**Badania nad możliwością wykorzystania wybranych roślin
z rodziny *Brassicaceae* w ochronie ogórka przed zgorzelą siewek
powodowaną przez *Rhizoctonia solani* Kühn
i *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc.**

ZBIGNIEW J. BURGIEŁ

Akademia Rolnicza w Krakowie, Katedra Ochrony Roślin,
Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

Burgieł Z.J. (Agricultural University, Department of Plant Protection,
29 Listopada 54, 31-425 Kraków, Poland)

Research on possibilities of utilization of chosen Brassicaceae plants
in protection of cucumber against damping-off caused by *Rhizoctonia solani* Kühn
and *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc.

(Otrzymano: 22.04.2005)

Summary

The aim of the work was to determine the usefulness of dried leaves of savoy cabbage, red cabbage, horse radish and fringed cabbage in protection of cucumber against damping-off caused by fungi *Rhizoctonia solani* and *Fusarium culmorum*. In the laboratory experiments, pathogens were grown on PDA containing dried leaves (3g·100 cm⁻³) and in atmosphere containing volatile substances evolved from plant material.

The addition of radish horse leaves into PDA caused total inhibition of *R. solani* development. Remaining plants were also characterized by high fungistatic activity (% of growth inhibition about 85%). *F. culmorum* was less sensitive. The horse radish leaves showed the strongest activity (65 %), weakest in combination with fringed cabbage leaves (38,9%). The similar regularity in the case of fumigation activity was observed.

The effectiveness of dried leaves in protection of cucumber against damping-off was confirmed in greenhouse experiment. The amendment of soil inoculated with *R. solani* in dose 2 g per 500 cm³ of soil significantly increased the number of cucumber sprouts compared to the control. In the experiment with *F. culmorum* only in combination with horse radish and red cabbage leaves significant action was observed.

Key words: Brassicaceae plants, fungistatic activity, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium culmorum*, cucumber

WSTĘP

Obawy przed nadmierną chemizacją środowiska rolniczego sprawiały, że coraz większym zainteresowaniem cieszą się alternatywne metody ochrony roślin przed organizmami szkodliwymi. Istotną rolę odgrywa w nich wykorzystywanie biologicznie aktywnych substancji występujących w wielu gatunkach roślin (Burgiel 2005).

Ze względu na zawartość glukozyzolanów, szczególnymi własnościami fitosanitarnymi charakteryzują się rośliny z rodziny *Brassicaceae*. Po uszkodzeniu tkanek, substancje te ulegają enzymatycznemu rozkładowi, a produktami tych reakcji są między innymi izotiocyjaniiny, związki o wyraźnej aktywności fungistatycznej (Smolińska i Hrobowicz 1999; Smolińska i in. 2003). Sprawia to, że coraz częściej rozpatruje się możliwość wykorzystania resztek pozbiorczych z roślin kapustnych do ograniczania rozwoju występujących w glebie fitopatogenicznych grzybów takich jak *Aphanomyces euteiches*, *Pythium ultimum*, *Fusarium* spp., *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* czy *Sclerotium cepivorum* (Papavizas i Lewis 1971; Chan i Close 1987; Ramirez-Vallapudua i Mannecke 1988; Gamliel i Stepleton 1993; Smolińska 2004).

Celem pracy było określenie wpływu suszonych liści z wybranych roślin kapustnych na rozwój grzybów *Rhizoctonia solani* Kühn i *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc. oraz ich przydatności w ochronie siewek ogórka przed tymi patogenami.

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczeń wytypowano liście kapusty włoskiej, kapusty czerwonej, jarmuzu oraz chrzanu. Wybór uzasadniały wyniki wcześniejszych badań autora (Burgiel i Miska 1996; Burgiel i Schwartz 2000).

W warunkach laboratoryjnych badano działanie suszu z liści wyżej wymienionych roślin na grzyby *Rhizoctonia solani* Kühn i *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc.

Liście suszono w 40°C przez 4 godziny, dezynfekowano powierzchniowo (1 min. w 75 % metanolu i 10 min. w 5% H₂O₂), ponownie suszono przez 24 godz. w 25°C i rozdrabniano w mrożdzierzu. Tak przygotowany materiał dodawano do rozpuławionej PDA w dawce 3g·100 cm⁻³. Pożywkę rozlewano do szalek Petriego i po trzech dniach szczepiono krążkiem o średnicy 5mm agaru przerośniętego grzybnią testowanego grzyba, wyciętym z 14 dniowej kolonii. Podłoże w szalkach kontrolnych nie zawierało dodatku suszu. Hodowlę prowadzono w temp. 20°C. Co 24 godziny, aż do momentu zarosnięcia powierzchni pożywki w szalkach kontrolnych, mierzono średnice rozwijających się kolonii w dwóch prostopadłych do siebie kierunkach. Na podstawie pomiarów wyliczano indeks tempa wzrostu kolonii (Burgiel 1984). Aktywność fungistatyczną określano za pomocą wzoru Abbotta (Kowalik i Krecznia 1961), porównując indeksy wzrostu kolonii rozwijających się na podłożach zawierających susz z kontrolą. Doświadczenia zakładano w pięciu powtórzeniach. Za powtórzenie uznawano szalke Petriego z wyłożonym jednym krążkiem inokulum.

Celem określenia fungistatycznej aktywności lotnych substancji wydzielających się podczas maceracji liści badanych roślin, w słojach Wecka o pojemności 1 l umieszczano po 10 g suszu nawilżonego 15 cm³ wody destylowanej oraz po cztery otwarte szalki Petriego z PDA zaszczerpioną krążkiem grzybni badanego grzyba. Szalki układano na podstawkach umożliwiających dopływ powietrza do każdej z nich. W kombinacji kontrolnej susz zastąpiono nawilżoną watą. Słoje zamknięto uszczelniając pokrywkę gumową uszczelką i dociskając sprężyną. Po sześciu dniach inkubacji w temperaturze pokojowej mierzono średnice kolonii. Aktywność fumigacyjną suszu określano za pomocą wzoru Abbotta.

Wyniki doświadczeń laboratoryjnych opracowano statystycznie metodą analizy wariancji. Istotność różnic między średnimi oceniano na podstawie testu Duncana ($\alpha = 0,05$)

Przydatność suszu z liści badanych roślin w ochronie ogórków przed zgorzelą siewek powodowaną przez *Rhizoctonia solani* i *Fusarium culmorum* badano w doświadczeniu szklarniowym. Patogeny hodowano przez 21 dni na podłożu zawierającym 374 g piasku kwarcowego, 9 g mąki kukurydzianej i 100 cm³ wody. Termicznie odkażoną ziemię ogrodniczą infekowano stosując 160 g inokulum/10 l. Do tak przygotowanego podłoża w doniczkach o średnicy 20 cm wprowadzano poszczególne susze w dawce 2g/500 cm³ i dokładnie mieszano. Doniczki przykrywano szybą i pozostawiono w temperaturze ok. 20°C, utrzymując umiarkowaną wilgotność gleby. Po czterech tygodniach wysiewano nasiona ogórka odm. Krak (po 20 nasion w wazonie). Kontrolę stanowiły wazon z zakażonym podłożem bez dodatku suszu. Po ośmiu dniach od siewu liczono wschody ogórka, zwracając uwagę na stan zdrowotny siewek. W celu uwzględnienia ewentualnego fitotoksycznego działania suszonych liści na siewki ogórka równolegle przeprowadzono doświadczenie, w którym nasiona wysiano do podłoża nie infekowanego.

Doświadczenia szklarniowe prowadzono w pięciu powtórzeniach. Ich wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji na wartościach przekształconych na stopnie Freemana – Tukeya. Istotność różnic między kombinacjami oceniano na podstawie testu Duncana ($\alpha = 0,05$).

WYNIKI

Obecność w pożywce suszu z liści badanych roślin powodowała istotne zahamowanie wzrostu grzybów testowych ale reakcja zależała od gatunku patogena. W doświadczeniu z *Rhizoctonia solani*, na podłożu z dodatkiem liści chrzanu obserwowano pełną inhibicję rozwoju kolonii. W pozostałych kombinacjach zahamowanie wzrostu wynosiło około 85 %, a obliczenia statystyczne nie wykazały istotnych różnic pomiędzy nimi.

Grzyb *Fusarium culmorum* znacznie słabiej reagował na dodatek suszonych liści do pożywki. Także w tym przypadku najwyższą aktywnością fungistatyczną charakteryzował się chrzan, zaś najniższą jarmuż. Na zawierających je pożywkach inhibicja wzrostu wynosiła odpowiednio 65% i 38,9%. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1
Wpływ suszu z liści badanych roślin na wzrost *Rhizoctonia solani* i *Fusarium culmorum*
Table 1
The influence of dried leaves on the *Rhizoctonia solani* and *Fusarium culmorum* growth

Kombinacja Combination	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Fusarium culmorum</i>	
	Indeks tempa wzrostu Growth rate index	% zahamowania % of inhibition	Indeks tempa wzrostu Growth rate index	% zahamowania % of inhibition
Kapusta włoska Savoy cabbage	10,36 b ^{*)}	83,3	21,46 ab	62,1
Kapusta czerwona Red cabbage	8,92 b	85,7	25,32 b	55,3
Chrzan Horse radish	0,00 a	100	19,08 a	65,0
Jarmuż Fringed cabbage	9,18 b	85,3	34,62 c	38,9
Kontrola - Control	62,28 c	-	56,66 d	-

^{*)} Wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg Duncana ($\alpha = 0,05$)
Means in columns marked by the same letter do not differ significantly according to Duncan ($\alpha = 0,05$).

Uwalniające się z nawilżonych liści lotne substancje również silnie hamowały rozwój kolonii *Rh. solani* i *F. culmorum*, a zależności między gatunkiem rośliny a reakcją patogena były podobne jak w poprzednich doświadczeniach (tab. 2).

Tabela 2
Wpływ lotnych związków wydzielanych z liści na wzrost grzybów testowych
Table 2
The influence of volatile compounds evolved from dried leaves on the growth of tested fungi

Kombinacja Combination	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Fusarium culmorum</i>	
	Średnica kolonii [mm] Colony diameter [mm]	% zahamowania % of inhibition	Średnica kolonii [mm] Colony diameter [mm]	% zahamowania % of inhibition
Kapusta włoska Savoy cabbage	8,6 b ^{*)}	84,6	24,7 ab	55,0
Kapusta czerwona Red cabbage	7,3 b	86,9	29,0 b	47,2
Chrzan Horse radish	0,0 a	100,0	21,2 a	61,4
Jarmuż Fringed cabbage	13,4 c	76,0	44,0 c	19,8
Kontrola - Control	55,8 d	-	54,9 d	-

^{*)} Wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg Duncana ($\alpha = 0,05$)
Means in columns marked by the same letter do not differ significantly according to Duncan ($\alpha = 0,05$)

Doświadczenia szklarniowe pokazały, że substancje uwalniające się podczas maceracji suszonych liści badanych roślin mogą ograniczać kiełkowanie nasion ogórków. Świadczy o tym istotnie mniejsza liczba siewek w wazonach z niezakażanym podłożem zawierającym dodatek suszonych liści chrzanu niż w kontroli bezwzględnej (podłoże nieinfekowane, bez dodatku materiału roślinnego). Wynosiła ona odpowiednio 16,4 i 19,1 roślin. Również w pozostałych kombinacjach notowano nieco mniej siewek niż w kontroli lecz różnice nie były statystycznie istotne (tab. 3)

Tabela 3
Wpływ suszonych liści badanych roślin na wschody ogórków

Table 3
The influence of dried leaves of tested plants on cucumber sprouts

Kombinacja Combination	Liczba roślin w wazonie – Number of plants in pot		
	Podłoże nieinfekowane Noninfected soil	Podłoże infekowane – Infected soil	
		<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
Kapusta włoska Savoy cabbage	17,9 ab	8,4 b	10,0 a
Kapusta czerwona Red cabbage	18,1 ab	11,2 c	12,8 b
Chrzan Horse radish	16,4 a	12,8 c	13,3 b
Jarmuż Fringed cabbage	17,8 ab	8,4 b	10,0 a
Kontrola - Control	19,1 b	3,3 a	7,8 a

*) Wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg Duncana ($\alpha = 0,05$)
Means in columns marked by the same letter do not differ significantly according to Duncan ($\alpha = 0,05$)

Substancje uwalniane podczas maceracji materiału roślinnego wpływały również na cechy morfologiczne koloni grzybów testowych. Szczególnie wyraźnie widoczne było to w przypadku *F. culmorum*, który w kombinacjach z suszonymi liśćmi tworzył kolonie o białej grzybni powietrznej i białym rewersie. *Rhizoctonia solani* reagował jedynie słabszą pigmentacją kolonii. Zmiany te mieściły się jednak w granicach zmienności gatunkowej.

Wprowadzenie suszonych liści badanych roślin kapustnych do zakażonej gleby skutecznie ograniczało występowanie przedwschodowej zgorzeli siewek ogórka, ale efektywność zabiegu zależała w znacznym stopniu od gatunku grzyba, którym zainfekowano podłoże.

W kombinacjach traktowanych doświadczenia z *Rh. solani* na 20 wysianych do wazonu nasion wschodziło 8 – 13 roślin, podczas gdy w zakażonej kontroli notowano tylko pojedyncze siewki. Najwyższą skutecznością charakteryzował się susz z liści chrzanu. Nieistotnie mniejszą liczbę roślin notowano w wazonach z kapustą czerwoną.

Liście kapusty włoskiej i jarmużu działały mniej efektywnie ale także w tych kombinacjach liczba siewek była istotnie większa niż w kontroli (tab. 3).

Znacznie mniejsze zróżnicowanie pomiędzy kombinacjami obserwowano w doświadczeniu z *F. culmorum*, który charakteryzował się znacznie niższą patogenicznością niż *R. solani*. Istotnie większą niż w kontroli liczbę siewek notowano tu tylko w wazonach z podłożem zawierającym susz z liści chrzanu i kapusty czerwonej (tab. 3).

DYSKUSJA

Przedstawione wyniki są potwierdzeniem uzyskanych we wcześniejszych badaniach autora o przydatności suszonych liści roślin *Brassicaceae* w ochronie ogórka przed zgorzelą siewek (Burgiel i Schwartz 2000). O celowości zastosowania takiego materiału roślinnego świadczą również dane literaturowe (Papavizas 1966; Gamliel i Stapleton 1993; Ramirez-Villapudua i Mannecke 1988).

Reakcja badanych patogenów i aktywność fungistyczna zależały wyraźnie od rodzaju materiału roślinnego wprowadzonego do ich środowiska. Szczególnie silne działanie obserwowano w kombinacjach z suszonymi liśćmi kapusty czerwonej i chrzanu. Jest to związane z wysoką zawartością glukozynolanów w tkankach tych roślin (Virtanen 1962; Gew-Chin Yen i Que-King Wei 1993). Wielu autorów (Mayton i in. 1996; Smolińska i Horbowicz 1997) podkreśla, że istnieje korelacja między aktywnością fungistatyczną a ilością izotiocyjanianów uwalniających się podczas maceracji materiału roślinnego. Obserwowana silna inhibicja wzrostu grzybów hodowanych w obecności nawilżonych liści badanych roślin świadczy o wysokiej emisji tych lotnych związków. Zahamowanie kiełkowania konidiów grzybów *Fusarium culmorum* i *Alternaria alternata* pod wpływem oparów ze świeżego soku z korzeni chrzanu obserwowali także Burgiel i Miska (1996). Fungistyczną aktywność substancji wydzielających się z różnych roślin *Brassicaceae* w stosunku do *Sclerotinia cepivorum* zanotowała także Smolińska (2004).

Prócz aktywności fungistatycznej omawiane substancje mogą również wpływać ujemnie na rozwój chronionych roślin, dlatego Gamliel i Stapleton (1993) podają, że nie można wysiewać nasion bezpośrednio po wprowadzeniu do gleby suszonych liści kapusty. Także we wcześniejszych badaniach autora sok z korzeni chrzanu powodował obniżenie zdolności kiełkowania nasion ogórków (Burgiel i Miska 1996). Wyniki prezentowanych badań częściowo potwierdzają ten pogląd. W nieinfekowanym wariantcie doświadczenia szklarniowego, w kombinacji z glebą zawierającą suszone liście chrzanu uzyskano istotnie mniejszą liczbę siewek niż w kontroli. Wpływ pozostałych badanych roślin na wschody ogórków był słabszy.

LITERATURA

- Burgiel Z., 1984. Wpływ wybranych herbicydów na występowanie i rozwój patogenów powodujących choroby podsuszkowe pszenicy ozimej. cz.II. Rozwój patogenów. Acta Agr. Silv., Ser. Agr. XXIII: 187–196.
- Burgiel Z.J., 2005. Czy preparaty roślinne zastąpią syntetyczne pestycydy? W: Ochrona środowiska naturalnego w XXI wieku – nowe wyzwania i zagrożenia. Fund. Na Rzecz Wspierania Badań Nauk. Wydz. Ogrodn. AR w Krakowie. 116–125.
- Burgiel Z., Miska M., 1996. The fungistatic activity of the sap of horse radish roots. Effectiveness of some microorganisms and plant extracts in the control of plant diseases. VII Conference of the Section for Biological Control of Plant Diseases of the Polish Phytopathological Society, April 18 - 19, Skierniewice: 13–17.
- Burgiel Z.J., Schwartz E., 2000. Research on possibilities on utilization of chosen cruciferous plants in protection of cucumber against damping-off caused by *Pythium ultimum*. Phytopatol. Pol. 19: 89–95.
- Chan M.K.Y., Close R.C., 1987. *Aphanomyces* root rot of peas. 3. Control by the use of cruciferous amendments. N. Z. J. Agric. Res. 30: 225–233.
- Gamliel A., Stapleton J.J., 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. Phytopathology, 83: 899–905.
- Gow-Chin Yen, Que-King Wei., 1993. Myrosinase activity and total glucosinolate content of cruciferous vegetables, and some properties of cabbage myrosinase in Taiwan. J. Sci. Food Agric. 61, 471–475.
- Kowalik R., Krechniak E., 1961. Szczegółowa metodyka biologicznych laboratoryjnych badań środków grzybobójczych. Materiały do metodyki badań biologicznej oceny środków ochrony roślin. Inst. Ochrony Roślin. Poznań.
- Mayton H.S., Olivier C., Vaughn S.F., Loria R., 1996. Correlation of fungicidal activity of Brassica species with isothiocyanate production in macerated leaf tissue Phytopathology. 86: 267–271.
- Papavizas G.C., 1966. Suppression of *Aphanomyces* root rot of peas by cruciferous soil amendments. Phytopathology. 56: 1071–1075.
- Papavizas G.C., Lewis J.A., 1971. Effect of amendments and fungicides on *Aphanomyces* root rot of peas. Phytopathology. 61: 215–220.
- Ramirez-Villapudua J., Munnecke D.E., 1988. Effect of solar heating and soil amendments of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutians* and other organisms. Phytopathology, 78: 289–295.
- Smolińska U., 2004. Badania nad wykorzystaniem roślin *Brassicaceae*, zawierających związki biologicznie czynne, w ograniczaniu *Sclerotium cepivorum* Berk. . Inst. Warzywnictwa w Skierniewicach. Monografie i rozprawy nauk. Nr. 17
- Smolińska U., Horbowicz M., 1999. Fungicidal activity of volatiles from selected Cruciferous plants against resting propagules of soil-borne fungal pathogens. J. Phytopathology, 147: 119–161.
- Smolińska U., Morra M.J., Knudsen G.R., James R.L., 2003. Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. Plant Disease. 87: 407–412.
- Virtanen A.I., 1962. Organische Schwefelverbindungen in Gemüse- und Futterpflanzen. Angew. Chem., 74, 11: 374–382.

Streszczenie

Celem pracy było określenie przydatności suszonych liści kapusty włoskiej, kapusty czerwonej, jarmużu oraz chrzanu w ochronie ogórka przed zgorzelą siewek, powodowaną przez grzyby *Rhizoctonia solani* i *Fusarium culmorum*. W doświadczeniach laboratoryjnych patogeny hodowano na PDA z dodatkiem 3g·100 cm⁻³ liści oraz w atmosferze zawierającej lotne związki wydzielające się z materiału roślinnego.

Dodatek liści chrzanu do PDA powodował pełną inhibicję rozwoju *Rh. solani*. Pozostałe rośliny również charakteryzowały się wysoką aktywnością fungistatyczną (% zahamowania wzrostu ok. 85%). *F. culmorum* był mniej wrażliwy. Najsilniejsze działanie obserwowano na pożywcę z liśćmi chrzanu (65%), najsłabsze w kombinacji z liśćmi jarmużu (38,9%). Podobne prawidłowości obserwowano w przypadku badania aktywności fumigacyjnej.

Skuteczność suszonych liści w ochronie ogórków przed zgorzelą siewek potwierdzono w doświadczeniu szklarniowym. Wprowadzenie ich do inokulowanej *R. solani* gleby w dawce 2g·500 cm⁻³ istotnie zwiększało wschody ogórków w porównaniu z kontrolą. W doświadczeniu z *F. culmorum* istotne działanie obserwowano tylko w kombinacjach z chrzanem i kapustą czerwoną.