

Influence of several biotechnical products on growth limitation of fungi isolated from infested fruits of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) *in vitro* conditions

Wpływ kilku preparatów biotechnicznych na ograniczenie wzrostu w warunkach *in vitro* grzybów izolowanych z chorych owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbiferum* L.)

Jan Kućmierz, Jacek Nawrocki, Anna Sojka

Summary

The influence of three biotechnical products Biochikol 20 PC (chitosan) at a dose 2; 4 and 6%, Bioczoz BR (homogenate of garlic) – 1; 2 and 3%, Biosept 33 SL (extract from grapefruit) – 0.2; 0.4 and 0.6% and the reference fungicide Amistar 250 SC (azoxystrobin) – 0.05; 0.1 and 0.2% on mycelium growth of three species of fungi: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* and *Cladosporium cladosporioides* that are the most frequently isolated microorganisms from infested fruits of blueberry was examined in laboratory conditions. The study was conducted using a poisoned substrates method and Abbot's formula to evaluate activity of tested products. The research showed that the activity of examined compounds varies and depends on applied products, their concentrations and species of examined fungi. Biosept 33 SL demonstrated the best efficacy, higher than Amistar 250 SC, in inhibiting growth of fungal hyphae. Bioczoz BR showed much lower efficiency, whereas Biochikol 020 PC did not show any activity in reducing mycelial growth. However, numerous reports reveal high efficacy of Bioczoz BR in plant protection confirming that chitosan acts as an inducer of systemic resistance to some pathogens.

Key words: biotechnical preparations, blueberry, fruit pathogens

Streszczenie

W warunkach laboratoryjnych przebadano wpływ trzech preparatów biotechnicznych: Biochikol 20 PC (chitozan) w stężeniu 2; 4 i 6%, Bioczoz BR (homogenizat z czosnku) – 1; 2 i 3%, Biosept 33 SL (ekstrakt z grejpfruta) – 0,2; 0,4 i 0,6% oraz fungicyd porównawczy Amistar 250 SC (azoksystrobina) – 0,05; 0,1 i 0,2%; na wzrost plechy trzech gatunków grzybów: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* i *Cladosporium cladosporioides* – mikroorganizmy najczęściej izolowane z chorych owoców borówki. Badania przeprowadzono metodą zatrutych podłoży, zaś w ocenie aktywności badanych preparatów wykorzystano wzór Abbota. Z przeprowadzonych badań wynika, że aktywność badanych preparatów jest zróżnicowana i uzależniona od zastosowanych preparatów, ich stężeń oraz testowanych grzybów. Najskuteczniejszym, przeważającym skuteczność fungicydu Amistar 250 SC, w hamowaniu wzrostu strzępek grzybnii okazał się Biosept 33 SL. Bioczoz BR wykazał się znacznie niższą skutecznością. Biochikol 020 PC nie wykazał żadnej aktywności w ograniczaniu wzrostu grzybnii, ale liczne doniesienia o wysokiej jego skuteczności w ochronie roślin potwierdzają fakt, że chitozan działa jako induktor systemicznej odporności na niektóre patogeny.

Słowa kluczowe: środki biotechniczne, borówka wysoka, patogeny owoców

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Katedra Ochrony Roślin
Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków
j.nawrocki@ogr.ur.krakow.pl

Wstęp / Introduction

W związku z dość wysokimi wartościami odżywczymi, smakowymi i zdrowotnymi wzrasta zainteresowanie uprawą borówki wysokiej, szczególnie w Polsce południowo-wschodniej, gdzie oprócz licznych niewielkich plantacji powstają także plantacje towarowe, nawet 10- i 20-hektarowe (Machowicz-Stefaniak i Zalewska 2001). Mimo, że nadal za główną przyczynę większości chorób borówki obniżających jej plonowanie w Polsce uważa się czynniki nieinfekcyjne: przymrozki, nieodpowiednia kwasowość gleby, rzadziej nieumiejętne stosowanie pestycydów (Pliszka 2005), to szkodliwość chorób infekcyjnych (wirusy, fitoplazmy, bakterie i grzyby) wciąż wzrasta (Szmagara 2005). Grzyby patogeniczne mogą atakować zarówno pędy z liśćmi (Szmagara i wsp. 2006), jak i owoce (Zalewska i wsp. 2007).

Celem przeprowadzonych doświadczeń było przebadanie skuteczności trzech preparatów biotechnicznych w warunkach *in vitro*, w ograniczaniu wzrostu plechy trzech gatunków grzybów najczęściej izolowanych z chorych owoców z przeprowadzonych wcześniej badań nad zdrowotnością owoców *Vaccinium corymbiferum* na plantacjach w okolicach Krakowa (materiały w opracowaniu).

Materiały i metody / Materials and methods

W badaniach laboratoryjnych testowano trzy gatunki grzybów najczęściej izolowanych z owoców z objawami chorobowymi: *Alternaria alternata* (Fr.) Kreisler, *Botrytis cinerea* Pers. oraz *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Fries. Pewne zastrzeżenie może budzić trzeci z gatunków grzybów, bowiem często we wcześniejszej literaturze traktowany był jako saprotrof. Są jednak doniesienia, że może on być chorobotwórczy, np. dla korzeni marchwi (Kućmierz 1990), czy dla siewek różnych roślin (Kućmierz i Mazur 2003; Kućmierz i Sumera 2009).

Ze środków biotechnicznych wykorzystano Biochikol 020 PC (chitozan) w stężeniu 2; 4 i 6%; Bioczoz BR (homogenizat z czosnku) – 1; 2 i 3%, Biosept 33 SL (ekstrakt z grejpfruta) – 0,2; 0,4; i 0,6% oraz jako porównawczy fungicyd Amistar 250 EC (azoksystrobina) – 0,05; 0,1 i 0,2%. Ocenę wpływu badanych preparatów na wzrost liniowy testowanych grzybów w warunkach *in vitro* przeprowadzono powszechnie stosowaną w laboratoriach metodą zatrutych podłoży (Kowalik i Krechniak 1961). Z uzyskanych wyników wyliczono wskaźnik tempa wzrostu grzybnii, a następnie oceniano skuteczność badanych preparatów i ich stężeń przy pomocy wzoru Abbota (Borecki 1984). Uzyskane wyniki poddano ocenie statystycznej z zastosowaniem dwuczynnikowej (gatunek grzyba, rodzaj preparatu) analizy wariancji. Istotność różnicowania wyników oceniano testem Duncana na poziomie istotności $p = 0,05$.

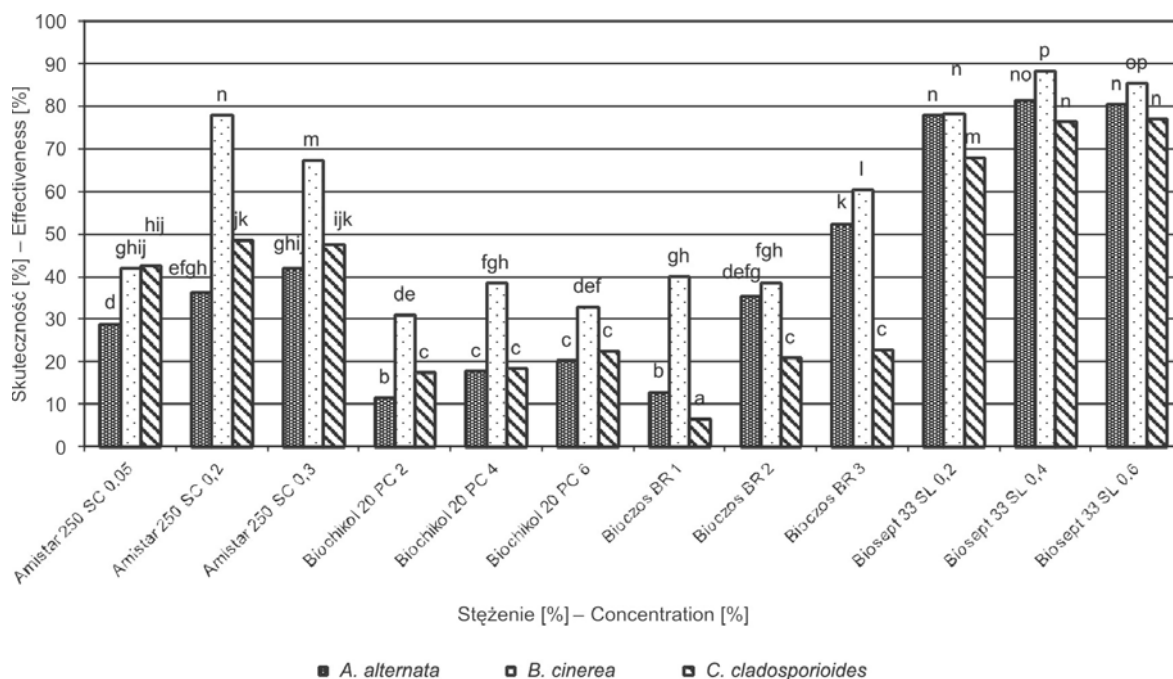
Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Obecnie w ochronie roślin przed chorobami, a także szkodnikami dąży się do ograniczenia stosowania synte-

tycznych preparatów chemicznych ze względów ekonomicznych oraz głównie jednak niebezpieczeństwa skażenia środowiska i produktów rolnych. Szczególnie ważne jest to w przypadku owoców, które zazwyczaj spożywa się bezpośrednio po zbiorze. Coraz częściej do ochrony roślin wprowadza się preparaty biotechniczne oparte na związkach organicznych, takie jak: Biosept 33 SL, Bioczoz BR i Biochikol 020 PC oraz preparaty biologiczne oparte na bazie mikroorganizmów antagonistycznych, jak Polyversum WP (Orlikowski i wsp. 2002; Mazur 2009; Kurzawińska i Mazur 2010).

Jak wynika z przeprowadzonych badań, najskuteczniejszym w hamowaniu rozwoju grzybnii w warunkach laboratoryjnych okazał się Biosept 33 SL (rys. 1). Jego skuteczność w przypadku *A. alternata*, dla trzech zastosowanych stężeń wynosiła 80%; dla *B. cinerea* była jeszcze wyższa i przy stężeniu 0,4 i 0,6% sięgała 90%; a najniższa dla *C. cladosporioides* – przy wyższych stężeniach 77%. Preparat ten wpływał także na zmianę barwy i kształtu kolonii testowanych grzybów. Swą skutecznością dość znacznie przekraczał skuteczność fungicydu porównawczego, jakim był Amistar 250 EC (rys. 1). We wcześniejszych badaniach niektórzy autorzy wykazali niewielkie oddziaływanie azoksystrobiny na ograniczenie wzrostu *A. alternata*, a dość skuteczne hamowanie wzrostu innych testowanych grzybów (Bertelsen i wsp. 2001; Mondal i wsp. 2005). Podobnie wysoką skuteczność preparatu Biosept 33 SL w hamowaniu rozwoju *B. cinerea* uzyskali Orlikowski i Skrzypczak (2001), Orlikowski i wsp. (2001, 2002), Pięta i wsp. (2004). Ponadto zauważono, że najczęściej, choć nie zawsze, wyższą skuteczność uzyskiwano na młodszych kulturach grzybów. Znacznie mniej skutecznym w hamowaniu rozwoju kolonii badanych grzybów okazał się Bioczoz BR. W przypadku wszystkich trzech gatunków grzybów najwyższą skuteczność uzyskano przy najwyższym stężeniu i tak w przypadku *A. alternata* ponad 50%; *B. cinerea* około 60% i najniższą dla *C. cladosporioides* około 20% (rys. 1). Podobnie niską skuteczność preparatu Bioczoz BR w stosunku do grzybów rodzaju *Alternaria*, w tym *A. alternata* zarówno w doświadczeniach laboratoryjnych, jak i polowych uzyskali Mazur i Nawrocki (2007).

Najmniej skutecznym w hamowaniu wzrostu grzybnii badanych patogenów okazał się Biochikol 020 PC (rys. 1). W stosunku do *A. alternata*, nawet przy najwyższym stężeniu (6%) jego skuteczność wynosiła niewiele ponad 20%. Podobny wynik uzyskano dla *C. cladosporioides*. Nieco wyższą skuteczność zaobserwowano w przypadku *B. cinerea*, ale i tu przy najwyższych stężeniach (4 i 6%) skuteczność wynosiła poniżej 40%. Jest to potwierdzenie większości wyników uzyskanych przez innych autorów, stwierdzających bardzo słabe działanie chitozanu lub w ogóle nie oddziałujące na kiełkowanie zarodników i wzrost grzybnii w warunkach *in vitro*, natomiast wykazujących wysoką skuteczność w ochronie roślin przed patogenami. Taką wysoką skuteczność chitozanu tłumaczy się jego działaniem jako induktora systemicznej odporności roślin na liczne patogeny (Wojdyła i Orlikowski 1997; Orlikowski i wsp. 2002; Pięta i wsp. 2004; Mazur 2009; Kurzawińska i Mazur 2010).



Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie według testu Duncana $p = 0,05$

Means followed by the same letter do not differ at 5% level of significance Duncan's multiple range test

Rys. 1. Skuteczność zastosowanych preparatów w ograniczaniu wzrostu wybranych grzybów

Fig. 1. The effectiveness of used preparations in reducing the growth of selected fungi

Wnioski / Conclusions

1. Aktywność badanych preparatów była zróżnicowana i zależała od ich stężeń oraz testowanego gatunku grzyba.
2. W warunkach *in vitro* najskuteczniejszym w hamowaniu rozwoju testowanych grzybów okazał się Bio-
3. sept 33 SL, znacznie słabszy Bioczso BR i prawie nieskuteczny Biochikol 020 PC.

Wszystkie preparaty najskuteczniej hamowały wzrost grzybni *B. cinerea*, a najslabiej *C. cladosporioides*.

Literatura / References

- Bertelsen J.R., de Neergaard E., Smedegaard-Petersen V. 2001. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathol.* 50: 190–205.
- Borecki Z. 1984. Fungicydy stosowane w ochronie roślin. PWN, Warszawa, 173 ss.
- Kowalik R., Krechniak E. 1961. Szczegółowa metodyka biologicznych i laboratoryjnych badań środków grzybobójczych. s. 63–91. W: „Materiały do metodyki biologicznej oceny środków ochrony roślin” (W. Węgorek, red.). Inst. Ochr. Roślin, Poznań, 226 ss.
- Kućmierz J. 1990. The pathogenicity of some fungal species for carrot roots. *Patolog. Fyziol. Rastlin.U.E.B.E. SAV*: 334–434.
- Kućmierz J., Mazur S. 2003. Grzyby izolowane z nasion brokuła (*Brassica oleracea* var. *italica*) oraz patogeniczność wybranych grzybów dla siewek. *Folia Hort.* 1: 568–570.
- Kućmierz J., Sumera R. 2009. Grzyby izolowane z nasion oberżyny (*Solanum melongena* L.) oraz patogeniczność wybranych gatunków dla siewek i próby ich zwalczania. [Fungi isolated from eggplant (*Solanum melongena* L.) seeds, their pathogenicity to seedlings and attempts of their control]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (1): 219–223.
- Kurzawińska H., Mazur S. 2010. Preparaty biotechniczne stosowane w okresie wegetacji ziemniaka a występowanie grzybowych chorób skórki bulw. [Biotechnical preparations applied during vegetation period and the occurrence of fungal diseases on potato tuber peel]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 50 (4): 2039–2043.
- Machowicz-Stefaniak Z., Zalewska E. 2001. Grzyby zasiedlające nadziemne organy borówki wysokiej – *Vaccinium corymbosum* L. s. 213–215. W: Materiały Ogólnopolskiej Naukowej Konferencji Ochrony Roślin Sadowniczych. ISiK, Skierniewice, 22–23 luty 2001, 259 ss.
- Mazur S. 2009. Wpływ ochrony truskawki środkami naturalnymi na porażenie owoców i liści przez niektóre grzyby patogeniczne. [The influence of application of natural compounds in strawberry protection against some fungal diseases]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (1): 379–382.
- Mazur S., Nawrocki J. 2007. Wykorzystanie związków naturalnych w ochronie marchwi przed alternarią. *Rocz. AR Poznań, CCCLXXXIII, Ogrodnictwo* 41: 565–569.
- Mondal S.N., Bhatia A., Shilts T., Timmer L.W. 2005. Baseline sensitivities of fungal pathogens of fruit and foliage of citrus to azoxystrobin, pyraclostrobin, and fenbuconazole. *Plant Dis.* 89 (11): 1186–1194.

- Orlikowski L., Skrzypczak Cz. 2001. Biopreparat z wyciągu z grejpfruta – postęp w biologicznej ochronie roślin przed chorobami. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, E, IX, Suppl.: 261–268.
- Orlikowski L., Skrzypczak Cz., Jaworska-Marosz A. 2001. Influence of grapefruit extract on the growth and development of *Botrytis* spp. and grey mould development on lily and peony. Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci. 49: 375–379.
- Orlikowski L., Skrzypczak Cz., Wojdyła A., Jaworska-Marosz A. 2002. Wyciągi roślinne i mikroorganizmy w ochronie roślin przed chorobami. Zesz. Nauk. AR Kraków, 387, Sesja Nauk. 82: 19–32.
- Pięta D., Pastucha A., Patkowska E. 2004. Oddziaływanie biopreparatów na wzrost i rozwój niektórych grzybów chorobotwórczych dla roślin motylkowatych. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus 3 (2): 171–177.
- Pliszka K. 2005. Regulowanie dojrzewania owoców borówki wysokiej. s. 26–31. W: Materiały Konferencji Naukowej „XXII Dni Borówkowe w SGGW”. Katedra Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa SGGW, Stowarzyszenie Plantatorów Borówki Amerykańskiej, Warszawa, 6 lipca 2005, 92 ss.
- Szmagara M. 2005. Występowanie i etiologia chorób pędów borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) uprawianej w południowo-wschodniej Polsce. Praca doktorska, AR w Lublinie, 80 ss.
- Szmagara M., Zalewska E., Machowicz-Stefaniak Z. 2006. Choroby występujące na nadziemnych organach borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). s. 86–92. W: Materiały Międzynarodowej Konferencji „Uprawa borówki i żurawiny”. ISiK, Skierniewice, 19–22 czerwca 2006, 262 ss.
- Wojdyła A., Orlikowski L. 1997. Chitozan w zwalczaniu grzybów odglebowych, nalistnych. [Chitosan in the control of soil and foliar fungi]. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 37 (1): 300–305.
- Zalewska E., Król E., Machowicz-Stefaniak Z. 2007. Grzyby zasiedlające owoce borówki wysokiej uprawianej w południowo-wschodniej Polsce. [Fungi colonizing the fruits of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivated in south-eastern Poland]. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 47 (2): 380–384.