

**NOWE MOŻLIWOŚCI OCHRONY OGÓRKA W UPRAWIE
POD OSŁONAMI PRZED MĄCZNIAKIEM PRAWDZIWYM
(*ERYSIPHE CICHORACEARUM*) Z WYKORZYSTANIEM ŚRODKÓW
POCHODZENIA NATURALNEGO**

THE NEW POSSIBILITY OF CUCUMBER PROTECTION
GROWING UNDER COVER AGAINST POWDERY MILDEW
(*ERYSIPHE CICHORACEARUM*) WITH NATURAL PRODUCTS

Agnieszka Włodarek, Barbara Dyki

Instytut Ogrodnictwa

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

agnieszka.wlodarek@inhort.pl

Abstract

Investigations were aimed at the possibility of conventional fungicides limitation in cucumber protection against powdery mildew by sorting and introducing the most effective natural products. There were examined products with different biologically active substances: biostimulators, fertilisers and products containing silicon. The effectiveness of tested products against *E. cichoracearum* were evaluated with macroscopic methods (evaluation of dynamic of powdery mildew development) and microscopic methods (analyses of micromorphology of leaf epidermal surface). There were selected products characterized by the highest efficiency in the fight against *E. cichoracearum*. The best results were obtained after the application of products based on grapefruit extracts, tea tree extract (*Melaleuca alternifolia*) and orange oil. The effects of the use of products were characterized by *E. cichoracearum* spores and mycelia destruction. After spraying infected cucumber plants the distortion of hyphae and conidiospores of powdery mildew were visible.

Key words: cucumber, *Erysiphe cichoracearum*, natural products, micromorphology, grapefruit extract, tea tree extract, orange oil

WSTĘP

Mączniak prawdziwy dyniowatych jest powodowany przez co najmniej dwa patogeny: *Erysiphe cichoracearum* i *Sphaerotheca fulginea*. Choroba stanowi duże zagrożenie w uprawach ogórków, zwłaszcza pod osłonami. Aktualnie, do ochrony ogórków pod osłonami przed mączniakiem prawdziwym, zarejestrowany jest jeden środek chemiczny i jeden

środek biotechniczny. W związku z wprowadzeniem obowiązku stosowania się do zasad integrowanej ochrony roślin w Polsce i UE wzrasta zainteresowanie stosowaniem środków i metod niekonwencjonalnych w zwalczaniu chorób. Wiąże się to z wykorzystaniem środków pochodzenia naturalnego i środków indukujących naturalną odporność (elicitorów), które mogłyby przyczynić się do ograniczenia lub zastąpienia syntetycznych (konwencjonalnych) fungicydów (Tomalak i Zaremba 2004). W literaturze światowej dostępne są informacje o konieczności stopniowego ograniczania konwencjonalnych fungicydów przez wprowadzanie metod alternatywnych ochrony roślin uprawnych (Choi i in. 2004; Huang i in. 2010) oraz poszukiwanie nowych, bezpiecznych środków, których stosowanie może stanowić gwarancję produkcji bezpiecznej żywności.

Obecnie w Polsce do ochrony warzyw przed chorobami pochodzenia infekcyjnego zalecanych jest kilka środków pochodzenia naturalnego, które mogą stwarzać szansę dla integrowanej ochrony ogórka przed mączniakiem prawdziwym dyniowatych i innymi chorobami.

Mączniak prawdziwy należy do chorób powszechnie występujących i łatwo rozpoznawalnych na wielu gatunkach roślin uprawnych. Sprawy tej choroby przyczyniają się w znacznym stopniu do redukcji fotosyntezy, wzrostu respiracji i transpiracji, osłabienia wzrostu i obniżenia plonu roślin, czasem nawet o 20-40%. Ich występowaniu sprzyja relatywnie wysoka temperatura i wilgotność powietrza (Sherf i MacNab 1986). Grzyb *Erysiphe cichoracearum* powoduje mączniaka prawdziwego roślin z rodziny astrowatych, poraża także rośliny z innych rodzin (Marcinkowska 2003). Szczególnie zagrożone porażeniem przez tego patogena są rośliny należące do rodziny dyniowatych, tj. ogórek, cukinia, melon i inne. Początkowe objawy choroby to białe, aksamitne plamki na liściach, głównie na górnej stronie blaszki liściowej, rzadziej na dolnej. Porażeniu ulegają najpierw dolne, najstarsze liście, a następnie, w sprzyjających warunkach, rozprzestrzeniają się bardzo szybko, pokrywając całą powierzchnię liści (Robak i Wiech 1998). Objawy choroby pojawiają się również na łodygach, ogonkach liściowych, rzadziej na kwiatach i owocach.

Celem badań była ocena skuteczności działania środków pochodzenia naturalnego do ochrony ogórka przed mączniakiem prawdziwym dyniowatych i stworzenie możliwości ograniczenia stosowania fungicydów konwencjonalnych.

MATERIAŁY I METODY

W latach 2006-2008 w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach przeprowadzono doświadczenia wazonowe w szklarni i w komorach fitotronowych na roślinach ogórka 'Iwa'. W celu uzyskania roślin do doświadczeń nasiona ogórka wysiewano do doniczek o średnicy 9 cm. Rostadę ogórków umieszczano w kabinach fitotronowych wolnych od mączniaka prawdziwego, gdzie przebywały do fazy rozwojowej BBCH 12 102 lub 14 104 – rozwinięty drugi lub czwarty liść właściwy na pędzie głównym (Adamczewski i Matysiak 2005). Przed posadzeniem ogórków na miejsce stałe w szklarni rośliny opryskiwano profilaktycznie badanymi środkami (dwa razy w odstępie 7-10 dni). Do zabiegów wykorzystano opryskiwacz poletkowy o ciśnieniu 3 bar. Następnie przeprowadzano inokulację *E. cichoracearum*. Kolejne zabiegi ochronne z zastosowaniem badanych środków wykonywano po zaobserwowaniu pierwszych objawów chorobowych. W 2006 roku wykonano jeden zabieg interwencyjny, natomiast w doświadczeniach prowadzonych w latach 2007 i 2008 – cztery. Oceniono skuteczność działania następujących substancji aktywnych: acybenzolar-s-metylowy (Bion 50 WG), olej z pomarańczy (Prev-AM 060 SL), laminaryna (Physpe 6), srebro/krzemionka (Nano Silver), białko harpin (Messenger), nawóz dolistny Tytanit, ekstrakt z grejpfruta (Septovital 200 SL i Biosept 33 SL), wyciąg z krzewu herbacianego (Timorex Gold 24 EC), chitozan (Beta + Chikol) i tetrakonazol (Domark 100 EC). W trakcie trwania doświadczeń przeprowadzano obserwacje makroskopowe dynamiki rozwoju grzybni *E. cichoracearum* oraz obserwacje mikroskopowe – mikromorfologię powierzchni epidermy liści przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego (SEM).

Zakażenie roślin ogórka

Inokulum grzyba *E. cichoracearum* otrzymywano ze świeżo zarodnikującej grzybni na liściach ogórka, 9-12 dni po inokulacji. Konidia grzyba delikatnie zmiatano z liścia za pomocą pędzelka do małej ilości destylowanej wody, zawierającej dwie krople Tween-20, a następnie liczono w hemocytometrze do uzyskania zawiesiny $2-3 \times 10^4$ konidiów \cdot ml⁻¹. Zawiesinę nanoszono w postaci oprysku na powierzchnię liści ogórków, z użyciem 1-litrowego ręcznego opryskiwacza (Reuveni i in. 1995). Kiedy po inokulacji (5-12 dni) pojawiały się kolonie sprawcy mączniaka prawdziwego, stosowano kolejne zabiegów interwencyjne badanymi środkami oraz przeprowadzano ocenę porażenia przez *E. cichoracearum* na 30 losowo wybranych liściach ogórka.

Dynamikę rozwoju grzybni *E. cichoracearum* na liściach ogórka oceniano według 8-stopniowej skali procentowego porażenia liści: 0 – brak objawów chorobowych, 7 – liść w 100% porażony (Sobolewski i Robak 2004). Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji. Do oceny istotności różnic między średnimi użyto testu Newmana-Keulsa, przyjmując poziom istotności 5%. Skuteczność działania środków obliczono metodą Abbotta (Abbott 1925).

Do analizy mikromorfologii powierzchni epidermy z objawami mączniaka prawdziwego posłużono się elektronowym mikroskopem skaningowym JEOL JSM-S1 (SEM). Obserwowano fragmenty liści (10 × 10 mm) po utrwaleniu w utrwalaczu CrAF i odwodnieniu w etanolu oraz acetonie, wysuszeniu w aparacie CPD (*Critical Point Drying*) przy użyciu CO₂, a następnie napyleniu złotem (Hayat 1976).

WYNIKI I DYSKUSJA

Obserwacje makroskopowe dynamiki rozwoju grzyba *E. cichoracearum* na liściach roślin ogórka oraz analizy mikroskopowe przeprowadzone za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) przyczyniły się do wyboru czterech najskuteczniejszych substancji aktywnych o fungistatycznym/fungicydalnym działaniu na sprawcę mączniaka prawdziwego dyniowatych. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w kolejnych latach wykazały, że były to: ekstrakty z grejpfruta (Septovital 200 SL i Biosept 33 SL), olej z pomarańczy (Prev-AM 060 SL) oraz wyciąg z krzewu herbacianego (Timorex Gold 24 EC). Skuteczność środków Septovital 200 SL i Biosept 33 SL w ograniczaniu rozwoju grzybni *E. cichoracearum* wynosiła odpowiednio: 63-97% i 61-80% skuteczności (tab. 1, 2). Podobne wyniki uzyskali Toppe i in. (2007) i Ostrowska i in. (2008a, b) w zwalczaniu sprawcy mączniaka prawdziwego na roślinach ogórka i róży. W literaturze można znaleźć informacje, że stosowanie ekstraktu z grejpfruta w formie opryskiwania daje również dobre wyniki w ochronie innych gatunków roślin przed sprawcami chorób infekcyjnych (Sobolewski i Robak 2004, 2008; Sobolewski i in. 2006).

Wysoką skuteczność (69-100%) ochrony roślin ogórka przed mączniakiem prawdziwym uzyskano w wyniku stosowania składnika czynnego – oleju z pomarańczy (tab. 1). Niewiele jest dostępnej literatury z zakresu działania środków opartych na olejach z owoców cytrusowych w zwalczaniu *E. cichoracearum*. W pracach Ostrowskiej i in. (2008a) opisano wysoką skuteczność oleju z pomarańczy w zwalczaniu sprawcy mączniaka prawdziwego dyniowatych na roślinach ogórka. Natomiast Ostrowska

i Robak (2009) odnotowali pozytywny wpływ przedzbiorczego stosowania Prev-AM 060 SL na obniżenie porażenia korzeni spichrzowych selera przez *Botrytis cinerea* w czasie ich długotrwałego przechowywania.

Dobrą efektywność działania wykazał Timorex Gold 24 EC, zawierający w składzie wyciąg z krzewu herbacianego (*Melaleuca alternifolia*). Jego skuteczność wynosiła od 83 do 100% (tab. 1, 2). Oleje uzyskane z krzewu *M. alternifolia* od dawna są stosowane w Australii i znane z działania bakteriobójczego i przeciwzapalnego, co znalazło swoje zastosowanie m.in. w medycynie (Krawczyk i Łuczak 2005). W literaturze dostępne są informacje opisujące szerokie spektrum działania tego wyciągu w zwalczaniu fitopatogenicznych grzybów (Bishop i Reagan 1998; Riccioni i Orzali 2011).

Wśród badanych środków wysoką efektywnością zwalczania *E. cichoracearum* odznaczał się syntetyczny stymulator odporności Bion 50 WG (98-100% skuteczności) (tab. 1), jednakże wykazywał silną fitotoksyczność, która charakteryzowała się przebarwieniami i nekrotyzacją blaszek liściowych. Pozostałe testowane środki odznaczały się niewystarczającą efektywnością zwalczania patogena (Physpe 6, Beta-Chikol), bądź też stymulowały rozwój grzybni *E. cichoracearum* (Nano Silver, Messenger, Tytanit) (tab. 1).

Analizy mikroskopowe z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego pozwoliły na obserwację zmian w tkankach liści ogórka jako reakcji na stosowane środki. W wyniku opryskiwania wybranymi preparatami: Septovital 200 SL, Biosept 33 SL, Prev-AM 060 SL i Timorex Gold 24 EC roślin ogórka zainfekowanych *E. cichoracearum*, odnotowano mniejszą witalność zarodników sprawcy mączniaka prawdziwego w porównaniu do kontroli. Obserwowano również zniekształcenie, spłaszczenie oraz staśmienie grzybni. Na obrazach mikroskopowych zaobserwowano, że większość zarodników nie kiełkowała, grzybnia rozprzestrzeniała się słabo w porównaniu z kontrolą, a strzępki występowały w małym zagęszczeniu (rys. 1, 2). W pracy Dyki i Horbowicza (2002) zamieszczono fotografie przedstawiające różny stopień ograniczenia rozwoju grzyba *Oidium lycopersicum* na powierzchni liści pomidora odpornego, przez degenerację zarodników, appresoriów i grzybni patogena.

Tabela 1. Biologiczna skuteczność różnych środków w ochronie roślin ogórka przed mączniakiem prawdziwym (*E. cichoracearum*) w doświadczeniu wazonowym w 2006 roku i doświadczeniu szklarniowym w 2007 roku
 Table 1. Evaluation of the efficiency of different products in protecting cucumber plants under cover against powdery mildew (*E. cichoracearum*) in pots experiment in 2006 and in greenhouse experiment in 2007

Badane środki; Treatments	Stężenie środków; Product con- centration (%)	31.11.2006		4.12.2006		12.12.2006	
		Porażenie po- wierzchni liści; Infected leaf area (%)	Skut.; Efficacy (%)*	Porażenie po- wierzchni liści; Infected leaf area (%)	Skut.; Efficacy (%)*	Porażenie po- wierzchni liści; Infected leaf area (%)	Skut.; Efficacy (%)*
Kontrola; Control	–	5,53 a	–	23,5 c	–	43,7 c	–
Acybenzolar-s-metylowy; Acybenzolar-s-methyl	0,005	0,1 b	98	0 f	100	0,03 f	100
Olej z pomarańczy; Orange oil	0,4	0 b	100	4,7 e	80	13,7 e	69
Laminaryna; Laminarin	0,2	0 b	100	12,2 d	48	36,6 d	16
Srebro + krzemionka; Silver + silicon	0,1	0,1 b	98	40,4 a	–	58,0 a	–
Białko harpin; Harpin protein	0,03	0,5 b	91	41,4 a	–	49,3 b	–
Nawóz dolistny; Foliar fertiliser	0,02	0 b	100	31,8 b	–	51,6 b	–
Tetraconazol; Tetraconazol	0,04	0,1 b	98	10,8 d	54	3,3 f	92
		5.06.2007		11.06.2007		18.06.2007	
Kontrola; Control	–	7,8 a	–	27,6 a	–	44,0 a	–
Ekstrakt z grejfruta (S); Grapefruit extract (S)	0,1	0,2 c	97	3,8 c	86	5,8 c	87
Chitozan; Chitosan	2,0	3,0 b	62	16,8 b	39	23,7 b	46
Wyciąg z krzewu herbacianego; Tea tree extract	1,0	0,1 c	99	0,1 d	100	0,1 d	100
Wyciąg z krzewu herbacianego; Tea tree extract	0,5	0,1 c	99	0,1 d	100	0,1 d	100

Test Newman-Keulsa dla $p = 0,05$; Newman-Keuls test ($p = 0,05$)

Wartości w kolumnach oznaczone takimi samymi literami nie różnią się istotnie między sobą przy poziomie $\alpha = 0,05$

Means in columns followed by the same letter are not significantly different ($p = 0,05$)

* skuteczność obliczona za pomocą wzoru Abbotta; the efficacy of product calculated by Abbott's formula

(S) – Septovital 200 SL

Ocena skuteczności działania środków biotechnicznych wskazuje na możliwość zwalczania *E. cichoracearum* w uprawie ogórka pod osłonami. Preparaty biotechniczne stanowią alternatywę dla środków konwencjonalnych, gdyż są mało szkodliwe dla ludzi, zwierząt, mikroorganizmów pożytecznych i środowiska, a ponadto są biodegradowalne. Wszystkie te cechy pozwalają na ich wykorzystanie w integrowanych programach ochrony warzyw.

Tabela 2. Biologiczna skuteczność różnych środków w ochronie roślin ogórka przed mączniakiem prawdziwym (*E. cichoracearum*) w doświadczeniu szklarniowym w 2008 roku

Table 2. Evaluation of the efficiency of different products in protecting cucumber plants against powdery mildew (*E. cichoracearum*) in greenhouse experiment in 2008

Badane środki; Treatments	Stężenie; Concentration (%)	Porażenie powierzchni liści; Infected leaf area (%)		Porażenie powierzchni liści; Infected leaf area (%)	
		Skuteczność; Efficacy (%)*		Skuteczność; Efficacy (%)*	
		15.05.2008		26.05.2008	
Kontrola; Control	–	13,3 a	–	42,3 a	–
Ekstrakt z grejpfruta (S); Grapefruit extract (S)	0,1	2,6 b	80	15,6 b	63
Wyciąg z krzewu herbacianego; Tea tree extract	0,5	1,1 c	92	7,3 c	83
Ekstrakt z grejpfruta (B); Grapefruit extract (B)	0,1	2,7 b	80	16,5 b	61

Objaśnienia: patrz tabela 1; Explanation: see table 1

(S) – Septovital 200 SL

(B) – Biosept 33 SL

WNIOSKI

1. Obserwacje struktury i ultrastruktury roślin ogórka, dynamiki rozwoju *E. cichoracearum* oraz skuteczności badanych preparatów pozwalają wyodrębnić najbardziej efektywne substancje aktywne: olej z pomarańczy, wyciąg z krzewu herbacianego, ekstrakt z grejpfruta.
2. Fungicydalny i fungistatyczny wpływ środków biotechnicznych na *E. cichoracearum* objawia się degeneracją zarodników konidialnych i grzybni patogena (zniekształceniem, spłaszczeniem).

Literatura

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Adamczewski K., Matysiak K. 2005. Klucz do określania faz rozwojowych roślin jedno- i dwuliściennych w skali BBCH. Wyd. II, IOR Poznań, s. 134.
- Bishop C.D., Reagan J. 1998. Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on Dutch cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Essential Oil Research* 10(1): 57-60. DOI: 10.1080/10412905.1998.9700838.
- Choi G.J., Lee S.W., Jang K.S., Kim J.S., Cho K.Y., Kim J.C. 2004. Effects of chrysophanol, parietin, and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumber powdery mildews. *Crop Protection* 23(12): 1215-1221. DOI: 10.1016/j.cropro.2004.05.005.
- Dyki B., Horbowicz M. 2002. Micromorphology of leaves epidermis and flavonols content in tomato susceptible and resistant to *Oidium lycopersicum*. *Phytopathologia Polonica* 26: 49-62.
- Hayat M.A. 1976. Principles and techniques of scanning electron microscopy. *Biological Applications*, vol. 5. Van Nostrand Reinhold Co.
- Huang L., Wei P., Fan L., Ye D., Zhu X., Xu Z. 2010. The biosynthesis and bioactivity evaluation of the cytosine-substituted mildiomyacin analogue (MIL-C) for controlling powdery mildew. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26(4): 649-655.
- Krawczyk E., Łuczak M. 2005. Aktywność przeciwwirusowa substancji pochodzenia naturalnego oraz ich pochodnych. *Postępy Mikrobiologii* 44(3): 239-252.
- Marcinkowska J. 2003. Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa.
- Ostrowska A., Robak J. 2009. Wpływ nowych środków ochrony roślin stosowanych przedzbiornie w ochronie selera na zdrowotność korzeni w okresie długotrwałego przechowywania. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49 (1): 252-255.
- Ostrowska A., Robak J., Dyki B. 2008a. Zagrożenie ogórków uprawianych pod osłonami mączniakiem prawdziwym (*Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fulginea*) i nowoczesne metody ich ochrony. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 48(2): 487-490.
- Ostrowska A., Robak J., Dyki B. 2008b. Effectiveness of natural products in protection of cucumber grown under cover against powdery mildew. W: Dąbrowski Z.T. (red.), *Biostimulators in Modern Agriculture – Vegetable Crops*. Wieś Jutra, Warszawa, s. 54-60.

- Reuveni M., Agapov V., Reuveni R. 1995. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar sprays of phosphate and potassium salts. *Plant Pathology* 44(1): 31-39. DOI: 10.1111/j.1365-3059.1995.tb02713.x.
- Riccioni L., Orzali L. 2011. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*, Cheel) and thyme (*Thymus vulgaris*, Linnaeus) essential oils against some pathogenic seed borne fungi. *Journal of Essential Oil Research* 23(6): 43-47. DOI: 10.1080/10412905.2011.9712280
- Robak J., Wiech K. 1998. Choroby i szkodniki warzyw. Plantpress, Kraków.
- Sherf A.F., MacNab A.A. 1986. Vegetable diseases and their control, 2 ed. Wiley – InterScience Publ.
- Sobolewski J., Robak J. 2004. Możliwości kompleksowej ochrony pomidora z wykorzystaniem nowych fungicydów i środków pochodzenia organicznego. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 44(2): 1105-1107.
- Sobolewski J., Robak J., Ostrowska A. 2006. Potencjalne możliwości środków organicznych w ograniczaniu *Phytophthora infestans* na pomidorach w uprawie polowej i pod osłonami. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 46(2): 704-707.
- Tomalak M., Zaremba M. 2004: Dostępność środków ochrony roślin dla rolnictwa ekologicznego i zasady ich rejestracji w Polsce. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 44(1): 462-472.
- Toppe B., Stensvand A., Herrero M.L., Gislerød H.R. 2007. C-Pro (grapefruit seed extract) supplement or replacement against rose- and cucumber powdery mildew. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science* 57(2): 105-110. DOI: 10.1080/09064710600662223.