



OCENA PRZYDATNOŚCI SUBSTANCJI PODSTAWOWYCH ORAZ BIOPREPARATÓW W OGRANICZANIU CHORÓB GRZYBOWYCH, BAKTERYJNYCH I SZKODNIKÓW W UPRAWIE EKOLOGICZNEJ PIECZARKI

Autorzy:

dr inż. Joanna Szumigaj-Tarnowska

mgr Joanna Augustyniak

mgr inż. Zbigniew Uliński

Zakład Uprawy i Nawożenia Roślin Ogrodniczych

Pracownia Uprawy Warzyw i Grzybów Jadalnych

Opracowanie przygotowane w Instytucie Ogrodnictwa – PIB
w ramach zadania celowego nr **7.2. „Opracowanie technologii produkcji warzyw
i grzybów jadalnych w systemie ekologicznym”**

finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Skierniewice 2021

Spis treści

1. Wstęp	3
2. Cel zadania	3
3. Metody badań	3
4. Wyniki	6
5. Podsumowanie	16

1. Wstęp

Polska jest liderem w produkcji pieczarki w Europie, a zapotrzebowanie na te grzyby uprawiane w systemie ekologicznym stale wzrasta. Monokulturowa uprawa pieczarki odbywa się w pomieszczeniach zamkniętych, specjalnie do tego przystosowanych halach, często o olbrzymiej powierzchni. Ekologiczna uprawa pieczarki prowadzona bez środków ochrony roślin, a dodatkowo w warunkach wysokiej wilgotności i temperatury jest szczególnie narażona na wystąpienie infekcji grzybowych, a także na pojawienie się w uprawie szkodliwych muchówek.

Z tego względu konieczne jest regularne monitorowanie obecności chorób i liczebności szkodników. Bardzo ważne jest także poznanie wpływu substancji podstawowych i środków ochrony roślin dopuszczonych do stosowania w produkcji ekologicznej na rozwój szkodliwych agrofagów.

Producenci grzybów w celu ochrony upraw muszą przede wszystkim przestrzegać zaleceń dotyczących profilaktyki i higieny w zakładzie pieczarkarskim oraz prowadzić dokładny monitoring stanu zdrowotnego upraw.

2. Cel zadania

Celem zadania jest opracowanie metod produkcji grzybów jadalnych w systemie ekologicznym, w tym najważniejszym zadaniem jest ograniczenie populacji szkodliwych muchówek *Lycoriella ingenua* z rodziny ziemiórkowatych oraz ograniczenie występowania suchej zgnilizny wywoływanej przez grzyb *Lecanicillium fungicola* w uprawie pieczarki z wykorzystaniem substancji podstawowych. Badania dotyczyły ograniczania w uprawie pieczarki liczebności muchówek poprzez sterowanie zachowaniem owadów przy użyciu substancji podstawowych, tj. ocet winny i olejki z ekstraktów roślinnych (tj. olejek cebulowy, lawendowy, eukaliptusowy, tymiankowy) oraz oceniano wpływ wybranych substancji podstawowych (ocet winny, nadtlenek wodoru, wyciąg ze skrzypu polnego (*Equisetum arvense* L.), chlorowodorek chitozanu) oraz biopreparatu Serenade ASO na zahamowanie rozwoju *L. fungicola* w warunkach laboratoryjnych i w uprawie pieczarki.

3. Metody badań

Wpływ badanych substancji na liczebność muchówek

3.1. Pozyskanie i hodowla muchówek

Muchówki *Lycoriella ingenua* były pobierane przy pomocy ekshaustora entomologicznego z upraw prowadzonych w Pracowni Uprawy Warzyw i Grzybów Jadalnych Instytut Ogrodnictwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Skierniewicach, a także z innych obiektów uprawowych zlokalizowanych w różnych rejonach kraju. Owady hodowano w warunkach laboratoryjnych w 5 litrowych pojemnikach zawierających podłoże i warstwę okrywy do uprawy pieczarek. Pojemniki

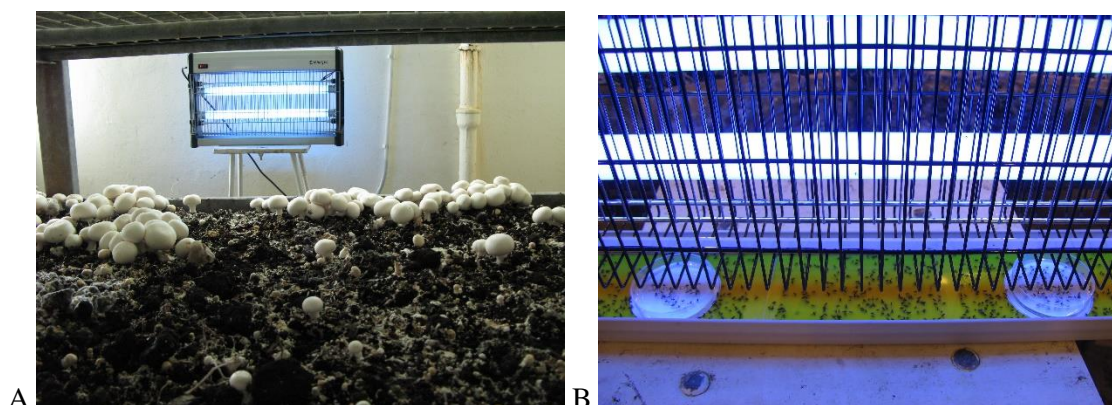
były przykryte przykrywkami z otworami zasłoniętymi materiałem w celu umożliwienia wymiany gazowej między wnętrzem pojemnika i jego otoczeniem. Hodowlę regularnie przeglądano i w razie potrzeby zwilżano wodą, aby zapobiec przesuszeniu podłoża. Wyhodowane muchówki wprowadzano do uprawy pieczarki w celu prowadzenia doświadczeń z wykorzystaniem badanych substancji.

3.2. Uprawa pieczarki

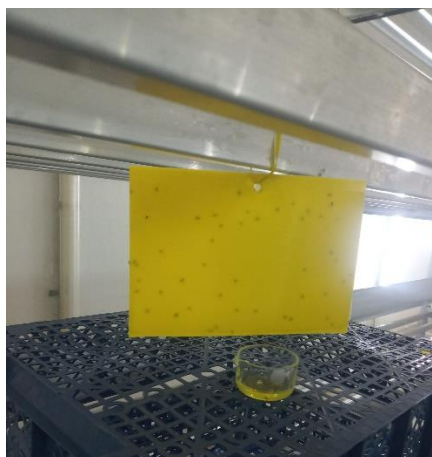
Badania zostały przeprowadzone w klimatyzowanych halach, przystosowanych do uprawy pieczarki, zapewniając odpowiednią temperaturę, wilgotność powietrza i stężenie dwutlenku węgla. Ziemiórki z hodowli laboratoryjnej były wprowadzane na początku uprawy do hal uprawowych. Doświadczenia uprawowe z wykorzystaniem muchówek przeprowadzono dwukrotnie w klimatyzowanych halach uprawowych w warunkach zapewniających prawidłowy rozwój grzybów. Zbiór owocników prowadzono w trzech rzutach (przez 3 tygodnie) i w tym czasie określano wpływ badanych substancji na zachowanie owadów.

3.3. Stosowanie badanych substancji

W prowadzonych uprawach umieszczano żółte tablice lepowe bądź lampy owadobójcze (Fot. 1 i 2), przy których umieszczano pojemniki zawierające badane substancje. Kontrolę stanowiły tablice/lampy bez badanych substancji. Tablice bądź lampy umieszczano w hali uprawowej na okres 8 godzin. Po tym czasie tablice/lampy usuwano z hali i liczono schwytane muchówki. Badania przeprowadzono czterokrotnie, zmieniając za każdym razem położenie tablicy/lampy z pojemnikiem zawierającym badaną substancję i tablicy/lampy kontrolnej, aby wykluczyć przypadkowy odłów owadów zależny od umiejscowienia tablicy/lampy.



Fot. 1, A i B. Lampa owadobójcza wraz z substancją podstawową w uprawie pieczarki (fot. J. Szumigaj-Tarnowska).



Fot. 2. Żółta tablica lepowa zawieszona w komorze uprawowej (fot. J. Szumigaj-Tarnowska).

Na podstawie uzyskanych wyników obliczano stosunek muchówek odłowionych w obecności substancji L_s do liczby muchówek odłowionych na kontroli L_k , pomnożony przez 100% i zapisywano, jako:

$$P = (L_s / L_k) \times 100\%,$$

następnie obliczano współczynnik dla danej substancji, według wzoru:

$$W = P - 100,$$

określający przydatność do ograniczania muchówek w uprawie poprzez zwabianie owadów (wartości współczynnika dodatnie, określające o ile procent uzyskana liczba muchówek w obecności substancji jest wyższa od liczby muchówek na kontroli), bądź odstraszenie (wartości współczynnika ujemne, określające o ile procent uzyskana liczba muchówek w obecności substancji jest niższa od liczby muchówek na kontroli).

Uzyskane średnie dla danej substancji i kontroli porównywano statystycznie przy $\alpha = 0,05$ na podstawie testu t Studenta dla prób zależnych.

Wpływ badanych substancji na ograniczenie suchej zgnilizny

W pierwszym etapie badań przeprowadzono ocenę przydatności substancji podstawowych, tj. nadtlenek wodoru, ocet winny, wyciąg ze skrzypu polnego (*Equisetum arvense* L.), chlorowodorek chitozanu oraz biopreparatu Serenade ASO (tabela 1) w ograniczaniu rozwoju grzyba *Lecanicillium fungicola* w warunkach laboratoryjnych. Do badań izolaty grzyba namnażano na agarowej pożywce PDA w temperaturze 23°C.

Tabela 1. Charakterystyka substancji czynnych wykorzystanych w badaniach.

Nazwa	Skład	Stosowane stężenie
Nadtlenek wodoru	30% nadtlenek wodoru	10 ppm, 50 ppm; 100 ppm, 150 ppm, 300 ppm
Ocet winny	7% kwasu octowego	0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2;0%
Evasiol	2g/l ekstraktu ze skrzypu polnego	0,5%; 1%; 2%
Beta-chikol	100% chlorowodoru chitozanu	0,5%; 1%; 2%; 5%
Serenade ASO	<i>Bacillus subtilis</i> szczep QST 713 – 13,96 g/l (minimalne stężenie $1,04 \times 10^{12}$ jtk/l)	0,1% – 0,25%

Wpływ substancji podstawowych na rozwój grzybów *L. fungicola* badano na pożywkach agarowych. Badane substancje podstawowe sporządzono w sterylnej wodzie destylowanej w odpowiednich stężeniach, a następnie dodawano do pożywek po sterylizacji. Po zastygnięciu pożywki, w centralnej części płytki wykładano aktywną grzybnię, a następnie inkubowano w temperaturze 23-24°C. Wzrost grzyba (wielkość kolonii) określano na pożywce kontrolnej bez substancji oraz na pożywce z badaną substancją. Wyniki pomiarów opracowano statystycznie z wykorzystaniem testu t-Studenta, przy poziomie istotności $\alpha=0,05$.

W kolejnym etapie badań przeprowadzono ocenę skuteczności substancji w warunkach uprawowych w klimatyzowanych halach, przystosowanych do uprawy pieczarki, zapewniając warunki optymalne dla rozwoju pieczarek. Doświadczenia infekcyjne przeprowadzono w doniczkach wypełnionych podłożem III fazy przerośniętym grzybnią pieczarki w ilości 1,7 kg i ziemią okrywową o grubości 4 cm (pole powierzchni okrywy wynosiło 0,038 m²). Uprawa została zainfekowana zarodnikami patogena, a następnie do okrywy zaaplikowano substancje podstawowe w odpowiednich stężeniach, opracowanymi na podstawie badań *in vitro*. Uprawę kontrolną podlewano wodą w ilości 2 l/m² w odstępach jednodniowych, aż do uzyskania 10 l wody/m², natomiast uprawę, w której badano skuteczność substancji podstawowych podlewano analogicznie roztworami badanych substancji. Każda kombinacja była założona w czterech powtórzeniach, a doświadczenie przeprowadzono dwukrotnie.

W pierwszym rzucie owocników określono stopień nasilenia objawów suchej zgnilizny, szybkość pojawienia się pierwszych objawów oraz plon owocników. Obserwacje prowadzono codziennie od 7 dnia po inokulacji zarodnikami, czyli od momentu pojawienia się zawiązków grzybów, aż do końca trwania rzutu owocników. Po pierwszym rzucie owocników zakończono doświadczenie, ze względu na silny rozwój choroby w uprawie.

4. Wyniki

Wpływ badanych substancji na liczebność muchówek

Spośród badanych substancji podstawowych (tabela 2) stosowanych wraz żółtymi tablicami lepowymi najlepsze właściwości wabiące stwierdzono dla octu winnego. Wykazano, że blisko o 133%

więcej muchówek odłowiono na tablicach w obecności octu winnego niż na tablicy kontrolnej. Znacznie słabsze i nieistotne właściwości wabiące miał olejek eukaliptusowy (odłowiono o 12% więcej muchówek na tablicach z tą substancją), a odstraszające właściwości miały olejek cebulowy i lawendowy.

Tabela 2. Liczba muchówek odłowionych na tablicach lepowych w obecności substancji podstawowych.

Substancja podstawowa	Liczba muchówek (szt.)		P (%)	W (%)
	kontrola	substancja podstawowa		
Ocet winny	40	73	182,5	+ 82,5
	55	158	287,3	+ 187,3
	124	272	219,3	+ 119,3
	102	247	242,1	+ 142,1
			średnia	+ 132,8
Olejek cebulowy	76	50	65,8	- 34,2
	32	22	68,7	- 31,3
	117	128	109,4	+ 9,4
	195	180	92,3	- 7,7
			średnia	- 15,9
Olejek lawendowy	221	156	70,6	- 29,4
	168	117	69,6	- 30,4
	54	30	55,5	- 44,5
	50	73	146,0	+ 46,0
			średnia	- 14,57
Olejek tymiankowy	43	60	139,5	+ 39,5
	70	35	50,0	- 50,0
	52	29	55,8	- 44,2
	96	125	130,2	+ 30,2
			średnia	- 6,1
Olejek eukaliptusowy	75	31	41,3	- 58,7
	90	94	104,4	+ 4,4
	78	150	192,3	+ 92,3
	105	116	110,5	+ 10,5
			średnia	+ 12,1

Badane substancje podstawowe stosowane z lampami owadobójczymi (tabela 3) nie miały istotnego wpływu na zachowanie muchówek w halach uprawowych. Nieznacznie wyższa liczba muchówek (o 2,5%) została odłowiona w lampie, w której znajdował się ocet winny, natomiast pozostałe substancje nie wykazały, zarówno właściwości wabiących, jak i odstraszających (tabela 3).

Tabela 3. Liczba odłowionych muchówek z wykorzystaniem lamp owadobójczych i badanych substancji podstawowych.

Substancja podstawowa	Liczba muchówek (szt.)		P (%)	W (%)
	kontrola	substancja		
Ocet winny czerwony	220	260	118,2	+ 18,2
	210	230	109,5	+ 9,4
	185	205	110,8	+ 10,8
	165	250	151,5	+ 51,5
średnia				+ 22,5
Olejek cebulowy	210	240	114,3	+ 14,3
	200	170	85,0	- 15,0
	160	190	118,7	+18,7
	210	225	107,1	+7,1
średnia				+ 6,3
Olejek lawendowy	230	260	113,0	+ 13,0
	220	205	93,2	- 6,8
	200	175	87,5	- 12,5
	310	290	93,5	- 6,5
średnia				-3,2
Olejek tymiankowy	200	205	102,5	+ 2,5
	230	180	78,3	- 21,7
	240	225	93,7	- 6,3
	190	195	102,6	+ 2,6
średnia				- 5,7
Olejek eukaliptusowy	160	165	103,1	+ 3,0
	260	240	93,2	- 6,8
	205	185	90,2	- 9,8
	225	190	84,4	- 15,6
średnia				- 7,1

Wpływ badanych substancji na ograniczenie suchej zgnilizny *in vitro*

Wpływ wybranych substancji podstawowych, takich jak ocet winny, nadtlenek wodoru, chlorowoderek chitozanu, ekstrakt ze skrzypu polnego oraz biopreparat Serenade ASO na rozwój *Lecanicillium fungicola* badano w warunkach *in vitro* na podstawie zahamowania rozwoju kolonii grzybów na pożywce agarowej zawierającej badane substancje w porównaniu do próby kontrolnej.

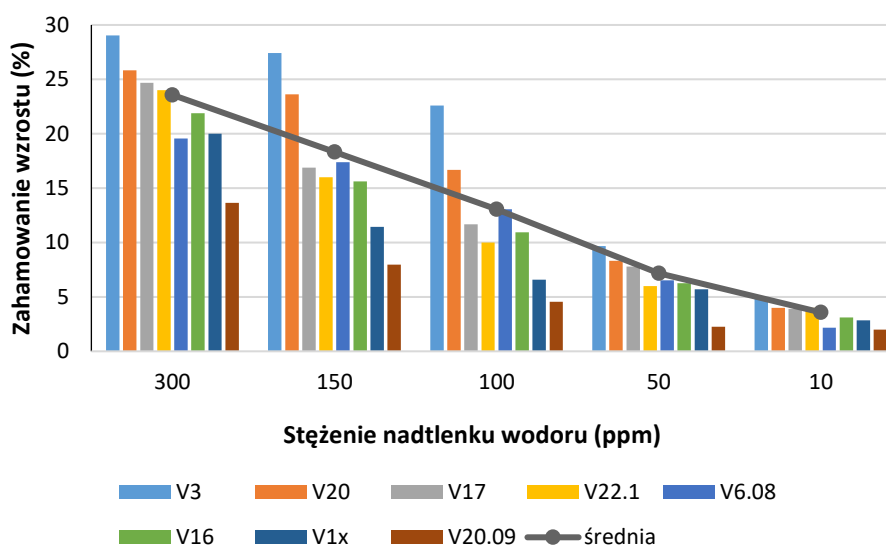
Wyniki badań dotyczących wpływu nadtlenu wodoru na wzrost *L. fungicola* przedstawiono w tabeli 4. Średnica grzybni większości izolatów na pożywce przy stężeniu 100–150 ppm nadtlenu wodoru była istotnie mniejsza w stosunku do grzybni na pożywce kontrolnej. Niższe stężenia tego związku nie miały istotnego wpływu na ograniczenie wzrostu izolatów (tabela 4).

Tabela 4. Średnica grzybni (mm) izolatów *Lecanicillium fungicola* na pożywkach zawierających różne stężenia nadtlenu wodoru.

Izolat	Stężenie nadtlenu wodoru (ppm)					
	0,0	10	50	100	150	300
V17	38,5 a*	37 a	35,5 a	34,0 ab	32,0 b	29,0 b
V20	36,0 a	35 a	33 a	30,0 b	27,5 bc	26,7 c
V3s	31,0 a	31 a	28 ab	24,0 bc	22,5 c	22,0 c
V16	32,0 a	31,0 a	30,0 ab	28,5 b	27,0 bc	25,0 c
V20.09	44,0 a	44,0 a	43,0 a	42,0 a	40,5 ab	38,0 b
V6.08	46,0 a	45,0 a	43,0 a	40,0 ab	38,0 b	37,0 b
V1x	35,0 a	34,0 a	33,0 ab	32,7 b	31,0 b	28,0 c
V22.1	50,0 a	48,0 a	47,0 a	45,0 a	42,0 b	38,0 c
średnia	39,1 A**	38,2 A	36,6 A	34,5 AB	32,6 B	30,5 B

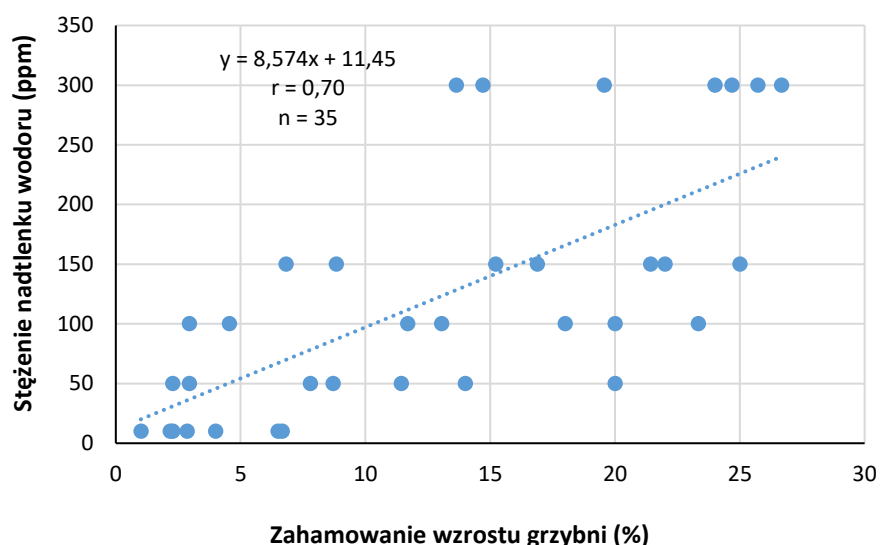
*średnie w rzędach w obrębie izolatów oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$ dla testu t-Studenta.

Na wykresie 1 przedstawiono zahamowanie grzybni *L. fungicola* w zależności od stężenia nadtlenu wodoru w pożywce. Badane izolaty wykazały różną wrażliwość na nadtlenek wodoru. Stężenie 300 ppm hamowało wzrost siedmiu izolatów o około 20–29% (średnie zahamowanie wynosiło 25%). Przy stężeniu 150 ppm wzrost dwóch izolatów był hamowany o około 25%, a czterech o około 15% (średnie zahamowanie wzrostu 18%). Nadtlenek wodoru w stężeniu 100 ppm zahamował wzrost jednego izolatu o ponad 20%, a pozostałych o 5-15%. Przy 50 ppm ograniczenie wzrostu grzybni większości izolatów było między 5% a 10%, natomiast poniżej 5% dla wszystkich grzybów przy stężeniu 10 ppm (wykres 1).



Wykres 1. Stopień zahamowania rozwoju izolatów *Lecanicillium fungicola* w zależności od stężenia nadtlenu wodoru.

W celu określenia zależności między stężeniem nadtlenu wodoru w pożywce a zahamowaniem wzrostu grzybni wyznaczono liniową zależność między tymi danymi oraz współczynnik korelacji Pearsona (wykres 2). Wykazano silną korelację ($r = 0,70$) między stężeniem nadtlenu wodoru a zahamowaniem wzrostu badanych izolatów (wykres 2).



Wykres 2. Korelacja między zahamowaniem wzrostu grzybni *Lecanicillium fungicola* a stężeniem nadtlenu wodoru.

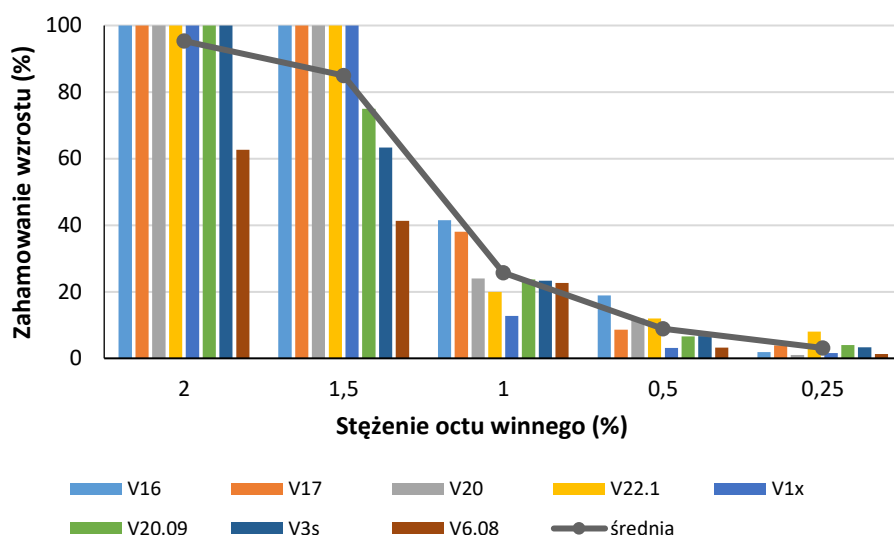
Wpływ octu winnego na rozwój izolatów *L. fungicola* badano w zakresie stężeń 0,25–2% (tabela 5). Istotne ograniczenie wzrostu grzybni większości izolatów obserwowano przy stężeniu octu 1%. Stężenie 1,5–2% praktycznie całkowicie hamowało rozwój większości badanych grzybów.

Tabela 5. Średnica grzybni (mm) izolatów *Lecanicillium fungicola* na pożywkach zawierających różne stężenia octu winnego.

Izolat	Stężenie octu winnego (%)					
	0,0	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0
V17	38,5 a*	37,0 a	35,0 a	24,5 b	0,0 c	0,0 c
V20	25,0 a	25,0 a	22,0 b	19,0 c	0,0 d	0,0 d
V3s	30,0 a	29,0 a	28 a	23,0 b	11,0 c	0,0 d
V16	26,5 a	26,0 a	21,5 b	15,5 c	0,0 d	0,0 d
V20.09	38,0 a	36,5 a	35,5 a	29,0 b	9,5 c	0,0 d
V6.08	37,5 a	37,0 a	36,3 a	29,0 b	22,0 c	14,5 d
V1x	31,5 a	31,0 a	30,5 a	27,5 b	0,0 c	0,0 c
V22.1	25,0 a	23,0 ab	22,0 b	20,0 b	0,0 c	0,0 c
średnia	31,5 A	30,6 A	29,0 AB	23,5 B	5,3 C	1,7 C

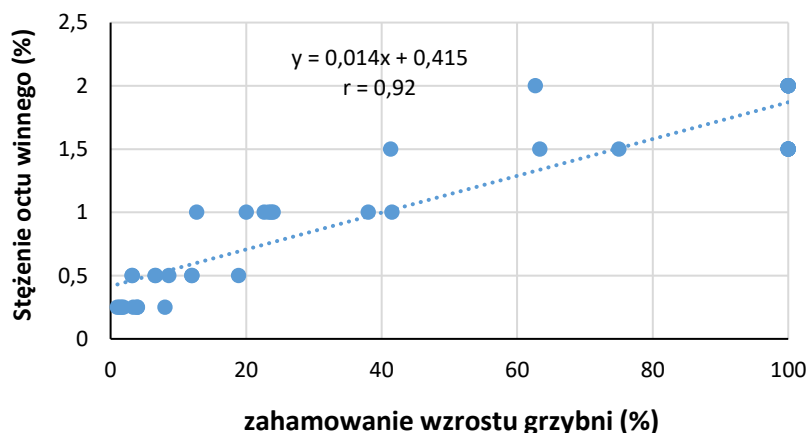
*średnie w rzędach w obrębie izolatów oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$ dla testu t-Studenta.

Na wykresie 3 przedstawiono stopień zahamowania rozwoju grzybni *L. fungicola* w zależności od stężenia octu winnego w pożywce. Stężenie 2% hamowało całkowicie rozwój izolatów, z wyjątkiem jednego (V6.08). W stężeniu 1,5% obserwowano całkowite ograniczenie wzrostu pięciu izolatów, a trzech pozostałych był zahamowany od 40% do 75% (średnie zahamowanie rozwoju o 85%). Niższe stężenia octu winnego, tj. 1% hamowały rozwój grzybów na poziomie 10–40%, natomiast stężenie 0,25–0,5% ograniczyło wzrost większości izolatów poniżej 10%.



Wykres 3. Stopień zahamowania rozwoju izolatów *Lecanicillium fungicola* w zależności od stężenia octu winnego.

Wyznaczona korelacja dla uzyskanych danych między stężeniem octu winnego w pożywce a zahamowaniem wzrostu badanych izolatów jest bardzo silna ($r = 0,92$) (wykres 4).



Wykres 4. Korelacja między zahamowaniem wzrostu grzybni *Lecanicillium fungicola* a stężeniem octu winnego.

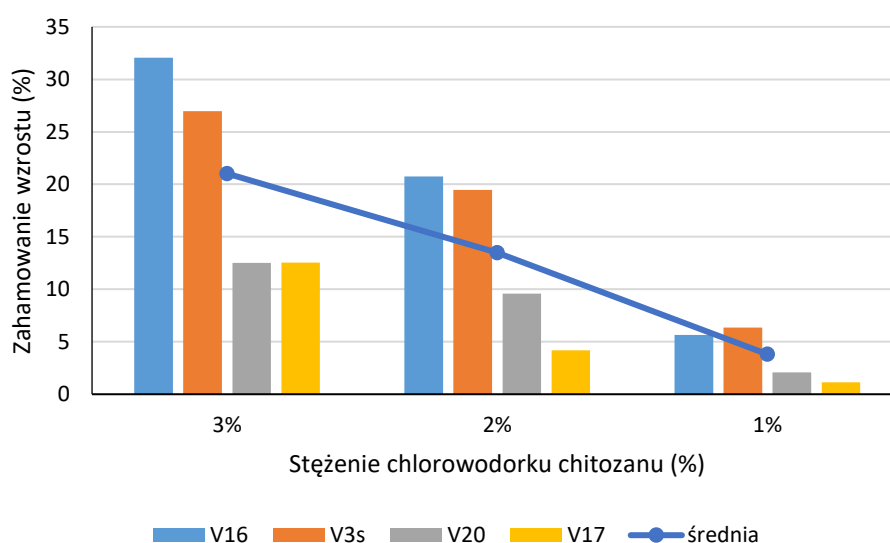
Wyniki wpływu chlorowodoru chitozanu w stężeniach 1,0–3,0% na wzrost grzybni izolatów *L. fungicola* przedstawiono w tabeli 6. Grzyby w badanym zakresie stężeń wykazały niską wrażliwość na tę substancję, przy czym przy stężeniu 2–3% większość izolatów uzyskała istotnie niższe średnice grzybni niż w kombinacji kontrolnej. Natomiast stężenie 1% nie miało istotnego wpływu na rozwój grzybów.

Tabela 6. Ocena wzrostu izolatów *Lecanicillium fungicola* na pożywce zawierającej różne stężenia chlorowodoru chitozanu.

Izolat	Stężenie (%) chlorowodoru chitozanu			
	0,0	1,0	2,0	3,0
V17	26,3 a*	26,0 a	25,2 a	23,0 b
V20	24,0 a	23,5 a	21,7 b	21,3 ab
V3s	26,7 a	24,0 a	21,5 b	19,5 c
V16	26,5 a	25,0 a	21,0 b	18,0 c

*średnie w rzędach w obrębie izolatów oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$ dla testu t-Studenta.

Na podstawie uzyskanych danych określono stopień zahamowania rozwoju *L. fungicola* w zależności od stężenia chlorowodoru chitozanu (wykres 5). Wykazano, że stężenie 3% hamowało rozwój grzybów od 12% (dwa izolaty) do 32% (jeden izolat), przy czym średni stopień zahamowania dla wszystkich grzybów wyniósł 21%. Stężenie 2% ograniczyło rozwój izolatów od 4% (jeden izolat) do 20% (dwa izolaty) – średnie zahamowanie było na poziomie 14%. Przy stężeniu 1% wzrost grzybów był zahamowany na poziomie 2–6% (wykres 5). Ze względu na niską skuteczność chlorowodoru chitozanu przy stężeniu 1%, zalecanym przez producenta, w doświadczeniu uprawowym nie brano pod uwagę tej substancji.



Wykres 5. Stopień zahamowania rozwoju izolatów *L. fungicola* w zależności od stężenia chlorowodoru chitozanu.

Wyniki wpływu biopreparatu Evasiol, tj. ekstraktu ze skrzypu polnego, w stężeniach 0,5–2,0% na wzrost grzybni *L. fungicola* przedstawiono w tabeli 7. Badana substancja nie wykazała skuteczności w hamowaniu rozwoju ich grzybni. Stwierdzono brak wskazań do badania skuteczności ekstraktu ze skrzypu polnego w doświadczeniach uprawowych. Ponadto zalecany stężeniem dla badanego preparatu jest 1%, dlatego stosowanie go w wyższych stężeniach nie jest uzasadnione ekonomicznie.

Tabela 7. Ocena wzrostu grzybni (mm) izolatów *Lecanicillium fungicola* na pożywce zawierającej różne stężenia ekstraktu ze skrzypu polnego.

Izolat	Stężenie (%) ekstraktu ze skrzypu polnego			
	0,0	0,5	1,0	2,0
V17	26,3 a*	26,0 a	25,5 a	25,0 a
V20	24,0 a	23,5 a	23,0 a	23,3 a
V3s	26,7 a	26,0 a	26,5 a	26,3 a
V16	26,5 a	25,7 a	25,0 a	25,6 a

*średnie w rzędach w obrębie izolatów oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Wyniki wpływu biopreparatu Serenade ASO w stężeniach 0,1–0,25% na wzrost grzybni *L. fungicola* przedstawiono w tabeli 8. Wykazano, że preparat w stężeniu 0,1% istotnie zahamował rozwój wszystkich izolatów, co wskazuje na jego wysoką skuteczność w warunkach laboratoryjnych. W kolejnym etapie badań sprawdzana będzie jego przydatność do ograniczenia rozwoju suchej zgnilizny w doświadczeniu uprawowym.

Tabela 8. Ocena wzrostu grzybni (mm) izolatów *L. fungicola* na pożywce zawierającej różne stężenia preparatu Serenade ASO.

Izolat	Stężenie biopreparatu Serenade ASO (%)		
	0,0	0,1	0,25
V17	35,5 a*	10,0 b	9,0 b
V20	25,5 a	9,5 b	8,5 b
V3s	40,0 a	9,0 b	9,0 b
V16	31,0 a	11,0 b	9,0 b
V20.09	43,0 a	8,5 b	0,0 b
V6.08	52,0 a	0,0 b	0,0 b
V1x	34,0 a	10,0 b	8,0 b
V22.1	50,0 a	10,0 b	9,0 b

Wpływ substancji podstawowych na ograniczenie suchej zgnilizny w uprawie

W doświadczeniach uprawowych (Fot. 3) badano skuteczność nadtlenu wodoru i octu winnego w stężeniach, które wykazywały istotne ograniczenie lub zahamowanie rozwoju grzybów *L. fungicola*, tj. odpowiednio, dla nadtlenu wodoru badano stężenie 50 i 150 ppm, a dla octu – 1 i 2%.

Uprawę pieczarki prowadzonej w doniczkach infekowano zarodnikami *L. fungicola* w ilości około $2,6 \times 10^6$ i $2,6 \times 10^7$ zarodników na m^2 okrywy, każda kombinacja obejmowała 4 powtórzenia.

W pierwszym rzucie owocników prowadzono obserwacje rozwoju suchej zgnilizny oraz określano plon grzybów.



Fot. 3. Doświadczenie uprawowe w donicach prowadzone w hali (fot. J. Szumigaj-Tarnowska).

W pierwszym rzucie owocników objawy chorobowe suchej zgnilizny pojawiły się w kombinacjach infekowanych bez dodatku substancji podstawowych oraz w kombinacjach traktowanych badanymi substancjami (tabela 9). Przy liczbie zarodników 10^6 na m^2 objawy choroby pojawiały się w pojedynczych miejscach, ale nie we wszystkich powtórzeniach, bo tylko w jednej lub dwóch donicach. Zainfekowanie uprawy wyższą liczbą zarodników (10^7 na m^2) skutkowało większymi skupiskami choroby, pokrywającymi 40-50% powierzchni infekowanej uprawy kontrolnej i około 30-40% powierzchni upraw badanych w zależności od stężenia i substancji podstawowej (tabela 9).

Tabela 9. Skuteczność substancji podstawowych w zwalczaniu suchej zgnilizny w uprawie pieczarki w zależności od liczby zarodników grzyba na podstawie rozwoju choroby i stopnia porażenia powierzchni uprawy (%).

Kombinacja / liczba zarodników na m^2	I rzut				
	Kontrola infekowana	Nadtlenek wodoru		Ocet winny	
		50 ppm	150 ppm	1%	2%
10^6	Pojedyncze ogniska choroby 1 donica	Pojedyncze ogniska choroby 1 donica	Pojedyncze ogniska choroby 2 donice	Pojedyncze ogniska choroby 2 donice	Pojedyncze ogniska choroby 2 donice
10^7	Skupiska ognisk chorobowych / 40-50% powierzchni 4 donice	Ogniska choroby porażenie 30-40% pow. / 2 donice	Ogniska choroby, porażenie 30% pow. / 2 donice	Objawy porażenia na 30%-40% pow. / 4 donice	Objawy porażenia na 30% pow. / 3 donice

Wyniki skuteczności badanych substancji podstawowych w ograniczaniu suchej zgnilizny w uprawie pieczarki wyrażonej w plonie zbieranych owocników zawarto w tabeli 10. Uzyskany plon owocników z uprawy kontrolnej wynosił średnio od 536,2 g do 570,8 g z powierzchni uprawy 0,038 m^2 . Zainfekowanie uprawy zawiesiną zarodników w ilości 10^6 na m^2 okrywy wpłynęło na istotne

obniżenie plonu, tj. 405,3 – 432,0 g z powierzchni 0,038 m². Nasilenie choroby było na poziomie 20–30% (wykres 6 i 7).

Zastosowanie nadtlenu wodoru w stężeniu 50 ppm oraz octu w stężeniu 1% nie miało istotnego wpływu na zwiększenie plonu owocników. Istotnie wyższy plon uzyskano w kombinacjach, które traktowano nadtlaniem wodoru w stężeniu 150 ppm i octu w stężeniu 2% (tabela 10), a uzyskany plon owocników nie różnił się od plonu w próbach kontrolnych, nieinfekowanych. Zastosowanie nadtlenu wodoru w tym stężeniu wpłynęło na zmniejszenie ubytku plonu z około 30% na poniżej 10% (wykres 6) i z 20 na 10% w przypadku octu w stężeniu 2% (wykres 7).

Plon owocników przy porażeniu uprawy liczbą zarodników 10⁷ na m² okrywy wyniósł 315,8 i 334,3 g na 0,038 m², i był istotnie niższy od plonu uzyskanego w próbach kontrolnych. Ubytek plonu wynosił około 40% (wykres 6 i 7). Zastosowanie nadtlenu wodoru w stężeniu 150 ppm miało wpływ na zwiększenie plonu owocników, w pozostałych kombinacjach z substancjami podstawowymi plon owocników nie uległ istotnemu zwiększeniu (tabela 10).

Ubytek plonu w przypadku nadtlenu wodoru w stężeniu 150 ppm wynosił około 20%, a pozostałych kombinacjach wahał się do 30 do 40%, podobnie jak w uprawie kontrolnej, infekowanej i bez ochrony (wykres 6 i 7).

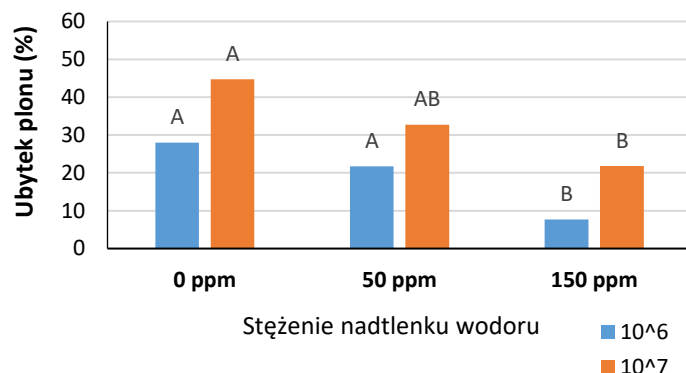
Tabela 10. Plon owocników (kg/m²) w pierwszym rzucie uprawy porażonej *Lecanicillium fungicola* w zależności o zastosowanej substancji podstawowej.

Liczba komórek (jtk/ m ² okrywy)	Substancja podstawowa			
	Nadtlenek wodoru		Ocet winny	
	50 ppm	150 ppm	1%	2%
Kontrola bez infekcji	570,8 a*		536,2 a	
2,6 x 10 ⁶	405,3 b		432,0 b	
2,6 x 10 ⁶ + substancja	447,0 Abc	529,3 Aa	445,8 Ab	484,5 Aa
2,6 x 10 ⁷	315,75 c		334,25 c	
2,6 x 10 ⁷ + substancja	384,3 Bc	446,3 Bb	277,0 Cc	299,5 Cc

*a, b, c średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$

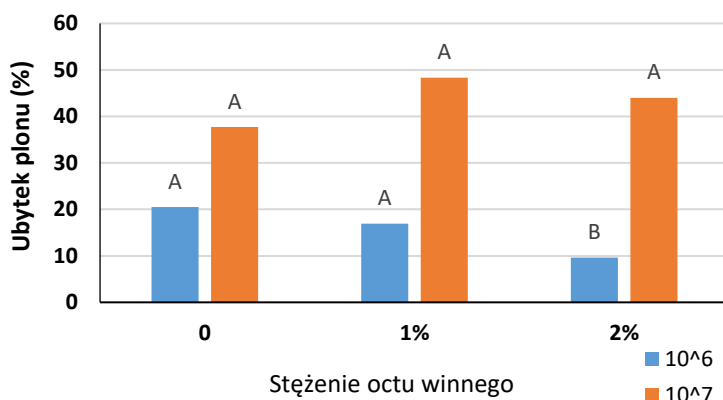
Objaśnienia: nadtlenu wodoru stosowany w stężeniach 0,05% i 0,5%; ocet winny stosowany w stężeniach 1% i 2%

*A, B, C - średnie w rzędach, w obrębie substancji, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$.



*A, B, C - średnie w obrębie stężenia zarodników oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Wykres 6. Ubytek plonu owocników w I rzucie po zastosowaniu nadtlenu wodoru, przy różnej liczbie zarodników *Lecanicillium fungicola*, tj. 10^6 i 10^7 na m^2 .



*A, B, C - średnie, w obrębie stężenia zarodników, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Wykres 7. Ubytek plonu owocników w I rzucie po zastosowaniu octu winnego, przy różnej liczbie zarodników *Lecanicillium fungicola*, tj. 10^6 i 10^7 na m^2 .

5. Podsumowanie

1. Badania substancji podstawowych stosowanych w celu ograniczenia populacji muchówek *Lycoriella ingenua* w uprawie pieczarki wykazały, że ocet winny ma istotne właściwości wabiące muchówki, gdy jest stosowany wraz żółtymi tablicami lepowymi. Olejek eukaliptusowy wykazał niewielkie właściwości wabiące, natomiast olejek cebulowy i tymiankowy miały niewielkie właściwości odstraszające.
2. Rozwój grzybów *Lecanicillium fungicola* powodujących suchą zgniliznę pieczarki był istotnie hamowany w warunkach *in vitro* przez nadtlenek wodoru w stężeniu 100 – 150 ppm.
3. Ocet winny wykazał wysoką skuteczność w ograniczaniu rozwoju grzybów *L. fungicola* w stężeniu 1%, a stężenie 1,5 – 2% całkowicie hamowało rozwój większości badanych izolatów *L. fungicola*.
4. Chlorowodorek chitozanu w stężeniach 1,0–3,0% wykazał niską skuteczność w ograniczaniu rozwoju grzybów *L. fungicola*.

5. Biopreparat Evasiol zawierający ekstrakt ze skrzypu polnego nie był skuteczny w hamowaniu rozwoju grzybów *L. fungicola*.
6. Biopreparat Serenade ASO w stężeniach 0,1 – 0,25% istotnie hamował rozwój grzybnii izolatów *L. fungicola*.
7. Nasilenie rozwoju suchej zgnilizny w uprawie przy liczbie zarodników *L. fungicola* 10^6 na m² okrywy zostało ograniczone po zastosowaniu nadtlenu wodoru w stężeniu 150 ppm i octu winnego w stężeniu 2%.
8. Przy porażeniu uprawy liczbą zarodników 10^7 na m² okrywy ubytek plonu owocników wynosił około 40%, a zastosowanie nadtlenu wodoru w stężeniu 150 ppm miało wpływ na ograniczenie rozwoju choroby.