

Andrzej NIEWIADOMY

Ocena działania grzybobójczego niektórych nowych związków z grupy pochodnych kwasu TBKD i NH- rodnikowo podstawionych O-alkilokarbaminianów

Оценка фунгицидного действия некоторых новых соединений группы производных кислот TBKD и NH- радикально замещенных О-алкилокарбамианов

Evaluation of Fungicidal Action of Some New Biologically Active Compounds from the TBKD Group and NH- radical Substitued O-alkylcarbamate

Kontynuując prace badawcze w grupie nowo otrzymanych związków pochodnych kwasu 2,4,6-trihydroksybenzeno 1-karboditiowego (TBKD) (4) i NH-cykloalkilo (α -naftylo) karbaminianów 2-amino-izobutylo (5) wykonano badania aktywności grzybobójczej według kryteriów oceny laboratoryjno-szklarniowej ustalonych dla związków o własnościach potencjalnych pestycydów. Zastosowane w testach związki reprezentowały poszczególne podgrupy S-alkilowych, -alkilo (-arylowych, -karboksylowych) pochodnych TBKD.

Celem badań było ustalenie najbardziej właściwej formy podstawienia estrowego grupy -C/S/S- kwasu TBKD i możliwości wykorzystania NH-rodnikowo podstawionych karbaminianów O-alkilowych jako związków grzybobójczych. Badania wykonano w Pracowni Stosowania Fungicydów Instytutu Przemysłu Organicznego (IPO) w Warszawie.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

W badaniach zastosowano związki przedstawione w tabeli 1 i 2.

Badano działanie grzybobójcze związków, ich wpływ na kiełkowanie zarodników i wzrost grzybní grzybów testowych rozwijających się na sztucznych pożywkach. Badano również bezpośredni wpływ otrzymanych związków na rozwój grzyba *Erysiphe graminis* DC ex Merat f.s.p. tritici na powierzchni liści siewek pszenicy określający działanie zapobiegawcze związków przed wnikaniem strzępek infekcyjnych grzyba do tkanki rośliny.

W „teście kropelkowym” badano wpływ związków na kiełkowanie zarodników grzybów. Wykorzystano zarodniki grzybów saprofitycznych z podgromady *Deuteromycotina* klasy *Hyphomycetes* rząd *Moniliales* gatunku *Botritis cinerea* i *Alternaria tenuis*. Badania przeprowadzono przy dwu poziomach stężeń związków 10 i 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Roztwory związków w 5% acetonie nakraplano na szkiełka przedmiotowe, po 6 kropli dla każdego stężenia. Po wyschnięciu kropli, na ich ślad nakraplano zawiesinę zarodników testowanego grzyba w wodzie. Szkiełka umieszczano w szalkach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą. Po 24 h przeprowadzano ocenę zdolności hamowania procesu kiełkowania zarodników w pięciostopniowej skali 0–4 w zależności od stosunku wielkości strzępki rastowej i zarodnika (1).

Wyniki podano w stężeniu całkowicie hamującym kiełkowanie zarodników (ED_{100}). Wpływ związków na rozwój grzybni wyszczepianych na podłożu agarowym oceniano dla dwu granicznych stężeń 20 i 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Test przeprowadzono w szalkach Petriego, do których nalewano pożywkę z badaną substancją.

Po zastygnięciu pożywki na jej powierzchnię nanoszono w czterech punktach materiał infekcyjny odpowiedniego grzyba w postaci krążka agaru przerośniętego grzybnią lub stosowano skupienia zarodników. Po pięciu do siedmiu dniach w zależności od wzrostu grzybni w kombinacji kontrolnej dokonywano pomiarów przyrostu liniowego średnicy kolonii i określano procent zahamowania (1, 3).

Wyniki przedstawiono w odniesieniu do stężenia hamującego rozwój kolonii (ED_{100}) dla danej kombinacji (tab. 2). Dla określenia podatności grzybów podgromady *Ascomycotina* klasy *Pyrenomycetes* rząd *Erysiphales* na działanie badanych substancji w warunkach szklarniowych wykonano badania na zdrowych siewkach pszenicy w fazie dwóch wykształconych liści dokonując oprysków roślin roztworem związku o stężeniu 1000 i 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Po upływie doby rośliny zakażano zarodnikami mączniaka prawdziwego *Erysiphe graminis*, a po 7 do 14 dniach (po stwierdzeniu białego nalotu na siewkach kontrolnych) przeprowadzono wizualną ocenę działania grzybobójczego. Na podstawie wielkości zainfekowanej powierzchni liści określano ich procentowe porażenie w stosunku do kombinacji kontrolnej, przy zastosowaniu pięciostopniowej skali. Zbliżony do kontroli stopień porażenia w przedziale 75,1–100% przyjmowano jako brak działania zapobiegawczego związku.

WYNIKI BADAŃ

Zastosowane do badań aktywności grzybobójczej związków bioindykatory wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na ich działanie, jednakże w żadnym przypadku nie obserwowano działania hamującego w stosunku do zarodników i grzybni na poziomie 10 i 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, a więc kryteriów wysokiej aktywności biologicznej (tab. 1 i 2), kwalifikujących związek do dalszych badań. Grzyb *Botritis cinerea* charakteryzował się nieco większą podatnością na działanie badanych związków (tab. 1), a niektóre z nich przy stężeniu 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ wykazywały wobec tych zarodników średnie działanie grzybobójcze.

Ograniczenie rozwoju poszczególnych grzybni wyszczepianych na pożywkach maltozowych osiągnęto przy obu stężeniach substancji czynnej, jednakże stężenie hamujące wzrost kolonii w większości przypadków było wyższe niż 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ a działanie grzybobójcze w stopniu średnim wykazywały jedynie związki IV i VI.

Badane związki zarówno w stężeniu 500, jak i 1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ zastosowane do oprysków siewek pszenicy zakażonych następnie wyszczepianymi na po-

Tab. 1. Ocena działania hamującego związków w stosunku do kiełkowania zarodników w zawiesinie wodnej test kroplowy
 Evaluation of the inhibitory action of the compounds upon spores germination in water suspension

Numer związku	Rodzaj związku	Bioindykator, stężenie hamujące $\mu\text{g}/\text{cm}^3$			
		<i>Alternaria tenuis</i>	Ocena działania hamującego	<i>Botrytis cinerea</i>	Ocena działania hamującego
I	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	100	–	± 100	średnie
II	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$	100	–	100	–
III	$[\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2](\text{CH}_2)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	100	–	± 100	średnie
IV	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$	100	–	± 100	średnie
V	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$	100	–	± 100	średnie
VI	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	100	–	100	–
VII	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHC}(\text{O})\text{OCH}_2(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{NH}_2)$	100	–	100	–

Tab. 2. Ocena działania hamującego związków w stosunku do wzrostu grzybni wyszczepianych na pożywce maltozowej
 Evaluation of the inhibitory action of the compounds upon the growth of mycelia cultured on maltose medium

Numer związku	Rodzaj związku	Bioindykator, stężenie hamujące $\mu\text{g}/\text{cm}^3$					
		<i>Rhizoctonia solani</i>	Działanie grzybobójcze	<i>Fusarium culmorum</i>	Działanie grzybobójcze	<i>Phytophthora cactorum</i>	Działanie grzybobójcze
I	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	200	—	200	—	200	—
II	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$	200	—	200	—	200	—
III	$[\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2](\text{CH}_2)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	200	—	200	—	200	—
IV	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$	± 200	średnie	± 200	średnie	± 200	średnie
V	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$	± 200	średnie	200	—	200	—
VI	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CS}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	± 200	średnie	± 200	średnie	± 200	średnie
VII	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHC(O)OCH}_2(\text{CH}_3)_2\text{C(NH}_2)$	200	—	200	—	200	—

wierzchni roślin zarodnikami *E. graminis* nie zapobiegały przed przenikaniem strzępki infekcyjnej tych patogenów do komórek żywicielskich i zarówno po 7 jak i 14 dniach porażenie bioindykatorów utrzymywało się na wysokim poziomie przekraczającym 75%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W ocenie wpływu związków na hamowanie zarodników *Botritis cinerea* można wskazywać na pewną korelację rezultatów badań biologicznych w odniesieniu do własności spektralnych pochodnych TBKD zwłaszcza IV, V i VI. W tych warunkach aktywność inhibicyjna praktycznie wszystkich pochodnych TBKD może być bowiem częściowo ograniczona ze względu na zwiększoną jonizację grup -OH związanych z aromatycznym rodnikiem -C₆H₂- (w przypadku związku VI również grupy -CO₂H) i zakwaszenie środowiska sprzyjające z kolei szybszemu kiełkowaniu tych zarodników (2, 6).

Pewne prawidłowości można także wskazać w badaniach działania związków na mączczniaka prawdziwego, gdyż podobnie jak w przypadku innych związków siarkoorganicznych populacje *E. graminis* f. sp. *tritici* wykazują małą wrażliwość na działanie tych związków (2, 7).

WNIOSKI

1. W szeregu pochodnych TBKD zróżnicowanie aktywności grzybobójczej związków można powiązać przede wszystkim z indukcyjnymi zmianami protonoakceptorowych własności karboditionu wywołanymi podstawieniem S-estrowym.

2. Wyniki badań wskazują na pewien kierunek przyszłych syntez związków z wykorzystaniem do estryfikacji grupy -SH (kwasu TBKD), wielopodstawionych rodników aromatycznych i chlorowco-alkilowych oraz układów mono- i plifenoli w anionie karbo-ditiokwasu.

PIŚMIENNICTWO

1. Bakuniak E., Bakuniak I.: Dobór metod biologicznych do badań nowych związków o potencjalnym działaniu pestycydowym. *Pestycydy* 4, 12–18. Wyd. IPO Warszawa 1978.
2. Borecki Z.: Nauka o chorobach roślin. PWRiL, Warszawa 1987.
3. Kowalik R., Krechniak R.: Szczegółowa metodyka biologicznych laboratoryjnych badań środków chemicznych. *Mat. do met. biolog. oceny środków ochr. roślin.* IOR, Poznań, 63, 1961.
4. Niewiadomy A.: Synthesis of S,S'-alkyl and S-alkylaryl, alkylcarboxyl derivatives of 2,4,6-trihydroxydithiobenzoic acid. *Polish Journal of Chemistry*.

5. Niewiadomy A.: Reakcje chlorku 2-amonio-2-metylo propanolu z α -naftylo- i cykloheksyloizocyjanianem. Annales UMCS, Sec. A/A, Lublin.
6. Praca zbiorowa pod red. I. Kochmana i W. Węgorka. Ochrona roślin. PWRiL, Warszawa 1978.
7. Ralski E., Woźniak-Strzembicka A.: Studia nad mączniakiem pszenicy *Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *tritici*. Biul. IHAR, 3-4, 21-29, 1972.

РЕЗЮМЕ

При помощи лабораторных тестов была определена ингибирующая активность кислот TBKD и NH- радикально замещенных карбаминианов 2-аминоизобутанола по отношению к спорам *Botrytis cinerea*, *Alternaria tenuis* и к колонии грибов *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cactorum*; кроме того, установлено профилактическое действие по отношению к *Erysiphe graminis* на здоровых сеянцах пшеницы. Констатировали, что в большинстве случаев прорастание спор в водной фазе может быть замедлено при концентрации активного вещества выше $100 \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Концентрация, при которой происходит замедление роста грибницы примененных биоиндикаторов, превышала $200 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, а среднюю фунгицидную активность проявили лишь некоторые из соединений. Исследованные соединения, примененные в концентрации 500 и $1000 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, не предотвращали заражения сеянцев пшеницы мучнистой росой злаковых.

SUMMARY

In laboratory tests the inhibitory activity of esters of TBKD acid and NH- radical-substituted carbamates of 2-aminoizobutyl upon the spores of *Botrytis cinerea*, *Alternaria tenuis* and colonies of test fungi *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cactorum*, fungi was determined and preventive action towards *Erysiphe graminis* infection on wheat seedlings was investigated.

It was found that in most cases the spores germination in the water phase can be inhibited at the concentration of the active substance at more than $100 \mu\text{g}/\text{cm}^3$.

The concentration that inhibited the growth of mycelia of the bioindicators was mostly higher than $200 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, the average fungicidal activity being found only in some of the studied compounds. The compounds used in concentrations of 500 and $1000 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ did not prevent wheat seedlings from being infected with the powdery mildew *Erysiphe graminis*.



ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XLII

SEAGRI 1

1987

20. T. Filipiak: The Ionie Balance and the Yield of Plants Fertilized with Differentiated Doses of Nitrogen and Potassium. Part I. The State of Ionie Balance and the Yielding of Sugar Beet.
21. T. Filipiak: The Ionie Balance and the Yielding of Plants Fertilized with Differentiated Doses of Nitrogen and Potassium. Part I. The State of Ionie Balance and the Yielding of Winter Wheat.
22. J. Dębiński, T. Filipiak: The Ionie Balance in Spring Wheat in the Conditions of Underfertilization. Content of N, NO₃ in the Soil Saturated with the Agents Constructing the Effects of Fertilizers. Nitrogenous.
23. W. Kozłowski, S. Małach, J. Skrzyszewski: Selenium in the Seeds of Coarse-seeded Seed-bearing Plants.
24. S. Jędrzejka-Tys: Investigation on the Microbiological and Chemical Composition of Dungheap of Cattle and Pigs.
25. S. Jędrzejka-Tys: The Microbiological and Chemical Investigation of Estimation of Particular Forms of Transformed Dungheap.
26. S. Jędrzejka-Tys: The Biochemical and Microbiological Changes Taking Place During the Storage of Dungheap.
27. M. Cichon-Drażny, A. Skrzyszewski: Certain Properties of the Water Fungus *Apodictyon pygmaea*.
28. A. Baranicki, B. Achciński, J. Trępiet: The Production of Lactic Acid by Immobilized *Escherichia coli* Cells.
29. J. Kubiarczyk: Evaluation of *Coccidius* (*Coccidius* *sp.*) and *Yersinia* (*Yersinia* *sp.*) in Milk: Yield Cultivated in Unheated Glasshouse with Thermal Screen.
30. U. Kłuszczyńska: The Effect of Sodium on the Productiveness, Biological Value and Water Balance of Plants as Exemplified by Cereals.

ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA

Nakład 600 egz. + 25 nadb. aut., ark. wyd. 30,0, ark. druk. 19,0. Papier druk. sat. III kl., B1, 70 g. Oddano do składu w lutym 1990 r., podpisano do druku w październiku 1990 r., wydrukowano w listopadzie 1990 r.
Skład, łamanie i diapozytywy: „VERSUS”, Lublin, ul. Złota 2

Druk i oprawa: Prac. Poligraf. AR Lublin zam. 467/90

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XLII

SECTIO E

1987

20. T. Filipek: The Ionic Balance and the Yielding of Plants Fertilized with Differentiated Doses of Nitrogen and Potassium. Part I. The State of Ionic Balance and the Yielding of Sugar Beet.
21. T. Filipek: The Ionic Balance and the Yielding of Plants Fertilized with Differentiated Doses of Nitrogen and Potassium. Part I. The State of Ionic Balance and the Yielding of Winter Wheat.
22. J. Dechnik, T. Filipek: The Ionic Balance in Spring Wheat in the Conditions of Differentiated Contents of $N-NO_2$ in the Soil Salinized with the Agents Counteracting the Effects of Post-snow Slipperiness.
23. W. Korol, S. Matyka, J. Rączkiewicz: Selenium in the Seeds of Coarse-seeded Pod-bearing Plants.
24. S. Jezierska-Tys: Investigations on the Microbiological and Chemical Composition of Dungstead of Cattle and Swine.
25. S. Jezierska-Tys: The Microbiological and Chemical Estimation of Estimation of Particular Forms of Transformed Dungstead.
26. S. Jezierska-Tys: The Biochemical and Microbiological Changes Taking Place During the Storage of Dungstead.
27. M. Cichoń-Drażek, A. Szember: Certain Properties of the Water Fungus *Apodachlya pytifera*.
28. A. Baraniak, B. Achremowicz, J. Trepiet: The Production of Lactic Acid by Immobilized Bacterium Cells.
29. J. Kalbarczyk: Evaluation of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) and Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Yield Cultivated in Unheated Glasshouse with Thermal Screen.
30. U. Kruszelnicka: The Effect of Sodium on the Produktiveness, Biological Yalue and Water Balance of Plants as Exemplified by Celeries.

BIBLIOTEKA GŁÓWNA
Akademii Rolniczej
w Lublinie

91 485 43

1988

Adresse:

UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
BIURO WYDAWNICTW

Plac Marii

Curie-Skłodowskiej 5

20-031 LUBLIN

POLOGNE

Cena zł