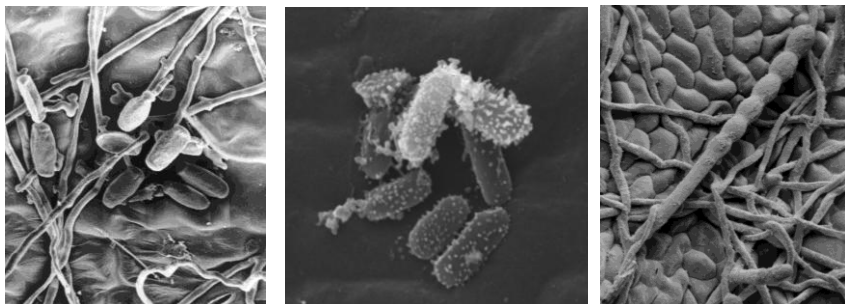


**Interakcje komórkowe
roślina – patogen**
w badaniach mikroskopowych nad odpornością
wybranych gatunków warzyw



Autorzy opracowania:

dr hab. Barbara Dyki prof. IO

mgr Aleksandra Murgrabia

Autorzy fotografii:

dr hab. Barbara Dyki prof. IO

mgr Aleksandra Murgrabia

mgr Anna Stębowska

Opracowanie redakcyjne:

mgr Barbara Nowak

Program Wieloletni 2008-2014

6.7: Poznanie czynników warunkujących odporność roślin warzywnych na patogeny (wirusy, grzyby, bakterie) z uwzględnieniem cech anatomicznych, cytologicznych i biochemicznych.

ISBN 978-83-89800-65-7

© Instytut Ogrodnictwa 2014 r.

Druk: POL-PRINT A. Durka, 96-100 Skierniewice, ul. Łuczyńskiego 6

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP I PRZEGLĄD LITERATURY.....	5
1.1. Rodzaje odporności roślin i ich objawy.....	5
1.1.1. Odporność konstytutywna.....	5
1.1.2. Indukcja odporności w całej roślinie SAR.....	6
1.1.3. Nadwrażliwość.....	6
1.1.4. Odporność systemiczna.....	7
1.1.5. Nekroza tkanek.....	7
2. METODY I TECHNIKI MIKROSKOPOWE ZASTOSOWANE W BADANIACH.....	7
3. CEL I ZAKRES PRACY.....	8
4. WYNIKI.....	9
4.1. Struktura komórkowa liści ogórka.....	9
4.1.1. Ogórek - <i>Pseudoperonospora cubensis</i> (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev.....	10
4.1.2. Ogórek - <i>Erysiphe cichoraceum</i> (D. C. et Merat).....	12
4.2. Struktura komórkowa liści pomidora.....	13
4.2.1. Pomidor - <i>Oidium neolycopersici</i> L. Kiss, sp. Nov.....	13
4.2.2. Pomidor - TMV wirus mozaiki tytoniu.....	15
4.2.3. Pomidor zaraza gałęzista <i>Phelipanche ramosa</i> L. Pomel.....	16
4.3. Kapusta pekińska - Tipburn i zagniewanie główek.....	17
5. FOTOGRAFIE.....	19
6. LITERATURA.....	25

1. WSTĘP I PRZEGLĄD LITERATURY

Wysokość i jakość plonowania roślin warzywnych jest zagrożona przez chorobotwórcze patogeny (wirusy, grzyby, bakterie), pasożyty i szkodniki. Również nieożywione czynniki środowiska, jak nieodpowiednia temperatura, wilgotność czy nasłonecznienie, mogą wywoływać stres u roślin, obniżając wysokość i jakość plonu (Starck 1999). Wprowadzanie do produkcji odmian warzyw odpornych na niekorzystne, stresotwórcze warunki uprawy jest jedną z bardziej efektywnych dróg ograniczania strat w plonowaniu (Pośpieszny 2000a). Podjęto więc kompleksowe prace, w tym badania poznawcze na poziomie struktur komórkowych, zmierzające do wyjaśnienia mechanizmów pomocnych przy selekcji, prowadzącej do zwiększenia populacji roślin warzywnych odpornych na stres biotyczny. Selekcja materiałów hodowlanych i ocena skuteczności działania różnych stymulatorów w poszukiwaniu odporności roślin wymagają precyzyjnego monitorowania relacji patogen – żywiciel. Taki monitoring zapewnia wiele metod i technik mikroskopowych, pozwalających na zobrazowanie reakcji komórek roślin o różnej podatności na patogeny czy pasożyty. Wykorzystanie mikroskopów elektronowych i świetlnych mikroskopów z fluorescencją, polaryzacją lub kontrastem fazowym pozwala prognozować zachowania komórek w określonych warunkach stresotwórczych i oceniać skutki zmian metabolizmu komórkowego. Komórki roślin odpornych na choroby infekcyjne charakteryzują się pewnymi cechami strukturalnymi i biochemicznymi, stanowiącymi bariery utrudniające rozwój patogenów (Dyki, Staniaszek 1997; Dyki 1998; Dangl, Jones 2001; Dyki, Horbowicz 2002; Dyki 2003; Dyki 2004). Określenie takich morfologicznych markerów jest podstawą selekcji roślin, prowadzonej pod kątem utrwalania cechy odporności w nowych odmianach mieszańców roślin kapustnych, pomidora i ogórka. Wprowadzanie do produkcji odmian warzyw odpornych na wirusy, grzyby, bakterie czy organizmy pasożytnicze pozwoli nie tylko ograniczyć straty w plonach, zmniejszyć nakłady finansowe na prowadzenie plantacji, ale przyczyni się też do ochrony środowiska przez ograniczenie ochrony chemicznej plantacji.

1.1. Rodzaje odporności roślin i ich objawy

Obronne mechanizmy mogą mieć charakter konstytutywny lub indukowalny.

1.1.1. Odporność konstytutywna

Odporność konstytutywna obejmuje tzw. niegościnnosć (*non-host*), w której gatunek rośliny nie jest gospodarzem dla patogena i dlatego nie

dochodzi do infekcji oraz odporność bierną, uwarunkowaną barierami fizycznymi, które zlokalizowane są na powierzchni rośliny, bądź w obrębie jej tkanek wewnętrznych. Pierwszą barierę dla patogena może stanowić gruba warstwa kutykuli, pokrywająca np. liście większości gatunków warzyw kapustowatych. Budowa chemiczna tej warstwy, a szczególnie obecność w niej niektórych wosków decyduje o możliwościach obronnych rośliny przed czynnikami infekcyjnymi. Również skład chemiczny ścian komórkowych i cytoszkieletu komórek epidermy, tkanek subepidermalnych czy wiązek przewodzących może utrudniać przenikanie chorobotwórczych mikroorganizmów.

Wytwarzanie wtórnych metabolitów np. w procesie lignifikacji tkanek roślinnych wzmacnia konstrukcję ścian komórkowych, np. naczyń ksylemu, utrudniając patogenom z ryzosfery dostęp do wiązek przewodzących systemu korzeniowego. Brak w tkankach rośliny określonych substancji, które zaindukują różnicowanie patogenu zaliczany jest również do konstytutywnych cech fizjologiczno-anatomicznych, decydujących o odporności roślin na choroby infekcyjne (Fidantsef i in. 1999; Fujita i in. 2006).

1.1.2. Indukcja odporności w całej roślinie SAR

Indukowalny mechanizm obronny rośliny sygnalizowany jest przez elicytory powstałe po kontakcie rośliny z określonym patogenem, wskazując na relacje typu host, jak i non-host. Pod wpływem elicitorów w obrębie zakażonej tkanki rozwijają się reakcje obronne. Roślina zaczyna wytwarzać fitoaleksyny, defensyny i enzymy lityczne (chitynaza, proteazy), degradujące ścianę komórkową. Tego typu reakcje zachodzące w całej roślinie prowadzą do tzw. nabytej odporności. Roślina odpowiada na działanie patogenicznego organizmu reakcją zlokalizowaną w miejscu infekcji, np. reakcja nadwrażliwości (*HR*, *hypersensitive response*) lub uruchamia szlak metaboliczny, prowadzący do uzyskania kolejnych produktów warunkujących odporność systemiczną, obejmującą całą roślinę (Pospieszny 2000b; Dyki, Kossak 2007; Borkowski i in. 2007; Ostrowska i in. 2008).

1.1.3. Nadwrażliwość

Objawia się zamieraniem tkanki wokół zainfekowanego miejsca wraz ze zniszczeniem komórek z patogenem. Jest to genetycznie uwarunkowana cecha obrony rośliny, określana jako programowana śmierć komórki (*PCD*). Często w wyniku reakcji nadwrażliwości dochodzi u roślin do uruchomienia mechanizmu odporności systemicznej (Mur i in. 2008; Dyki 2004).

1.1.4. Odporność systemiczna

Jest cechą, umożliwiającą roślinie obronę przed różnego typu stresotwórczymi mikroorganizmami. W zależności od czynnika indukującego wyróżnia się: nabytą odporność systemiczną (SAR, *systemic acquired resistance*) uruchamianą przez patogeny i kwas salicylowy syntetyzowany w procesie infekcji i systemiczną odporność indukowaną (ISR, *induced systemic resistance*) przez kwas jasmonowy oraz etylen (Dixon 2001).

Nabyta odporność systemiczna (SAR) charakteryzuje się obecnością białek PR (*pathogenesis related*) związanych z patogenezą i warunkuje reakcje obronne rośliny przed sprawcami chorób pochodzenia grzybowego, bakteryjnego i wirusowego.

Systemiczna odporność indukowana (ISR) może być inicjowana przez niepatogeniczne mikroorganizmy kolonizujące korzenie i stymulujące rozwój roślin, jak również przez czynniki abiotyczne, określane jako biostymulatory zawierające określone związki chemiczne wzmacniające reakcje obronne rośliny (Borkowski, Dyki 2000; Szczech i in. 2000; Borkowski, Dyki 2003; Ostrowska i in. 2008). Ten rodzaj odporności jest skuteczny również w ochronie przed szkodnikami.

1.1.5. Nekroza tkanek

Nekrotyzacja tkanki roślinnej jest często efektem porażenia rośliny przez czynnik patogeniczny, który narusza najpierw ciągłość komórek powierzchni rośliny, a następnie penetruje tkanki wewnętrzne liści, łodyg, kwiatów, owoców i korzeni. Do nekrozy tkanki w procesie infekcji dochodzi po indukcji wytwarzania reaktywnych form tlenu, określanych jako wybuch tlenowy: H_2O_2 , 1O_2 , OH (ROS) oraz reaktywnych form azotu: NO^* , ONOO – (RNS). Nekroza polega na wzmocnieniu ściany komórkowej na drodze lignifikacji, a H_2O_2 jest niezbędne w sieciowaniu składników tej ściany. Wiele patogenów roślinnych może rozwijać się tylko w obecności żywych komórek, a obumarcie tkanki na drodze wtórnego procesu lignifikacji hamuje rozprzestrzenianie się patogenu. Brak reakcji obronnych rośliny czyni ją podatną na porażenie, co sprzyja rozwojowi patogenu i stanowi zagrożenie rozprzestrzenienia się choroby (Dyki, Staniaszek 1997; Dyki 1998).

2. METODY I TECHNIKI MIKROSKOPOWE ZASTOSOWANE W BADANIACH

Morfologię wybranych, świeżych fragmentów roślin analizowano przy użyciu stereoskopowego mikroskopu (Olympus SZX16) z zastosowaniem programu Cell^B do cyfrowej analizy obrazów i sporządzania dokumentacji

fotograficznej. Wykonywano ocenę porażenia i mikromorfologii powierzchni liści, wykorzystując metodę izolacji epidermy przy pomocy taśmy klejącej typu „scotch tape” i barwienie błękitem toluidyny (Dyki, Habdas 1997). Do badań histologicznych materiałów utrwalono w utrwalczu CrAF (kwas chromowy, kwas octowy, formalina), odwodniono w etanolu, zatopiono w parafinie, pocięto mikrotomem rotacyjnym i barwiono w safraninie i zieleni jasnej, a następnie analizowano w mikroskopie świetlnym z polaryzacją (Nicon Eclipse 80i) i programem NIS Elements Br do wykonywania pomiarów i fotografii. Wykonywano również badania z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego (SEM) JEOL JSM-6390LV we współpracy ze Środowiskowym Laboratorium Mikroskopii Elektronowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mossakowskiego PAN w Warszawie. Do badań tych pobierano fragmenty materiału utrwalonego w utrwalczu histologicznym CrAF i odwodnionego, podobnie jak do badań histologicznych. Materiał suszono w punkcie krytycznym CO₂, napyłano złotem i analizowano interakcje patogen – roślina na powierzchni epidermy i rizodermy. Skuteczność działania biopreparatów oceniono na podstawie testu na odcinanych liściach. Wykonano makroskopową ocenę wpływu biopreparatów na reakcje obronne ogórka z wykorzystaniem testu *in vivo* pozwalającego na wykrywanie generowania H₂O₂ w liściach ogórka. Dla testu liście były odcinane z roślin (wraz z ogonkami liściowymi), a następnie zanurzone w 1% roztworze DAB (3,3-diaminobezydyna) o pH 3,8 i wyjmowane z roztworu DAB po 8 godzinach. Następnie umieszczano liście na 10 minut w gotującym 96% etanolu (do wyekstrahowania chlorofilu), a potem przenoszono je do zimnego etanolu i przechowywano pod zamknięciem do czasu oceny. Porównywano tu zabarwienie nerwów liści i blaszki liściowej (brunatnienie) jako wynik reakcji DAB z H₂O₂.

Wszystkie wyniki obserwacji makroskopowych i mikroskopowych dokumentowano przy pomocy fotografii i odpowiednich pomiarów.

3. CEL I ZAKRES PRACY

Celem opracowania jest ukazanie w budowie roślin cech, które mają decydujący wpływ na międzykomórkowe relacje patogen/pasożyt – żywiciel przy zróżnicowanej podatności/odporności rośliny żywicielskiej na określony czynnik stresotwórczy.

Przedstawione wyniki badań obejmują trzy gatunki roślin warzywnych (ogórek, pomidor, kapusta pekińska), z uwzględnieniem budowy komórkowej części porażanych (liść i korzeń) oraz międzykomórkowe relacje tych roślin z kilkoma gatunkami organizmów żywicielskich (Tab. 1).

Tabela 1.

Analizowane gatunki roślin i czynniki infekcyjne

Gatunek rośliny	Sprawcy i choroby roślin
Ogórek	<i>Pseudoperonospora cubensis</i> – mączniak rzekomy ogórka <i>Erysiphe cichoracearum</i> – mączniak prawdziwy ogórka.
Pomidor	<i>Oidium neolycopersici</i> – mączniak prawdziwy pomidora <i>Nicotiana virus</i> – mozaika tytoniu <i>Phelipanche ramosa</i> – roślina pasożytująca na pomidorze
Kapusta pekińska	Bakteryjne zagniewanie roślin podatnych na Tipburn/wewnętrzne brunatnienie liści zwijających główkę

Materiał roślinny pochodził z następujących doświadczeń:

- 6 doświadczeń szklarniowych z odmianami pomidora, w których przetestowano 17 odmian pod kątem tolerancji/odporności na zarazę gałęzistą *Phelipanche ramosa*,
- 6 doświadczeń polowych (w pojemnikach) z kapustą pekińską odmiany Bilko F₁, w których zastosowano różne metody nawożenia wapniowego i przetestowano kilka biostymulatorów dla stymulacji odporności na tipburn i ograniczenia wtórnych zakażeń bakteryjnych,
- 3 doświadczenia szklarniowe z ogórkami odmiany IWA F₁ traktowanymi różnymi biostymulatorami dla wzmocnienia możliwości obronnych roślin przed mączniakiem prawdziwym,
- 3 testy w komorach fitotronowych z roślinami linii hodowlanych ogórka o zróżnicowanej podatności na sprawcę mączniaka rzekomego.

4. WYNIKI

4.1. Struktura komórkowa liści ogórka

W tkance okrywającej liści ogórka, epidermie, często określanej jako skórka, wyróżnia się trzy rodzaje komórek: komórki podstawowe, zwykle płaskie o nieregularnym kształcie, nadanym przez pofalowanie ścian komórkowych, komórki aparatów szparkowych i wielokomórkowe włoski wydzielnicze dwóch rodzajów (Fot. 2, 4, 5). Zarówno włoski różnej wysokości, jak i aparaty szparkowe różnej wielkości obecne są po obydwu stronach liścia (Fot. 3, 11, 12). Pod aparatami szparkowymi obecne są komory podszparkowe graniczące z komórkami miękkiszowymi. W epidermie pokrywającej nerwy li-

ścia obserwuje się większe zagęszczenie włosków niż w pozostałej powierzchni (Fot. 5). Powierzchnię wszystkich komórek epidermy pokrywa kutikula, cienka warstwa o zróżnicowanym składzie chemicznym – woski, lipidy, polisacharydy, woda i związki mineralne, m.in. krzemiany. Mięksisz palisadowy zwarty, bez przestrzeni międzykomórkowych, zbudowany z jednej warstwy komórek o podobnej wysokości. Mięksisz gąbczasty składający się z komórek luźno ułożonych, o międzykomórkowych przestrzeniach różnej wielkości, charakteryzujących zwartość tkanki mięksiszowej liścia (Fot. 6, 7). Unerwienie liścia, nerw główny i nerwy boczne, stanowią wiązki przewodzące sitowo-naczyniowe (ksylem i floem). Wiązki te zlokalizowane są na granicy mięksiszu palisadowego i gąbczastego.

4.1.1. Ogórek – *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev

Sprawca mączniaka rzekomego ogórka *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev jest patogenem o złożonym cyklu rozwojowym, przez co trudnym do zwalczania. Dlatego najbardziej skutecznym elementem ochrony roślin przed porażeniem jest hodowla mieszańców odpornych na chorobę (Sobolewski, Dyki 2010). W badanej populacji linii hodowlanych ogórka rośliny charakteryzowały się zróżnicowaną podatnością na *Pseudoperonospora cubensis*. Zarodniki patogena (Fot. 8-10) kiełkowały zarówno na dolnej, jak i górnej epidermie liścia. Strzępka kiełkowa może przetrastać bezpośrednio ściany podstawowych komórek epidermy (Fot. 13, 15), jak i bazalnych komórek włosków, ale również przerasta przez otwory aparatów szparkowych. Strzępki patogena, po pokonaniu epidermy liścia, rozrastały się międzykomórkowo, nie wnikając do wnętrza cytoplazmy komórek. Obserwowano jednak, w tkance mięksiszowej liści roślin podatnych, brak ciągłości ścian komórkowych w bezpośrednim sąsiedztwie strzępek patogena (Fot. 16). Prawdopodobnie dochodzi tu do procesów litycznych przy penetracji tkanek liścia. U roślin podatnych na chorobę, nie mających właściwości obronnych, strzępki sprawcy kierują się przestrzeniami międzykomórkowymi do wiązek przewodzących. Bardzo często obserwowano na przekrojach liści fragmenty strzępek patogena w bezpośrednim sąsiedztwie komórek ksylemu czy floemu wiązkowego. Strzępki były często obserwowane w równoległym układzie do wiązek, co sugeruje, że takie sąsiedztwo umożliwia pasożytowi bezpośrednie czerpanie metabolitów z komórek floemu przewodzącego asymilaty, czy komórek ksylemu rozprzodkującego wodę z substancjami mineralnymi. Po przerośnięciu całej grubości liścia strzępki patogena kierują się do przestworów podszparkowych i wyrastają przez otwory aparatów szparkowych w strzępki konidialne. Zarodniki konidialne powstają na dichotomicznie

rozgałęzionych, szczytowych częściach strzępek konidialnych. Zarodniki są najpierw kulistego kształtu, a w miarę zwiększania się ich rozmiarów stają się jajowate. Zarodniki konidialne obserwowano głównie po spodniej stronie liści roślin podatnych na mączniaka rzekomego (Fot. 8). Nie notowano obecności zarodników konidialnych u roślin ocenionych jako odporne. Zahamowanie rozwoju mączniaka rzekomego stwierdzono u roślin pięciu linii (Tab. 2).

Tabela 2.

Liczba aparatów szparkowych epidermy dolnej (D) i górnej (G) strony liści linii hodowlanych ogórka (2011 r.)

Lp.	Oznaczenie rośliny	Makroskopowa ocena stopnia porażenia (skala 1-10)	Liczba aparatów szparkowych w epidermie liścia (średnia z 10 pól widzenia w mikroskopie)	
			G	D
1	4	0 (odporna)	11	23
2	5	0 (odporna)	14	22
3	11	8	20	17
4	17	9	18	13
5	21	0 (odporna)	16	23
6	22	0 (odporna)	13	19
7	28 F ₁	9	21	18
8	33 F ₁	7	19	19
9	36	3 (odporna)	17	24
10	44 RF ₁	8	19	24
11	49 RF ₁	8	20	22

- Rośliny odporne na porażenie *Pseudoperonospora cubensis* różniły się od roślin podatnych dwoma cechami: liczbą aparatów szparkowych w liściu i zwartością tkanki mięsistej liścia.
- Rośliny ogórka odporne na mączniaka rzekomego charakteryzowały się mniejszą liczbą aparatów szparkowych w epidermie górnej strony liścia i większą ich liczbą po stronie dolnej (Fot. 11, 12).
- Mała liczba aparatów szparkowych jest cechą sprzyjającą odporności roślin ogórka na *Pseudoperonospora cubensis*, ponieważ są one miejscem zarówno wnikania strzępek infekcyjnych (górna powierzchnia liścia), jak i wyrastania strzępek konidialnych (dolna strona liścia).

- Rośliny ogórka odporne na mączniaka rzekomego miały miękisz palisadowy i gąbczasty o bardziej zwartej strukturze niż rośliny podatne na chorobę (Fot. 16, 17).

Tkanki miękiszu liści o dużej zwartości utrudniają penetrację strzępek patogena między komórkami, dlatego cecha „upakowania” komórek może decydować o stopniu podatności roślin ogórka na mączniaka rzekomego. Wykonane pomiary wskazują, że liście roślin odpornych na mączniaka rzekomego mają większą grubość niż rośliny podatne, co jest spowodowane różnicami w grubości, zarówno epidermy górnej i dolnej, jak i miękiszu palisadowego i gąbczastego. Z obserwacji wynika, że grubość liścia nie determinuje odporności roślin ogórka na mączniaka rzekomego.

4.1.2. Ogórek – *Erysiphe cichoracearum* (D. C. et Merat)

Sprawcy mączniaków prawdziwych są pasożytami bezwzględnyymi, co znaczy, że są to patogeny zdolne do życia i rozwoju jedynie na żywych roślinach. Poza żywicielami grzyby te mogą występować jedynie jako nieaktywne formy przetrwalnikowe. Grzyby z rzędu mączniakowych (*Erysiphales*) porażają głównie nadziemne części roślin (liście, łodygi, rzadziej kwiaty i owoce), pokrywając je białym lub szarawobiałym mączystym nalotem (Fot. 18) (Dyki, Habdas 1996; Ostrowska i in. 2008). Obecnie mączniaki prawdziwe występują powszechnie i porażają wiele gatunków roślin (Sałata 1985).

Rośliny ogórka odmiany IWA traktowano różnymi biostymulatorami, między innymi biopreparatami na bazie chityny, wyciągów z owoców cytrusowych i alg morskich oraz dolistnym nawozem krzemowym SYLVIT (Fot. 21). Substancje te ograniczały w różnym stopniu rozwój mączniaka prawdziwego. Stwierdzono zahamowanie wzrostu strzępek grzybnicy patogena na powierzchni liści roślin traktowanych BM-605, zawierającym olej melaleuca. Sylvit i Biochikol 020 PC były najmniej skuteczne w ochronie roślin ogórka, zarówno w porównaniu z kontrolą, jak i innymi zastosowanymi środkami (Tab. 3).

Zbyt duże stężenia preparatów na bazie cytrusów powodowały objawy fitotoksyczności na liściach ogórka. Obserwowano zróżnicowanie brunatnienia wiązek przewodzących (nerwów) liści i tkanki poza wiązkami, świadczące o różnicach w generowaniu H_2O_2 między roślinami z poszczególnych kombinacji. Najwięcej brązowiejących fragmentów tkanek liści notowano u roślin z objawami mączniaka prawdziwego nie traktowanych środkami, a najmniej wśród roślin kontrolnych – zdrowych (Fot. 22). Brunatnienie wiązek przewodzących liści w efekcie generowania nadtlenu wodoru obserwowano również po opryskiwaniu badanymi środkami (Fot. 23). Po

porażeniu roślin *E. cichoracearum*, opryskiwanych środkiem, notowano wzmocnienie intensywności brązowego zabarwienia nerwów liści w porównaniu z kontrolą opryskiwaną i nie infekowaną *E. cichoracearum*. Zanotowano, że rośliny z objawami fitotoksyczności wcześniej zakwitały niż rośliny nieuszkodzone, ale kwiaty, zarówno męskie, jak i żeńskie, szybko opadały, a ich ziarna pyłku traciły żywotność. W doświadczeniach zaobserwowano szkodniki – wciornastki *Thysanoptera*, żerujące na kwiatach. Uszkadzały one tkanki zalążni, ale były również wektorami różnych patogenów, między innymi sprawcy mączniaka prawdziwego. Uszkodzenia zalążni i kwiatów przez wciornastki powodowały zamieranie zawiązków owoców ogórka.

Tabela 3.

Biologiczna skuteczność (% S.) różnych środków w ochronie roślin ogórka 'TWA' przed mączniakiem prawdziwym (*E. cichoracearum*)

Badane środki	Substancja aktywna	% porażenia powierzchni liści	% S.*	% porażenia powierzchni liści	% S.*
		5.06.		18.06.	
Kontrola	-	7,8 a	-	44,0 a	-
Grevit 200 SL	ekstrakt z grejpfruta	0,2 d	97,4	5,8 d	86,8
Sylvit	nawóz krzemowy	1,5 c	80,8	21,6 b	50,9
Timorex	olej melaleuca	0,3 d	96,2	7,3 d	83,4
Physpe 6	wyciąg z alg	0,5 d	93,6	6,0 d	86,4
Physpe 7	wyciąg z alg	0,4 d	94,9	15,0 c	65,9
Biochikol 020 PC	chitozan	3,0 b	61,5	23,7 b	46,1
BM-608	olej melaleuca	0,1 d	98,7	0,1 e	99,8

Test Newmana Keulsa dla $p=0,05$

* skuteczność obliczona za pomocą wzoru Abbott'a

4.2. Struktura komórkowa liści pomidora

W tkance okrywającej liści pomidora wyróżnia się podobne komórki jak u ogórka (Fot. 28, 29). Zarówno komórki podstawowe, jak i aparaty szparkowe są podobnego kształtu, tylko szczytowe części włosków gruczołowych w liściach pomidora mają nieco inną budowę (Fot. 28).

4.2.1. Pomidor – *Oidium neolycopersici* L. Kiss, sp. nov.

Sprawca mączniaka prawdziwego poraża nadziemne, zielone części roślin, głównie liście i pędy (Dyki, Sobolewski 2010). Pierwszą barierą, jaką ma

do pokonania patogen, jest powierzchnia skórki liścia (Fot. 26). Pokryte kutikulą zewnętrzne ściany komórkowe epidermy liści poddają się działaniu wielu enzymów produkowanych przez infekujące zarodniki patogena. Dochodzi więc do rozkładu składników chemicznych ściany komórek epidermy żywiciela: kutyny, suberyny, celulozy, hemiceluloz, pektyn, lignin oraz białek (Dyki, Horbowicz 2002).

W kontakcie z żywicielem bardzo ważną funkcję pełnią appressoria (przycistki, przyłgi) grzyba, które są charakterystycznymi zgrubieniami strzępek grzybni zewnętrznej. Formowanie się appressoriów jest indukowane przez fizyczne i chemiczne czynniki, dochodzące z atakowanej powierzchni rośliny-gospodarza. Appressoria przylegają ściśle do ściany komórki i są bardzo ważnym fragmentem grzybni zewnętrznej, ponieważ z nich wyrasta strzępka infekcyjna (Fot. 31, 33), czyli haustorium. W procesie chorobowym haustoria mączniaka wrastają tylko do komórek skórki rośliny (Fot. 35), włącznie z komórkami włosków i aparatów szparkowych, umożliwiając patogenowi wykorzystywanie substancji odżywczych rośliny. Metabolity patogena, wprowadzane do tkanek miękiszu liścia czy pędu, działają toksycznie powodując chlorozy, nekrozy, więdnienie i zamieranie organów, co często zagraża życiu całej rośliny. Badania prowadzone na szesnastu gatunkach dzikiego pomidora wykazały, że rozwój patogena u roślin pomidora podatnych na chorobę związany jest z postępującą degeneracją komórek epidermy, a następnie miękiszu palisadowego liści (Dyki 2004). Haustoria grzyba obecne były niemal w każdej komórce epidermy podatnego gospodarza. Grzybnia patogena rozwijała się tu bez zahamowań, tworząc kolejne pokolenia zarodników konidialnych, które kiełkowały, rozwijając grzybnię infekującą następne komórki epidermy liścia. Nekrotyczne zmiany infekowanych komórek epidermy liści roślin podatnych na chorobę towarzyszyły przemieszczaniu się strzępek grzyba do następnych, żywych komórek tej warstwy. U większości roślin gatunków podatnych na chorobę, w efekcie postępującego rozwoju patogena, liść zamierał. Na liściach roślin odpornych obserwowano degenerację grzyba w różnych stadiach jego rozwoju. U roślin charakteryzujących się największą odpornością grzyb degenerował w okresie kiełkowania zarodników, po inokulacji liścia. Generalnie, po inokulacji grzybem, u roślin odpornych haustoria patogena degenerowały z powodu nektoryzacji komórki epidermy liścia. To hamowało dalszy rozwój strzępek grzybni zewnętrznej i w efekcie nie powstawało nowe pokolenie zarodników konidialnych. Pod wpływem patogena rośliny odporne charakteryzowały się degeneracją znacznie mniejszej liczby komórek epidermy liścia niż rośliny podatne.

Makroskopowa ocena porażenia grzybem *Oidium neolycopersici*, roślin 9 odmian pomidora oraz mikroskopowa analiza epidermy liści pod kątem

oceny liczby komórek zainfekowanych (Fot. 30), wykazała różnice w podatności odmian na infekcję (Tab. 4).

Tabela 4.

Wpływ *Oidium neolycopersici* na objawy rozwoju mączniaka prawdziwego różnych odmian pomidora (10 roślin z odmiany)

Lp.	Nazwa odmiany mieszańcowej F ₁	% roślin pomidora z objawami porażenia <i>Oidium neolycopersici</i>	Średnia liczba komórek epidermy liścia z objawami nekrozy i haustoriami grzyba (0,5 cm ² powierzchni liścia)
1	Growdena	20	29
2	Grace	10	14
3	Admiro	0	0
4	Zouk	40	58
5	Flexion	10	17
6	Euforia	30	35
7	Bigdena	10	21
8	Starbuk	10	19
9	Faustine	30	42

Między analizowanymi odmianami pomidora zaobserwowano różnice w morfologii i liczebności włosków wydzielniczych, głównie gruczołowych, widocznych w epidermie liści (Fot. 28). Komórki włosków wydzielniczych gromadzą związki chemiczne, które mogą być toksyczne dla patogena. Obserwacje wykazały, że po uszkodzeniu niektórych włosków przez strzępki infekcyjne grzyba dochodzi do zniekształcenia fragmentów grzybni i zarodników patogena znajdujących się w pobliżu uszkodzenia (Fot. 32). Może to świadczyć o toksycznym działaniu zawartości komórek niektórych włosków wydzielniczych. Większa ich liczba może ograniczać rozwój sprawcy mączniaka prawdziwego i przyczyniać się do wzmacniania odporności roślin.

4.2.2. Pomidor – TMV wirus mozaiki tytoniu

Przy użyciu kilku technik mikroskopowych i metod porównano także strukturę liści pomidora zdrowego i liści z makroskopowo stwierdzonymi objawami TMV.

U roślin porażonych TMV (Fot. 37) zaobserwowano różnice morfologiczne widoczne w kształcie włosków i komórek podstawowych epidermy (Fot. 38, 39). Obrazy te świadczą o nekrotycznym charakterze zmian tkanki prowadzącym do zamierania całego liścia na skutek porażenia wirusem.

4.2.3. Pomidor zaraza gałęzista *Phelipanche ramosa* L. Pomel

Oceniono wrażliwość dziewięciu odmian pomidora na rozwój pasożytniczej rośliny *Phelipanche ramosa* L. Pomel.

Zaraza gałęzista jest znanym pasożytem roślin prawie na całym świecie (Borkowski i Dyki 2008) i stanowi poważne zagrożenie dla gatunków uprawnych, szczególnie w krajach ciepłego klimatu. Postępujące zmiany klimatyczne spowodowały, że pasożyt ten zaczyna być również problemem w uprawach warzyw w Polsce (Fot. 40). W Instytucie Ogrodnictwa wykonano badania biologii rozwoju pasożyta i jego struktury komórkowej (Fot. 41-45) oraz zastosowano kilka środków do zwalczania, w tym 2,5% Biochikol 0,20 PC i Bion 50 WG – produkty polecane w uprawach ekologicznych (Dyki i in. 2009; Dyki i in. 2010; Stębowska i in. 2011; Stębowska, Dyki 2012). Warunkiem koniecznym do kiełkowania nasion zarazy gałęzistej jest obecność rośliny gospodarza (Zehhar i in. 2003; Stębowska i in. 2013). Pasożyt wytwarza podziemną bulwkę z licznymi ssawkami (Fot. 44, 45). Z bulwki wyrasta po kilka pozbawionych chlorofilu pędów kwiatowych z drobnymi, łuskowatymi liśćmi. Zaraza gałęzista ma fioletowo-niebieskie, grzbieciste kwiaty obupłciowe (Fot. 41), których zalążnie wydają liczne, bardzo drobne nasiona (Fot. 42, 43).

Pod wpływem saletry wapniowej i pylistej soli potasowej pędy nadziemne pasożyta ulegały zniszczeniu w ciągu 2-4 dni. Biochikol 020 PC przyspieszał (ok. 6 dni), a Bion 50 WG opóźniał wybijanie pędów pasożyta. Stwierdzono, że mszyca ogórkowa (*Aphis gossypii* Kalt.), żerująca na pędach zarazy gałęzistej powodowała ich zamieranie. Potwierdzenie takiej obserwacji może przyczynić się do opracowania metody biologicznego zwalczania innych pasożytów z tego rodzaju (*Orobanchae*) przy pomocy mszyc. Zbadano wpływ odmiany pomidora na liczbę pędów zarazy gałęzistej *Phelipanche ramosa*. Z ocenianej przez 4 lata populacji 17 odmian pomidora szklarniowego wytypowano 2 odmiany: Growdena F₁ i Faustine F₁ (Tab. 5), charakteryzujące się brakiem wzrostu pędów zarazy gałęzistej *Phelipanche ramosa*, co może sugerować odporność tych odmian na badanego pasożyta. Rośliny odmian pomidora, które były podatne na porażenie *Phelipanche ramosa*, były jednocześnie dobrymi żywicielami dla sprawcy mączniaka prawdziwego, co stwierdzono na podstawie liczby komórek epidermy z objawami nekrozy pod wpływem wnikania haustoriów grzyba (Tab. 5).

Tabela 5.

Rozwój zarazy gałęzistej na roślinach różnych odmian pomidora (2011 r.)

Lp.	Odmiany mieszańcowe F ₁	% roślin pomidora porażonych przez <i>Phelipanche ramosa</i>	Średnia liczba komórek epidermy liścia z objawami nekrozy i haustoriami grzyba 0,5 cm ² powierzchni liścia
1	Growdena	0	8
2	Grace	15	22
3	Admiro	10	10
4	Zouk	40	46
5	Flexion	10	29
6	Euforia	30	33
7	Bigdena	10	21
8	Starbuk	10	29
9	Faustine	0	11

4.3. Kapusta pekińska - Tipburn i zagniwanie główek

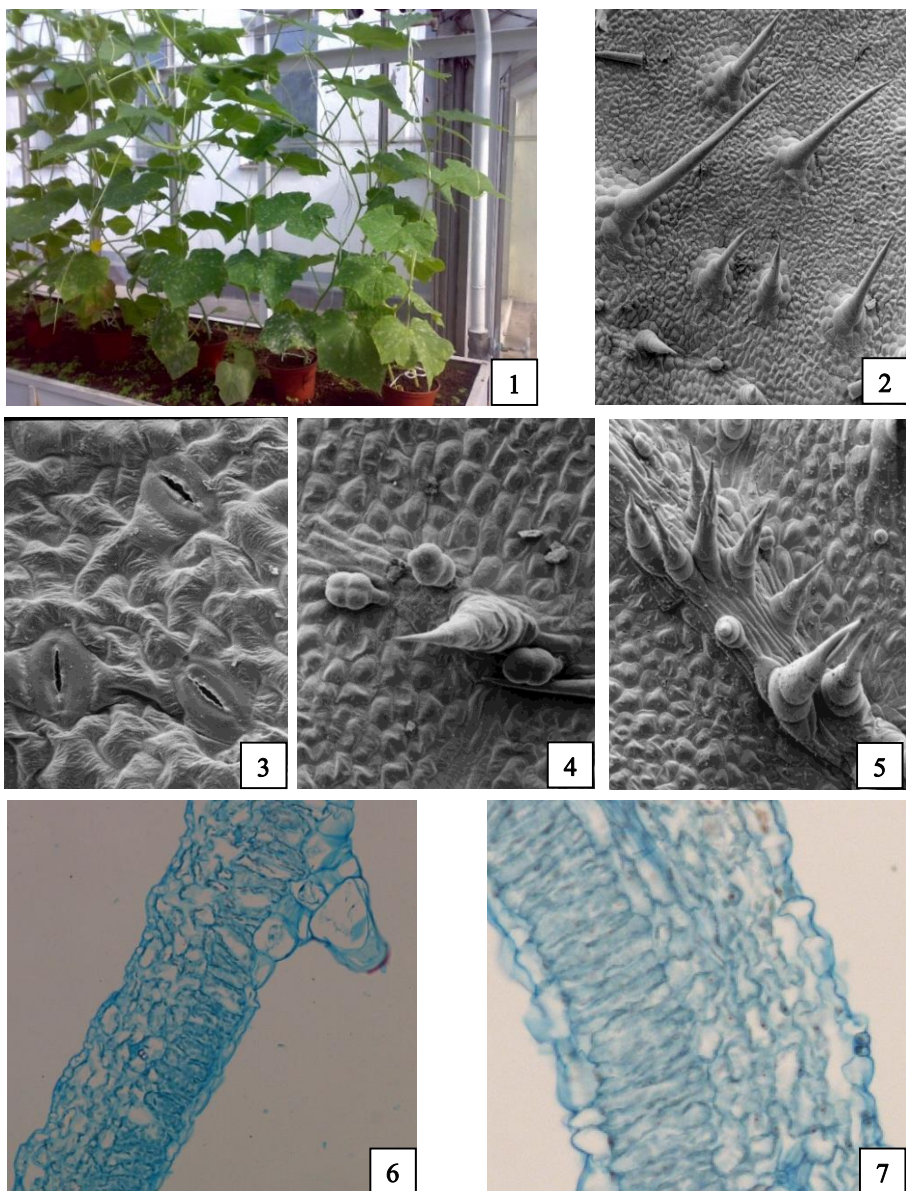
Zbadano ograniczenie występowania fizjologicznej choroby **tipburn** (zasychanie brzegów liści zwijających główkę) powodowanej deficytem wapnia i wody w roślinach. Choroba ta objawia się postępującą nekrozą wewnętrznych liści główek sałaty (Fot. 47, 48) i prowadzi do wtórnych zmian bakteryjnych (Borkowski i in. 2010). Oprócz licznych bakterii, stwierdzono w badaniach mikroskopowych obecność licznych zarodników i strzępek grzybów na zagniwających liściach kapusty pekińskiej, bezpośrednio po zbiorze (Fot. 50, 51). Główki kapusty pekińskiej z objawami tipburn w czasie przechowywania utraciły wartość konsumpcyjną. Zastosowano nawożenie dolistne roślin kapusty pekińskiej kilkoma nawozami zawierającymi wapń w zróżnicowanych formach oraz nawożenie Tytanitem, sprawdzonym wcześniej jako stymulator odporności na stres biotyczny i abiotyczny innych gatunków roślin uprawnych. Najmniejsze objawy tipburn i wtórnych chorób bakteryjnych, powodujących zagniwanie liści, zanotowano po traktowaniu roślin Wapnovitem 1,5% i saletrą wapniową (Fot. 49, Tab. 6).

Tabela 6.

Występowanie tipburn i zagniwanie kapusty pekińskiej odmiany Bilko F₁ w zależności od stosowanego nawozu dolistnego (2010 r.)

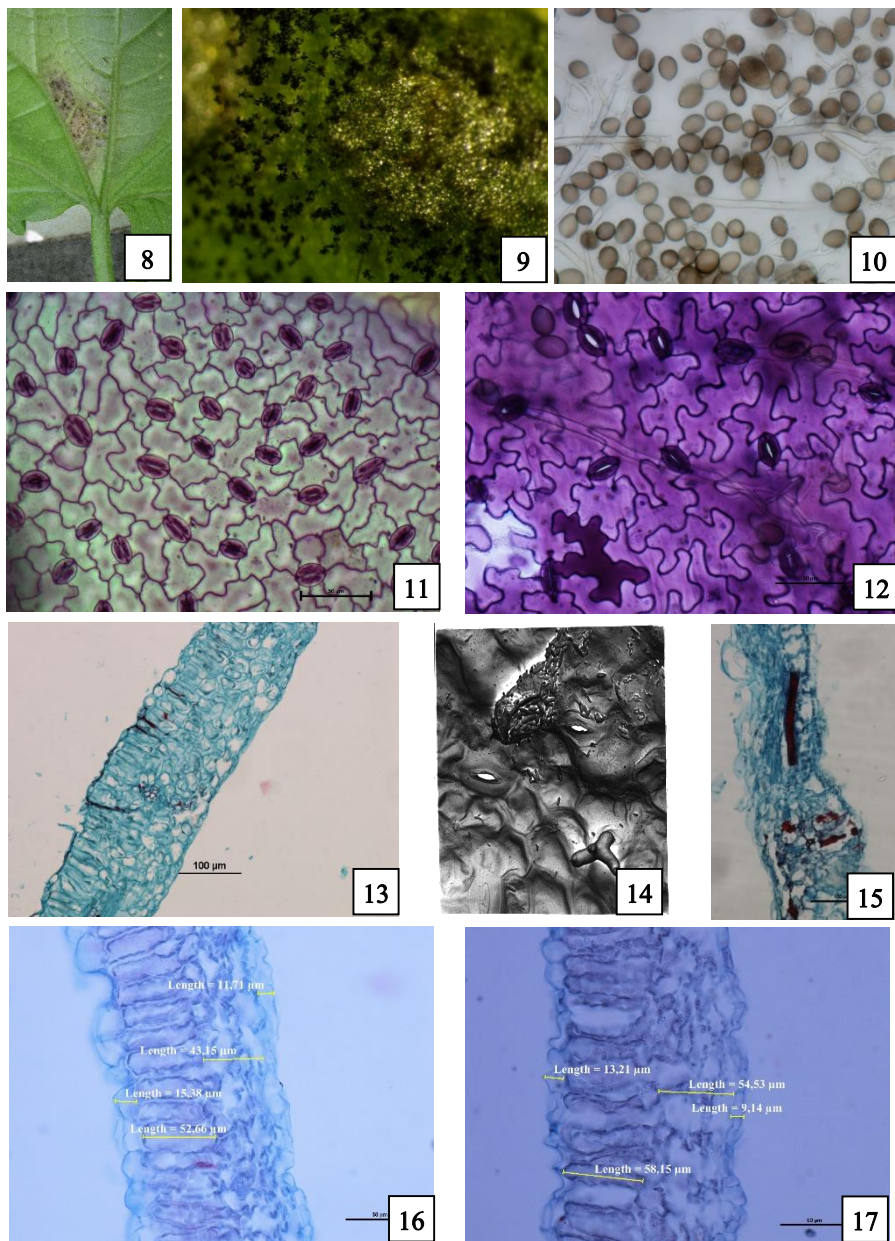
Nawozy dolistne	Obserwacje tipburn w skali 0 – 4				Procent uszkodzeń od opryskiwania			Stopień zagniwan- nia 0 – 4	Średnia masa główki w kg
	10.06	17.06	24.06	1.07	17.06	24.06	1.07		
Kontrola	0,85	1,10	1,45	1,85	0	20	30	2,6	1,39
Tytanit	0,73	1,14	1,46	1,95	0	27,3	18,2	2,7	1,70
Chelat 0,4%	0,80	1,15	1,35	1,60	60	100	100	2,4	1,81
Chelat 0,8%	0,95	1,20	1,80	2,05	100	100	70	2,4	1,78
Wapnovit 1%	0,80	0,90	0,90	1,20	0	80	90	1,7	1,72
Wapnovit 1,5% + Mi- krovit	0,55	0,65	0,70	0,90	30	90	100	2,2	2,11
Wapnovit 1% + Mikrovit	0,70	0,95	0,90	1,20	0	60	60	2,6	1,71
Saletra wapniowa	0,65	0,65	0,75	1,00	0	50	70	1,4	1,70
NP Ca 0,4%	0,70	1,00	1,10	1,69	9	40	20	3,0	1,48
NP Ca 0,8%	0,55	0,95	1,10	1,50	0	80	80	2,3	1,70
NP Ca 1,6%	0,95	1,35	1,65	1,45	0	100	80	2,4	1,41
PK Ca 0,4%	0,55	0,95	1,20	1,80	20	50	70	2,3	1,83
PK Ca 0,8%	0,70	1,20	1,55	1,95	70	80	90	2,6	1,65
PK Ca 1,6%	0,65	1,15	1,50	1,75	100	100	100	1,7	1,53

5. FOTOGRAFIE

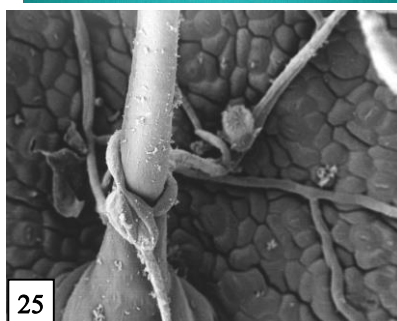
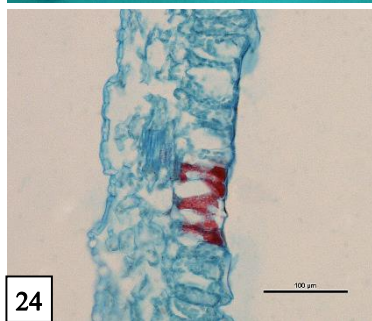
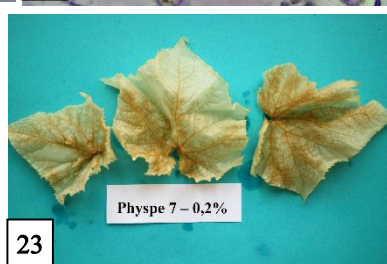
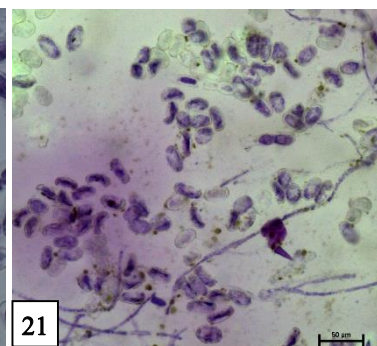
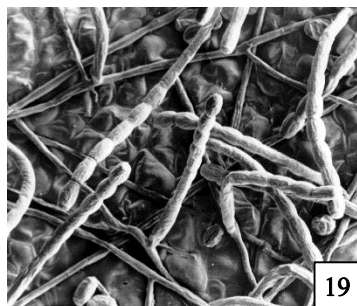


Fot. 1-7. Struktura komórkowa liści ogórka

Rośliny ogórka w doświadczeniu szklarniowym (Fot. 1). Mikromorfologia powierzchni epidermy liści ogórka przedstawiająca aparaty szparkowe i dwa typy włosków (Fot. 2-5). Przekroje poprzeczne tkanek liści (Fot. 6, 7)

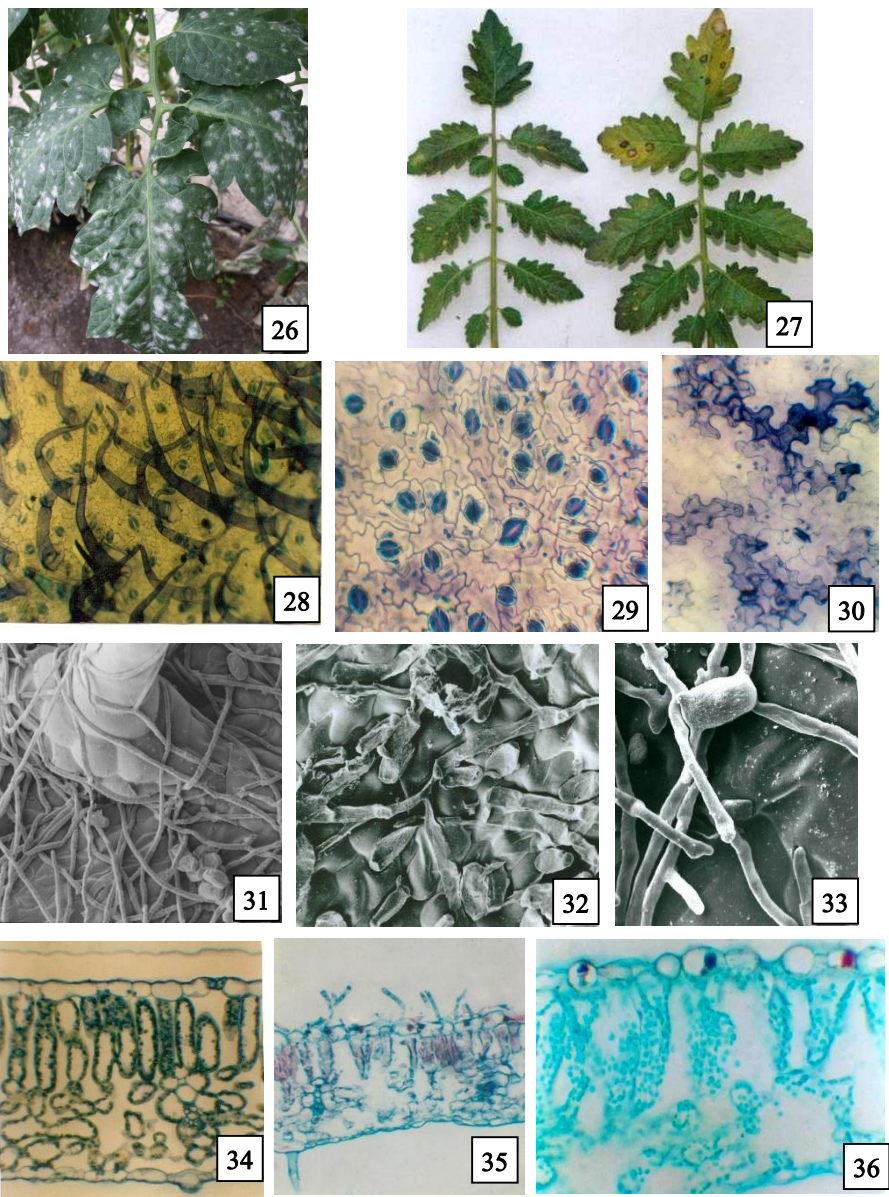


Fot. 8-17 Zmiany w morfologii liści ogórka zainfekowanego *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev. Fragment spodniej strony liścia z zarodnikującym patogenem (Fot. 8-10), aparaty szparkowe w epidermie dolnej strony liści przed infekcją (Fot. 11) i po infekcji (Fot. 12, 14). Przekroje poprzeczne tkanek liści po porażeniu, z objawami zróżnicowanej podatności (Fot. 13, 15) i tkanka mięsista podatnej rośliny (luźna struktura) i struktura zwarta rośliny odpornej (Fot. 16, 17)

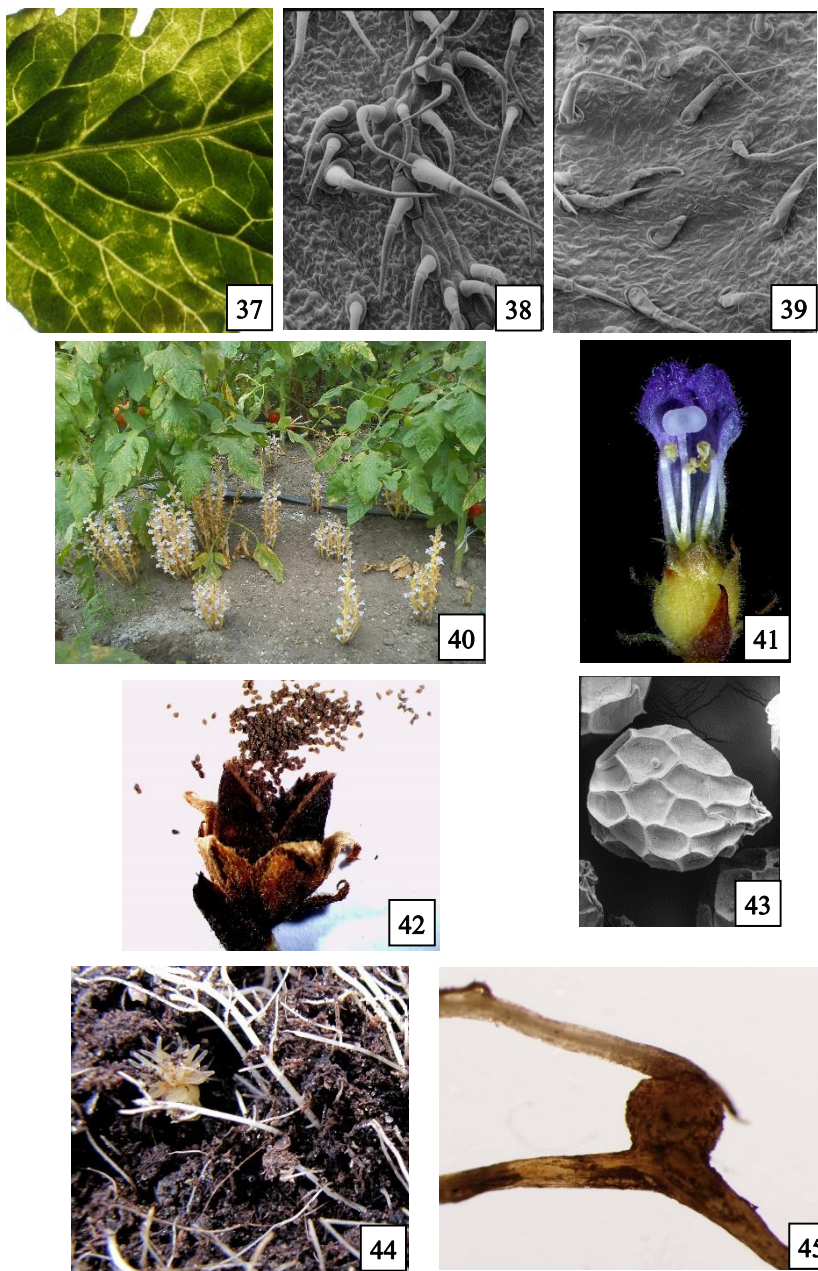


Fot. 18-25 Ogórek - *Erysiphe cichoracearum* (D. C. et Merat).

Liść z objawami mączniaka prawdziwego. Konidiofory i zarodniki konidialne grzyba u rośliny podatnej (Fot. 19, 20) i po opryskiwaniu interwencyjnym Physpe 7 (Fot. 21). Liście po reakcji generowania H_2O_2 (Fot. 22, 23). Przekrój tkanek liścia z fragmentem zniszczonej tkanki po infekcji (Fot. 24) i włoszek ze strzępką u rośliny podatnej (Fot. 25).

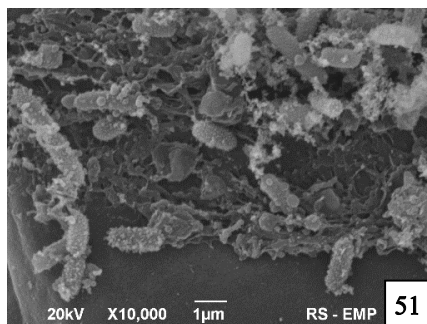
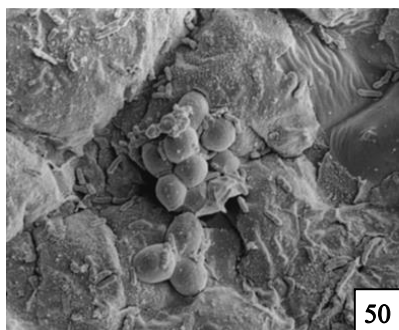


Fot. 26-36. Pomidor - *Oidium neolycopersici* L. Kiss, sp. nov. Liść z objawami mączniaka prawdziwego u rośliny podatnej i odpornej z cechą HR, nadwrażliwości (Fot. 26, 27). Powierzchnia i miąższ liści zdrowych (Fot. 28, 29, 34) i z nekrozą komórek skórki, po porażeniu (Fot. 30). Grzyb dobrze rozwijający się na podatnej roślinie (Fot. 31, 33) i degenerujący na roślinie odpornej (Fot. 32, 36).



Fot. 37-39 Pomidor - TMV wirus mozaiki tytoniu. Makroskopowe objawy choroby na liściu. Powierzchnia epidermy liścia zdrowego (Fot. 38) i porażonego (Fot. 39).

Fot. 40-45 Pomidor-zaraza gałęzista *Phelipanche ramosa* L. Pędy kwiatowe zarazy gałęzistej wokół roślin pomidora i pojedynczy kwiat oraz torebka z nasionami (Fot. 40, 41, 42, 43). Część podziemna zarazy, bulwka zrosnięta z korzeniami pomidora (Fot. 44, 45).



Fot. 46-51 Kapusta pekińska - Tipburn i zagniewanie główek. Kapusta pekińska zdrowa i z objawami zasychania liści zwijających główkę -tipburn (Fot. 46-48) oraz ograniczenie tipburn po zastosowaniu Wapnovitu (Fot. 49). Zarodniki grzybów i bakterie powodujące gnicie główek (Fot. 50, 51).

6. LITERATURA

- Borkowski J., Dyki B. 2000. Wpływ tytanu na rośliny, a w szczególności na kiełkowanie pyłku i plon nasion. *Postępy Nauk Rolniczych* 6: 17-25.
- Borkowski J., Dyki B. 2003. Wpływ chitozanu, Tytanitu i innych preparatów na ograniczenie rozwoju mączniaka prawdziwego na pomidorach w szklarni. *Folia Hort.* 1: 559-561.
- Borkowski J., Dyki B., Felczyńska A., Kowalczyk W. 2007, Effect of biochikol 020 PC (Chitosan) on the plant growth, fruit field and healthiness of tomato plant roots and stems. Polish Chitin Society. Progress on chemistry and application of chitin and its derivatives. Małgorzata M. Jaworska ed. Monograph vol. XII, Łódź Poland, R-06: 217-223.
- Borkowski J., Dyki B. 2008. Zaraza gałęzista (*Orobancha ramosa* L.) i jej zwalczanie na roślinach uprawnych, głównie na pomidorach. *Postępy Nauk Rolniczych* 3: 35-41.
- Borkowski J., Stębowska A.A., Dyki B. 2010. Nawozy dolistne i stymulatory w zwiększaniu zdrowotności kapusty pekińskiej. Materiały z Ogólnopolskiej Naukowej Konferencji Warzywniczej – Postęp w integrowanej produkcji warzyw kapustowatych.” Instytut Warzywnictwa im. Emila Chroboczka w Skierniewicach. s. 41-42.
- Dangl J.L, Jones J.D. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826-833.
- Dixon R.A. 2001. Natural products and disease resistance. *Nature* 411: 843-847.
- Dyki B., Habdas H. 1996. Metoda izolowania epidermy liści pomidora i ogórka dla mikroskopowej oceny rozwoju grzybów patogenicznych. *Acta Agrobot.* 49(1-2): 123-129.
- Dyki B., Staniaszek M. 1997. Infection of tomato by *Oidium lycopersicum* (Cooke and Massee, emend. Noordeloos and Loerakker). *Phytopathol. Pol.* 13: 13-17.
- Dyki B. 1998. Anatomiczna i cytologiczna analiza wrażliwości liści pomidora na mączniaka prawdziwego. Instytut Warzywnictwa Skierniewice, *Nowości Warzywnicze* 32: 45-49.
- Dyki B., Horbowicz M. 2002. Micromorphology of leaves epiderma and flavonols content in tomatoes susceptible and resistant to *Oidium lycopersicum* (Cooke & Massee, Emend, Noordeloos & Loerakker). Poznań, *Phytopathol. Pol.* 26: 49-62.
- Dyki B. 2003. Morphogenesis of pathogen causing powdery mildew in Polish tomato cultivation. *Vegetable Crops Research Bulletin* 53: 131-138.
- Dyki B. 2004 Morfogeneza grzyba *Oidium neolycopersici* L. Kiss, sp. nov. wywołującego mączniaka prawdziwego pomidora i jego współdziałanie z roślinami dzikich gatunków *Lycopersicon* o różnej podatności na tę chorobę. Rozprawa habilitacyjna, Monografie i rozprawy naukowe nr. 18 Instytut Warzywnictwa Skierniewice 2004.
- Dyki B., Borkowski J. 2007. Objawy zaburzeń fizjologicznych na liściach (cz. III). Kapusta pekińska. *Hasło Ogrodnicze* 7: 126-128.

- Dyki B., Kossak K. 2007. Wpływ biostymulatorów na plon i strukturę tkanek roślin pomidora szklarniowego. Zeszyty Naukowe Wyższej Szkoły Ekonomiczno-Humanistycznej w Skierniewicach 7: 43-52.
- Dyki B., Borkowski J., Stępowaska A.A. 2009. Zaraza gałęzista (*Orobanche ramosa* L.) na korzeniach pomidora – morfologia pasożyta i zwalczanie. Mat. Konferencji. „Postęp w technologii uprawy warzyw psiankowatych” Skierniewice 22 października 2009. s. 45-47.
- Dyki B., Sobolewski J. 2010. Mączniaki prawdziwe i rzekome – podobieństwa i różnice. Hasło Ogrodnicze. s. 20-25.
- Dyki B., Stępowaska A.A., Borkowski J. 2010. Hemp broomrape (*Orobanche ramosa* L.) development on tomato roots. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Proceedings of the 55th meeting of Polish Botanical Society *Planta in vivo, in vitro et in silico*. 79 Supplement 1, s: 97.
- Fidantsef A.L., Stout M.J., Thaler J.S., Duffey S.S., Bostock R.M. 1999. Signal interactions. In patogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II and pathogenesis-related protein P4 in the tomato *Lycopersicon esculentum*. Physiological and Molecular Plant Pathology 54: 97-114.
- Fujita M., Fujita Y., Noutoshi Y., Takahashi F., Narusaka Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 2006. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. Current Opinion in Plant Biology 9: 436-442.
- Mur L.A.J., Kenton P., Lloyd A.J., Ougham H., Prat E. 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? Journal of Experimental Botany 59(3): 501-520.
- Ostrowska A., Robak J., Dyki B. 2008. Effectiveness of natural products in protection of cucumber grown under cover against powdery mildew. Biostimulators in Modern Agriculture, Vegetable Crops ed. Z.T. Dąbrowski, Warsaw s. 54-60.
- Pospieszny H. 2000a. Dotychczasowy rozwój i dalsze perspektywy ograniczania strat powodowanych przez choroby roślin. Postępy w Ochronie Roślin 40(1): 84-92.
- Pospieszny H. 2000b. Nabyta odporność systemiczna roślin na patogeny – od nauki do praktyki. Postępy Nauk Rolniczych 5: 27-42.
- Starck Z. 1999. Niektóre aspekty zróżnicowania reakcji roślin na niekorzystne warunki środowiska – stare problemy, nowa interpretacja. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 469: 145-158.
- Stępowaska A.A., Dyki B., Borkowski J. 2011. Influence of parasitic plant *Phelipanche ramosa* L. Pomel on tomato sensitivity to powdery mildew. IV Congress of Polish Biotechnology and IV Eurobiotech. Kraków. Acta Biochimica Polonica 58 supplement 4 s. 127.
- Stępowaska A.A., Dyki B., Borkowski J., Anyszka Z. 2011. Morphological response of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to the parasitic weed – *Phelipanche ramosa* L. Pomel and pathogen – *Oidium neolycopersici* L. Kiss. 11th World Congress on Parasitic Plants, Martina Franca, Italy. Program and Abstracts s. 38.
- Stępowaska A.A., Dyki B., Borkowski J. 2012. Zaraza gałęzista *Phelipanche ramosa* L. pasożyt pomidora. Nowości Warzywnicze 54-55: 27-38.

- Stępowaska A.A., Dyki B. 2012. Light and scanning electron microscopy studies on the *Phelipanche ramosa* L. Pomel development parasitizing tomato plants. 6th International Weed Science Congress, Hangzhou, Chiny. Proceeding s. 105.
- Stępowaska A.A., Dyki B., Borkowski J. 2013 The search for resistance to branchet broomrape *Phelipanche ramosa* L. Pomel among different tomato cultivars. Proceedings 16th Symposium European Weed Research Society, Samsun Turkey s. 88.
- Sobolewski J., Dyki B. 2010. Mączniaki rzekome warzyw. Hasło Ogrodnicze s. 30-32.
- Szczech M., Dyki B., Sobolewski J. 2000. Efficacy of brewery refuse extract against tomato powdery mildew (*Oidium lycopersicum*). Vegetable Crops Research Bulletin 53: 65-73.
- Zehhar N., Labrousse P., Arnaud M.-C., Boulet C., Bouya D., Fer A. 2003. Study of resistance to *Orobanche ramosa* in host (oilseed rape and carrot) and non-host (maize) plants. European Journal of Plant Pathology 109: 75-82.