
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. IX, SUPPLEMENTUM

SECTIO III

2001

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach¹
Katedra i Zakład Farmakognozji AM²
Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych AR, Lublin³
Instytut Agrofizyki PAN, Lublin⁴

LESZEK B. ORLIKOWSKI¹, CZESŁAW SKRZYPCZAK¹,
TADEUSZ WOLSKI^{2, 3}, JAN GLIŃSKI⁴

**Naturalna oporność podłoży, biopreparaty i wyciągi
z jeżówki purpurowej w zwalczaniu fuzariozy roślin ozdobnych**

Suppressive Substrata, Biopreparates and *Echinacea* Extract in Fusariosis Control
on Ornamental Plants

Zwiększająca się od kilku lat liczba konferencji i sympozjów naukowych, poświęconych biologicznej ochronie roślin przed czynnikami chorobotwórczymi, wskazuje m.in. na intensywne poszukiwanie nowych możliwości zwalczania patogenicznych grzybów i bakterii oraz doskonalenia już istniejących biopreparatów. Podstawowym celem tych poszukiwań jest możliwość zredukowania chemicznej ochrony roślin i zastąpienie jej metodami biologicznymi. Mendogen (1993) podaje, że przed 10 lat opublikowano na świecie ponad 4500 prac naukowych dotyczących omawianego zagadnienia. Według Gerhardsona (nie publik.) w 1998 roku liczba prac naukowych związanych z biologicznym zwalczaniem chorób roślin wzrosła do 7 tysięcy. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami zaczęła się przed 6 tysiącami lat, gdy zaczęto uprawiać rośliny i poprzez obserwację natury i zdobyte doświadczenia podnoszono ich plony oraz jakość. Przed ponad 100 laty w Ameryce Północnej Atkinson (1892) stwierdził, że występują gleby, na których uprawiane rośliny nie chorują mimo obecności w nich czynników chorobotwórczych. Od tego czasu minęło następne 40 lat, gdy Reinking i Manns (1933) nazwali takie gleby opornymi na określone czynniki chorobotwórcze. W minionym trzydziestoleciu problemem tym zainteresowały się placówki badawcze na całym świecie, w tym również w Polsce. Prowadzone badania naukowe zaowocowały znalezieniem szeregu

gleb i podłoży opornych na określone czynniki chorobotwórcze jak również wyjaśnieniem mechanizmów oporności na patogeny (Orlikowski 1986, 1989). Ostatnie dwudziestolecie to okres intensywniejszych badań nad wykorzystaniem wyciągów roślinnych w ochronie roślin przed chorobami. Zachętą do takich badań były i są pozytywne wyniki uzyskiwane w medycynie ludzkiej i weterynarii. Przykładem może być wyciąg z jeżówki purpurowej, który znalazł już zastosowanie w około 240 lekach (Orlikowski i Wolski, 1998).

Badania własne wykazały, że wyciąg z jeżówki hamował *in vitro* wzrost *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Myrothecium roridum*, i *Phytophthora* spp. (Orlikowski i Wolski, 1998). Na uwagę zasługują również wyciągi z kompostów, w tym m.in. z przefermentowanego obornika (Orlikowski, 1999). Na bazie tegoż kompostu zarejestrowano w Polsce Antifung 20 SL do ochrony roślin przed patogenami glebowymi i nalistnymi (Orlikowski, 1999).

Celem obecnych badań była możliwość wykorzystania naturalnej oporności gleb i podłoży wyciągu z jeżówki purpurowej i z biohumusu w ochronie roślin przed formami specjalnymi *Fusarium oxysporum* Schlecht.

MATERIAŁ I METODA

W badaniach wykorzystano *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *dianthi* (=Fod) i *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (=Fog). Kultury wyjściowe przetrzymywano na pożywce ziemniaczano-glukozowej w 25°C w ciemności. Do zakażenia podłoża Fod przygotowano na pożywce z płatków owsianych, stosując metodę opisaną przez Orlikowskiego (1999). Do przygotowania zawiesiny zarodników do inokulacji bulw mleczyków kultura Fog rosła przez 10 dni na pożywce ziemniaczano-glukozowej w 25°C w ciemności. Do inokulacji stosowano zawiesinę zawierającą 10^6 zarodników w 1 cm³.

W doświadczeniu z goździkami użyto ziemi biellicowej o pH=5,8, charakteryzującej się naturalną opornością na Fod (Orlikowski, 1996), jako dodatku do substratu torfowego i kompostowanej kory sosnowej. W doświadczeniu z mleczykami, bulwy sadzono do substratu torfowego.

W doświadczeniach nad naturalną opornością podłoży na Fod i biologiczną aktywnością biohumusu użyto goździki odm. „Master”, a w badaniach nad biologiczną aktywnością wyciągu z jeżówki — mleczyki odm. „Climax”.

W badaniach zastosowano: wyciąg z jeżówki purpurowej (*Echinacea purpurea*) przygotowany wg metody opracowanej przez Wolskiego (nie publik.) oraz biopreparat Antifung 20 SL (20% biohumusu), który dostarczyła firma Host International. Biopreparat zastosowano do podlania podłoża bezpośrednio po sadzeniu goździków jednorazowo lub dwukrotnie w odstępie dwutygodniowym, a wyciąg z jeżówki do moczenia bulw mleczyków przez 30 min przed lub po inokulacji przez Fog. Stężenia tych preparatów podano w tab. 1-3. Jako fungicyd standardowy użyto Sarfun 500 SC (500 g karbendazymu w 1 dm³ fungicydu).

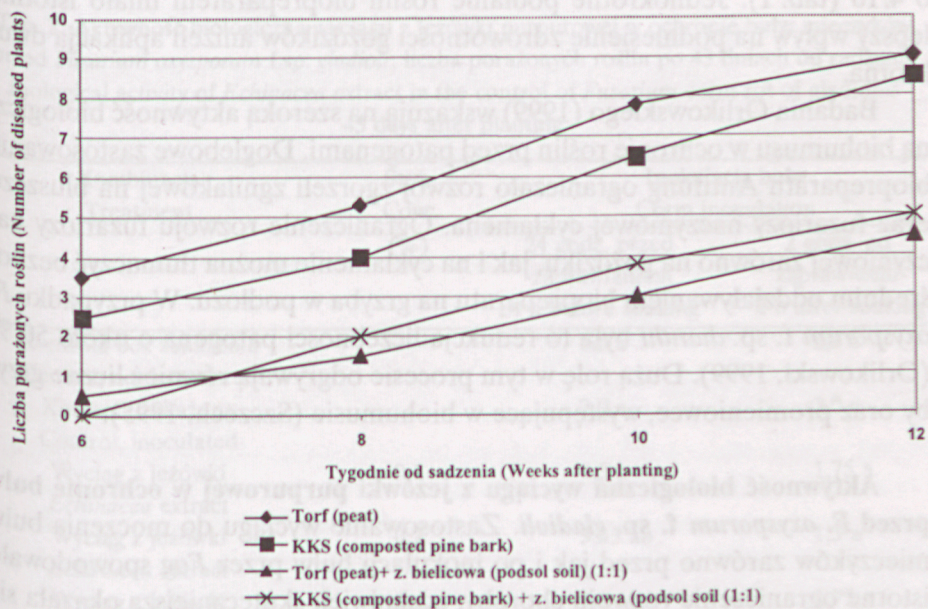
Doświadczenia założono w układzie bloków kompletnie losowych w 4 powtórzeniach po minimum 10 roślin albo bulw i powtórzono je co najmniej dwukrotnie.

WYNIKI I DYSKUSJA

Biologiczna ochrona goździków przed *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Uprawa goździków w torfie lub kompostowanej korze sosnowej (=kks), sztucznie zakażonych przez *Fod*, już po 6 tygodniach spowodowała wystąpienie objawów fuzariozy naczyniowej na około 3/10 roślin (ryc. 1). Po tym czasie na roślinach uprawianych w mieszaninie wymienionych już substratów z materiałem glebowym w stosunku 1:1 choroby nie notowano lub wystąpiła tylko sporadycznie. Po 10 tygodniach uprawy wypadło co najmniej 6/10 goździków rosnących w torfie lub kks, a po następnych 2 tygodniach co najmniej 8/10. Gdy do uprawy zastosowano mieszaninę w/w podłoży z ziemią bielcową zachorowało nie więcej niż połowa goździków (ryc. 1).

Trudno jednoznacznie określić mechanizm oporności materiału glebowego na *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Jest prawdopodobne, że wprowadzenie



Ryc. 1. Rozwój fuzariozy naczyniowej goździka odm. „Master” w zależności od rodzaju podłoża

Development of *Fusarium* wilt of carnation cv. „Master” in relation to substratum type

do podłoża organicznych dużej ilości materiału glebowego wpływa na podniesienie oporności uzyskanych mieszanek. Yuen i in. (1983) wykazali, że oporność można wprowadzić do gleby lub podłoża, nie mających takich właściwości, poprzez mieszanie gleby odpornej z podatną.

Jest prawdopodobne, że omawiana właściwość materiału glebowego związana jest z obecnością w niej dużej liczby grzybów z rodzaju *Fusarium*, niepatogenicznych dla roślin (Orlikowski, nie publik.). Zdaniem Alabouvette i in. (1980) stosunek form patogenicznych *F. oxysporum* do form saprofitycznych *Fusarium* spp. warunkuje oporność gleby.

Jednokrotne zastosowanie biopreparatu Antifung do podlania goździków, po ich sadzeniu do podłoża sztucznie zakażonego przez *Fod*, spowodowało około dwukrotne ograniczenie rozwoju fuzariozy naczyniowej na roślinach po ich ośmiotygodniowej uprawie. Aktywność biologiczna biopreparatu była podobna jak skuteczność karbendazimu (tab. 1). Po 12 tygodniach omal wszystkie rośliny uprawiane w podłożu podlewanym tylko wodą (kontrola) zamarły lub większość pędów była zwiędnięta, podczas gdy jednorazowe zastosowanie biopreparatu spowodowało zmniejszenie porażonych goździków o 4/10 (tab. 1). Jednokrotne podlanie roślin biopreparatem miało istotnie lepszy wpływ na podniesienie zdrowotności goździków aniżeli aplikacja dwukrotna.

Badania Orlikowskiego (1999) wskazują na szeroką aktywność biologiczną biohumusu w ochronie roślin przed patogenami. Doglebowe zastosowanie biopreparatu Antifung ograniczało rozwój zgorzeli zgnilakowej na bluszczu oraz fuzariozy naczyniowej cyklamena. Ograniczenie rozwoju fuzariozy naczyniowej zarówno na goździku, jak i na cyklamencie można tłumaczyć bezpośrednim oddziaływaniem biopreparatu na grzyba w podłożu. W przypadku *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* była to redukcja liczebności patogena o około 50 % (Orlikowski, 1999). Dużą rolę w tym procesie odgrywają również liczne grzyby oraz promieniowce, występujące w biohumusie (Szczech, 1995).

Aktywność biologiczna wyciągu z jeżówki purpurowej w ochronie bulw przed *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Zastosowanie wyciągu do moczenia bulw mieczyków zarówno przed jak i po inokulacji bulw przez *Fog* spowodowało istotne ograniczenie rozwoju choroby, aczkolwiek skuteczniejsza okazała się aplikacja ekstraktu przed sztucznym zakażeniem (tab. 2). W tym przypadku aktywność wyciągu z jeżówki była wyższa aniżeli skuteczność karbendazimu (tab. 2). Analiza wpływu stężenia wyciągu na jego aktywność biologiczną

Tab. 1. Aktywność biologiczna biopreparatu Antifung 20 SL w ochronie goździka odm. „Master” przed *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, liczba roślin z objawami fuzariozy naczyniowej (n = 10). Inicjalna liczebność *Fod* w torfie = 1110 jednostek infekcyjnych w 1 g pow. suchego substratu

Biological activity of Antifung 20 SL in the control of *Fusarium* wilt of carnation cv. Master; number of diseased plants (n=10). Initial population of *Fod* in peat= 1110 colony forming units/g of air dry substratum

Kombinacja Treatment	Stęż. Conc. (%)	Liczba zabiegów No. of treatments	Tygodnie po sadzeniu Weeks after planting	
			8	12
Kontrola zakażona Control, infested	-	-	4,75 c	9,5 d
Antifung 20 SL	20	1	2,75 a	5,5 a
Antifung 20 SL	20	2	3,25 b	6,75 b
Sarfun 500 S.C.	0,1	1	3,0 ab	6,5 ab
Sarfun 500 SC	0,1	2	2,25 a	7,5 bc

Uwaga: Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana.

Note: Means in columns, followed by the same letter, do not differ with 5% of significance (Duncan's multiple range test).

Tab. 2. Aktywność biologiczna wyciągu z jeżówki purpurowej w ochronie bulw mieczyków przed *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli*; liczba porażonych roślin po 43 dniach od sadzenia
Biological activity of *Echinacea* extract in the control of *Fusarium* corm rot of gladiolus 43 days after planting

Kombinacja Treatment	Stęż. Conc. (%)	Inokulacja bulw Corm inoculation	
		24 godz. przed zaprawianiem 24 h before soaking	2 godz. po zaprawieniu 2 h after soaking
Kontrola bez zakażenia Control, noninoculated	-	6,5 c	6,5 c
Kontrola zakażona Control, inoculated	-	2,0 a	2,0 a
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,1	4,5 b	1,75 a
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,2	3,25 ab	1,5 a
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,4	1,5 a	1,75 a
Sarfun 500 SC	0,4	4,0 ab	4,5 b

Uwaga: Patrz tab. 1. Note: See Table 1

Tab. 3. Wpływ wyciągu z jeżówki purpurowej na plon bulw mieczyków (w g)
Influence of *Echinacea* extract on the yield of gladiolus corms (in g)

Kombinacja Treatment	Stęż. Conc. (%)	Inokulacja bulw Corm inoculation	
		24 godz. przed zaprawianiem	2 godz. po zaprawieniu
		24 h before soaking	2 h after soaking
Kontrola bez zakażenia Control, noninoculated	-	37,3 c	37,3 d
Kontrola zakażona Control, inoculated	-	14,5 ab	14,5b
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,1	26,3 b	12,3 b
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,2	14,6 ab	4,0 a
Wyciąg z jeżówki <i>Echinacea</i> extract	0,4	10,5 a	13,5 b
Sarfun 500 SC	0,4	10,4 ab	19,6 c

Uwaga: Patrz tab. 1 Note: See Table 1

wskazuje, że najskuteczniejszy okazał się ekstrakt w koncentracji 0,4% (tab. 2). Analiza wpływu wyciągu z jeżówki na plon bulw mieczyków wskazuje, że ich ciężar był wyraźnie wyższy, gdy ekstrakt użyto w stężeniu 0,1% 24 godziny po inokulacji bulw przez *Fog* (tab. 3).

Poza pracami opublikowanymi przez Orlikowski i Wolski (1998) i Orlikowski i in. (2000), dotychczas brakuje innych danych związanych z aktywnością biologiczną wyciągu z jeżówki purpurowej w stosunku do grzybów chorobotwórczych dla roślin. Dotychczas uzyskane dane wskazują, że wyciąg w dawce 500 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ całkowicie hamował wzrost grzybni i zarodnikowanie *Phytophthora cryptogea* (Orlikowski i in. 2000). Gdy użyto go do opryskiwania roślin ograniczał rozwój plamistości pierścieniowej (*Myrothecium roridum*) o 30-40% (Orlikowski i Wolski, 1998). Jest bardzo prawdopodobne, że oprócz bezpośredniego oddziaływania wyciągu na badane formy specjalne *Fusarium oxysporum*, może on indukować odporność roślin na tę grupę patogenów.

WNIOSKI

1. Dodatek materiału glebowego do substratu torfowego i kompostowanej kory sosnowej w stosunku 1:1 spowodował istotne ograniczenie rozwoju fuzariozy naczyniowej goździków.

2. Podlanie goździków biohumusem (bezpośrednio po ich sadzeniu) do substratu torfowego, sztucznie zakażonego przez *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, spowodowało istotne ograniczenie rozwoju fuzariozy naczyniowej.

3. Użycie wyciągu z jeżówki purpurowej do moczenia bulw mieczyków, przed lub po zakażeniu przez *F. oxysporum* f.sp. *gladioli*, spowodowało istotne ograniczenie rozwoju fuzaryjnej zgnilizny w ciągu 43 dni uprawy.

PIŚMIENNICTWO

- Atkinson G. F., 1892. Some diseases of cotton. Ala. Auburn Agric. Exp. Sta Bull. 41: 65.
- Mendogen K., 1993. Control of biotrophs by mycoparasites. Bull. IOBC/WPRS. Biological Control of Plant Diseases, 16 (199):73-75.
- Orlikowski L. B., 1989. Mechanizm oporności gleb na formy specjalne *Fusarium oxysporum*. Post. Nauk Roln., 4-6: 41-56.
- Orlikowski L. B., 1996. Wykorzystanie naturalnej oporności gleb i podłoży w ogrodnictwie. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 429: 15-19.
- Orlikowski L. B., 1999. Selective media for the evaluation of propagules densities of *Phytophthora* spp. and *Fusarium oxysporum* and biocontrol agents efficacy in the pathogens control. Bull Pol. Acad. Sci. Biolog. Sci., 47, 2-4: 167-172.
- Orlikowski L. B., Skrzypczak Cz., Wolski T., 2000. Relationship between plant extracts and development of *Phytophthora cryptogea*. Mat. Międzyn. Konferencji „Mikrobiologia i biotechnologia na rubieżu XXI stulecia”, Mińsk, Białoruś, 2000.06.01-02, 123-124.
- Orlikowski L. B., Wolski T., 1998. Herb extract from *Echinacea purpurea* in the control of some pathogenic fungi. MFLUG 63/3b:1029-1031.
- Reinking O. A., Manns M. M., 1993. Parasitic and other *Fusaria* counted in tropical soils. Z. Parasitenk, 6: 23-75.
- Szczech M., 1995. Suppressiveness of potting medium with vermicompost toward *Phytophthora nicotianae*. Mat. z Międz. Konferencji „Biological control of soil-borne pathogens”, Skierniewice, 1995.04.21, 22: 83-86.
- Wolski T., Gliński J., 1998. Metabolity stresowe i inne substancje biologicznie czynne jako naturalne czynniki odporności roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 461:67-87.
- Wolski T., Gliński J., Orlikowski L. B., 1997. Zmodyfikowane struktury ligninocelulozowe i keratynowe oraz możliwości ich zastosowania w nawożeniu i ochronie roślin. Post. Nauk Roln., 1: 107-116.

Wolski T., Orlikowski L. B., Gliński J., 1996. Możliwości wykorzystania przetworzonych odpadów lignino-celulozowych i keratynowych w ochronie roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 437: 359-364.

Yuen G. J., Mc Cain A. H., Schroth M. N., 1983. The relation of soil type to suppression of *Fusarium* wilt of carnation. Acta Hort. 141: 95-102.

SUMMARY

Suppressiveness of soil and substrata and biological activity of biohumus and *Echinacea* extract in the control of formae speciales of *Fusarium oxysporum* on carnation and gladiolus were studied. Mixture of soil material with peat or composted pine bark significantly decreased *Fusarium* wilt development of carnation. Application of biohumus (active ingredient of Antifung 20 SL) as peat drench, immediately after carnation planting into artificially infested peat, decreased *Fusarium* wilt severity about 50%. Soaking of gladiolus corms in *Echinacea* extract before or after inoculation of the tested plants with *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, drastically decreased the number of diseased plants.