



Instytut Ochrony Roślin - Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu

Tytuł zadania

**METODY ZASTĄPIENIA MIEDZI W OCHRONIE WARZYW I ZIOŁ UPRAWIANYCH
W ROLNICTWIE EKOLOGICZNYM**

Kierownik zadania: dr Jolanta Kowalska

Wykonawcy:

Dr Jolanta Kowalska, prof. dr hab. Danuta Sosnowska, dr inż. Dorota Remlein-Starosta,
dr Dariusz Drożdżyński, dr Pankracy Bubniewicz, Lidia Łopatka, Renata Wojciechowska

Współpraca:

Instytut Roślin Zielarskich i Włókien Naturalnych w Plewiskach, Zakład Hodowli Roślin
Zielarskich

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Zakład Fizjologii Roślin.

Zrealizowano na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18.05. 2011r.

Nr RRre-029-7-4/11(29)

1. Wstęp i cel badań

Zastosowanie w ochronie upraw ekologicznych preparatów opartych na miedzi jest dozwolone ustawodawstwem unijnym i krajowym. Pamiętać jednak należy, że stosowanie miedzi w ochronie przed patogenami chorobowymi jest ograniczane (1,5 do 2,5 kg·ha⁻¹), a wkrótce zostanie zakazane. W związku z tym podjęto działania zmierzające do poszukiwania metod zastępczych. Próbowano już wykorzystywać zanurzanie nasion w gorącej wodzie (głównie w przypadku nasion warzyw), wykonywać zabiegi ochronne wyciągami roślinnymi oraz otoczkować nasiona w wykorzystaniem głównie oligomerów chitozanu, środków Grevitu lub Bioseptu. Obecnie zarówno Grevit jak i Biosept straciły rejestrację w kraju, a ich substancje czynne nie zostały obronione w trakcie przeglądu substancji czynnych przez Komisję Europejską. W uprawach wykorzystywane są również grzyby drożdżoidalne i inne mikroorganizmy pożyteczne, które produkują metabolity redukujące patogeny, konkurują z patogenami o miejsce i pokarm oraz stymulują system odpornościowy roślin. Uzyskane wyniki wymagają szczegółowej wiedzy dotyczącej terminu zabiegu, czasu jego trwania (w przypadku zabiegów z nasionami) i koniecznych powtórzeń.

Szczególną uwagę zwrócono na wykorzystanie mikroorganizmów (np. *Trichoderma atroviridae*, *T. harzianum*, *Bacillus subtilis*). Bardzo ważnym czynnikiem, który należy wziąć pod uwagę przy poszukiwaniu substancji zastępczych w stosunku do miedzi, jest wykaz substancji aktywnych włączonych decyzją Komisji Europejskiej do Aneksu I Dyrektywy 91/414 EEC (została zastąpiona Rozporządzeniem 1107/2009). Na liście nie znalazły się w takie substancje jak chitozan, ekstrakt z grejpfruta, miazga czosnkowa, lecytyna, ekstrakt ze skrzypu. Dotychczas pełniły one ważną rolę w ograniczaniu patogenów chorobowych, głównie w rolnictwie ekologicznym. W związku z tym planowane badania należy skoncentrować na wykorzystaniu substancji już włączonych do Aneksu I (m.in. ekstrakt z czosnku) lub na mikroorganizmach antagonistycznych, których działanie jest stopniowo poznawane, a zakres stosowania rozszerzany. Część z tych mikroorganizmów jest dostępnych na rynku w produktach pełniących rolę stymulatorów uprawy lub poprawiających własności gleby.

Grzyby *Trichoderma* spp. produkują cały szereg substancji o działaniu antybiotycznym, a ostatnio poznany element oddziaływania *Trichoderma* spp. jest mikroparazytyzm, czyli pasożytniczy ich rozwój na innych mikroorganizmach. Może on również współzawodniczyć w pobieraniu substancji odżywczych obecnych w postaci wydzielin na powierzchni organów roślinnych, a niezbędnych do kiełkowania grzybów

patogenicznych. Tym samym zostaje ograniczona możliwości zasiedlania organów roślinnych przez inne organizmy szkodliwe.

Badania realizowano na powierzchni rolniczej znajdującej się w Polowej Stacji Doświadczalnej IOR-PIB w Winnej Górze, która jest certyfikowana przez jednostkę certyfikującą „Ekogwarancja” oraz na prywatnej powierzchni ekologicznej zlokalizowanej w Słońsku i na terenie certyfikowanego pola znajdującego się w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Plewiskach. Prace badawcze dotyczące melisy lekarskiej realizowane były przy współpracy z zespołem Pani dr hab. Katarzyny Łożykowskiej (IWNiRZ).

W ramach realizacji celu głównego, jakim jest poszukiwanie metod zastąpienia miedzi w ochronie warzyw (ziemniaków) i ziół (melisy) w rolnictwie ekologicznym realizowany były cele szczegółowe odpowiadające dwóm podtematom.

2. Przebieg badań

1) OCENA WYKORZYSTANIA MIKROORGANIZMU *TRICHODERMA ASPERELLUM* W UPRAWIE ZIEMNIAKA

Zastosowano preparat dostępny w Polsce o nazwie Trifender WP. Jest on wprowadzony do handlu na podstawie art. 5 ustawy z dnia 10 lipca 2007r. o nawozach i nawożeniu (DZ.U. Nr 147, poz. 1033) pod warunkiem jego rejestracji przynajmniej w jednym z krajów UE. Produkt stosowany był na polach uprawnych w gospodarstwie ekologicznym w Słońsku oraz na certyfikowanej powierzchni rolniczej należącej do IOR-PIB w Winnej Górze. Mikroorganizm *Trichoderma asperellum* stosowano dogłębowo i nalistnie. W doświadczeniach polowych wykorzystano następujące odmiany ziemniaka:

Cyprian - odmiana wczesna, jadalna, w typie konsumpcyjnym ogólnoużytkowym, udział frakcji handlowej w plonie duży. Odporna na mątwika ziemniaczanego; średnio odporna na wirusy Y i liściozwoju oraz na zarzę ziemniaka na liściach na poziomie 5.

Tajfun - odmiana średniowczesna, jadalna, bardzo plenna o bardzo dużym udziale frakcji handlowej. Odmiana odporna na mątwika ziemniaczanego, odporna na wirusy, średnio odporna na porażenie zarzą ziemniaka, na liściach na poziomie 5.

Ditta - średniowczesna odmiana jadalna, liczba bulw jest wysoka a plon jest dobry. Ditta może być uprawiana na większości typach gleby i jest umiarkowanie odporna na parch zwykły. Jest odpowiednia do uprawy dzięki dobrej odporności na zarazę bulw (w skali 5), jednak dla liści wykazuje odporność na poziomie jedynie 3.

Produkt mikrobiologiczny Trifender WP był doglebowo aplikowany w dawce 1kg, a następnie nalistnie w dawce $100\text{g} \cdot \text{ha}^{-1}$. Przy ustalaniu metodyki badań kierowano się również wynikami otrzymanymi w roku 2010. Schemat wykonywanych zabiegów w roku 2011 zawarto w tabeli 1

Tab. 1. Schemat aplikowania preparatu Trifender WP i preparatu Miedzian 350 SC na powierzchni ziemniaków ekologicznych w trakcie wegetacji.

Odmiana ziemniaków	Miedzian 350 SC	Stosowanie doglebowe ($1\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	Stosowanie nalistne ($100\text{g} \cdot \text{ha}^{-1}$, 600 l wody/ha)
Ditta	3 zabiegi/ $2,5\text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$	Nie stosowano	7 zabiegów, w okresie 8.06 -19.07
Tajfun	3 zabiegi/ $2,5\text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$	Nie stosowano	7 zabiegów, w okresie 8.06 -19.07
Cyprian	3 zabiegi/ $2,5\text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$	Jednorazowo przed sadzeniem	6-8 zabiegów, w okresie 3.06 – 27.07

Na powierzchni, gdzie zasadzono odmianę Ditta i Tajfun doświadczenia były założone z następującymi kombinacjami:

- 1) Zabiegi nalistne produktem Trifender WP,
- 2) Zabiegi nalistne środkiem Miedzian 350 SC (13.06, 6.07, 19.07.2011)
- 3) Powierzchnia kontrolna, gdzie nie wykonywano żadnych zabiegów.

Na powierzchniach wszystkich kombinacji zwalczano stonkę ziemniaczaną środkiem zawierającym spinosad (2 zabiegi w odstępie siedmiodniowym, 8.06 oraz 13.06.11)) oraz wykonano zabiegi odchwaszczające (obsypnik, ręczne pielenie). Środek miedziowy stosowano z siedmiodniowym odstępem w odniesieniu do zabiegów mikrobiologicznych.

Na powierzchni znajdującej się gospodarstwie ekologicznym w Słońsku założono doświadczenie z odmianą Cyprian, wykonano następujące kombinacje:

- 1) Jednorazowy zabieg doglebowy przed sadzeniem
- 2) Zabieg nalistny wykonany ośmiokrotnie
- 3) Jednorazowy zabieg doglebowy oraz zabiegi nalistne wykonane sześciokrotnie

4) Zabieg nalistny wykonany trzykrotnie środkiem Miedzian 350 SC

5) Powierzchnia kontrolna, gdzie nie wykonywano żadnych zabiegów.

Podobnie jak na poprzedniej powierzchni zwalczanie stonki ziemniaczanej przeprowadzono z zastosowaniem spinosadu, jako trzykrotne zabiegi nalistne.

W doświadczeniach oceniano stopień porażenia chorobą łętów i liści ziemniaczanych dziesięciu roślin, wytypowanych w trzech lokalizacjach ($n=10 \times 3$) osobno dla powierzchni każdej kombinacji i dla każdej z odmian ziemniaka. Oceniono całkowity plon, wielkość bulw. Ich zdolność do przechowywania jest w trakcie obserwacji.

Badania nad reakcjami obronnymi roślin ziemniaka

Nowym elementem wprowadzonym w niniejszym projekcie są badania prowadzone we współpracy z dr hab. Iwoną Morkunas wraz z Zespołem z Zakładu Fizjologii Roślin UP w Poznaniu. Oceniane były próbki roślin ziemniaka pobranych z powierzchni nie traktowanych i traktowanych *T. asperellum*. Badania rozpoczęto, ponieważ, po kontakcie roślinnych błon komórkowych z patogenem następuje wzrost ilości aktywnych form tlenu np. O_2^- , H_2O_2 i w konsekwencji wybuch tlenowy, który działa cytotoksycznie na zakażone komórki roślinne. Prowadzi to do przeorganizowania cytoszkieletu i zwiększenia grubości ścian komórkowych. W rezultacie mamy do czynienia z tzw. systemiczną odpornością nabytą. Polega ona na aktywacji systemu obronnego w niezainfekowanych częściach rośliny. Wyzwalana jest dzięki produkcji białek związanych z patogenezą. Sygnałem do tej odpowiedzi jest kwas salicylowy. Wyróżnia się obecnie czternaście klas roślinnych białek biorących udział w tym procesie. Są to m.in. glukanazy, chitynazy, osmotyny, inhibitory proteaz, proteinazy, lizozymy, peroksydazy (m.in. β -glukozydaza), białka działające bakteriobójczo, uczestniczące w apoptozie. Ekspresja kodujących je genów zależy od obecności pochodzącego od patogena bodźca - elicytora, odbieranego przez specyficzne receptory, które za pośrednictwem kinaz przekazują sygnał do ich indukcji w rezultacie prowadzi to do: akumulacji fenoli, wzrostu ilości flawonoidów, syntezy licznych białek oraz szeregu metabolitów wtórnych (fitoalaksyn), które mogą oddziaływać toksycznie na patogeny.

Aby potwierdzić zakładaną hipotezę o wpływie *T. asperellum* na indukowanie odporności roślin ziemniaka przeprowadzane są analizy porównawcze dla β - glukozydazy i substancji fenolowych w roślinach traktowanych i nietraktowanych preparatem Trifender. Ponadto oceniano anionorodnik ponadtlenkowy, który jest

reaktywną formą tlenu, jego wzmożone generowanie jest obserwowane w roślinie po infekcji.

Próbki testowe liści do badań, które planowane są do przeprowadzenia w roku następnym, pobrano 10.06.11 (na powierzchni wykonano jeden zabieg doglebowy przed sadzeniem oraz jeden zabieg mikrobiologiczny) oraz z powierzchni nie traktowanej żadnym środkiem, powierzchnia doświadczalna z której pobrano próbki znajdowała się w Słońsku.

Współpraca z IWNiRZ w Plewiskach

2) OCENA WYKORZYSTANIA MIKROORGANIZMU *TRICHODERMA ASPERELLUM* W OCHRONIE MELISY PRZED SEPTORIOZĄ

Materiałem do badań były wybrane rośliny melisy lekarskiej w doświadczeniu założonym w 2008 roku w systemie ekologicznym i konwencjonalnym w Plewiskach. Przygotowano trzy kombinacje doświadczenia:

- konwencjonalny system uprawy melisy bez zabiegów preparatem Trifender WP
- ekologiczny system uprawy melisy bez zabiegów preparatem Trifender WP
- ekologiczny system uprawy melisy z zabiegami preparatem Trifeder WP.

W systemie konwencjonalnym nie stosowano chemicznych środków ochrony roślin, jedynie nawozy syntetyczne. Trifender WP stosowany był jako trzykrotne opryskiwanie nalistne w dawce produktu $100 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ i objętości wody $500 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$. Antagonista *T. asperellum* stosowany był na wybranych poletkach z systemu ekologicznej uprawy. Każda kombinacja stosowana była w trzech powtórzeniach (3 poletka). Dla potrzeb oceny porażenia liści melisy przez septoriozę melisy pobrano próbki liści z każdego poletka. Stopień porażenia chorobą blaszki liściowej oceniano procentowo. Ocenę wykonano w dniach 13.05 – po pierwszym zabiegu, 14.06 – po drugim zabiegu i 1.07 .2011r – po trzecim zabiegu. Surowiec zebrano w fazie kwitnienia. Oceniano plon świeżej masy [kg], suchą masę [g], procentowy udział zawartości liści w surowcu. Zawartość olejku eterycznego w surowcu ze wszystkich poletek w każdej kombinacji została uwzględniona w ocenie.

W celu oceny zasiedlenia liści przez organizmy antagonistyczne oraz patogeniczne wykonano test kolonizacji powierzchni liści przez grzyby. W tym celu liście pobierano z doświadczalnych poletek do sterylnych plastikowych toreb. Niezależnie od

obserwowanych objawów blaszki liściowe umieszczano po jednej na szlacie Petriego (Ø 9 cm) z pożywką PDA (Difco) pH 6,5. Szalki umieszczano w termostacie w temperaturze 25°C. Po 3 dniach inkubacji oceniano stan porośnięcia przez grzybnie inkubowanych liści. Wykonywano również wodne preparaty mikroskopowe w celu identyfikacji porastających liście grzybów.

Jednocześnie z fragmentów liści wykazujących objawy porażenia wykonano izolacje na sztuczną pożywkę, w celu potwierdzenia właściwej identyfikacji ocenianych sprawców chorób. Fragmenty chorych roślin odkażano powierzchniowo. Najpierw przez zanurzenie w 70% alkoholu etylowym (10 sek.), następnie w 5% podchlorynie sodu (1 min) i płukano dokładnie w sterylnej wodzie destylowanej. Zdezynfekowane skrawki układano po 5 fragmentów na jedną szalkę Petriego (Ø 9 cm) z pożywką PDA (Difco) pH 6,5. Inkubowano w termostacie w temperaturze 25°C. Liczono liczbę uzyskanych kultur. Wyrastające kultury grzybów po 14 i 28 dniach identyfikowano mikroskopowo.

3. Uzyskane wyniki

1) OCENA WYKORZYSTANIA MIKROORGANIZMU *TRICHODERMA ASPERELLUM* W UPRAWIE ZIEMNIAKA

Tab. 2. Porażenie ziemniaka odm. Ditta (podatnej na zarazę ziemniaka) w zależności od kombinacji doświadczeń i terminu obserwacji

Stosowany produkt ochronny	Procent porażenia łętów i liści ziemniaczanych przez chorobę (%)				
	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji
	11.07	19.07	25.07	1.08	8.08
Trifender WP	4	8,8	13	30,5	88,5
Miedzian 50 WP	2	7,8	13	28	51,7
Kontrola	6,7	13	23	42,5	98,5

Tab. 3. Porażenie ziemniaka odm. Tajfun (średnio podatnej na zarazę ziemniaka) w zależności od kombinacji doświadczeń i terminu obserwacji

Stosowany produkt ochronny	Procent porażenia łętów i liści ziemniaczanych przez chorobę (%)				
	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji	termin obserwacji
	11.07	19.07	25.07	1.08	8.08
Trifender WP	4,8	10	22	44,8	67,5
Miedzian 50 WP	6	11	26,8	51	74
Kontrola	2,7	8,2	19,5	38,2	62,5

Tab. 4. Porażenie ziemniaka odm. Cyprian (średnio podatnej na zarazę ziemniaka) w zależności od kombinacji doświadczeń

Termin obserwacji	Procent porażenia łętów i liści ziemniaczanych przez chorobę (%)				
	Jednokrotny zabieg doglebowy z Trifender WP	Jednorazowy zabieg doglebowy oraz zabiegi nalistne z Trifender wykonane 6x	Zabieg nalistny z Trifender wykonany 8x	Miedzian 50 WP	Kontrola
27.07.11	21,3	10	6,2	5,3	26,2

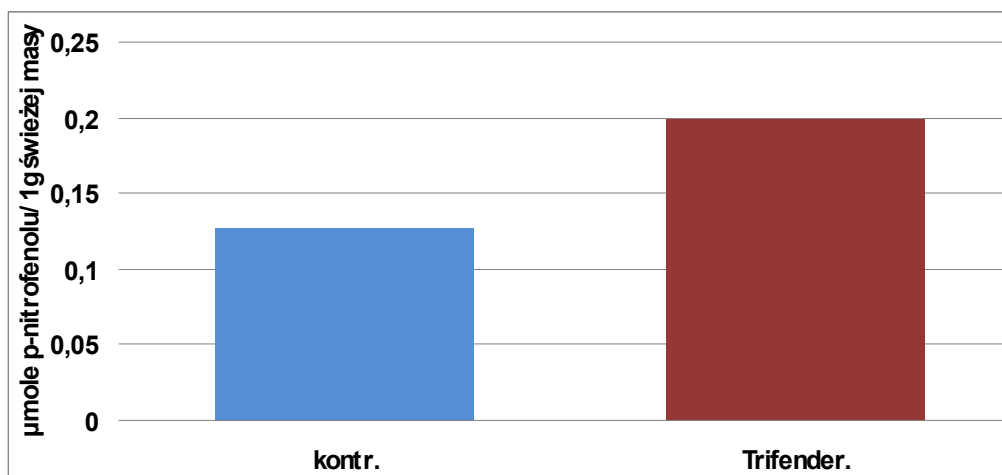
- 16.08.11 po obfitych opadach liście ziemniaka bardzo silnie zaschły, w związku z tym zaprzestano obserwacji.

Tab. 5. Plon ziemniaków pobranych z 10 krzaczków zlokalizowanych w 3 lokalizacjach, które oceniano pod kątem porażenia patogenem *Phytophthora infestas* w każdej kombinacji doświadczenia. Dane w tabeli zostały otrzymane po przeliczeniu na jedną roślinę.

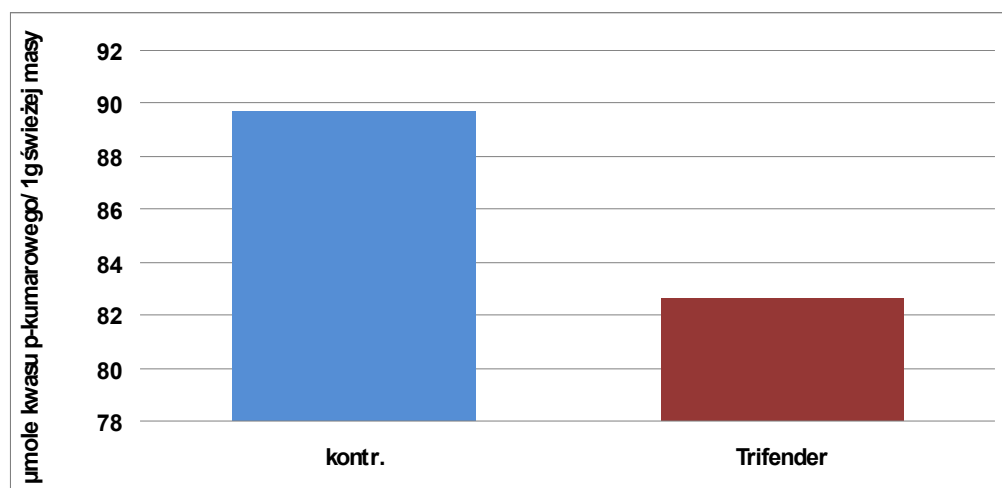
Stosowane kombinacje	bulwy jadalne (szt.) / 1 krzaczek		sadzeniaki (szt.) / 1 krzaczek		bulwy małe (szt.) / 1 krzaczek		plon ogólny kg/ pow. całkowita kombinacji / t · ha ⁻¹	
	Ditta	Tajfun	Ditta	Tajfun	Ditta	Tajfun	Ditta	Tajfun
Trifender WP	0,76	2,1	4,5	2,6	4,6	1,9	1785 kg /44,6 t	1162,5 kg /38,7 t
Miedzian 50 WP	1,6	0,9	4,2	1,8	3,8	1,8	1207,5 kg /30,1t	1012,5 kg /33,7 t
Kontrola	1,2	1,7	2,4	1,8	2,9	1,2	892,5 kg /22,3 t	735 kg /24,5 t

Wymiary bulw małych – do 3,5 cm, wymiary sadzeniaków – 3,5 - 5,5 cm, wymiary bulw jadalnych – powyżej 5,5 cm

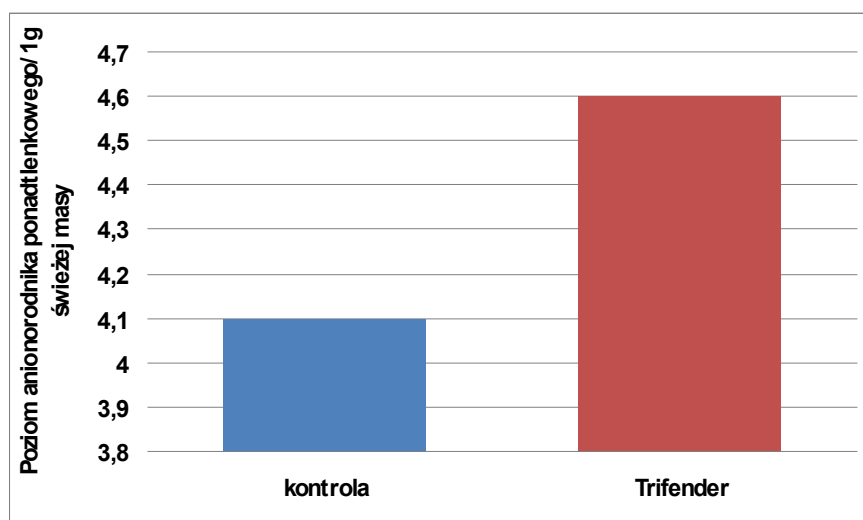
Wstępne wyniki nad reakcjami obronnymi roślin ziemniaka



Rys.1. β - glikozydaza w liściach ziemniaka traktowanych mikrobiologicznie - jeden zabieg doglebowy i jeden zabieg nalistny (pobór liści 10.06.2011)

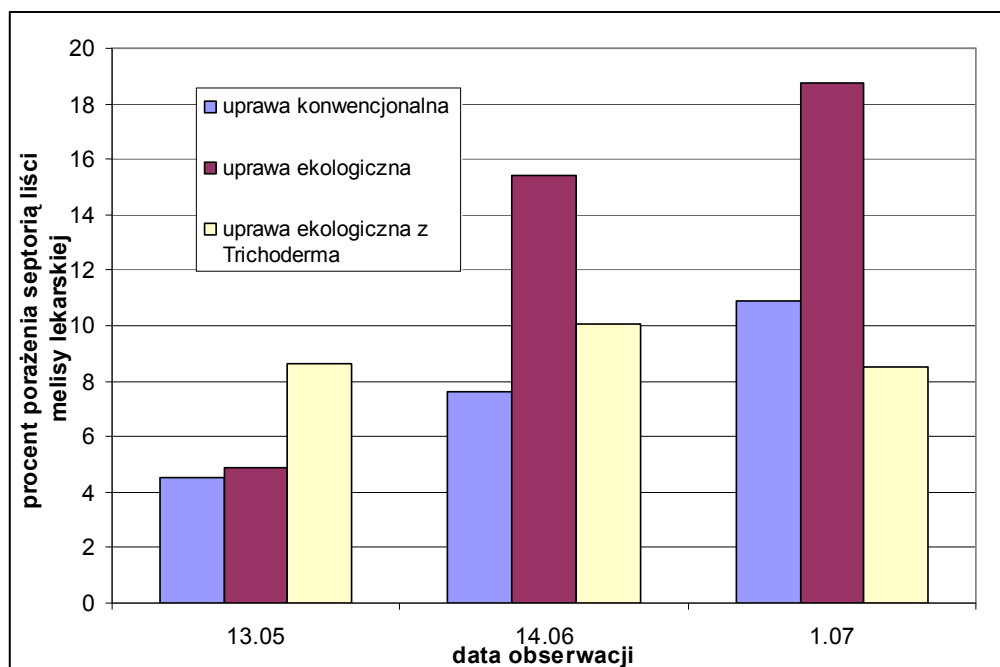


Rys. 2. Fenole w liściach ziemniaka traktowanego mikrobiologicznie - jeden zabieg doglebowy i jeden zabieg nalistny (pobór liści 10.06.2011)

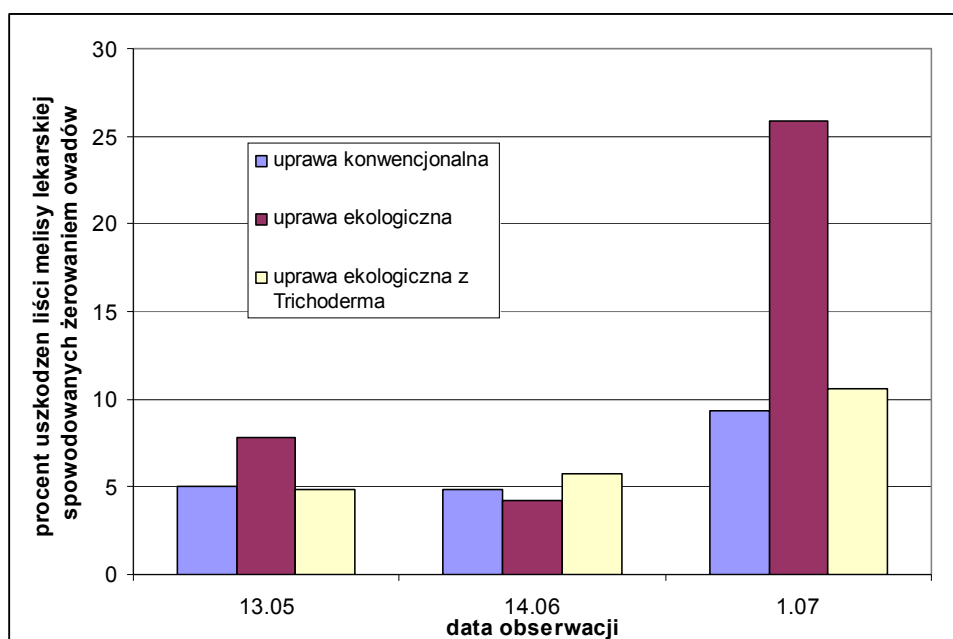


Rys. 3. Oznaczenie anionorodnika ponadtlennkowego w liściach ziemniaka traktowanego preparatem Trifender - jeden zabieg doglebowy i jeden zabieg nalistny wykonany 3 dni przed poborem liści (10.06.2011).

2) OCENA WYKORZYSTANIA MIKROORGANIZMU *TRICHODERMA ASPERELLUM* W OCHRONIE MELISY PRZED SEPTORIOZĄ



Rys. 4. Wpływ trzykrotnych zabiegów nalistnych preparatem Trifender WP na średni procent porażenia przez septoriozę blaszki liściowej melisy lekarskiej uprawianej w odmiennych systemach produkcji.



Rys. 5. Wpływ trzykrotnych zabiegów nalistnych preparatem Trifender WP na średni procent uszkodzeń powodowanych przez żerujące owady na liściach melisy lekarskiej uprawianej w odmiennych systemach produkcji.

Tab. 6. Średnie wyniki uzyskane z doświadczenia realizowanego na poletkach IWNiRZ w Plewiskach

Kombinacja	świeża masa surowca [kg/m ²]	sucha masa surowca [g/m ²]	udział liści w suchej masie [%]	zawartość olejku w surowcu suchym [%]
Ekologiczna	1,33	529,7	59	0,12
Ekologiczna + Trifender WP	1,23	510,53	60	0,12
Konwencjonalna	1,63	440,23	67,3	0,12

Tab. 7. Izolacja z liści wyłożonych na pożywkę PDA bez odkażania powierzchniowego (16.06.2011)

Rodzaj uprawy	Szalka	Obecność grzybni	Identyfikacja grzyba porastającego blaszki liściowe
Uprawa Konwencjonalna	1	tak	<i>Alternaria, alternata, Septoria melissae</i>
	2	tak	<i>Alternaria, alternata</i>
	3	tak	<i>Alternaria alternata, Penicillium spp.</i>
Uprawa EKO + <i>Trichoderma</i>	1	tak	<i>Alternaria alternata, Penicillium spp.</i>
	2	tak	<i>Septoria melissae</i>
	3	tak	<i>Alternaria, alternata</i>

Uprawa EKO	1	tak	<i>Alternaria, alternata</i>
	2	tak	<i>Alternaria alternata, Penicillium spp.</i>
	3	tak	<i>Alternaria, alternata</i>

Tab. 8. Izolacja ze skrawków liści wykazujących objawy porażenie przez *Septoria melissae*, wyłożonych na pożywkę PDA z odkażaniem powierzchniowym.

Rodzaj uprawy	Szalka	Liczba skrawków	Liczba izolatów	Identyfikacja
Uprawa Konwencjonalna	1	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
	2	5	4	4 x <i>Septoria melissae</i>
	3	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
Uprawa EKO + <i>Trichoderma</i>	1	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
	2	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
	3	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
Uprawa EKO	1	4	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
	2	4	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 4 x <i>Septoria melissae</i>
	3	5	5	1 x <i>Alternaria, alternata</i> , 3 x <i>Septoria melissae</i> , 1 x niezarodnikujący biały

4. Podsumowanie

1. Zastosowanie mikroorganizmu w uprawie ziemniaków odmiany Ditta, podatnej na zarazę ziemniaka, przyczyniło się do ograniczenia sprawcy zarazy ziemniaka na poziomie zbliżonym do działania preparatu Miedzian 350 SC. W momencie jednak, kiedy obserwowano zwiększenia presji patogenu (w omawianym warunkach obserwowano ten moment wraz z początkiem sierpnia) skuteczność ograniczania objawów choroby była silniejsza na powierzchni traktowanej środkiem miedziowym, osiągając w efekcie około 30 % większą skuteczność w porównaniu do powierzchni traktowanej preparatem Trifender. Preparat miedziowy ograniczył objawy zarazy ziemniaka w stosunku do powierzchni kontrolnej o około 47 %. Chroniąc powierzchnię uzyskano plon, który był najwyższy z powierzchni traktowanej mikrobiologicznie ($44,6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$), aczkolwiek jest to związane głównie z największym udziałem frakcji bulw małych sadzeniaków. Największy udział frakcji bulw jadalnych uzyskano z powierzchni traktowanej miedzią. Plon z powierzchni

kontrolnej był najniższy, wynosił $22,3 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ i był o 50% niższy w porównaniu do plonu zebranego z powierzchni traktowanej mikrobiologicznie. Należy zaznaczyć, że wykonano 3 zabiegi środkiem miedziowym, natomiast produkt Trifender był stosowany ponad dwukrotnie częściej (siedem razy), co wiąże się ze zwiększonym nakładem kosztów fizycznych i ekonomicznych.

2. W przypadku odmiany Tajfun, średnio podatnej na zarazę ziemniaka, preparat mikrobiologiczny okazał się skuteczniejszy w porównaniu do środka miedziowego oceniając procentową powierzchnię rośliny objętej objawami chorobami, poszukując różnic statystycznych pomiędzy kombinacją miedziową i mikrobiologiczną prawdopodobnie by ich nie znaleziono. W przypadku plonu stwierdzono, że z kombinacji traktowanej mikrobiologicznie uzyskano wyższy plon niż w porównaniu do kombinacji z miedzią i kontrolnej ($38,7$, $33,7$ i $24,5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, odpowiednio). Istotnym elementem plonu jest udział różnych frakcji bulw, w przypadku odmiany Tajfun, odmiennie jak w przypadku odmiany Ditta, stwierdzono większy udział bulw jadalnych zebranych z powierzchni traktowanej mikrobiologicznie. Plon ogólny zebrany z powierzchni kontrolnej był najniższy i był to spadek rzędu 36% porównując do plonu zebranego z powierzchni po nalistnych zabiegach z Trifender.
3. Oceniając porażenie roślin odmiany Cyprian, średnio podatnej na zarazę, stwierdzono, że pod koniec lipca porażenie chorobą roślin wielokrotnie traktowanych mikrobiologicznie było na porównywalnym poziomie w porównaniu do roślin trzykrotnie opryskiwanych miedzią. Zastosowanie jedynie doglebowe stymulatora mikrobiologicznego nie wpłynęło na ograniczenie presji patogenu, konieczne są wielokrotne zabiegi nalistne, minimum w ilości 4, preferowane 6-8. Zwiększa to oczywiście koszty uprawy, ale mając na uwadze wycofanie miedzi w przyszłości, jest to alternatywna metoda uzyskania plonu ziemniaków.
4. Reasumując wyniki bieżące oraz z lat poprzednich, można stwierdzić, że doglebowa aplikacja *T. asperellum* jest niewystarczająca podobnie jak czterokrotnie wykonywane zabiegi nalistne. W celu ograniczenia objawów zarazy ziemniaka należy wykonać wielokrotne (6-8) zabiegów nalistnych, które w umiarkowanej presji patogenu mogą okazać się skuteczne, tzn. porównywalnie do miedzi. Plon uzyskany z kilkuletnich doświadczeń ze stymulatorem Trifender WP był większy niż z powierzchni traktowanych miedzią lub kontrolnych (bez zabiegów ochronnych). W przypadku odmian podatnych na zarazę obserwowano wyższy

plon, ale niestety był on związany z większym udziałem bulw małych, natomiast w przypadku odmian średnio podatnych wzrost plonu był skutkiem zwiększonego udziału bulw jadalnych.

5. Próbki oceniane pod kątem nabywania odporności roślin oceniane przez Zespół Zakładu Fizjologii UP w Poznaniu wykazały, że w przypadku preparatu Trifender odnotowano wzrost aktywności β – glikozydazy. Nie stwierdzono jednak podwyższonej ilości fenoli w komórkach ziemniaka. Istnieje również możliwość, że zastosowanie grzyba antagonistycznego *T. asperellum* mogło wywoływać innego typu reakcje obronne. Potwierdzają to wyniki dla anionorodnika ponadtlenkowego, którego wartości wzrastają po aplikacji *T. asperellum*. Należy przeprowadzić doświadczenie szklarniowe w warunkach kontrolowanych, gdzie każdy liść zostanie potraktowany tym preparatem. Konieczne jest przeprowadzenie kolejnych doświadczeń, w celu wyciągnięcia jednoznacznych wniosków. Istotne jest porównanie wyników otrzymanych dla materiału rosnącego w warunkach polowych z wynikami otrzymanymi dla materiału prowadzonego w warunkach kontrolowanych.
6. W trakcie obserwacji melisy notowano najniższy poziom porażenia septoriozy liści roślin uprawianych w systemie konwencjonalnym (od 4,5 do 10,8% w okresie obserwacji). Najsilniej były porażone rośliny z kombinacji ekologicznej, stopień ich porażenia wzrastał wraz z trwaniem obserwacji. Trzykrotne zastosowanie *Trichodermy asperellum* na roślinach z systemu ekologicznego ograniczyło objawy septoriozy do poziomu zbliżonego dla roślin uprawianych konwencjonalnie. Reasumując, objawy septoriozy w momencie zakończenia obserwacji wystąpiły najslabiej na powierzchni traktowanej mikrobiologicznie.
7. Stopień obserwowanych uszkodzeń roślin powodowanych przez owady był zbliżony dla wszystkich kombinacji. Jedynie w momencie zakończenia obserwacji stwierdzono najsilniej uszkodzone rośliny na powierzchni ekologicznej. Zabiegi mikrobiologiczne spowodowały mniej liczne zasiedlenie owadów i ich żerowanie.
8. Średnie wyniki zebranej świeżej masy surowca nie różniły się w zależności od systemu uprawy. Najniższe wartości suchej masy surowca zanotowano dla materiału pozyskanego z kombinacji konwencjonalnej. Różnice pomiędzy średnimi wynikami suchej masy surowca nie zostaną prawdopodobnie potwierdzone statystycznie. Nie stwierdzono wpływu systemu uprawy, ani zabiegów

mikrobiologicznych na udział liści w suchej masie oraz na zawartość olejku eterycznego.

9. Wykonanie izolacji z liści oraz ze skrawków liści wykazujących objawy chorobowe potwierdziło, że głównym sprawcą brązowienia liści była *Septoria melissae*, obok niej wyizolowano także *Alternaria alternata* i *Penicillium spp.*, jednak w znacznie mniejszym stopniu. Wyniki laboratoryjne wskazują, że *T. asperellum* może być konkurencyjna także w stosunku do wymienionych patogenów.

Sprawozdanie z etapu badań zrealizowanego w roku 2011 znajdzie się na stronie internetowej <http://www.ior.poznan.pl>

Autorzy dziękują Pani dr hab. Iwonie Morkunas oraz Zespołowi Zespołu Zakładu Fizjologii Roślin UP w Poznaniu, który zaangażowany był w niniejsze badania. Osobne podziękowania są kierowane do Pani dr hab. Katarzyny Łożykowskiej wraz z Zespołem z IWNiRZ w Plewiskach.

W przypadku pytań: J.Kowalska@iorpib.poznan.pl, tel. 61-864-90-77

Sporządziła: dr Jolanta Kowalska, Zakład Metod Biologicznych, IOR-PIB w Poznaniu