

63 OGÓLNOPOLSKA NAUKOWA KONFERENCJA OCHRONY ROŚLIN SADOWNICZYCH

Strategia Jedno Zdrowie
w aspekcie ochrony roślin sadowniczych

Instytut Ogrodnictwa – PIB
Skierniewice
15 LUTEGO 2024 r.

SESJA POSTEROWA (hol Kinoteatru Polonez, I p., 9:30 – 15:45)

1. **Diaporthe eres jako przyczyna zamierania drzewek jabłoni w szkółkach i młodych sadach**
– mgr inż. Hubert Głos, dr Monika Michalecka (IO-PIB)
2. **Sprawca gnicia gruszek w okresie przechowywania *Cadophora luteo-olivacea* – nie tylko w Europie Zachodniej**
– mgr inż. Hubert Głos, dr Monika Michalecka (IO-PIB)
3. **Pozyskiwanie i identyfikacja potencjalnych wektorów *Xylella fastidiosa* – ocena ryzyka przenoszenia bakterii w Polsce**
– dr Monika Kałużna, dr hab. Grażyna Soika, prof. IO, dr Wojciech Warabieda (IO-PIB)
4. **Nowoczesne systemy wykrywania bakterii *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* sprawcy bakteryjnej zgorzeli leszczyny**
– dr Monika Kałużna (IO-PIB), dr Andjelka Prokić, prof. Aleksa Obradović, dr William A. Weldon, dr Virginia Stockwell, dr Joël F. Pothier
5. **Zwalczanie zarazy ogniowej (*Erwinia amylovora*) na jabłoni w kontekście zmian związanych z Europejskim Zielonym Ładem**
– dr Artur Mikiciński, prof. dr hab. Joanna Puławska (IO-PIB), mgr Maciej Spychalski (Poznański Park Naukowo Technologiczny), dr Rafał Kukawka, dr hab. inż. Marcin Śmiglak (Poznański Park Naukowo Technologiczny, Innosil), dr Katarzyna Góralska (Intermag), mgr Marcin Oleszczak
6. **Zastosowanie wermikompostu i jonów Ag+ w uprawie truskawki – wpływ na populację niszczyka zjadliwego (*Ditylenchus dipsaci*)**
– dr hab. Andrzej T. Skwiercz, prof. IO, dr Małgorzata Sekrecka, Anna Wesołowska, dr Aleksandra Trzewik, mgr Anastasia Lutsiuk, dr Dawid Kozacki (IO-PIB)
7. **Podatność genotypów porzeczek czarnej na zasiedlenie pąków przez wielkopąkowca porzeczkowego**
– dr Wojciech Piotrowski, prof. dr hab. Stanisław Pluta, dr Łukasz Seliga (IO-PIB)
8. **Wpływ różnych praktyk zwiększających bioróżnorodność na populacje szkodników i owadów pożytecznych w ekologicznej produkcji truskawek i malin**
– mgr inż. Gerard Podedworny, dr Małgorzata Tartanus, dr hab. Eligio Malusà, prof. IO (IO-PIB)
9. **Czym pachną korzenie truskawki, że pędraki chrabąszcza majowego aż tak je lubią? Na tropach wolatilomu truskawki**
– dr Ewa M. Furmańczyk (IO-PIB), dr hab. inż. Radosław Bonikowski (Politechnika Łódzka)



Minister
Edukacji i Nauki

InHort
INSTYTUT OGRODNICTWA

Projekt dofinansowany ze środków budżetu państwa przyznanych
przez Ministra Edukacji i Nauki w ramach Programu „Doskonała nauka II”





DIAPORTHE ERES JAKO PRZYCZYNA ZAMIERANIA DRZEWK JABŁONI W SZKÓŁKACH I MŁODYCH SADACH

WSTĘP

Dotychczas grzyb *Diaporthe eres* jako patogen kory i drewna był uznawany za patogena słabości. Był izolowany z większości gatunków drzew sadowniczych, głównie z ran powstałych mechanicznie lub nekroz spowodowanych występowaniem innych grzybów patogenicznych. *D. eres* rozwija się w szerokim zakresie temperatur od 5 do 35°C. Najlepsze warunki do kiełkowania zarodników to temperatura 25°C i wilgotność względna powietrza sięgająca 100%. Ze względu na ciepłe lata panujące w ostatnich sezonach wegetacyjnych oraz łagodne zimy, patogen zaczął powodować coraz większe straty w materiale nasadzeniowym jabłoni.

POCHODZENIE MATERIAŁU ROŚLINNEGO I OBJAWY

W latach 2022-2023 do Laboratorium Chorób Roślin Instytutu Ogrodnictwa – PIB dwukrotnie trafiły dwuletnie drzewka jabłoni, które po posadzeniu przez producentów na przygotowanych kwaterach zaczęły gwałtownie zamierać. Jak wynikało z przeprowadzonego wywiadu w obu przypadkach objawy zaczęły się pojawiać wiosną, tuż po ruszeniu wegetacji. Po rozwinięciu pierwszych liści, dochodziło do ich więdnienia i zasychania. Jedna partia drzewek pochodziła z polskiej szkółki, a druga z Chorwacji. Dostarczany do badań materiał wykazywał objawy w postaci rozległych nekroz rozmieszczonych na różnych częściach nadziemnych, od przewodnika i podkładki, aż do najwyższych partii korony. Nekrozy były lekko zapadnięte z widocznymi brunatno-pomarańczowymi przebarwieniami, a pod cienką warstwą epidermy znajdowały się liczne, małe, czarne piknidia z zarodnikami konidialnymi. Piknidia zajmowały niemal całą powierzchnię nekroz i stanowiły swego rodzaju cechę diagnostyczną. W początkowej fazie infekcji kora ulegała delikatnym pęknięciom, które znacznie powiększały się wraz z rozwojem choroby.

BADANA MOLEKULARNE

W celu identyfikacji sprawców powstałych nekroz wykonano izolację patogenów z pogranicza chorego i zdrowego drewna na pożywkę PDA, przeznaczoną do hodowli grzybów strzępkowych. Każdorazowo uzyskiwano podobne kultury grzybów, których morfologia wskazywała na przynależność do rodzaju *Diaporthe* spp. Z około 7-dniowej grzybni rosnącej na PDA izolowano DNA patogena, a następnie jego fragmenty namnażano w reakcjach PCR ze starterami komplementarnymi do genów: β -tubuliny (BT2a i BT2b; Glass i Donaldson, 1995), kalmoduliny (CALD-38F i CAL737R; Hilário i in., 2020; Carbone i Kohn, 1999) oraz czynnika elongacyjnego EF1- α (EF1-728F i F1-986R; Carbone & Kohn, 1999). Amplifikowane fragmenty sekwencjonowano i uzyskane sekwencje porównywano z sekwencjami dostępnymi w bazie GenBank, w celu identyfikacji gatunkowej uzyskanych grzybów. Przeprowadzone analizy morfologiczna oraz molekularna pozwoliły na zaklasyfikowanie wyizolowanych grzybów do gatunku *D. eres*.

PODSUMOWANIE

Straty jakie spowodował patogen w sadach, z których pobierano drzewka do badań, sięgały 70% nasadzonego materiału. Bardzo szybki rozwój choroby w obydwu przypadkach wskazuje, że patogen był zawleczony ze szkółki, a posadzenie drzewek i ruszenie wegetacji aktywowało jego dalszy rozwój, co w konsekwencji przyczyniło się do zamierania roślin.



RYS 1. Czarne piknidia *D. eres* pokrywające powierzchnię nekroz



RYS 2. Rozległe nekrozy rozmieszczone na różnych częściach nadziemnych drzewek



SPRAWCA GNICIA GRUSZEK W OKRESIE PRZECHOWYWANIA *CADOPHORA LUTEO-OLIVACEA* NIE TYLKO W EUROPIE ZACHODNIEJ

WSTĘP

W ostatnich latach coraz bardziej popularne w Polsce stają się nasadzenia gruszy. Spowodowane jest to między innymi niestabilną ceną jabłek na rynku owoców oraz problemami związanymi z uzyskaniem wysokiej jakości surowca. Uprawa gruszy nie należy do najłatwiejszych, ale obecnie cena owoców sprzyja zakładaniu nowych sadów.

Oprócz parcha gruszy, mączniaka, brunatnej zgnilizny drzew ziarnkowych (forma letnia), czy brązowej plamistości gruszy, które mogą występować w trakcie sezonu wegetacyjnego, istotne są także choroby przechowalnicze, których wystąpienie decyduje o ostatecznej jakości uzyskanego plonu. Spośród chorób występujących najczęściej i jednocześnie powodujących duże straty należy wymienić szarą pleśń (*Botrytis cinerea*), gorzką zgniliznę jabłek i gruszek (*Phlyctema vagabunda* syn. *Neofabraea alba*), antraknozę (*Colletotrichum acutatum sensu lato*), odśrodkowe gnicie gruszek (*Fusarium* spp.) i mokrą zgniliznę (*Penicillium expansum*). Choroby takie jak alternarioza drzew ziarnkowych (*Alternaria* spp.), czy brunatna zgnilizna drzew ziarnkowych (*Monilinia* spp.) – forma przechowalnicza, odgrywają nieco mniejszą rolę, ale nie należy ich lekceważyć, ponieważ w sprzyjających warunkach także mogą powodować straty.

WYSTĘPOWANIE PATOGENA

W ciągu ostatnich dwóch sezonów przechowalniczych w Instytucie Ogrodnictwa – PIB na gruszkach odmiany ‘Lukasówka’ wykryto występowanie nowej choroby dla warunków Polski, której sprawcą jest polifagiczny grzyb *Cadophora luteo-olivacea*. Patogen występował na niewielkiej partii owoców. Pierwsze pojawienie się choroby na gruszkach opisano w 1977 roku w USA, jednak pierwotnie za czynnik sprawczy uznano patogen *C. malorum*. W Europie występowanie *C. luteo-olivacea* na gruszkach odmiany ‘Konferencja’ stwierdzono po raz pierwszy w Holandii, a obecnie jego występowanie notuje się w niemal całej Europie Zachodniej. Ponadto na Litwie i we Włoszech grzyb ten był także izolowany z jabłek w okresie przechowywania (Amaral Carneiro i in. 2022).

OBSERWACJE I DIAGNOSTYKA

W sezonie 2022 z niechronionej kwatery sadu komercyjnego znajdującego się w okolicach Kutna zebrano 2000 owoców odm. ‘Lukasówka’ w celu monitoringu nowych zagrożeń ze strony patogenicznych grzybów. Owoce przechowywano przez 4,5 miesiąca w temperaturze 0°C i wilgotności względnej 85-90%. Po tym czasie wykonywano obserwacje. Na kilku gruszkach wystąpiły objawy w postaci ciemnobrązowych, lekko owalnych lub okrągłych, zapadających się w miąższ plam, o średnicy od 0,5 cm do ponad 1 cm. W celu identyfikacji czynnika sprawczego, porażone owoce zostały zdezynfekowane 70% alkoholem, a następnie wykładano fragmenty miąższu z pogranicza zdrowej i chorej tkanki na pożywkę PDA przeznaczoną do hodowli grzybów. Uzyskano dwa typy kolonii; pierwszy posiadał ciemne zabarwienie i szarą filcowatą grzybnię o lekko oliwkowym zabarwieniu. Drugi typ w początkowej fazie wzrostu posiadał jasną kolonię z wyraźnym oliwkowym obrzeżem, z czasem przyjmując szarobrązowe zabarwienie z kremowo oliwkową obwódką. Z około 7-dniowej grzybni rosnącej na PDA izolowano materiał genetyczny, a następnie jego fragment amplifikowano w reakcji PCR ze starterami uniwersalnymi do grzybów strzępkowych (ITS1 i ITS4, White 1990).

PODSUMOWANIE

Po sekwencjonowaniu produktów PCR, uzyskane sekwencje porównywano z sekwencjami dostępnymi w bazie GenBank, w celu identyfikacji gatunkowej wyizolowanych grzybów. Przeprowadzone analizy morfologiczna oraz molekularna pozwoliły na zaklasyfikowanie uzyskanych grzybów do gatunku *C. luteo-olivacea*. Potencjalne wystąpienie *C. luteo-olivacea* w Polsce również na jabłkach zwraca szczególną uwagę na konieczność ciągłego monitoringu rozprzestrzeniania się patogena.



RYS 1. Zgnilizny powstałe w wyniku sztucznej inokulacji.



RYS 2. Przekrój owocu z objawami gnicia powodowanymi przez *C. luteo-olivacea*.

Prace badawcze wykonano w ramach dotacji statutowej ZOR/2/2022 „Wykorzystanie metod molekularnych w diagnostyce nowych chorób roślin ogrodniczych na terenie Polski.”



POZYSKIWANIE I IDENTYFIKACJA POTENCJALNYCH WEKTORÓW *XYLELLA FASTIDIOSA* - OCENA RYZYKA PRZENOSZENIA BAKTERII W POLSCE

Xylella fastidiosa (Xf) jest wolno rosnącą Gram-ujemną bakterią zasiedlającą tkankę przewodzącą (ksylem) roślin – gospodarzy i przenoszona przez owady. Bakteria została umieszczona na liście A1 organizmów kwarantannowych Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (*European and Mediterranean Plant Protection Organisation* – EPPO) oraz od 2019 roku na liście A2 organizmów kwarantannowych (Aneks II B). Obecnie, według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), zaktualizowana lista roślin-gospodarzy *X. fastidiosa* obejmuje 679 gatunków roślin z 88 różnych rodzin roślin (EFSA 2023).

Bakteria rozmnaża się w naczyniach tkanki przewodzącej korzeni, pędów, gałęzi liści. Naczynia są ostatecznie zablokowane przez skupienia bakterii (agregaty), tylozy (zatyczki) oraz gumy wydzielane przez rośliny, co skutkuje zahamowaniem transportu wody i składników pokarmowych.

Xylella fastidiosa jest przenoszona przez piewiki (Auchenorrhyncha) – owady odżywiające się sokami roślinnymi. Zgodnie z opinią naukową Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności, wśród potencjalnych wektorów *X. fastidiosa* wymienia się następujące gatunki: Sharpshooter Cicadellidae *Cicadella viridis* (Linnaeus 1758), *Graphocephala fennahi* Young 1977, *Evacanthus interruptus* (L.s 1758), *Errhomenus brachypterus* Fieber 1866; Spittlebugs Aphrophoridae: *Aphrophora alni* (Fallen 1805), *A. corticea* (Germar 1821), *A. major* Uhler 1896, *A. pectoralis* Matsumura 1903, *A. salicina* (Goeze 1778), *A. similis* Lethierry 1888, *Lepyronia coleoptrata* (L., 1758, *Neophilaenus albipennis* (Fabricius 1798), *N. campestris* (Fallen 1805), *N. exclamatoris* (Thunberg 1784), *N. infumatus* (Haupt 1917), *N. lineatus* (Linnaeus 1758), *N. minor* (Kirschbaum 1868), *Peuceptylus coriaceus* (Fallen 1826), *Philaenus spumarius* (L., 1758); Spittlebugs Cercopidae: *Cercopis sanguinolenta* (Scopoli 1763), *C. vulnerata* Rossi, 1807 (EFSA, 2015). W oparciu o dostępne dane literaturowe do gatunków o najwyższym potencjale rozprzestrzeniania *X. fastidiosa* w Europie zostały zaklasyfikowane: pienik olchowiec (*Aphrophora alni*), pienik wierzbowy (*Aphrophora salicina*), pienik ślinianka (*Philaenus spumarius*), krasanka natrawka (*Cercopis vulnerata*), bezrąbek sadowiec (*Cicadella viridis*).

W ramach zadań realizowanych w projekcie Narodowego Centrum Nauki (NCN), pt.: „Zagrożenie roślin uprawnych przez *Xanthomonadaceae* ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych *Xanthomonas arboricola* i *Xylella fastidiosa* oraz wektorów (UMO-2017/26/M/NZ9/01024) przeprowadziliśmy badania nad występowaniem piewików – potencjalnych wektorów bakterii *X. fastidiosa* w Polsce.



MATERIAŁY I METODY

W latach 2018-2022 próby owadów pobierano z 16 lokalizacji rozmieszczonych w kilku regionach Polski (Rys. 1). Oprócz jabłoni monitoringiem objęto brzoskwinie, czereśnie, śliwy, winnice oraz drzewa ozdobne (buk, grab, dąb) i różaneczniki rosnące w ogrodach botanicznych, a także z łąk i miedz przylegających do badanych obiektów.

W kolejnym etapie badań, z owadów izolowano DNA metodą CTAB zalecaną przez EPPO (OEPP/EPPO Bulletin, 2019) i w materiale genetycznym wykrywano obecność bakterii *X. fastidiosa* z zastosowaniem metody real time PCR (Harper i in., 2010, erratum 2013) i nested PCR (Yuan i in., 2010, Cruaud i in., 2018).

WYNIKI I WNIOSKI

Podczas badań zebrano ponad 500 osobników, które zaklasyfikowano do czterech rodzin: Cicadellidae, Aphrophoridae, Delphacidae i Membracidae. Najliczniej reprezentowanymi rodzinami były Cicadellidae i Delphacidae, podczas gdy osobniki należące do rodzin Aphrophoridae i Membracidae wystąpiły w niewielkiej liczbie. Wśród oznaczonych gatunków na szczególną uwagę zasługują *Cicadella viridis*, *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris*, *N. lineatus* i *Graphocephala fennahi*, które wykazywane są w Europie jako potencjalne wektory *X. fastidiosa*. DNA izolowano ze 146 wektorów należących do *Cicadella viridis*, *Cicadella lasiocarpae*, *Euscelis incisus*, *Macrosteles laevis*, *Psammotettix alienus*, *Nothodelphax albocarinatus*, *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus lineatus* i *Neophilaenus campestris*.

Badania z zastosowaniem PCR w czasie rzeczywistym i nested PCR do wykrywania *X. fastidiosa* w DNA izolowanym bezpośrednio z owadów, które mogą odgrywać rolę jako potencjalne źródło bakterii i ich rozprzestrzenianie, nie wykazały obecności bakterii. Nie oznacza to jednak, że bakteria ta nie występuje w naszym kraju. Przy intensywnym rozwoju handlu międzynarodowego materiałem roślinnym prawdopodobieństwo wprowadzenia *X. fastidiosa* do Polski w obrocie materiałem szkółkarskim roślin ozdobnych i owocowych jest w dalszym ciągu bardzo wysokie. Dlatego należy prowadzić dalsze inspekcje zwłaszcza na materiale roślinnym importowanym ze stref, w których wykryto już bakterie. Obecnie nie ma środków chemicznych do zwalczania *X. fastidiosa*. Jedynym sposobem jest usunięcie i zniszczenie zakażonych roślin oraz kontrola wektorów.



Rys. 1. Lokalizacje obiektów z których pobierano próbki osobników należących do Auchenorrhyncha



Nowoczesne systemy wykrywania bakterii *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* sprawcy bakteryjnej zgorzeli leszczyny

Bakteria *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* (Xac), jest patogenem, który znajduje się na liście A2 Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin ((ang. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO)) i od roku 2019r. jest regulowanym agrofagiem niekwarantannowym dla Unii („RAN”, ang. Regulated Non-Quarantine Pests RNQP). Bakteria jest sprawcą bakteryjnej zgorzeli leszczyny, choroby powodującą straty ekonomiczne w produkcji orzechów laskowych na całym świecie. Przy dużym nasileniu straty mogą sięgać nawet 100%, szczególnie w szkółkach i na młodych plantacjach (Lamichhane and Varvaro, 2014). Objawy choroby występują na wszystkich organach naziemnej części drzew. Jednym z najbardziej charakterystycznych objawów są zgorzele wokół pąków, które rozwijają się późną wiosną. Początkowo są to małe, lekko wypukłe, brązowe plamy, najczęściej w kształcie elipsy. Z czasem powiększają się, tworząc rozległe nekrozy na pędach, powodujące ich zamieranie. Na liściach mogą pojawiać się nieregularnie okrągłe, uwodnione, żółto-zielone plamy, które z czasem przyjmują czerwono-brunatne zabarwienie. Jednak najbardziej typowym objawem są kanciaste plamy zbliżone do litery V otoczone jasnozieloną obwódką. Na owocni rozwijają się czerwono-brunatne plamy o średnicy 1-5mm (Kałużna i in. 2021). Jednym z czynników ograniczających szkodliwość choroby jest jak najwcześniejsze jej wykrycie i podjęcie odpowiednich zabiegów.

W ramach realizacji zadań projektu Narodowego Centrum Nauki (NCN), pt.: „Zagrożenie roślin uprawnych przez *Xanthomonadaceae* ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych *Xanthomonas arboricola* i *Xylella fastidiosa* oraz wektorów (UMO-2017/26/M/NZ9/01024) podjęto badania nad opracowaniem nowoczesnych systemów wykrywania bakterii *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* sprawcy bakteryjnej zgorzeli leszczyny.



Materiały i metody

➤ Genomika porównawcza

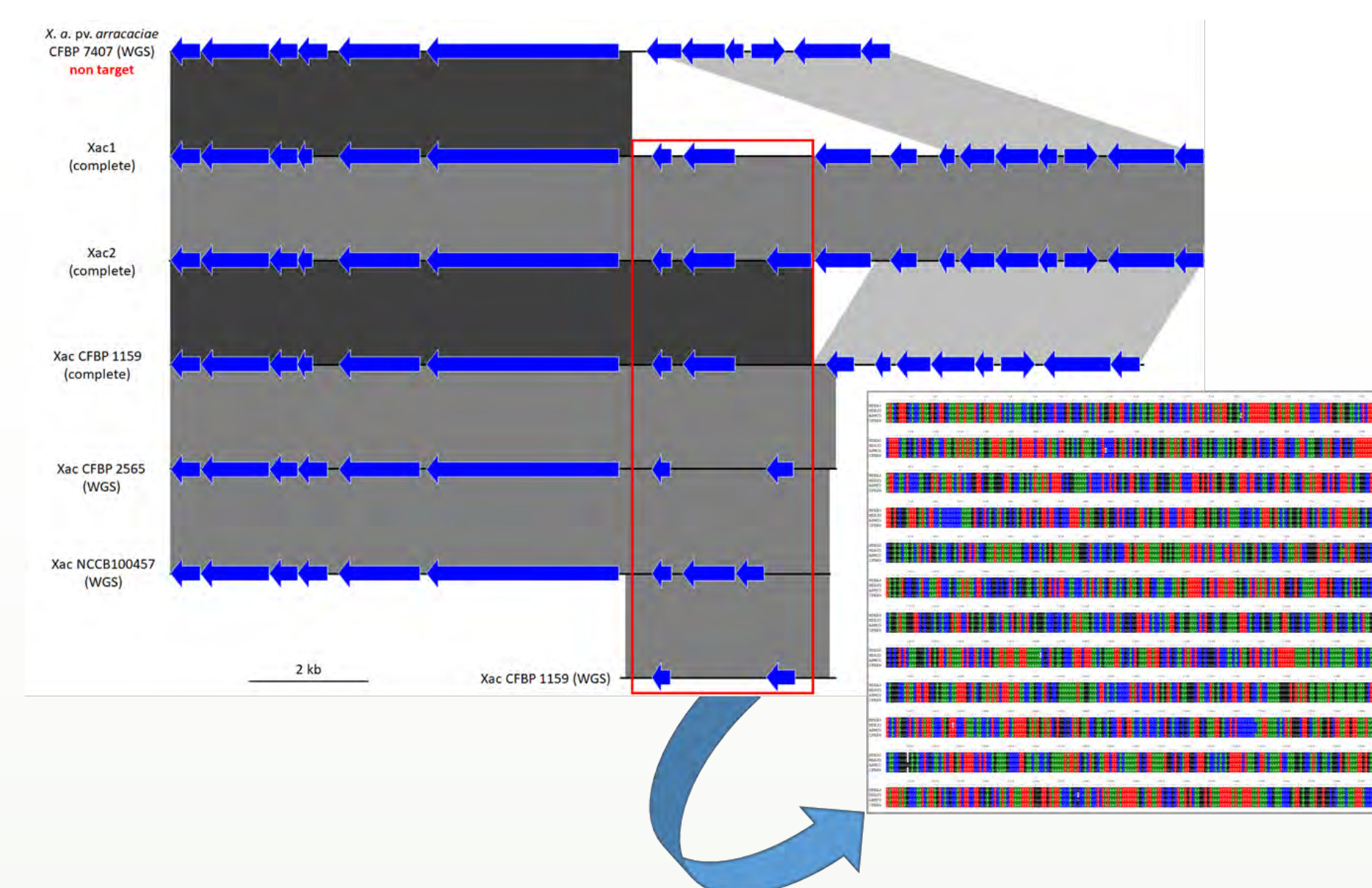
W badaniach na podstawie analizy porównawczej *in silico* genomów patowarów gatunku *X. arboricola* pozyskanych w ramach projektów sekwencjonowania genomów (WGS) wyselekcjonowano wysoce konserwatywne regiony.

➤ Na podstawie sekwencji tych regionów zaprojektowano startery do opracowania systemów wykrywania badanych bakterii z zastosowaniem:

- Konwencjonalnej techniki PCR - 6 par starterów – 197 pz to 1455 pz
- Real-time PCR SYBR Green I - 4 pary starterów – 88 pz to 170 pz
- Real-time PCR TaqMan - 2 zestawy starterów – 155 pz to 198 pz
- izotermicznej metody amplifikacji DNA (ang. Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) - 3 zestawy starterów

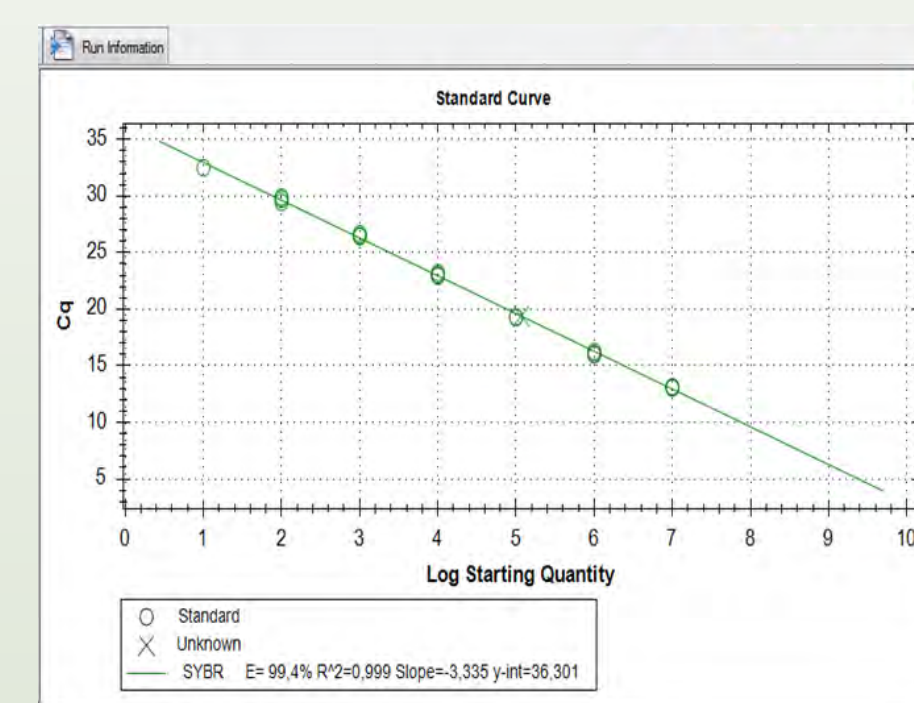
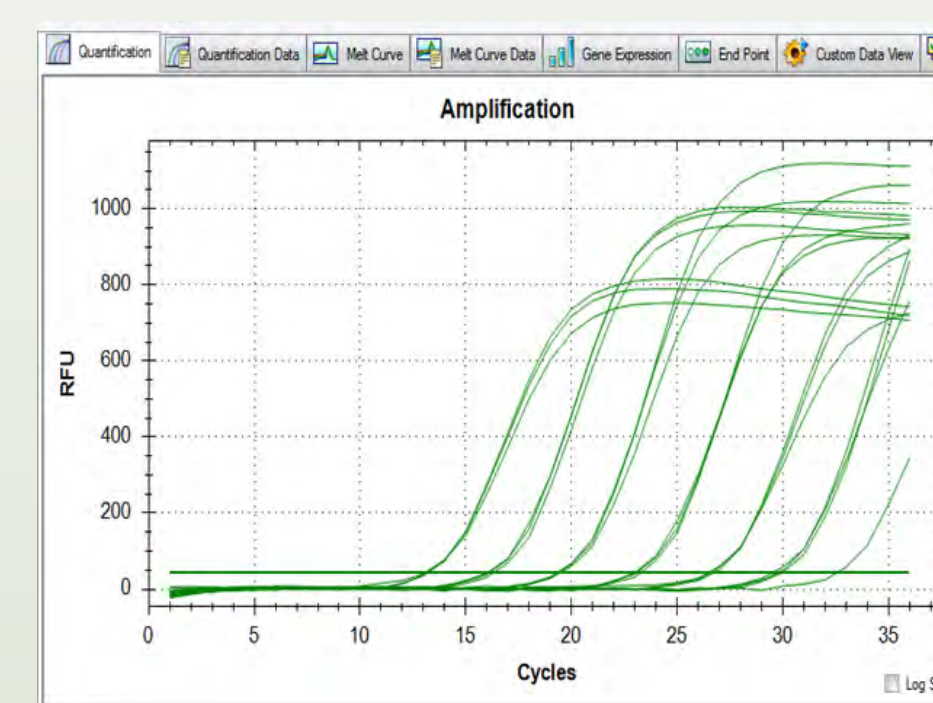
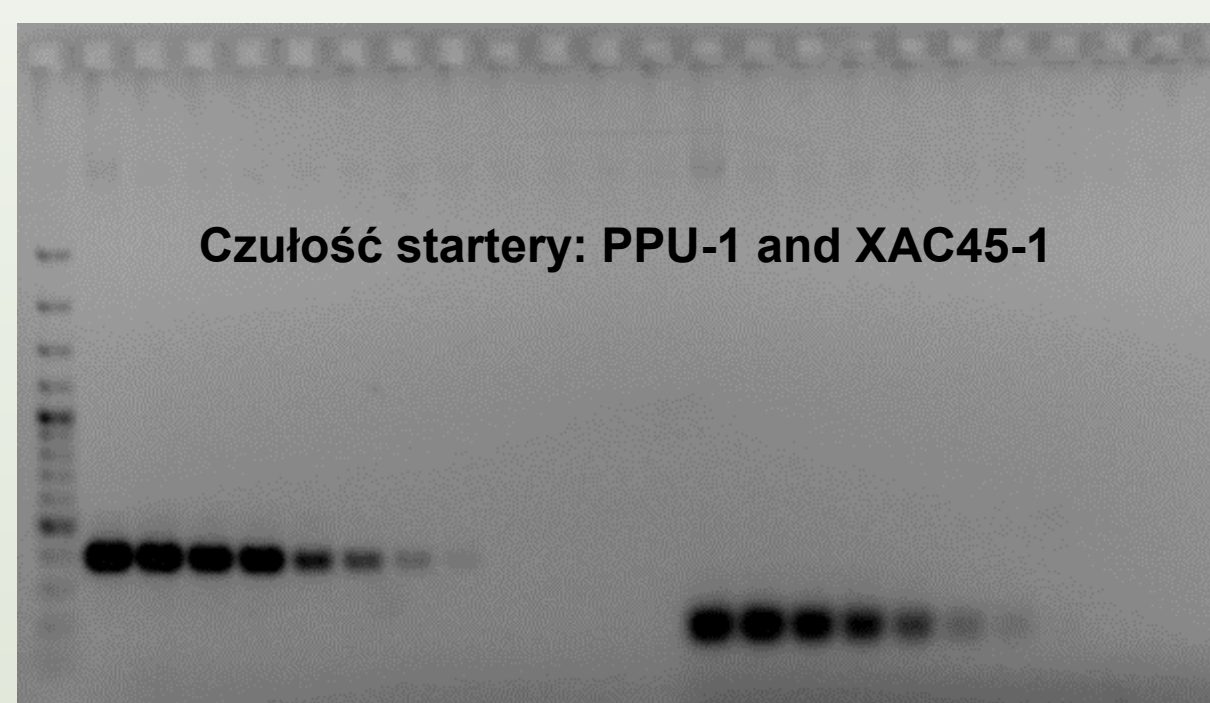
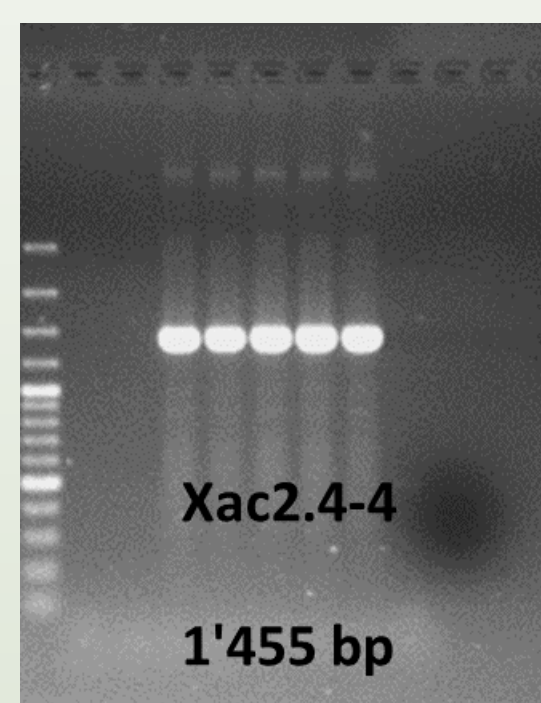
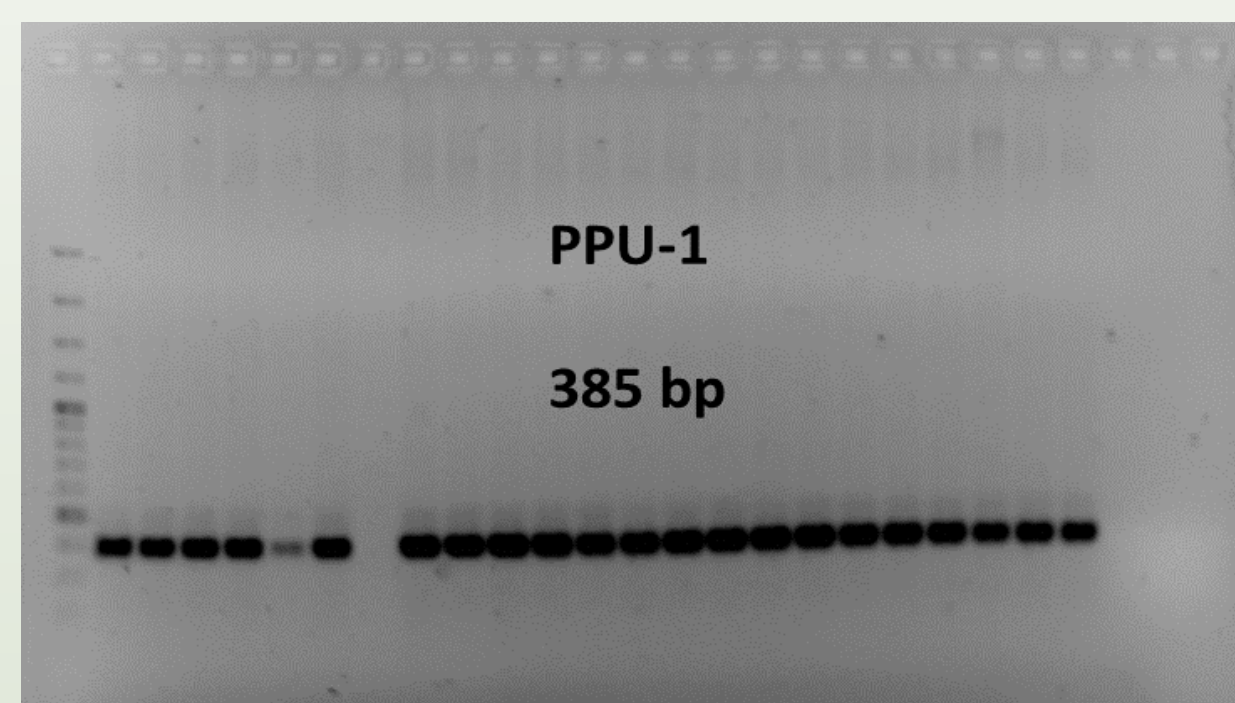
➤ Testowane DNA (razem ponad 130)

- Szczepy *Xac* w tym szczepy typowe patowaru CFBP 1159^{PT}, LMG 688
- *X. a. pv. arracaciae* CFBP 7407^{PT}, *X. a. pv. zantedeschiae* CFBP 7410^{PT}, *X. a. pv. celebensis* CFBP 3523^{PT},
- *X. a. pv. fragariae* CFBP 6771^{PT}, *X. a. pv. pruni* CFBP 2535^{PT}, *X. a. pv. juglandis* CFBP 2528^T i CFBP 7179
- *X. guizotiae* CFBP 7408^{PT}, *X. populina* CFBP 3123^{PT}
- *Pseudomonas avellanae* CFBP 4060
- Patogeniczne i niepatogeniczne *Pseudomonas* spp. i inne izolaty bakterii z leszczyny i orzecha włoskiego
- Grzyby izolowane z leszczyny i orzecha włoskiego z objawami chorobowymi
- DNA izolowane ze zdrowych roślin pięciu odmian leszczyny (odm. ‘Cosford’, odm. ‘Cud z Bollwiller’, odm. ‘Garribaldi’, odm. ‘Webba cenny’ and odm. ‘Olbrzymi z Halle’)
- Naturalnie i sztucznie zainfekowany materiał roślinny



Wyniki

- Wyniki badań potwierdziły specyficzność wybranych starterów tylko wobec Xac. Nie obserwowano reakcji amplifikacji z całkowitym DNA pozyskanym ze zdrowych liści pięciu odmian leszczyny.
- Czułość testowanych metod i granica wykrywalności bakterii (limit of detection; LoD) DNA Xac różniła się nie tylko między opracowanymi systemami wykrywania, ale także w zależności od zastosowanych zestawów starterów. Jednak w każdym przypadku była ona bardzo wysoka.
- Czułość reakcji wynosiła: 100 fg do 10 pg dla konwencjonalnych PCRów, 1 fg do ~ 10 fg dla real-time PCRów, 1 pg dla LAMP.
- Wszystkie zestawy starterów pozwalały na wykrycie Xac w sztucznie i naturalnie zakażonym materiale roślinnym.



Wnioski

- Zastosowanie genomiki porównawczej pozwoliło na precyzyjną identyfikację unikalnych regionów DNA oraz było pomocne w zaprojektowaniu wysoce specyficznych narzędzi do identyfikacji Xac.
- Opracowane metody identyfikacji Xac są pierwszymi dostępnymi tego typu narzędziami do szybkiego wykrywania sprawcy bakteryjnej zgorzeli leszczyny z wysoką czułością zarówno w czystej kulturze, jak i bezpośrednio w materiale roślinnym.
- Badania zostały opublikowane: Kałużna M., Prokić A., Obradović A., Weldon W. A., Stockwell V. O., Pothier J. F., 2023. Specific and sensitive detection tools for *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, the causal agent of bacterial blight of hazelnut, developed with comparative genomics. Frontiers in Plant Science Volume 14, doi: 10.3389/fpls.2023.1254107



ZWALCZANIE ZARAŻY OGNIOWEJ (*ERWINIA AMYLOVORA*) NA JABŁONI W KONTEKŚCIE ZMIAN ZWIĄZANYCH Z EUROPEJSKIM ZIELONYM ŁADEM

WSTĘP

Uprawa jabłoni jest jedną z ważniejszych gałęzi produkcji sadowniczej na świecie. Z przeprowadzanej ankiety wśród sadowników z krajów EU wynika, że jednym z największych problemów, w tej uprawie, jest zwalczanie chorób grzybowych i bakteryjnych.

W ostatnim czasie dużego znaczenia nabiera strategia Europejskiego Zielonego Ładu, która dotyczy zadań zaplanowanych dla Unii Europejskiej, mających na celu m.in. osiągnięcie neutralności klimatycznej do 2050 roku. Zaplanowane w Zielonym Ładzie działania w obszarze rolnictwa, to przede wszystkim realizacja strategii „od pola do stołu”. Dodatkowo na uwagę zasługuje fakt, iż zakładane jest wycofanie z użycia preparatów opartych na związkach miedzi. Należy podkreślić, że ta grupa związków jest od dziesięcioleci podstawowym narzędziem do zwalczania niektórych chorób grzybowych i bakteryjnych w uprawie m.in. jabłoni. W ramach strategii „od pola do stołu” zakładany jest również wzrost poziomu udziału powierzchni objętej systemem rolnictwa ekologicznego do 25%. W rolnictwie ekologicznym repertuar środków, które mogą być stosowane do ochrony roślin jest bardzo ograniczony.

Do najgroźniejszych i najbardziej uciążliwych w zwalczaniu chorób bakteryjnych jabłoni należy zaraza ogniowa powodowana przez bakterie *Erwinia amylovora*. Choroba ta w naszym kraju nabiera coraz większego znaczenia, głównie ze względu na ocieplający się klimat i występowanie w Polsce wysokich temperatur oraz gwałtownych zjawisk pogodowych w okresie wiosennym i latem.

Preparaty oparte na związkach miedzi są podstawą w zwalczaniu sprawcy zarazy ogniowej natomiast reguły Zielonego Ładu będą nakazywały całkowite zaprzestanie zabiegów preparatami miedziowymi do 2030 roku. Może to spowodować wytworzenie dużej luki w programie ochrony jabłoni przed tą groźną chorobą.

Zaproponowane badania są bezpośrednio ukierunkowane na poszukiwanie nowych, skutecznych sposobów ochrony jabłoni przed agrofagami, które będą mogły być zastosowane w uprawach ekologicznych.

MATERIAŁY I METODY

Test na zawiązkach owoców gruszy

Zawiązki owoców gruszy odm. Konferencja cięto poprzeczne na plastry a następnie zanurzano w zawieszinie badanych bakterii (także w wodzie destylowanej w przypadku kontroli). Układano je na wilgotnej bibule w szalkach Petriego a następnie po 6 godz. nanoszono bakterie chorobotwórcze *E. amylovora*. Na powierzchni plastrów zachodziła interakcja bakterii środowiskowych z patogenem, a jej wynik mógł ujawniać się ograniczeniem lub brakiem charakterystycznych objawów zarazy ogniowej na powierzchni zawiązków w postaci brunatnych nekroz i uwodnionych szarobiałych wycieków (efekt namnażania się bakterii *E. amylovora*). Do badań włączono dla porównania dwa szczepy bakterii A506 i C9-1, na bazie których w USA produkowano biopreparaty do ochrony sadów przed zarazą ogniową.

Doświadczenia na kwiatach i pędach jabłoni

Doświadczenie na kwiatach przeprowadzono na drzewkach odmiany Idared/M.9, gdzie zabiegi wykonano prototypowymi formułacjami - zarówno płynnymi jak i stałymi (współpraca z firmą INTERMAG Sp. z o.o.). W pełni rozwinięte kwiaty opryskiwano badanymi wariantami, a następnie po 24 godz. zakażano (również oprysk) bakteriami *E. amylovora*.

Doświadczenie na pędach jabłoni (odm. Idared/M.9) przeprowadzono przez odcięcie aktywnie rosnących wierzchołków sterylnymi nożyczkami, co imitowało mechaniczne uszkodzenie w sadzie (np. gradobicie) a następnie rany te zabezpieczano prototypowymi formułacjami badanych szczepów. Po 5 godzinach miejsca te inokulowano zawiesiną bakterii *E. amylovora*.

Indukcja odporności na pędach jabłoni

Doświadczenia związane z indukowaniem odporności przeprowadzono na drzewkach jabłoni w szklarni, które następnie opryskiwano dwukrotnie badanymi związkami (250 mg/l). Aktywnie rosnące wierzchołki zakażano przez obciążenie ich wierzchołków sterylnymi nożyczkami zanurzonymi w zawieszinie *E. amylovora*.

Wszystkie wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji na danych nietransformowanych. Różnice między średnimi oceniano przy użyciu testu Newmana – Keuls’a przy poziomie istotności 5%.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone oceny skuteczności bakterii antagonistycznych oraz nowych induktorów, przeciwko zarazie ogniowej, zarówno na kwiatach jak i pędach jabłoni wykazały zadawalającą skuteczność. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do ograniczenia chemii stosowanej w sadach i uzupełnienia asortymentu preparatów do zwalczania tej choroby.

WYNIKI

TAB. 1 i 2. Ocena skuteczności zawiesin bakterii przeciwko zarazie ogniowej (*E. amylovora*) na zawiązkach gruszy odmiany Konferencja

1. Stężenie zawiesin bakterii 10⁸ jtk*/ml

KOMBINACJA	Dni po inokulacji		
	2	5	7
Kontrolna	0,9**b	3,0 c	4,0 d
C9-1	0,0 a [100,0]***	0,0 a [100,0]	0,0 a [100,0]
A506	0,0 a [100,0]	0,15 b [95,0]	0,63 c [84,3]
T16/8	0,0 a [100,0]	0,0 a [100,0]	0,0 a [100,0]
T14/15	0,0 a [100,0]	0,08 ab [97,3]	0,48 b [88,0]

*jtk – jednostki tworzące kolonie; **skala: 0 – brak widocznych objawów choroby, 4 – wycieki obecne na całym plastrze, często rozlane na całej jego powierzchni; ***efektywność w %; C9-1 i A506 – szczepy porównawcze (USA); obliczenia statystyczne wykonano oddzielnie dla każdego terminu obserwacji



2. Stężenie zawiesin bakterii 10⁷ jtk*/ml

KOMBINACJA	Dni po inokulacji		
	2	5	7
Kontrolna	0,6**c	3,0 d	4,0 e
C9-1	0,0 a [100,0]***	0,7 a [76,7]	2,1 b [47,5]
A506	0,2 b [66,7]	2,6 c [13,3]	3,6 d [10,0]
T16/8	0,0 a [100,0]	0,6 a [80,0]	1,5 a [62,5]
T14/15	0,03 a [95,0]	1,4 b [53,3]	2,5 c [37,5]

Opisy tak jak w tabeli 1



TAB. 3. Ocena skuteczności prototypowych formułacji bakterii w ochronie kwiatów jabłoni przed zarazą ogniową

KOMBINACJA	Dni po inokulacji	
	6	8
Kontrolna	1,50*c	2,8 c
T16/8	0,49 a [67,3]**	1,14 a [59,3]
T14/15	0,70 b [53,3]	1,47 b [47,5]

*skala porażenia: 0-brak objawów, 4-całkowita nekroza kwiatu; ** skuteczność w % (stopień porażenia kwiatów traktowanych zawiesinami bakterii w stosunku do kontroli); stężenie bakterii 10⁷ jtk/ml; obliczenia statystyczne wykonano oddzielnie dla każdego terminu obserwacji



TAB. 4. Ocena skuteczności prototypowych formułacji bakterii w ochronie pędów jabłoni przed zarazą ogniową

KOMBINACJA	Dni po inokulacji	
	6	8
Kontrolna	50,8*c	67,2 c
T16/8	10,8 a [78,7]**	20,8 a [69,0]
T14/15	22,3 b [56,1]	37,6 b [44,0]

*procent porażenia pędów - długość nekrozy pędu w stosunku do całkowitej jego długości w %, ** efektywność w % (procent porażenia pędów traktowanych zawiesinami bakterii w stosunku do kontroli); stężenie bakterii 10⁷ jtk/ml; obliczenia statystyczne wykonano oddzielnie dla każdego terminu obserwacji



Objawy zarazy ogniowej po sztucznej inokulacji pędów

TAB. 5. Ocena skuteczności nowych induktorów w ochronie pędów jabłoni

KOMBINACJA	Dni po inokulacji	
	5	21
Doświadczenie 1		
Kontrolna	34,2 f *	88,1 f
Kwas benzoesowy w formie neutralnej	10,7 a [68,7]**	73,5 c [16,6]
Metylowęgłan trioktylometylofosfoniowy	25,8 e [24,6]	64,4 a [26,9]
5-chlorosalicylan sodu	21,3 b [37,7]	64,7 b [26,6]
Aldehyd benzoesowy	22,6 d [33,9]	77,3 d [12,3]
Chlorek cholicy	21,8 c [36,3]	83,6 e [5,1]
Doświadczenie 2		
Kontrolna	13,3 b	65,6 b
Kwas 3-chlorosalicylowy	6,1 a [54,1]	50,1 a [23,6]
Doświadczenie 3		
Kontrolna	23,2 b	51,0 b
3-chlorosalicylan cholicy	2,8 a [87,9]	37,1 a [27,3]
Doświadczenie 4		
Kontrolna	41,7 b	88,3 b
3-chlorosalicylan sodu	17,5 a [58,0]	78,8 a [10,8]

Opisy tak jak w tabeli 4



Ograniczenie rozprzestrzeniania się zarazy ogniowej po aplikacji induktorem



Kombinacja kontrolna



ZASTOSOWANIE WERMIKOMPOSTU I JONÓW AG⁺ W UPRAWIE TRUSKAWKI – WPŁYW NA POPULACJĘ NISZCZYKA ZJADLIWEGO (*DITYLENCHUS DIPSACI*)

WSTĘP

Nicień pasażujący na roślinach powodują znaczne szkody w różnych dziedzinach rolnictwa, prowadząc do istotnych strat finansowych dla rolników. Dlatego kluczowe jest opracowywanie nowych nematocydów przyjaznych dla środowiska i wykazujących wysoką efektywność w zwalczaniu nicieni. Obecnie coraz bardziej popularne stają się nanoformulacje, wykorzystanie których na celu zwiększenie skuteczności używanych dotychczas chemicznych i biologicznych pestycydów. Jony srebra (Ag⁺) wykazują silne działanie toksyczne wobec mikroorganizmów, w tym w stosunku do wielu gatunków bakterii i grzybów. Badania rozpoczęte w Instytucie Ogrodnictwa-PIB sugerują, że jony srebra Ag⁺ mogą również stanowić potencjalnie skuteczny nematocyd.

MATERIAŁY I METODY

W Laboratorium Nematologicznym IO-PIB przeprowadzono badania mające na celu zbadanie wpływu jonów srebra Ag⁺ oraz wermikompostu z dżdżownicami (*Eisenia fetida*) na wybrane grupy nicieni pasożytniczych roślin w uprawie truskawki (*Fragaria × ananassa* Duchesne). W ramach badania użyto betonowych kręgów o średnicy 150 cm i głębokości 60 cm, wypełnionych piaskiem gliniastym. Przed rozpoczęciem eksperymentu oceniono populacje początkowe wybranych gatunków nicieni pasożytniczych (w tym *Ditylenchus dipsaci*). Następnie przeprowadzono sadzenie roślin i w zależności od kombinacji zastosowano:

- jony Ag⁺ w dawce 60 mikrogramów/ 1 litr gleby
- 5 l wermikompostu (w tym 200 osobników *E. fetida*) / 1 krąg.

Nicień izolowano z gleby dwukrotnie w ciągu sezonu, aby ocenić populację początkową (Pi) oraz końcową (Pf) przy użyciu zmodyfikowanej metody Baermanna i na tej podstawie określić, w jaki sposób srebro i wermikompost wpływają na zagęszczenie populacji niszczyka zjadliwego.

PODSUMOWANIE

1. Zastosowanie jonów Ag⁺ oraz wermikompostu ograniczyło zagęszczenie populacji niszczyka zjadliwego w strefie korzeniowej truskawki oraz obniżyło możliwość jego reprodukcji.
2. Konieczne będą dalsze badania w celu ustalenia optymalnych dawek jonów srebra, które będą toksyczne dla nicieni pasożytniczych, ale jednocześnie nie będą stanowiły zagrożenia dla środowiska.

WYNIKI

Stwierdzono, że zastosowanie srebra i wermikompostu z dżdżownicami (*Eisenia fetida*) skutkowało znacznym obniżeniem średniej liczby osobników niszczyka zjadliwego w strefie korzeniowej truskawki (*Fragaria × ananassa* Duchesne). Największe zmniejszenie (ponad 4-krotna redukcja) zaobserwowano po zastosowaniu jonów srebra, gdzie końcowa średnia liczebność populacji ($\bar{x}$) *Ditylenchus dipsaci* nie przekroczyła 40 osobników na 100 ml gleby (Tab.1). Współczynnik reprodukcji *D. dipsaci* utrzymywał się na niskim poziomie po zastosowaniu jonów srebra, wynosząc od 0,05 do 0,08, natomiast przy użyciu wermikompostu oscylował od 0,06 do 0,12 (Tab. 2).

TAB. 1. Liczebność populacji niszczyka zjadliwego w strefie korzeniowej truskawki po zastosowaniu jonów srebra oraz wermikompostu z *E. fetida*

KOMBINACJA	Pf				
	1	2	3	4	$\bar{x}$
KONTROLA	148	142	210	110	152±29
Ag ⁺	32	24	42	38	34±6* ↓
WERMIKOMPOST	48	32	52	62	41±8* ↓

Populacja inicjalna *Ditylenchus dipsaci* – 500 osobników na 100 ml gleby
Pf – Populacja końcowa nicieni

TAB 2. Współczynnik reprodukcji R dla niszczyka zjadliwego w strefie korzeniowej truskawki po zastosowaniu jonów srebra oraz wermikompostu z *E. fetida*.

KOMBINACJA	Współczynnik R dla <i>D. dipsaci</i>				
	1	2	3	4	$\bar{x}$
KONTROLA	0,3	0,28	0,42	0,22	0,30±0,07
Ag ⁺	0,05	0,08	0,08	0,05	0,07±0,01* ↓
WERMIKOMPOST	0,06	0,1	0,12	0,06	0,09±0,02* ↓

*różnica istotna statystycznie przy poziomie istotności = 0,05.



RYS. 2. Truskawki w kręgu betonowym.



RYS. 3. Uszkodzenia korzeni truskawki spowodowane przez niszczyki.



RYS. 4. Ekstrakcja nicieni z wykorzystaniem zmodyfikowanej metody Baermanna na sitach.



RYS 1. Przednia część ciała nicienia z rodzaju *Ditylenchus* spp.



RYS 5. Preparatyka nicieni pasażerów roślin w Laboratorium Nematologicznym w Instytucie Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach.

W Laboratorium Nematologicznym IO-PIB w Skierniewicach wykonujemy:

- analizy gleby, podłoża i roślin na obecność nicieni
- ocenę skuteczności środków ochrony roślin w zwalczaniu nicieni
- analizy bioróżnorodności fauny nicieni

Laboratorium Nematologiczne
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
tel. +48 46 8345558, +48 46 8345546
email: nematologia@inhort.pl
www.inhort.pl

Analizy zostały wykonane w ramach realizacji tematu statutowego 3.1.1. Monitorowanie szkodników rodzimych i obcego pochodzenia w uprawach warzyw i roślin ozdobnych oraz ustalenie potrzeby i terminów ich zwalczania.



PODATNOŚĆ GENOTYPÓW PORZECZKI CZARNEJ NA ZASIEDLENIE PRZEZ WIELKOPĄKOWCA PORZECZKOWEGO

WSTĘP

Porzeczka czarna (*Ribes nigrum* L.) jest ważnym gatunkiem krzewów owocowych, uprawianym na dużą skalę w umiarkowanej strefie klimatycznej Europy, Rosji, Australii i Nowej Zelandii, części Azji oraz Chile. Polska jest od wielu lat największym producentem owoców czarnej porzeczki w Unii Europejskiej i na świecie. Jednym z najgroźniejszych szkodników porzeczki czarnej jest wielkopąkowiec porzeczkowy (*Cecidophyopsis ribis*). Występuje on zarówno na plantacjach produkcyjnych, w uprawach amatorskich oraz w matecznikach i szkółkach porzeczki czarnej. Małe szpeciele (ok. 0,2 mm) zasiedlają rozwijające się pąki (2-5 tys./pąk), wysysają sok z komórek i wprowadzają substancje, które powodują, że pąki nie rozwijają się normalnie, lecz pozostają powiększone, a z upływem czasu zasychają. Prowadzi to do огоłocenia pędów, słabego lub braku kwitnienia i redukcji plonowania krzewów oraz sprawia, że są one mało wytrzymałe na mróz. Wielkopąkowiec porzeczkowy jest także jedynym poznany wektorem wirusa rewersji porzeczki czarnej (BRV), a choroba ta jest główną przyczyną sterylności kwiatów, co powoduje redukcję plonowania a w ostateczności braku plonu owoców na silnie porażonych roślinach

MATERIAŁY I METODY

W ramach wieloletniej współpracy Zakładu Ochrony Roślin (Pracownia Entomologii) i Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych (Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych) genotypy porzeczki czarnej zgromadzone w hodowlanej kolekcji *Ribes* oceniane są pod kątem zasiedlenia (odporności roślin) przez wielkopąkowca porzeczkowego. Ocena podatności testowanych genotypów na tego szkodnika prowadzona jest na specjalnych kwaterach selekcyjnych, tzw. „polach śmierci”, na których nie jest stosowana chemiczna ochrona roślin przed szkodnikami i chorobami.

W latach 2013–2020 przeprowadzono szczegółowe obserwacje i ocenę stopnia zasiedlenia pąków przez wielkopąkowca porzeczkowego na krzewach wybranych genotypów. Analiza średnich wyników tych badań pozwoliła podzielić testowane genotypy porzeczki czarnej na 5 grup, w zależności od stopnia zasiedlenia przez wielkopąkowca porzeczkowego - tabela 1.

PODSUMOWANIE

W Polsce, w ostatnich kilku latach opłacalność produkcji porzeczek czarnych jest bardzo zróżnicowana, ze względu na trudne do przewidzenia ceny skupu tych wartościowych owoców. Bywają lata, że ceny za porzeczki czarne są tak niskie, że nie opłaca się ich zbierać, a nakłady na zabiegi pielęgnacyjne, w tym ochronę roślin są bardzo ograniczone lub ich brak. Zazwyczaj wtedy plantacje są usuwane, spadają zbiory i podaż owoców na rynku, i ceny ponownie wzrastają. Wydaje się, że okres słabej koniunktury dla tego gatunku powinien być impulsem do wymiany starych plantacji. W tym celu słabo plonujące krzewy, czy stare odmiany dobrze byłoby zastąpić nowymi, wymagającymi mniejszych nakładów finansowych ponoszonych np. na walkę z wielkopąkowcem porzeczkowym. Konieczne jest także zlikwidowanie starych plantacji, zasiedlonych przez szkodniki i choroby, przez co ograniczy się rozprzestrzenianie agrofagów.

WYNIKI

Odmiany zaklasyfikowane głównie do pierwszych trzech grup mogą być polecane do uprawy zgodnie z wytycznymi Integrowanej Produkcji (IP) i Integrowanej Ochrony (IO) roślin. Należy jednak podkreślić, że nowe plantacje zakładać należy wyłącznie, z kwalifikowanego materiału szkółkarskiego (krzewów), pochodzącego z renomowanych i licencjonowanych szkółek. Daje to gwarancję, że materiał nasadzeniowy jest zdrowy, wolny od wielkopąkowca porzeczkowego (**Fot. 1 i 2**) i niezainfekowany wirusem rewersji porzeczki czarnej (**Fot. 3**), a także tożsamo odmianowy. Jeśli to możliwe, nowe nasadzenia dobrze byłoby zakładać z dala od starszych, zaniedbanych plantacji i zasiedlonych przez wielkopąkowca krzewów.

TABELA 1. Podatność genotypów porzeczki czarnej na zasiedlenie przez wielkopąkowca porzeczkowego (2013-2020).

GRUPA	GENOTYP	KRAJ POCHODZENIA	TERMIN DOJRZAŁOŚCI ZBIORCZEJ OWOCÓW	PODATNOŚĆ NA ZASIEDLENIE PRZEZ WIELKOPĄKOWCA PORZECZKOWEGO
Grupa 1	FOXENDOWN	ANGLIA	WCZESNY	CAŁKOWICIE ODPORNE (0% – BRAK USZKODZONYCH PĄKÓW)
	POLONUS	POLSKA	PÓŻNY	
	POLARES	POLSKA	PÓŻNY	
	PC-7/9	POLSKA	PÓŻNY	
	PC-1768	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1753	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
Grupa 2	TINES	POLSKA	WCZESNY	ODPORNE (0,1–1,0% USZKODZONYCH PĄKÓW)
	ORES	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-803	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-784	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-779	POLSKA	PÓŻNY	
	PC-1787	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1732	POLSKA	PÓŻNY	
Grupa 3	PC-1708	POLSKA	PÓŻNY	ŚREDNIO ODPORNE (1,1–5,0% USZKODZONYCH PĄKÓW)
	TISEL	POLSKA	WCZESNY	
	TIBEN	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	GOFERT	POLSKA	WCZESNY	
	TIHOPE	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	RUBEN	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1774	POLSKA	WCZESNY	
	PC-1764	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1730	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1723	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	PC-1716	POLSKA	ŚREDNIO WCZESNY	
	SOFIJEWSKAJA	UKRAINA	WCZESNY	
	8/72	POLSKA	WCZESNY	
Grupa 4	WERNISAŻ	UKRAINA	WCZESNY	PODATNE (> 10,0% USZKODZONYCH PĄKÓW)
	13B/11	POLSKA	WCZESNY	



Fot. 1. Szpeciele na pąku.



Fot. 2. Pąki uszkodzone przez wielkopąkowca porzeczkowego.



Fot. 3. Objawy rewersji na pędzie porzeczki czarnej.



WPŁYW RÓŻNYCH PRAKTYK ZWIĘKSZAJĄCYCH BIORÓŻNORODNOŚĆ NA POPULACJE SZKODNIKÓW I OWADÓW POŻYTECZNYCH W EKOLOGICZNEJ PRODUKCJI TRUSKAWEK I MALIN

WSTĘP

Niewielka liczba środków ochrony roślin zarejestrowanych do ochrony ekologicznych plantacji owoców przed szkodnikami może ograniczać rozwój sadownictwa ekologicznego. Niezbędne są więc badania nad rozwiązaniami alternatywnymi, w tym nad wykorzystaniem potencjału funkcjonalnej bioróżnorodności w ograniczaniu presji agrofagów.

Agrokosystemy o bardziej zróżnicowanej gatunkowo okrywie roślinnej są w mniejszym stopniu narażone na gradację szkodników dzięki liczniejszej populacji ich wrogów naturalnych. Proponuje się więc wprowadzanie na teren upraw ogrodniczych tzw. roślin towarzyszących (np. żywych ściółek, pasów kwiatnych), utrzymywanych w celu zwiększania bioróżnorodności i ułatwienia ochrony roślin.

Zastosowanie tych rozwiązań w sadach zostało już dobrze udokumentowane, brakuje jednak wyników na temat ich wdrażania na plantacjach owoców jagodowych.

MATERIAŁY I METODY

W 2022 roku w Instytucie Ogrodnictwa — PIB w Skierniewicach założono doświadczenie polowe w uprawie truskawek (odmiana 'Lycia') i malin (odmiana 'Poemat', powtarzająca owocowanie). Układ doświadczenia przedstawiono na schemacie (ryc. 11.).

Kombinacje doświadczalne dla obu gatunków obejmują:

- żywą ściółkę
- wyspy kwiatne
- pasy kwiatne
- kombinację kontrolną, w której nie uprawia się roślin towarzyszących.

Każda z kombinacji reprezentowana jest przez pojedyncze poletko o powierzchni ok. 200 m². W pasach kwiatnych, jednostronnie przylegających do poletek roślin uprawnych, oraz w znajdujących się w środkowej części poletek wyspach kwiatnych, zastosowano tę samą mieszankę roślin kwitnących (ryc. 7.). Wieloletnią żywą ściółkę stanowi koniczyna biała w mieszance z kostrzewą owczą jako rośliną podporową (ryc. 9.-10.). Żywa ściółka jest regularnie wykaszana, a pasy i wyspy kwiatne corocznie odnawiane. Plantacja doświadczalna prowadzona jest zgodnie z zasadami produkcji ekologicznej.

Badania nad populacją szkodników i owadów pożytecznych obejmują pobieranie prób entomofauny odkurzaczem entomologicznym; monitoring wciornastków (niebieskie pułapki lepowe), kwieciaka malinowca (otrząsanie chrząszczy i liczenie uszkodzonych kwiatostanów), mszyc (udział pędów malin zajętych przez szkodniki); ocenę populacji biegaczowatych (pułapki Barbera) i owadów zapylających (obserwacje w transektach, pułapki Moericiego); badanie kierunków migracji owadów między pasami i wyspami kwiatnymi a roślinami uprawnymi (poprzez znakowanie owadów barwnikami fluorescencyjnymi).

PODSUMOWANIE

Rośliny towarzyszące są dogodnym siedliskiem dla licznych gatunków owadów pożytecznych, które swoim korzystnym oddziaływaniem obejmują sąsiednie rośliny uprawne, ułatwiając ich ochronę przed szkodnikami.

Przeprowadzone obserwacje potwierdzają możliwość przemieszczania się naturalnych wrogów szkodników z roślin towarzyszących na truskawki i maliny.

Ponadto, wstępne wyniki uzyskane w drugim roku prowadzenia badań sugerują spadek presji głównych szkodników, np. kwieciaka malinowca w uprawie truskawek we wszystkich kombinacjach z roślinami towarzyszącymi czy niższe nasilenie występowania wciornastków na malinach uprawianych w sąsiedztwie pasa kwiatnego.

Wyspy i pasy kwiatne zdają się również pozytywnie oddziaływać na populację owadów zapylających, dla których stanowią wartościowe źródło pożytku, także poza okresem kwitnienia gatunków uprawnych.

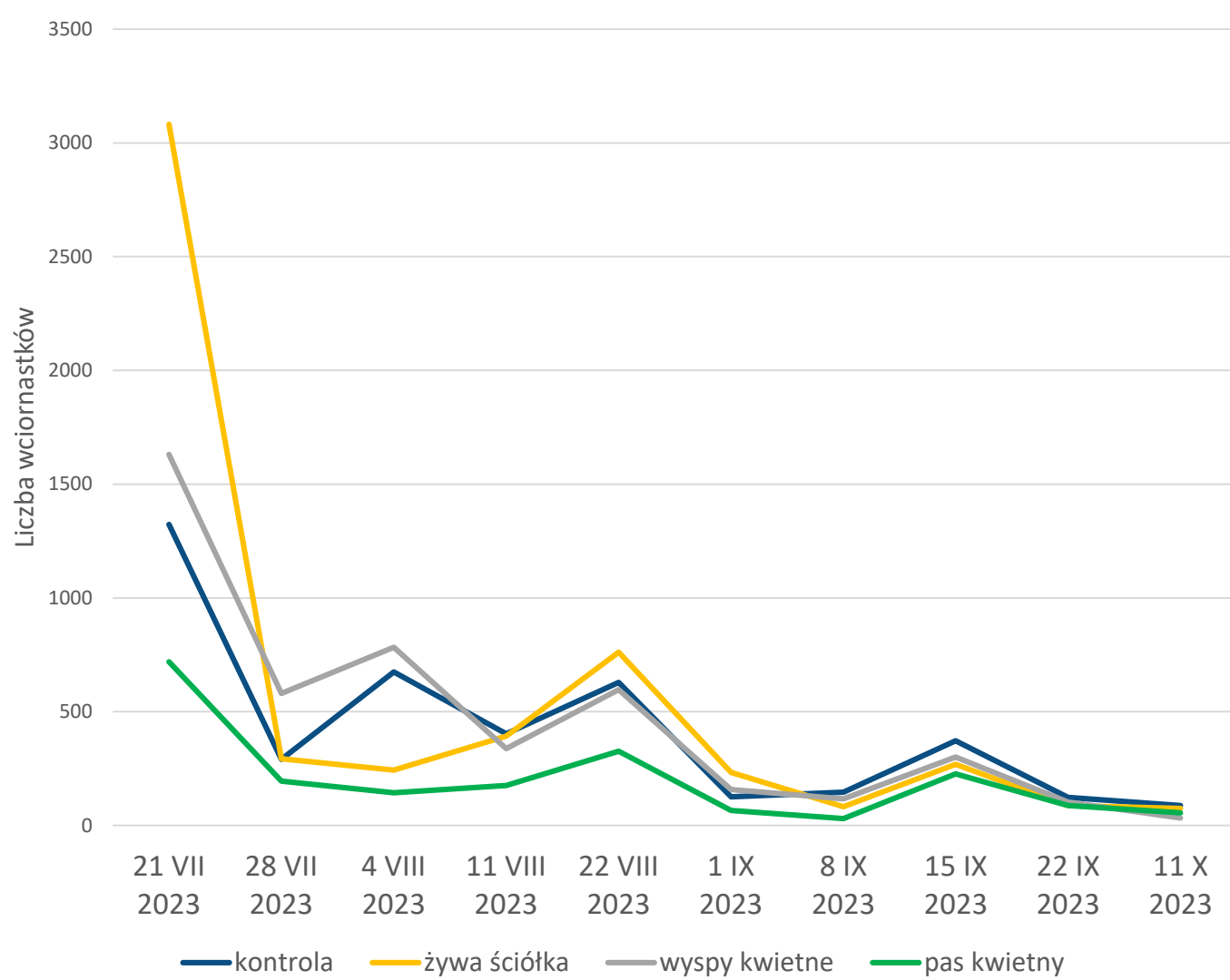
Zwiększanie funkcjonalnej bioróżnorodności na plantacjach gatunków jagodowych poprzez wprowadzanie na ich teren roślin towarzyszących wydaje się być obiecującym rozwiązaniem, które pozwoli ograniczyć negatywne skutki niedoboru środków ochrony roślin zarejestrowanych do zwalczania szkodników w ekologicznej produkcji owoców.

WYNIKI

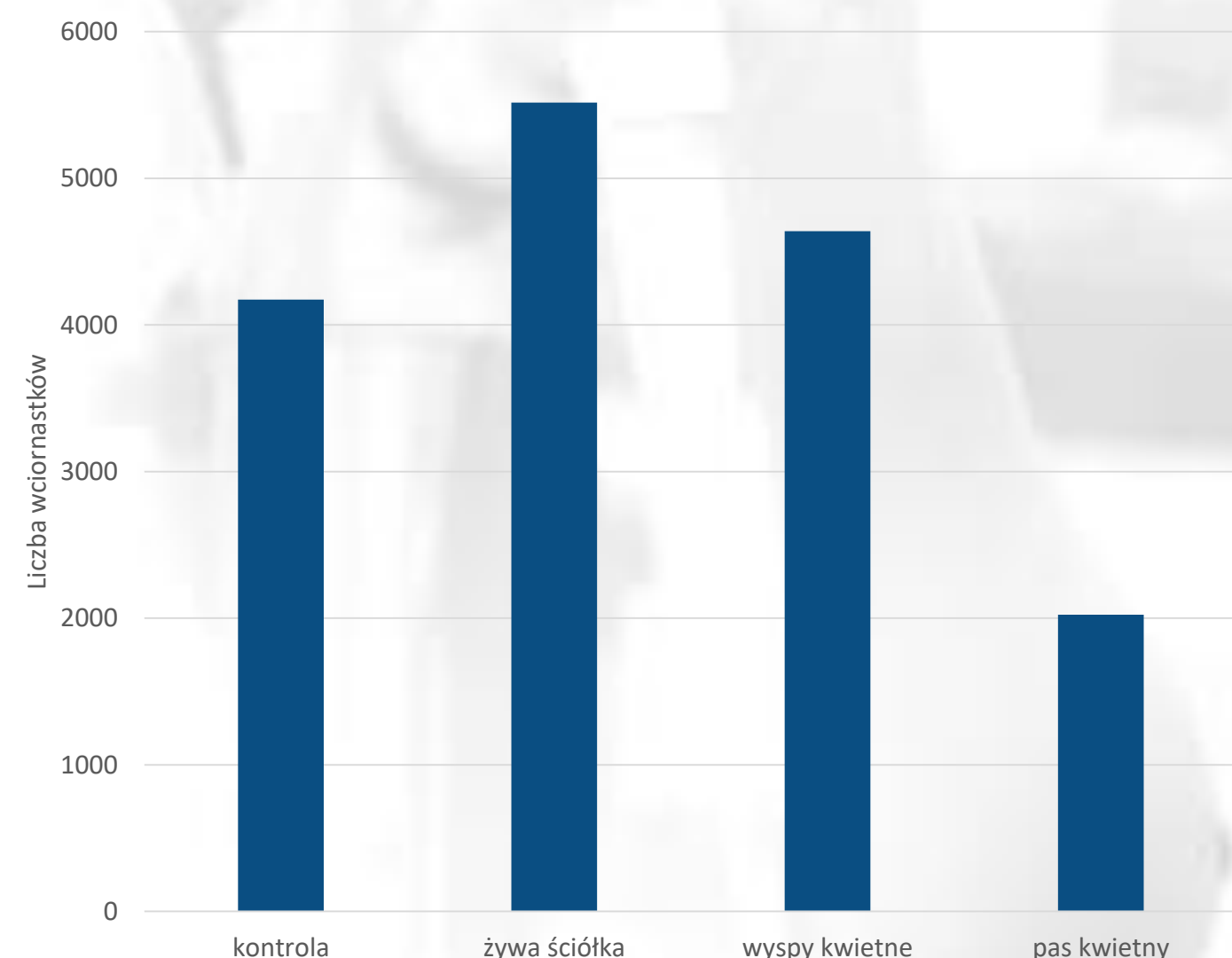
Wyniki uzyskane w 2023 roku sugerują wzrost liczebności owadów zapylających w kombinacjach, w których uprawiano rośliny towarzyszące. Ich pozytywne oddziaływanie było szczególnie widoczne w okresie poza kwitnieniem roślin uprawnych, kiedy stanowiły dla okolicznych populacji pszczoł miodnych oraz dzikich owadów zapylających uzupełniające źródło pożytku (tab. 1.).

TAB. 1. Liczba owadów zapylających w poszczególnych grupach funkcjonalnych na podstawie obserwacji w transektach przeprowadzonych w uprawie malin w trzech terminach. W maju 2023 (przed kwitnieniem malin) liczono owady zapylające na roślinach innych niż uprawne (tj. na roślinach towarzyszących, chwastach); w sierpniu i wrześniu 2023 (kwitnienie malin) oceniano liczbę owadów odwiedzających kwiaty rośliny uprawnej

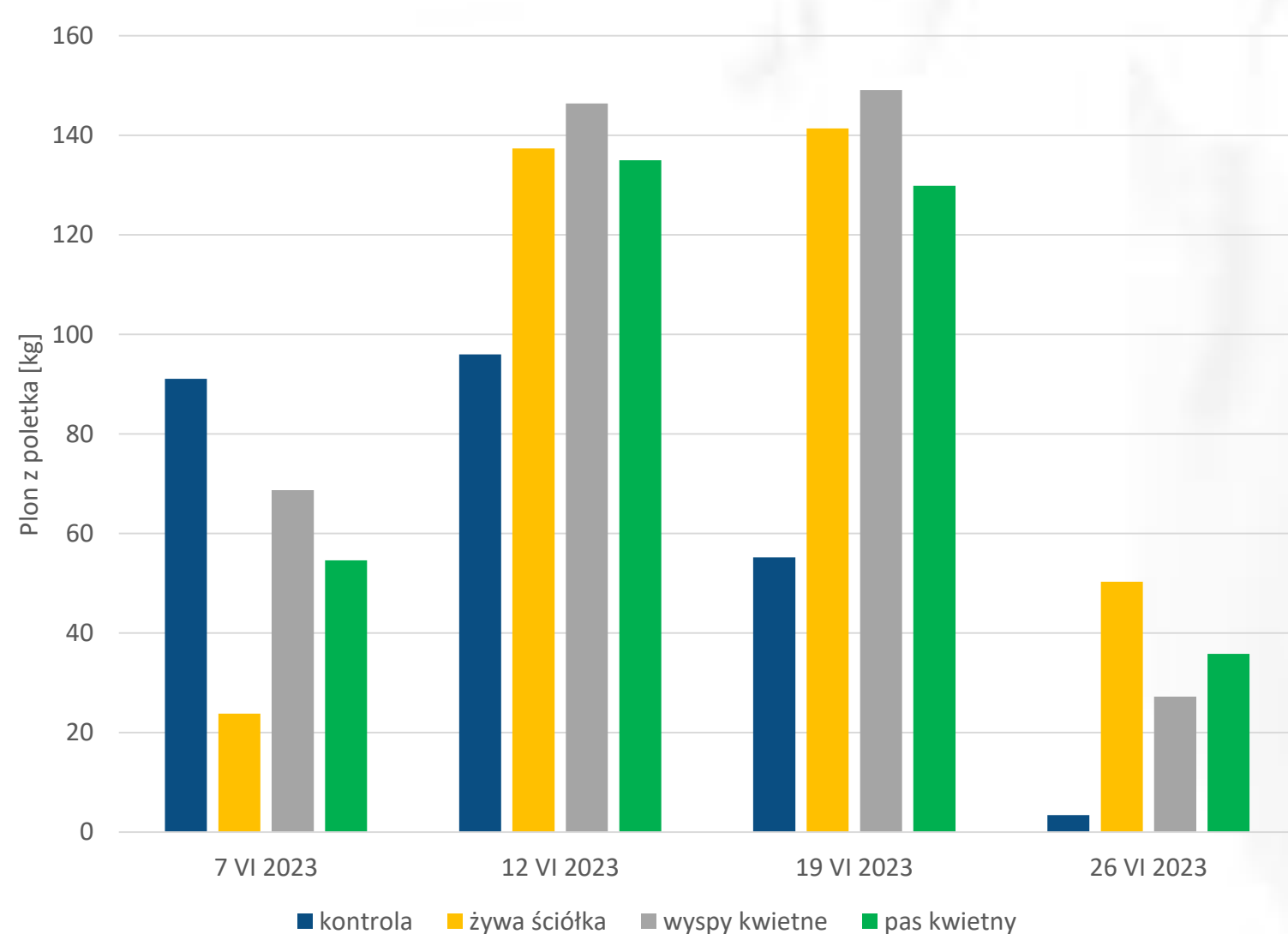
KOMBINACJA	TERMIN	TRZMIELE	PSZCZOŁY (MIODNE I SAMOTNICE)	BZYGOWATE	MOTYLE
KONTROLA	5 V 2023	3	7	9	5
ŻYWA ŚCIÓŁKA		16	85	9	0
KONTROLA	16 VIII 2023	12	37	3	2
ŻYWA ŚCIÓŁKA		11	40	0	1
WYSPY KWIETNE		4	34	0	4
PAS KWIETNY		8	24	4	3
KONTROLA	20 IX 2023	0	11	1	0
ŻYWA ŚCIÓŁKA		5	17	1	0
WYSPY KWIETNE		2	24	1	0
PAS KWIETNY		2	11	0	0



RYC. 2. Liczba wciornastków odławianych cotygodniowo na niebieskie pułapki lepowe w uprawie malin w roku 2023



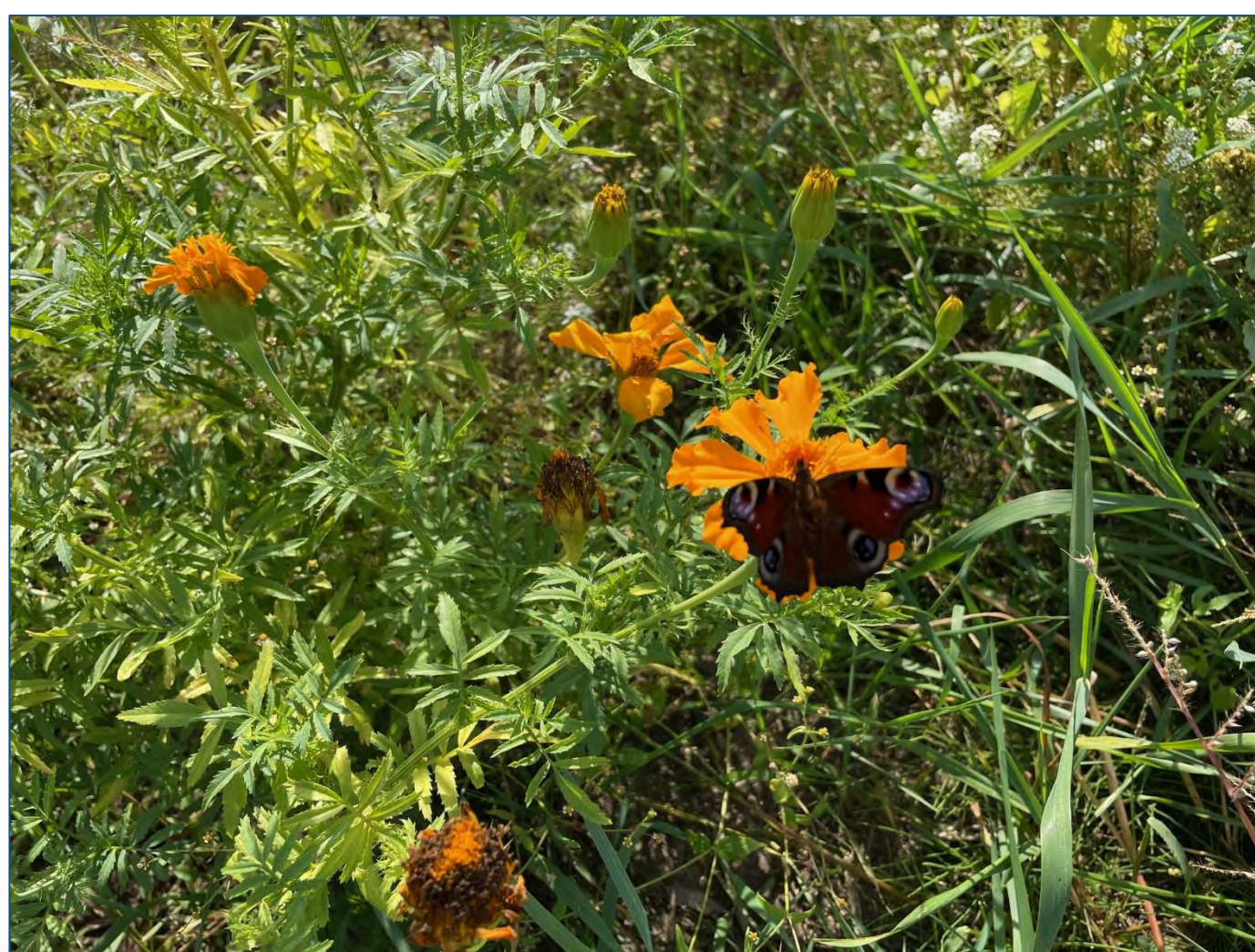
RYC. 3. Całkowita liczba wciornastków odłowionych na niebieskie pułapki lepowe w poszczególnych kombinacjach uprawy malin w 2023 roku



RYC. 5. Plon handlowy truskawek w poszczególnych kombinacjach



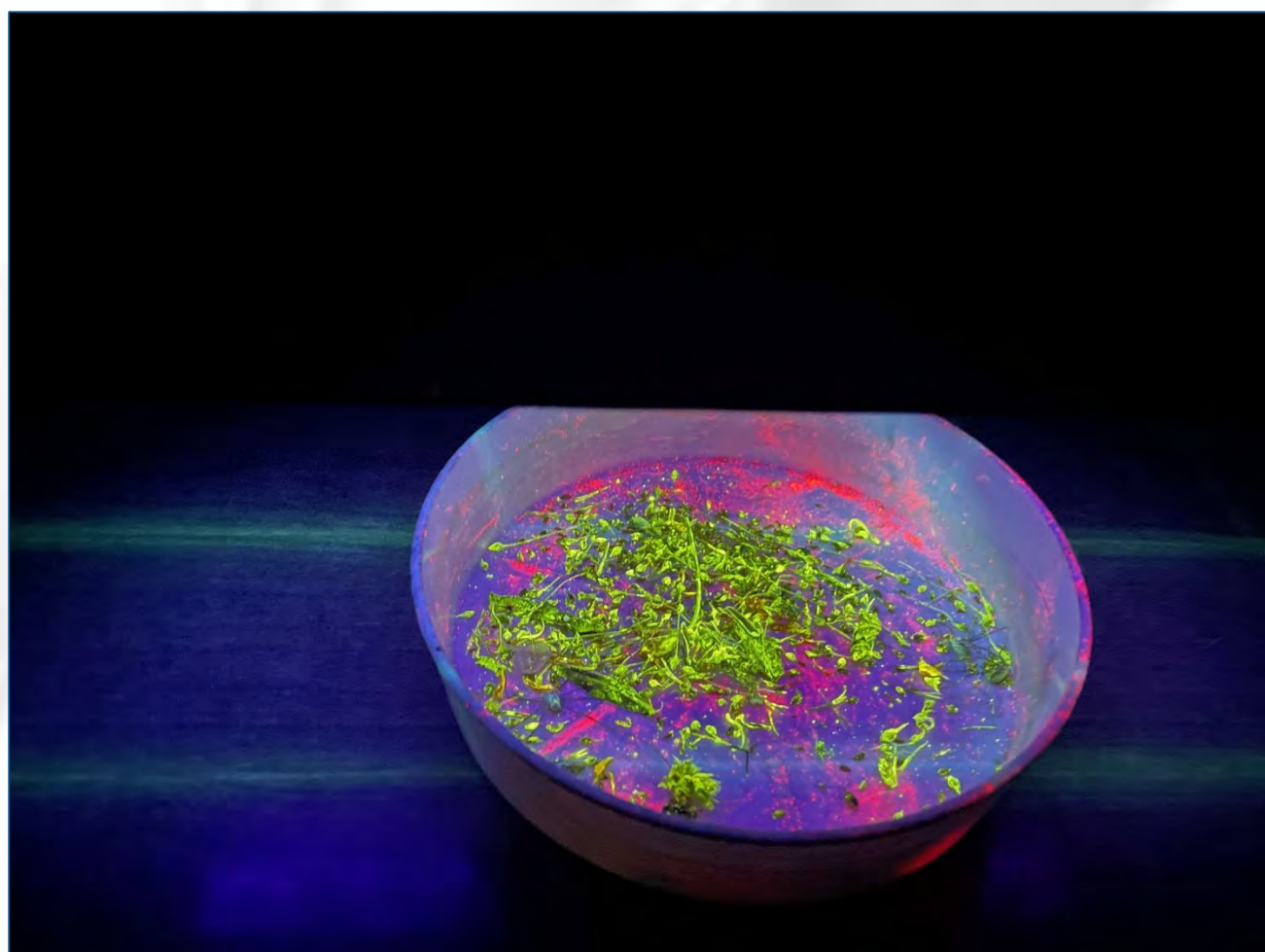
RYC. 4. Znakowanie owadów w pasie kwiatnym roztworem barwnika fluorescencyjnego



RYC. 1. Rusalka pawik (*Inachis io*) na kwiecie aksamitki w pasie kwiatnym. Rośliny towarzyszące przywabiają i zapewniają pożytek dzikim owadom zapylającym również poza ograniczonym w czasie okresem kwitnienia gatunków uprawnych

TAB. 2. Średnia liczba chrząszczy kwieciaka malinowca otrząśniętych na białą płytkę w uprawie truskawek (4 próby po 50 kwiatostanów w każdej z kombinacji) oraz średni udział pąków uszkodzonych przez szkodnika (4 próby po 100 pąków w każdej z kombinacji) (23 V 2023)

KOMBINACJA	LICZBA CHRZĄSZCZY W PRÓBIE	UDZIAŁ USZKODZONYCH PĄKÓW [%]
KONTROLA	1,5	32,25
ŻYWA ŚCIÓŁKA	0,25	14,75
WYSPY KWIETNE	0,5	16,5
PAS KWIETNY	0,5	8,75



RYC. 6. W próbach owadów pobranych z roślin uprawnych zidentyfikowano owady pożyteczne pokryte barwnikami fluorescencyjnymi, stosowanymi w pasach i wyspach kwiatnych

W 2023 roku obserwowano wysokie nasilenie występowania wciornastków na malinach. Liczba szkodników odławianych cotygodniowo na pułapki lepowe podlegała znacznym wahaniom w ciągu sezonu (ryc. 2.), jednak najmniejszą ich liczebność odnotowano w kombinacji z pasem kwiatnym (ryc. 3.). Każdy z badanych systemów uprawy roślin towarzyszących ograniczył występowanie i uszkodzenia pąków spowodowane przez kwieciaka malinowca na truskawkach (tab. 2.). Najwyższy plon truskawek zebrano w kombinacji z żywą ściółką z koniczyny, jednak dojrzewanie owoców było w niej opóźnione w porównaniu z kontrolą (ryc. 5.).



RYC. 7. W skład pasów i wysp kwiatnych wchodziły roczne i wieloletnie rośliny kwitnące, w tym bukiewca, miodunka, maciejka, koper, nasturcja, aksamitka i smagliczka



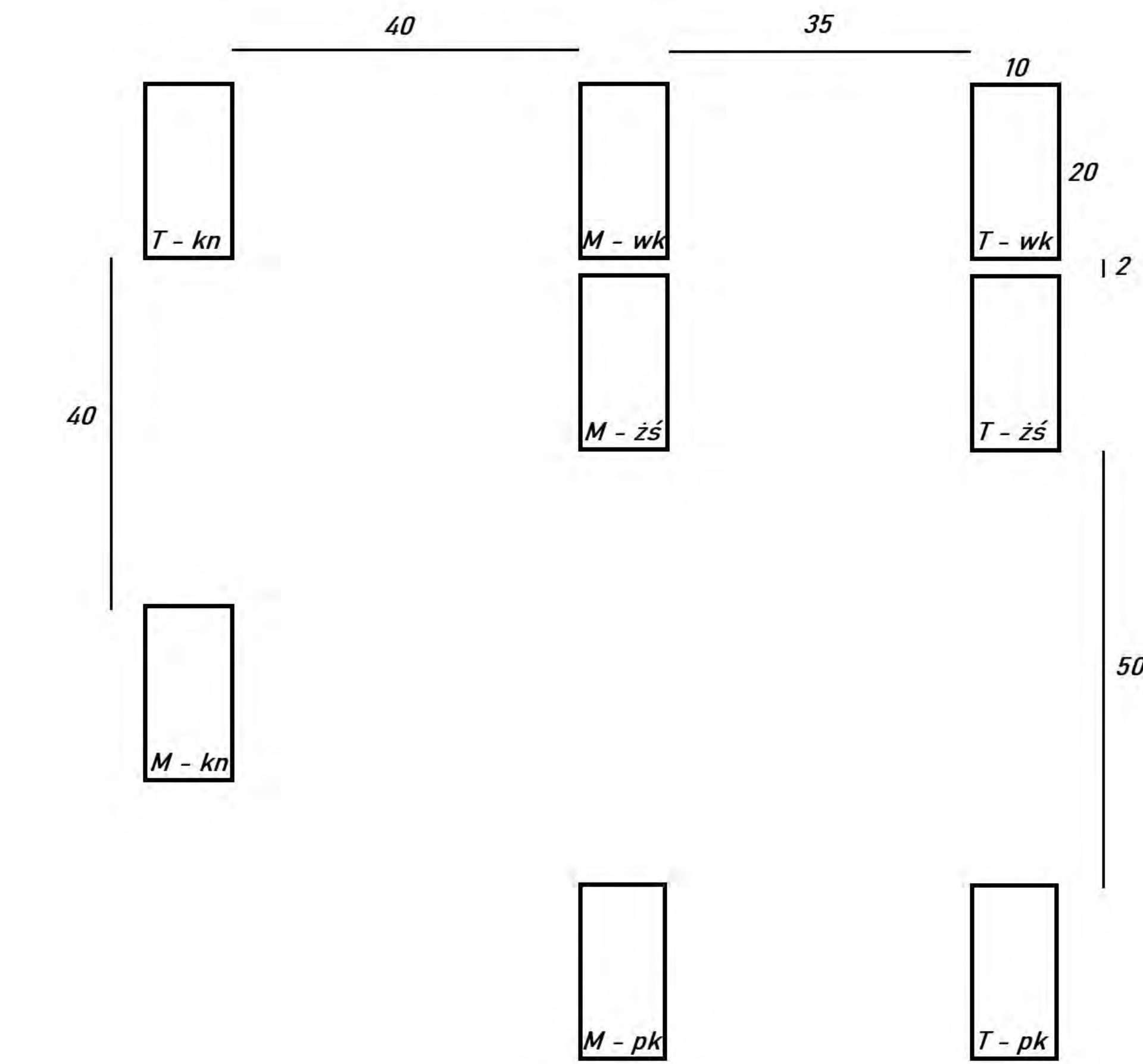
RYC. 8. Wyspy kwiatne mają ten sam skład gatunkowy, co pasy, jednak zlokalizowane są w centralnej części poletek



RYC. 9. W uprawie malin żywą ściółkę z koniczyny białej wysiano na całej powierzchni międzyrzędzi



RYC. 10. Żywa ściółka zajmuje co drugie międzyrzędzie w uprawie truskawek



RYC. 11. Schemat układu doświadczalnego. Skala zachowana. Wszystkie wymiary podano w metrach. Oznaczenia: T — truskawka, M — malina; kn — próba kontrolna, wk — wyspy kwiatne, zs — żywa ściółka, pk — pas kwiatny

Czym pachną korzenie truskawki, że pędraki chrabaszczka majowego aż tak je lubią? – na tropach wolatilomu truskawki

WSTĘP

Rośliny jako trwale związane z podłożem, musiały wykształcić mechanizmy obronne i systemy komunikacji, które kompensowałyby im niezdolność do ruchu. Te przystosowania mogą polegać na wytwarzaniu i emitowaniu szeregu związków chemicznych, które mogą działać jako atraktanty, repelenty czy cząsteczki sygnałowe. Grupa możliwych cząsteczek sygnałowych jest duża i obejmuje wydzieliny korzeniowe, ale także lotne związki organiczne (LZO). Profil związków lotnych emitowanych przez roślinę nosi nazwę wolatilomu. W dzisiejszych czasach staje się coraz bardziej oczywiste, że roślinożerne owady żyjące w glebie mogą wykorzystywać LZO obecne w pobliżu korzeni roślin jako wskazówkę podczas lokalizacji rośliny żywicielskiej i żerowania. Celem naszych badań jest zrozumienie, jak ta zależność funkcjonuje w układzie truskawka (*Fragaria x ananassa* Duchesne) - larwa chrabaszczka majowego (*Melolontha melolontha* L.).

MATERIAŁY I METODY

W ramach projektu przeprowadzane są dwa rodzaje eksperymentów. Pierwsze z nich polegają na identyfikacji LZO emitowanych przez korzenie truskawki podczas eksperymentów szklarniowych. Rośliny są hodowane w trzech różnych substratach: wermikulicie, glebie z ekologicznej plantacji truskawki i glebie z ekologicznej plantacji truskawki wymieszanej z torfem. Badany jest profil LZO emitowany przez rośliny będące w różnym stadium rozwoju (przed kwitnieniem, w trakcie kwitnienia czy rośliny owocujące) a także rośliny poddane stresowi abiotycznemu (niedobór składników pokarmowych) czy biotycznemu (żerowanie *M. melolontha*). LZO emitowane przez roślinę są adsorbowane przy użyciu techniki SBSE [1,2] na twisterach PDMS umieszczonych w bezpośrednim pobliżu korzeni truskawki (Fig. 1) i są analizowane po termicznej desorpcji z użyciem GC-MS (Pegasus 4D) na kolumnie Stabilwax-DA. W trakcie projektu staramy się określić także profil LZO emitowany przez mikroorganizmy żyjące w substracie jak i LZO specyficzne dla każdego z substratów.

Drugi rodzaj eksperymentów ma na celu określenie preferencji pokarmowych larw *M. melolontha* wobec truskawki hodowanej w różnych rodzajach podłoża, będącej w różnych stadiach rozwoju czy w warunkach stresowych (analogicznie do warunków badania profilu LZO). Badania te są przeprowadzane w specjalnie do tego skonstruowanej komorze [3]. Jest to rodzaj pojemnika wykonanego z przezroczystej pleksi umożliwiający wzrost truskawki i śledzenie ruchu larw w glebie (Fig. 2). Wielkość komory umożliwia jednocześnie testowanie do 10 larw *M. melolontha*.



FIG 2. Komora do testowania behawioru pokarmowego larw *M. melolontha*. Na zdjęciu komora wypełniona glebą, dodatkowo wyposażona w czujniki stężenia CO₂.

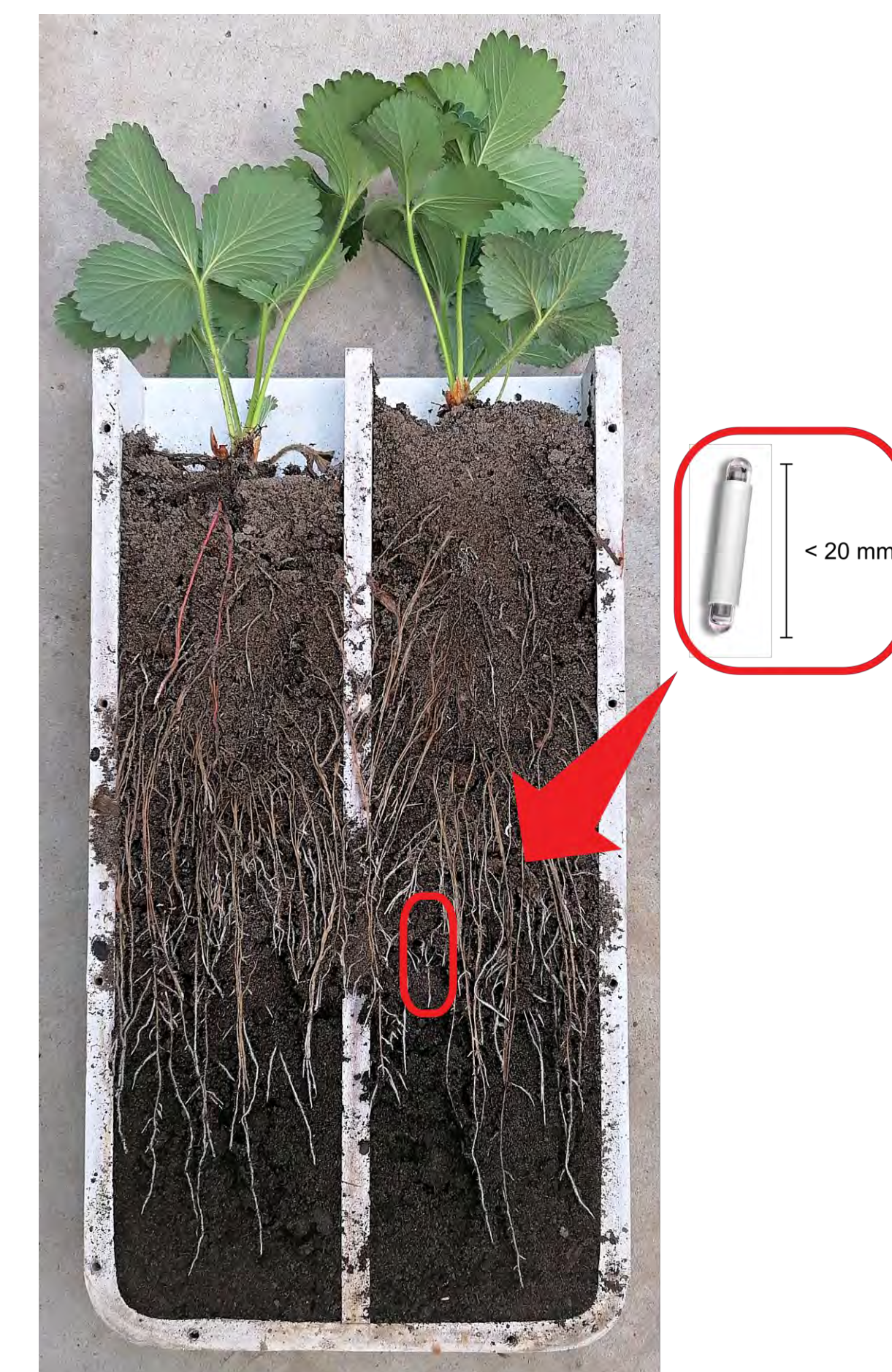


FIG 1. Przykładowe umieszczenie twistera PDMS w pobliżu korzenia truskawki w celu identyfikacji LZO emitowanych przez korzenie truskawki.

WYNIKI

W ramach dotychczasowych badań stwierdzono statystycznie najwyższą liczbę identyfikowanych LZO w wermikulicie w porównaniu do pozostałych substratów (Fig. 3A). We wszystkich substratach identyfikowano takie związki jak: tetrakozan czy nonanal. Również większą liczbę LZO odnotowywano w substratach niejłowych w porównaniu do substratów jłowych (Fig. 3B), co potwierdza udział mikroorganizmów w produkcji LZO. Różnice pomiędzy substratem niejłowym i jłowym były najmniej widoczne w przypadku wermikulitu. Wynika to z procesu produkcji wermikulitu opierającego się o wypalanie w wysokiej temperaturze, co może prowadzić do mimowolnego zubożenia tego substratu w mikroorganizmy.

Analiza LZO emitowanych przez korzenie truskawki w różnych stadiach rozwoju niezależnie od stosowanego substratu wzrostowego pozwoliła na wyróżnienie grupy związków powszechnych dla każdego stadium oraz charakterystycznych dla roślin przed kwitnieniem bądź w trakcie kwitnienia i owocowania (Tab. 1).

TAB 1. LZO emitowane przez korzenie truskawki w różnych stadiach rozwoju.

LZO powszechne dla wszystkich stadiów	LZO charakterystyczne dla roślin przed fazą kwitnienia	LZO charakterystyczne dla roślin kwitnących i owocujących
tetrakozan, dekanal, nonanal, pentadekanal, acetofenon	2-etylo-1-heksanol, dodekan, oktanal, tridekan, tetradekan, heksahydro-4-metylo, 5-metyleno-pentalenon	2-(2-butoksyetoksy)etanol, 2-hydroksyacetone, dec-2-en-1-ol, pentatriakontan, trikozan, aceton

Larwy *M. melolontha* wykazywały minimalnie większą ruchliwość w wermikulicie w porównaniu do pozostałych testowanych substratów. W przypadku obserwacji preferencji pokarmowych larw *M. melolontha* nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic dotyczących różnych stadiów rozwojowych truskawki.

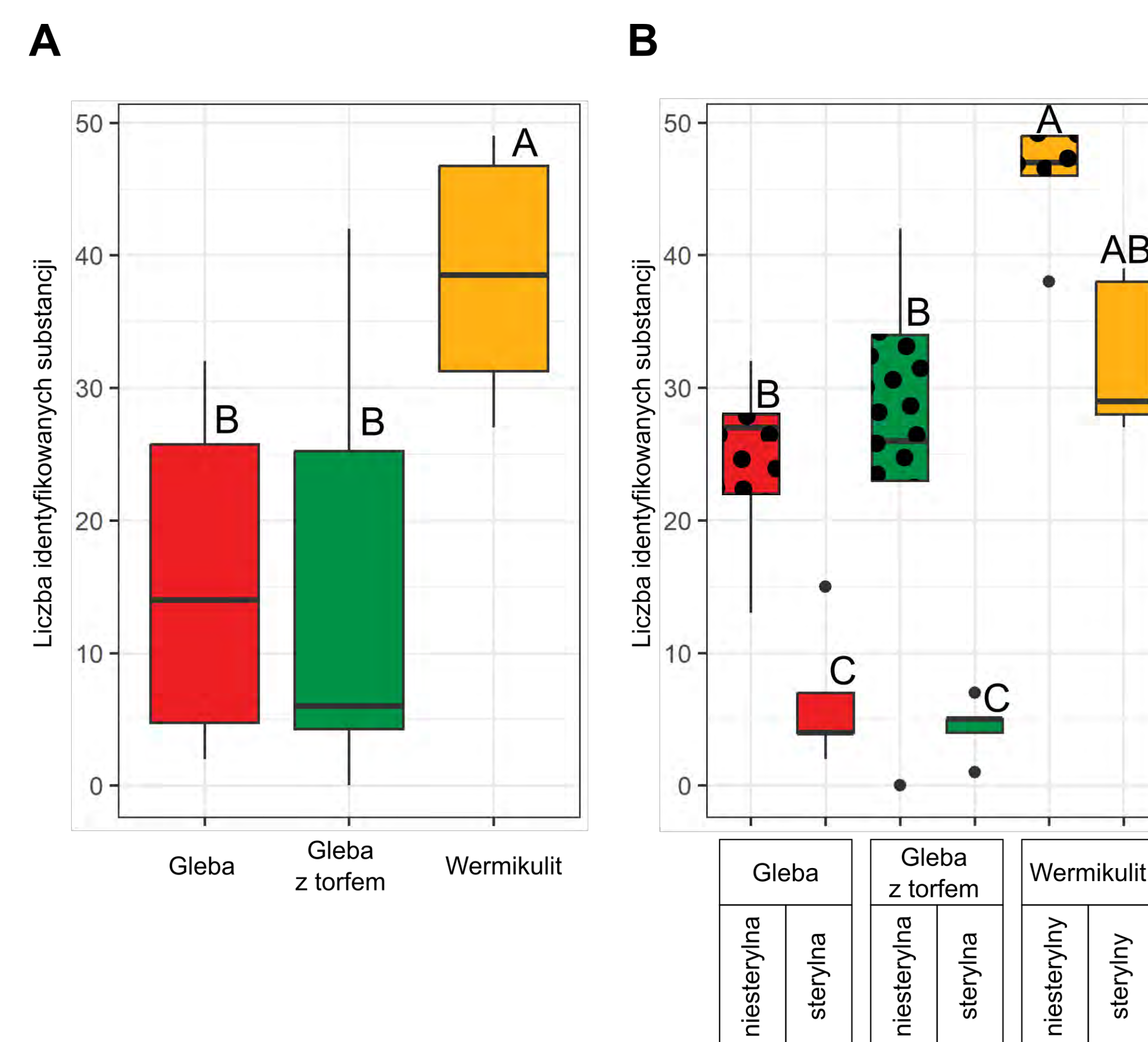


FIG 3. Liczba LZO identyfikowana w poszczególnych substratach (A) oraz w poszczególnych substratach w zależności od ich stopnia jałowości (B). Różne litery wskazują statystyczne istotne różnice w teście Kruskala-Wallis przy $p < 0,05$.

PODSUMOWANIE

Eksperymenty behawioralne przeprowadzone w ramach projektu sugerują udział powszechnie identyfikowanych LZO w procesie lokalizacji truskawki jako rośliny żywicielskiej i żerowania przez larwy *M. melolontha*. W dalszym etapie projektu przewidziana jest eksperymentalna weryfikacja tej hipotezy. Badania te pozwolą na lepsze zrozumienie podziemnych interakcji roślina-środowisko, co może przyczynić się do ewolucji kierunku strategii ochrony roślin w stronę bardziej zrównoważonych i proekologicznych rozwiązań.

- Baltussen H.A., Sandra P.J.F., David F., Cramers C.A.M.G. 1999. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. J. Microcolumn Sep. 11:737-747.
- Berrou K., duniach-Remy C., Lavigne J.P. Roig B., Cadiere A. 2018. Multiple stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis for a tentative identification of bacterial volatile and/or semi-volatile metabolites. Talanta. 195: 245-250. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.11.042
- Furmańczyk E.M., Tartanus M., Jóźwiak Z.B., Malusá E. 2021. SOIL-INSECT toolbox: A new chamber for analysing the behaviour of herbivorous insects and tri-trophic interactions in soil. Eur. J. Entomol. 118: 200-209. DOI:10.14411/eje.2021.021



NARODOWE CENTRUM NAUKI

Badania są realizowane i finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu badawczego nr 2021/43/D/NZ9/02323 pt. „Wolatilom emitowany przez korzenie truskawki jako czynnik kształtujący behawior pokarmowy larw *Melolontha melolontha*” w ramach konkursu „SONATA-17”.