘESAN TATIANA, OPREA MARIA, TĂUT I., 1999a – Bioecologia ciupercii *Phomopsis occulta*, agentul etiologic al pieirii coniferelor, nou semnalat în România. I. Identificare. Patogenitate. Parametrii de dezvoltare (medii de cultură), Revista Pădurilor, **114**
9. ȘESAN TATIANA, OPREA MARIA, TĂUT I., 1999a – Bioecologia ciupercii *Phomopsis occulta*, agentul etiologic al pieirii coniferelor, nou semnalat în România. II. Parametrii de dezvoltare (surse de carbon și azot, valori inițiale de pH ale mediului), Revista Pădurilor, **114**
10. TĂUT I., 1995 – Contribuții privind prevenirea și combaterea agenților criptogamici din solarii, Revista Pădurilor, **110 (4): 30-36**
11. TĂUT I., 1998 – Cercetări privind cauzele ce conduc la pieirea plantulelor de rășinoase din culturile silvice. Metode și tehnologii de prevenire și combatere, teză de doctorat, Univ. Șt. Agr. și Med. Veter., Cluj-Napoca
12. * * *, 1996 – Codexul produselor de uz fitosanitar omologate pentru utilizare în România, Ed. Iriana, Buc., 391 pp.



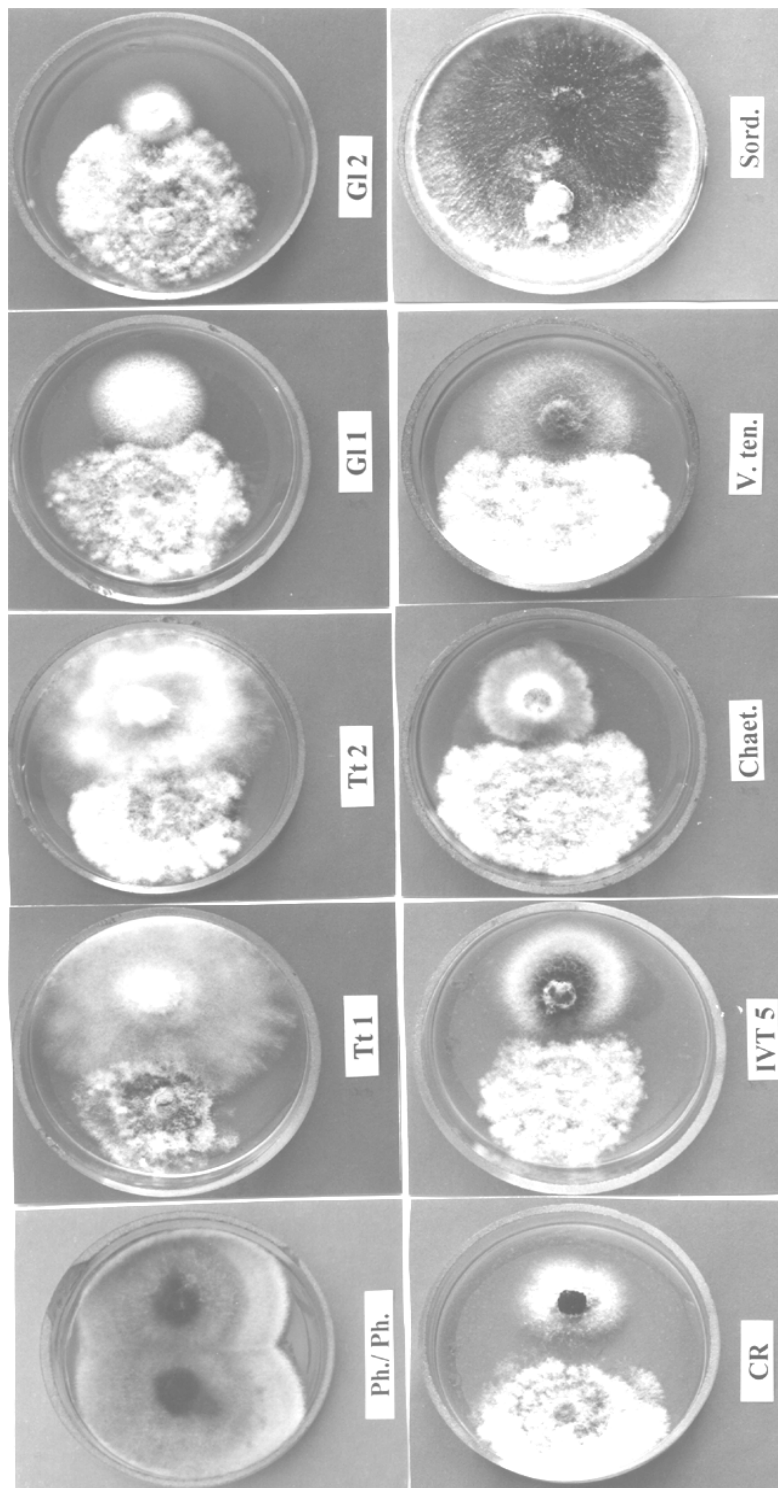
Acțiunea biologică *in vitro* a unor fungicide asupra dezvoltării ciupercii *Phomopsis occulta* (original Șesan, 1997; foto: D. Kiss)

In vitro biological action of some fungicides on *Phomopsis occulta* development (original Șesan, 1997; photo: D. Kiss)



Relațiile *in vitro* dintre ciupercile saprofite *Trichoderma viride* (izolatele Td 5, Td 45, Td Nv., mutantele Td D, Td E, Td H, Td O) și *Epicoccum purpurascens* (izolatele Ep. 1, Ep. 3, Ep. 4, Ep.5) și ciuperca patogenă pe larice *Phomopsis occulta* - Ph.; Ph./Ph. = martor (original Șesan, 1997; foto: D. Kiss)

In vitro relationships between saprophytic fungi *Trichoderma viride* (Td 5, Td 45, Td Nv. isolates, Td D, Td E, Td H, Td O mutants) and *Epicoccum purpurascens* (Ep. 1, Ep. 3, Ep. 4, Ep.5 isolates) and the pathogenic fungus *Phomopsis occulta* (Ph.) from *Larix decidua*; Ph./Ph. = check (original Șesan, 1997; photo: D. Kiss)



Relațiile *in vitro* dintre ciupercile saprofite *Trichothecium roseum* (izolatele Td 5, Td 45, Td Nv., mutantele Td D, Td E, Td H, Td O) și *Epicoccum purpurascens* (izolatele Ep. 1, Ep. 3, Ep. 4, Ep. 5) și ciuperca patogenă pe larice *Phomopsis occulta* - Ph.; Ph./Ph. = martor (original Şesan, 1997; foto: D. Kiss)

In vitro relationships between saprophytic fungi *Trichoderma viride* (Td 5, Td 45, Td Nv. isolates, Td D, Td E, Td H, Td O mutants) and *Epicoccum purpurascens* (Ep. 1, Ep. 3, Ep. 4, Ep. 5 isolates) and the pathogenic fungus *Phomopsis occulta* (Ph.) from *Larix decidua*; Ph/Ph = check (original Şesan, 1997; photo: D. Kiss)