



## **Instytut Ochrony Roślin - Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu**

Tytuł zadania

**Metody zastąpienia miedzi w ochronie warzyw i ziół uprawianych w rolnictwie ekologicznym**

**Kierownik zadania:**

dr hab. Jolanta Kowalska

**Wykonawcy:**

Dr hab. Jolanta Kowalska  
Dr Dorota Remlein-Starosta  
Dr Pankracy Bubniewicz,  
Renata Wojciechowska,  
Lidia Łopatka

Zrealizowano na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 7.05. 2013r. Nr  
PKre-029-11-11/13 (656)

## 1. Wstęp i cel badań

Zastosowanie w ochronie upraw ekologicznych preparatów opartych na miedzi jest dozwolone ustawodawstwem unijnym i krajowym. Pamiętać jednak należy, że wkrótce stosowanie miedzi w ochronie przed patogenami chorobowymi zostanie ograniczone do limitu od 1.5 do 2.5 kg ha<sup>-1</sup> lub nawet całkowicie zakazane (w roku 2016). W związku z tym podjęto działania badawcze zmierzające do poszukiwania metod zastępczych.

Preparaty oparte na bazie mikroorganizmów mogą stanowić alternatywę i/lub uzupełnienie obecnie znanych metod ochrony upraw ekologicznych. Mając na uwadze niewielki asortyment środków ochrony roślin, możliwość wykorzystania mikroorganizmów pożytecznych w ochronie jest obiecująca. Mechanizm działania tych mikroorganizmów wykorzystywanych w ochronie roślin i plonów przed patogenami polega na mykopasożytnictwie, antybiozie, konkurencji o substancje odżywcze i/lub o miejsce, zwiększeniu tolerancji roślin na stres poprzez wspomaganie wzrostu korzeni i rozwoju roślin, indukowaniu odporności oraz unieszkodliwianiu enzymów wytwarzanych przez patogeny. Czynnikiem decydującym o skuteczności tych preparatów są warunki meteorologiczne oraz faza rozwojowa roślin. Jest to produkt o działaniu kontaktowym – stąd wymagane jest dokładne pokrycie całych roślin – w tym owoców. Po zabiegu należy zwrócić uwagę na opady deszczu – ulewny deszcz w ciągu 2 godzin od oprysku powoduje częściowe zmycie preparatu i konieczność powtórzenia zabiegu w dniu następnym.

Obecnie silny nacisk jest kładziony na rozwój metod biologicznych, alternatywnych w stosunku do chemicznych oraz poszukiwanie metod wykorzystania potencjału obronnego tkwiącego w samych roślinach. W badaniach próbuje się wykorzystać mechanizm reakcji obronnych roślin przez ich wzbudzenie i utrzymanie na poziomie zapewniającym efektywną ochronę przed agrofagami. Chociaż droga do przejścia od pracy laboratoryjnej do wykorzystania uzyskanych wyników jest procesem długotrwałym, to coraz częściej pojawiają się doniesienia o wykorzystaniu elicytorów w produkcji żywności. Indukowanie odporności w roślinach odbywa się dwoma drogami na skutek interakcji pomiędzy elicytorami uwalnianymi przez mikroorganizmy a receptorami roślin. Wzbudzenie odporności roślin może utrzymywać się przez dłuższy czas (np. kilka miesięcy), po upływie których należy ponowić proces indukowania odporności.

**Celem niniejszego projektu była ocena wykorzystania kompleksu grzybów piekarniczych *Saccharomyces cerevisiae* w ograniczaniu patogenu *P. infestans*, a tym samym poprawieniu zdrowotności i plonowania ziemniaków.** Ich praktyczne zastosowanie przeciwko takim patogenom jak *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* lub *Alternaria alternata* jest znane. W badaniach prowadzonych we Francji na winoroślach wykorzystywano dostępne w handlu drożdże *S. cerevisiae* w celu ograniczania rozwoju *Botrytis cinerea* i *Aspergillus carbonarius*. Stwierdzono, że większość z zastosowanych produktów efektywnie ograniczało rozwój wymienionych patogenów. Jednym z mechanizmów działania antagonistycznego drożdży piekarniczych jest niewątpliwie współzawodnictwo z innymi mikroorganizmami o składniki pokarmowe, a szczególnie o cukry. Drożdże piekarnicze w wyniku wielowiekowej selekcji są szczególnie aktywne w szybkiej przemianie cukrów na alkohol i dwutlenek węgla. Ograniczają dostępność składników pokarmowych dla innych organizmów zasiedlających organy roślinne. Dodatkowo wytwarzany

jako produkt przemiany materii alkohol etylowy - substancję o silnym oddziaływaniu grzybo- i bakteriobójczym - może silnie oddziaływać na organizmy patogeniczne porażające rośliny uprawne. Grzyby tego kompleksu są zdolne do produkowania tzw. „killer toxin”. Są to kompleksy białkowe, które wykazują bardzo silne własności inhibicyjne na wszystkie inne patogeny (grzyby i bakterie) znajdujące się w tym samym, co *S. cerevisiae* środowisku. Część badań opartych na kompleksie grzybów piekarniczych wykorzystywało także grzybobójcze własności niektórych olejków, np. miętowego, który stosowano łącznie z drożdżami. Stwierdzono silny efekt hamujący rozwój szarej pleśni lub zgnilizny korzeni w uprawach pomidora.

Badania realizowane były na powierzchni rolniczej znajdującej się w Terenowej Stacji Doświadczalnej IOR-PIB w Winnej Górze, która jest certyfikowana przez jednostkę certyfikującą „Agrobiotest”. Dodatkowo zespół badawczy z IOR-PIB prowadzi współpracę z ekologicznymi producentami rolnymi (m.in. w Słońsku).

**W ramach realizacji celu głównego, jakim jest poszukiwanie metod zastąpienia miedzi w ochronie warzyw w rolnictwie ekologicznym realizowany będzie cel szczegółowy polegający na wykorzystaniu drożdży piekarniczych *Saccharomyces cerevisiae* kompleks w uprawie ziemniaka.** Zaraza ziemniaka jest chorobą najsilniej obniżającą plon bulw ziemniaka. Wpływa zarówno na jakość, jak i na ilość uzyskanego plonu. *Phytophthora infestans* niszczy powierzchnię asymilacyjną liści i łodyg, przez co hamuje wzrost bulw i obniża plon lub nawet całkiem wstrzymuje jego przyrost (przy zniszczeniu powyżej 50% powierzchni asymilacyjnej roślin). Pojawia się w końcu czerwca lub na początku lipca, w latach wilgotnych w drugiej dekadzie czerwca. W warunkach wczesnego epidemicznego występowania straty często przekraczają 50% wartości spodziewanego plonu. Punktem krytycznym w rozwoju zarazy ziemniaka jest osiągnięcie przez bulwy 80% masy docelowej, później rozwój choroby na naci jest już mniej groźny. Niemniej bulwy ziemniaka, zwłaszcza znajdujące się płytko, wskutek bezpośredniej infekcji zarazy ziemniaka są porażane przez inne grzyby i bakterie. W rezultacie zainfekowane bulwy nie nadają się do przechowywania.

Konwencjonalne metody ograniczania zarazy ziemniaka oparte są na sygnalizacji i prognozach oraz na licznych zabiegach preparatami miedziowymi. Ustalanie terminów zabiegów powinno być oparte w głównej mierze na sygnalizacji, dzięki której można wyznaczyć moment, w którym następują optymalne warunki do infekcji, a tym samym należy wykonać zabieg ochronny. Biorąc pod uwagę inne mikrobiologiczne badania własne i osiągnięte wyniki, pierwszy zabieg przeciwko *P. infestans* należy wykonać w momencie zachodzenia infekcji (nawiązania kontaktu rośliny-gospodarza z patogenem), a nie podczas inkubacji objawów chorobowych, ponieważ po wnikięciu patogena do tkanek roślinnych konkurencja grzyba antagonistycznego będzie już utrudniona. Dodatkowym utrudnieniem może być postępująca nekrotyzacja tkanek rośliny gospodarza. Skuteczność zabiegów ochronnych zależy przede wszystkim od ich synchronizacji z terminami zarodnikowania grzyba oraz momentu infekcji. Przeciętnie w sezonie wegetacyjnym wykonuje się 5-6 zabiegów opartych na grzybach piekarniczych. Jest to porównywalna ilość zabiegów wykonywanych chemicznymi środkami ochrony roślin. Testowany antagonistą *S. cerevisiae* znajduje się w produktach spożywczych dostępnych na rynku krajowym. Z uwagi na jego spożywcze zastosowanie podlega ścisłym normom produkcji i jest łatwo dostępny. Jego potencjał

jest możliwy do wykorzystania w uprawach ziemniaka w zabezpieczeniu ich przed stratami plonów spowodowanych przez *Phytophthora infestans*.

## 2. Materiał i metody

Powierzchnie doświadczalne nawożone były w roku 2011 obornikiem (30t/ha) a w roku 2013 nawozem mineralnym Luvena 0-8-15 Plantos w dawce  $150 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , co pozwoliło na wniesienie do gleby  $\text{P}_{\text{P2O}}$   $12 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $\text{K}_{\text{K2O}}$   $27 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $\text{Mg}_{\text{MgO}}$   $12 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $\text{S}_{\text{S}}$   $18 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

Wykorzystano dwie odmiany ziemniaka – Ditta i Vineta różniące się podatnością na chorobę. Doświadczenia wykonano w systemie łanowym. Zabiegi z antagonistą (grzybem drożdżoidalnym) wykonano nalistnie, począwszy od 11. czerwca, 7 zabiegów w odstępie 7 dni. Koncentrację żywych komórek drożdży piekarniczych w 1 gramie produktu spożywczego ustalano w laboratorium, gdzie określono poziom  $11 \times 10^6$  *S. cerevisiae*. Aby uzyskać koncentrację cieczy roboczej 1% zastosowano 10 g produktu rozpuszczonego w 1 litrze ciepłej wody.

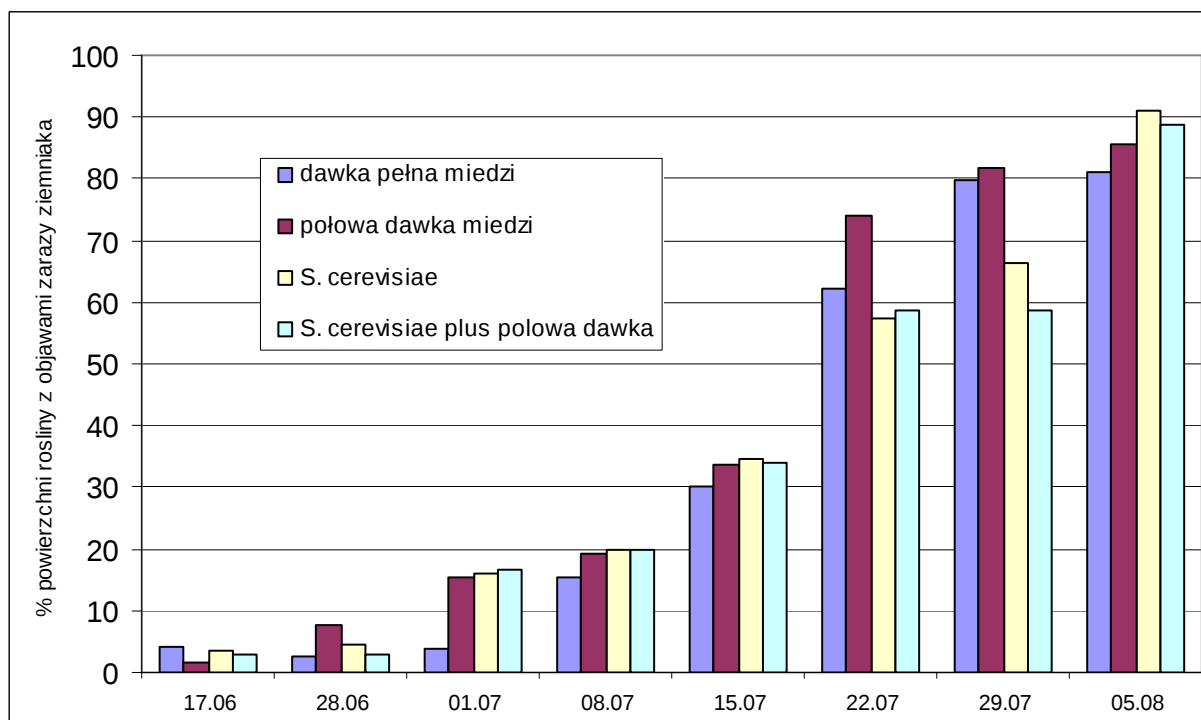
Tab.1. Schemat zabiegów i warunki meteorologiczne (opady i temp.)

| KOMBINACJE                                 | Data zabiegu<br>11.06 | Data zabiegu<br>18.06 | Data zabiegu<br>27.06 | Data zabiegu<br>2.07 | Data zabiegu<br>9.07 | Data zabiegu<br>16.07 | Data zabiegu<br>31.07 |
|--------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>S. cerevisiae</i><br>10g/1 l wody       | 0,0 mm<br>21,6°C      | 0,0 mm<br>19,2°C      | 0,0 mm<br>17,8°C      | 1,0 mm<br>20,4°C     | 0,0 mm<br>23,6°C     | 0,0 mm<br>19,8°C      | 2,1,mm<br>19,6°C      |
| <i>S. cerevisiae</i><br>plus 0,5 kg Nordox | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 1,0 mm               | 0,0 mm               | 0,0 mm                | 2,1,mm                |
| 1,0 kg Nordox 75 WG<br>(6 kg miedzi)       | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 1,0 mm               | 0,0 mm               | 0,0 mm                | 2,1,mm                |
| 0,5 kg Nordox 75 WG<br>(3 kg miedzi/ha)    | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 0,0 mm                | 1,0 mm               | 0,0 mm               | 0,0 mm                | 2,1,mm                |

W trakcie prowadzenia uprawy wykonano konieczne zabiegi pielęgnacyjne oraz 3 zabiegi (17.06., 03.07. oraz 23.07.) zwalczające stonkę ziemniaczaną z zastosowaniem spinosadu w dawce 200 ml Biospin 120 w przeliczeniu na hektar. W trakcie całego sezonu wegetacyjnego monitorowano występowanie zarazy ziemniaka za pomocą systemu wspomagania podejmowania decyzji NEGFY, który wskazał termin pierwszego zabiegu opartego na miedzi w dniu 9. czerwca 2013r. na podstawie wartości dziennego ryzyka (15,70) i akumulowanej wartości ryzyka (135,18). Następne daty zabiegów ustalano zgodnie z NEGFY. Efektywność stosowanych zabiegów oceniano poprzez subiektywną ocenę procentowej powierzchni liści i łodyg wykazujących objawy choroby. Wykonano 8 ocen, każdą po upływie 7 dni od poprzedzającego ją zabiegu. Wyniki zestawiono z danymi z powierzchni kontrolnej. Efektywność zabiegów oceniano także poprzez wpływ na plonowanie i frakcje plonu. Zebrane bulwy kalibrowano wg schematu: duże - > 5,5 cm, 3,5-5,5 cm bulwy średnie, <3,5cm – bulwy małe.

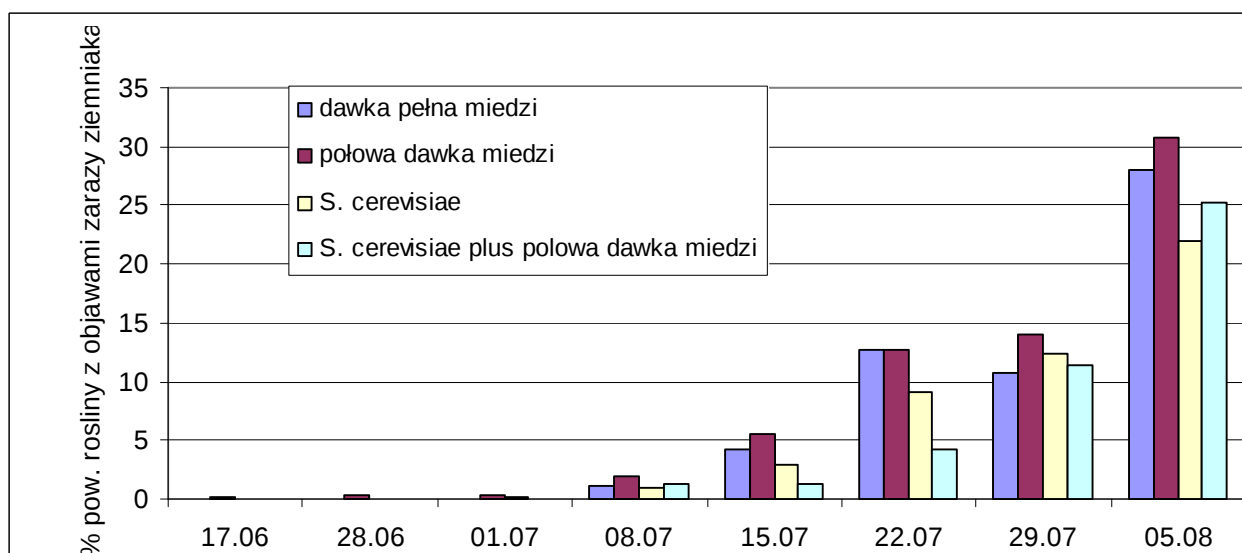
## 3. Uzyskane wyniki

W połowie czerwca na odmianie Vineta obserwowano objawy choroby na poziomie 5%. Począwszy od lipca obserwowano stopniowe nasilenie choroby. W połowie lipca średni procent roślin objętych chorobą wynosił 35 bez względu na stosowane zabiegi. W drugiej połowie lipca obserwowano słabą skuteczność zabiegu z połową dawki miedzi, podczas następnej obserwacji (29.07) stwierdzono najwyższą efektywność *S. cerevisiae* wraz z połową dawki miedzi lub stosownego samodzielnie. W pierwszych dniach sierpnia nie stwierdzono różnic w efektywności wszystkich zastosowanych produktów (rys.1).



Rys. 1. Procent rośliny ziemniaka, odm. Vineta objętej objawami zarazy ziemniaka w trakcie obserwacji w zależności od kombinacji

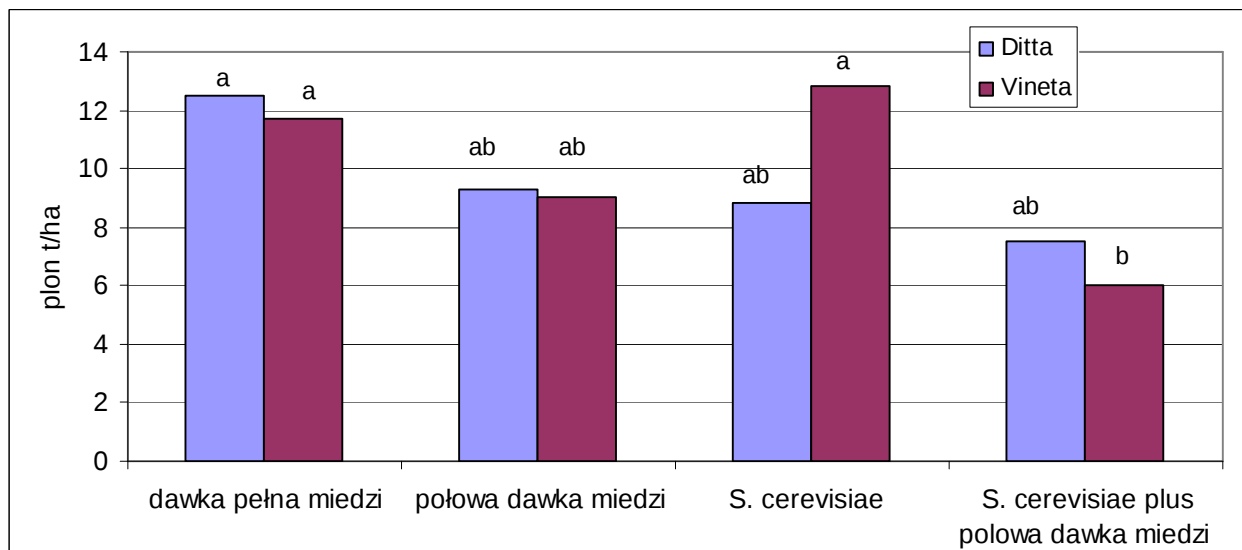
Na odmianie Ditta pierwsze objawy zarazy ziemniaka na poziomie 5% obserwowano dopiero w drugiej połowie lipca. Stopniowo wzrastało nasilenie choroby, połowa dawki miedzi i dawka pełna były porównywalne pod kątem efektywności. Najslabiej porażone rośliny były te, które traktowano *S. cerevisiae* wraz z połową dawki miedzi lub samodzielnie (rys.2.). Ostateczny poziom porażenie roślin w sierpniu ustalono średnio na 25%.



Rys.2. Procent rośliny ziemniaka, odm. Ditta objętej objawami zarazy ziemniaka w trakcie obserwacji w zależności od kombinacji.

Na innej powierzchni, gdzie także uprawiano odmianę Ditta obserwowano występowanie czarnej nóżki (*Rhizoctonia solani* (anamorph – *Tanatephorus cucumeris*), na tej powierzchni w roku ubiegłym uprawiano jęczmień jary, na którym patogen mógł przetrwać.

Najwyższe plony z obu odmian zebrano z powierzchni traktowanej pełną dawką miedzi, choć nie były one istotnie statystycznie różne od innych kombinacji. Najwyższe plony odmiany Vineta zebrano z kombinacji *S. cerevisiae* (rys.3.).



Rys.3. Plony ziemniaka w zależności od odmiany i zabiegów.

Dla odmiany Ditta zanotowano największą liczbę sztuk bulw dużych po traktowaniu *S. cerevisiae* plus ½ dawka Cu, w przypadku odmiany Vineta była to kombinacja *S. cerevisiae* (tab.1.).

Tab. 1. Struktura plonu uzyskanego z 1 redliny o dł. 50 m w zależności od kombinacji i zabiegu

| Odmiana/zabieg                                 | bulwy duże |      | bulwy średnie |       | bulwy małe |      |
|------------------------------------------------|------------|------|---------------|-------|------------|------|
|                                                | ilość      | waga | ilość         | waga  | ilość      | waga |
| Ditta ½ Cu                                     | 2          | 0,18 | 121           | 5,88  | 36         | 0,72 |
| Ditta pełna dawka Cu                           | 8          | 0,82 | 270           | 13,02 | 40         | 0,84 |
| Ditta <i>S. cerevisiae</i>                     | 0          | 0    | 147           | 6,2   | 33         | 0,78 |
| Ditta <i>S. cerevisiae</i><br>plus ½ dawki Cu  | 13         | 1,36 | 260           | 12,52 | 49         | 1,42 |
| Vineta ½ Cu                                    | 35         | 4,22 | 468           | 25,76 | 73         | 1,74 |
| Vineta pełna dawka Cu                          | 62         | 8,04 | 689           | 30,68 | 97         | 2,4  |
| Vineta <i>S. cerevisiae</i>                    | 130        | 15,8 | 518           | 27,78 | 67         | 1,62 |
| Vineta <i>S. cerevisiae</i><br>plus ½ dawki Cu | 42         | 5,8  | 292           | 14,28 | 38         | 1,02 |

#### 4. Wnioski

1. Na odmianie Vineta obserwowano objawy choroby w połowie czerwca na poziomie 5%. W połowie lipca średni procent roślin objętych chorobą wynosił 35 bez względu na stosowane zabiegi. W drugiej połowie lipca obserwowano słabą skuteczność zabiegu z połową dawki miedzi (3 kg/ha), w kolejnych obserwacjach obserwowano najwyższą efektywność *S. cerevisiae* ( $11 \times 10^6$  *S. cerevisiae*, koncentracja cieczy roboczej 1% - 10 g/l li ciepłej wody). W pierwszych dniach sierpnia nie stwierdzono różnic w efektywności wszystkich zastosowanych produktów.
2. Na odmianie Ditta pierwsze objawy zarazy ziemniaka na poziomie 5% obserwowano dopiero w drugiej połowie lipca. Połowa dawki miedzi i dawka pełna miedzi były porównywalne pod kątem efektywności. Najslabiej porażone rośliny były traktowane *S. cerevisiae* wraz z połową dawki miedzi oraz w kombinacji, gdzie drożdże stosowano samodzielnie.
3. Najwyższe plony odmiany Vineta zebrano z kombinacji traktowanej *S. cerevisiae*.
4. Dla odmiany Ditta – średnio podatna odmiana - zanotowano największą liczbę sztuk bulw dużych po traktowaniu roślin *S. cerevisiae* wraz z połową dawką miedzi, w przypadku odmiany podatnej - Vineta - była to kombinacja, gdzie stosowano drożdże samodzielnie.
5. Brak różnic statystycznych pomiędzy plonami uzyskanymi z różnych kombinacji może wynikać z obecności patotypu łodygowego patogenu obserwowanego na powierzchni eksperymentalnej, dlatego też zalecane jest opryskiwanie bulw preparatem miedziowym przed sadzeniem.

Sprawozdanie z etapu badań zrealizowanego w roku 2013 znajdzie się na stronie internetowej <http://www.ior.poznan.pl/430,badania-w-zakresie-ochrony-ekologicznych-upraw-rolniczych.html>

W przypadku pytań: [J.Kowalska@iorpib.poznan.pl](mailto:J.Kowalska@iorpib.poznan.pl), tel. 61-864-90-77

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