

ECOLOGICAL SPECIMENS APPLIED TO CONTROL OF PLANT PATHOGENS AND THE ABILITY TO USE THEM IN PROTECTION OF A CHICKPEA

Summary

During the research Biochikol 020 PC, Bioczos BR, Biosept 33 SL and Grevit 200 SL specimen were applied to inoculate the seeds of a chickpea, which were exposed to artificial inoculation by pathogen fungi *A. alternata*, *B. cinerea*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. The criteria of an assessment in given analysis was the healthiness (the degree of root paralysis) and the vitality of the seeds (length of shoot (in cm), length of root (cm), mass of the shoot (g) of a chickpea inoculated by ecological specimen. Undertaken analysis proved that the healthiness of plants was increased after application of preparations Biosept 33 SL i Grevit 200 SL. It was observed that after the procedure of dressing by Biochikol 020 PC specimen, phytotoxic symptoms appeared towards the seeds and sprouting seed of a chickpea.

EKOLOGICZNE PREPARATY DO ZWALCZANIA PATOGENÓW ROŚLIN I MOŻLIWOŚCI ICH WYKORZYSTANIA W OCHRONIE CIECIERZYCY POSPOLITEJ (*Cicer arietinum* L.)

Streszczenie

Celem prezentowanego doświadczenia była ocena *in vivo* skuteczności zastosowanych biopreparatów i stymulatorów wzrostu do ochrony nasion i wschodzących roślin ciecierzycy pospolitej oraz ich aktywność w stosunku do grzybów patogenicznych. W badaniach zastosowano preparaty Biochikol 020 PC, Bioczos BR, Biosept 33 SL i Grevit 200 SL, do zaprawiania nasion ciecierzycy pospolitej, które zostały poddane sztucznej inokulacji grzybami patogenicznymi z gatunku *A. alternata*, *B. cinerea*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. Kryteriami oceny w przeprowadzonej analizie była zdrowotność (stopień porażenia korzeni (%)) i żywotność nasion (długość pędów (cm), długość korzeni (cm), masa pędów (g), masa korzeni (g)) ciecierzycy pospolitej. Uzyskane wyniki żywotności roślin, zostały potraktowane, jako informacja o ewentualnym fitotoksycznym lub stymulującym działaniu związków zawartych w preparatach ekologicznych oraz ich aktywności w stosunku do grzybów patogenicznych. Przeprowadzona analiza wykazała, iż zdrowotność roślin została podwyższona, po zastosowaniu do zaprawiania biopreparatu Biosept 33 SL i Grevit 200 SL. Zaobserwowano, iż po zabiegu zaprawiania nasion preparatem Biochikol 020 PC wystąpiły objawy fitotoksyczności w stosunku do nasion i wschodzących siewek ciecierzycy pospolitej.

1. Wstęp

Ciecierzycza pospolita należy do roślin motylkowatych z rodziny bobowatych. Zaliczana jest do jednych z pierwszych roślin uprawianych przez człowieka. W świecie pod względem areалу upraw roślin bobowatych zajmuje czwarte miejsce po soi, orzechach ziemnych i fasoli. Nasiona są cenione za walory odżywcze i terapeutyczne, bogate w błonnik, witaminy z grupy B, minerały i łatwo przyswajalne białko. W składzie związków aktywnych nasion zidentyfikowano izoflawony. Dostępne wyniki badań wskazują, że związki te mogą być skuteczne w zapobieganiu osteoporozie, w łagodzeniu nadciśnienia oraz mogą chronić przed rozwojem nowotworów estrogenozależnych [6]. Części nadziemne mogą wchodzić w skład mieszanek pasz zielonych dla zwierząt. Obecnie w Polsce uprawiana jest tylko w małych arealach, głównie przez działkowców i ogrodników. Jak wskazują badania prowadzone przez Poniedziałek i in. [13], Dziambę i Waszczuk [1] oraz Kaczmarek-Cichosz [3], można uprawiać *C. arietinum* w rejonach Polski części południowej oraz środkowozachodniej. Roślina ta mogłaby wzbogacić płodozmian w gospodarstwach ekologicznych, których liczba z roku na rok przyrasta. W latach 2004-2007 r. ich liczba zwiększyła się prawie 4-krotnie [4]. System produkcji rolnej w rolnictwie ekologicznym jest oparty na wykorzystaniu naturalnych procesów zachodzących w obrębie gospodarstwa, a ochrona roślin uprawianych w tym systemie, polega głównie na profilaktyce. Jednak problemom, jakie po-

jawiają się w produkcji ekologicznej warzyw, owoców i roślin uprawnych w walce z patogenami i szkodnikami, nie zawsze można zapobiec stosując tylko profilaktykę, dlatego rolnicy często korzystają z preparatów biologicznych [17].

Producenci rolni zainteresowani uprawą ciecierzycy pospolitej zgłaszają problem z ochroną nasion i wschodzących siewek. Grzyby patogeniczne należące do podgromady grzybów niedoskonałych (*Deuteromycotina*) i workowców (*Ascomycotina*) to najczęściej występujące pasożyty nasion oraz sprawcy chorób starszych roślin *C. arietinum* [8, 9, 17]. Obecnie brak jest preparatów ekologicznych przeznaczonych do ochrony ciecierzycy pospolitej zalecanych przez IOR i umieszczonych w rejestrze środków ochrony roślin, dozwolonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym.

Celem prezentowanego doświadczenia była ocena *in vivo* skuteczności zastosowanych biopreparatów i stymulatorów wzrostu do ochrony nasion i wschodzących roślin ciecierzycy pospolitej (*C. arietinum*) oraz ich aktywność w stosunku do grzybów patogenicznych z podgromady *Deuteromycotina* i *Ascomycotina*.

2. Materiał i metody

Materiał wykorzystany w badaniach stanowiły:

- Grzyby wywołujące objawy chorobowe na nasionach, wschodzących roślinach, pędach i strąkach ciecierzycy pospolitej lub współuczestniczące w procesach chorobowych:

Alternaria alternata (FR.) Keissl., *Botrytis cinerea* (Pers. ex Pers.), *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fusarium culmorum* (W.G.Smith) Sacc., *Fusarium oxysporum* (Schlecht.). Patogeny *A. alternata* i *B. cinerea* wyizolowano z nasion ciecierczy pospolitej i hodowano na podłożu PCA przygotowanym zgodnie z metodyką zaproponowaną przez Kwaśną i innych [5], natomiast *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. oxysporum* wyizolowano z pędu i korzeni badanej rośliny i hodowano na podłożu PDA. Materiał infekcyjny wykorzystany w badaniach laboratoryjnych stanowiły krążki agarowe o średnicy 5 mm, wycinane korkoborem z pięciodniowych kultur *A. alternata*, trzydniowych kultur *B. cinerea* oraz ośmiodniowych kultur *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*.

- Środki ekologiczne, których ciecz użytkową do zaprawiania sporządzono zgodnie z zaleceniami producentów:

BIOCHIKOL 020 PC (chitozan) - 2,5% ciecz robocza, w której moczone nasiona przez 5 godzin bezpośrednio przed siewem. BIOZOS BR (miążga z czosnku) – jedną kostkę preparatu rozpuszczono w 0,7 l wody o temperaturze 45°C, intensywnie mieszano. Nasiona moczone w tak przygotowanej cieczy użytkowej (o temperaturze 20°C) przez 1 godzinę. BIOSEPT 33 SL (ekstrakt z pestek grejpfruta 33%) - 0,1% ciecz robocza, w której moczone nasiona w czasie 15 min (producent zaleca moczenie cebul i bulw, brak jest zaleceń dla zaprawiania nasion roślin uprawnych). GREVIT 200 SL (ekstrakt z grejpfruta - 200g w 1 litrze wody) - 0,5% ciecz robocza, w której moczone nasiona w czasie 2 min.

Kombinację kontrolną bezwzględną (KKB) stanowiły nasiona traktowane wodą destylowaną, a kombinację porównawczo kontrolną: KPK – SARFUN T 65 DS - karbendazym 20%, tiuram 45% - (sporządzony w postaci zawiesiny wodnej, którą pokrywano nasiona przez 3 min).

Doświadczenie przeprowadzono zgodnie z metodyką badań podaną przez Sas-Piotrowską i Piotrowskiego [14]. Założono je w czterech powtórzeniach, dokonując obserwacji dla każdego z 5 kryteriów oceny.

- Za kryterium zdrowotności korzeni przyjęto porażenie korzeni, które oceniano w skali 9 stopniowej, gdzie 1° - oznaczał brak objawów porażenia (korzenie i pędy zdrowe), natomiast 9° - korzenie porażone powyżej 70% (zbrunatniałe, zamarte). Analizę wariancji przeprowadzono na danych transformowanych wg wzoru Townsenda i Heubergera.

Jako kryterium żywotności wschodzących roślin przyjęto pomiary: długości pędów (cm), długości korzeni (cm), masy pędów (g), masy korzeni (g).

Uzyskane wyniki poddano ocenie statystycznej stosując analizę ANOVA dla układu czynników i korelację liniową z wykorzystaniem programu STATISTICA 6.0.

3. Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona analiza statystyczna wyników uzyskanych z doświadczenia wykazała, że zdrowotność korzeni i żywotność wschodzących roślin była istotnie zróżnicowana w zależności od zastosowanego środka ochrony roślin, porażenia przez patogena oraz współdziałania tych czynników.

Porażenie korzeni *C. arietinum* przez grzyby patogeniczne, w porównaniu do obiektu kontrolnego, istotnie najsilniej ograniczał biopreparat Grevit 200 SL (o 5,37%). Silny wzrost porażenia korzeni *C. arietinum* stwierdzono w przypadku środka Biochikol 020 PC (o 2,35%). W porównaniu do KPK (Sarfun T 65 DS) stwierdzono obniżenie stopnia porażenia korzeni o 35,82% (tab. 1). Również Horoszkiewicz-Janka i Jajor w swoich badaniach uzyskały istotnie najwyższe ograniczenie stopnia porażenia roślin przy zastosowaniu standardowej zaprawy ochrony roślin w porównaniu do badanych zapraw ekologicznych [2].

Żywotność korzeni uzależniona była od zastosowanego środka ochrony roślin. Istotny wzrost masy i długości pędów oraz korzeni obserwowano po zastosowaniu środka Biosept 33 SL. Analiza wyników wykazała, iż preparat Biochikol 020 PC wykazuje objawy fitotoksyczności w stosunku do nasion ciecierczy pospolitej. Wszystkie z analizowanych parametrów żywotności dla tego środka, w porównaniu do KKB zostały obniżone (masa korzeni i pędów odpowiednio o 91,80% i 83,25%; długość korzeni i pędów o 86,63% i 86,68%). Dostępne wyniki badań innych naukowców nie potwierdzają fitotoksyczność Biochikolu 020 PC, dla roślin uprawnych. Horoszkiewicz-Janke, Jajor, Lenc w swoich badaniach wykazują stymulujące działanie preparatu Biochikol 020 PC dla roślin uprawnych użytych w ich badaniach [2, 7].

Potwierdzono istotność współdziałania obu analizowanych czynników (zastosowana zaprawa x patogen) w kształtowaniu zdrowotności badanej rośliny.

W porównaniu do KKB istotne obniżenie stopnia porażenia korzeni *C. arietinum* stwierdzono w przypadku zastosowania zaprawy Grevit 200 SL. Inhibujące jej właściwości zaobserwowano w stosunku do czterech z pięciu patogenów poddanych badaniu. Biopreparat wykazywał hamujący wpływ na rozwój *A. alternata*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, odpowiednio o 7,12%, 7,60%, 5,66% oraz 6,06%. Właściwości inhibujące w stosunku do badanych patogenów stwierdzono również dla nasion zaprawianych biopreparatem Biosept 33 SL. Zaprawa ta hamowała wzrost i rozwój *A. alternata* (5,04%), natomiast dla pozostałych patogenów uzyskane wyniki były na poziomie obiektu kontrolnego. Również Orlikowski i Saniewska w swoich badaniach potwierdzają zahamowanie wzrostu grzybów patogenicznych przez ekstrakt z wyciągu z grejpfruta [10, 14].

Tab. 1. Zdrowotność i żywotność nasion *C. arietinum* inokulowanych grzybami patogenicznymi w zależności od zastosowanej zaprawy (odchylenia od kontroli, %)

Table 1. Healthiness and vitality of the seeds *C. arietinum* inoculated by pathogen fungi depending on an seed treatment (deviation from control, %)

Zaprawa Seed treatment	Porażenie korzeni Root infection	Masa korzeni Root mass	Długość korzeni Root length	Masa pędów Sprout mass	Długość pędów Sprout length
Biochikol 020 PC	2,35	-91,80	-86,63	-83,25	-86,68
Bioczos BR	0,11	17,15	37,97	450,32	102,04
Biosept 33 SL	-0,82	202,96	106,24	601,27	204,42
Grevit 200 SL	-5,32	57,83	93,88	436,94	75,98
KPK - Sarfun T 65 DS	-35,82	1618,52	1207,74	4284,08	1727,98
NIR (0,05) LSD (0,05)	1,91	136,02	55,51	456,05	115,93

Przeprowadzona analiza żywotności roślin (masa i długość korzeni oraz pędów) *C. arietinum* pozwoliła na uzyskanie informacji o ewentualnym fitotoksycznym lub stymulującym działaniu biopreparatów. Wyniki zebrane w tab. 2 wskazują, że części nadziemne i podziemne *C. arietinum* zareagowały wyraźnym zwiększeniem masy oraz długości korzeni dla nasion zaprawianych preparatem Grevit 200 SL. Istotny wzrost tych parametrów osiągnięto dla nasion zaprawianych tym biopreparatem i następnie inokulowanych grzybami z gatunku *B. cinerea*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. Obserwujemy również istotny wzrost masy pędów po inokulacji grzybem *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, natomiast wskaźniki pozostałych parametrów są na poziomie obiektu kontrolnego.

W porównaniu do zastosowanej kombinacji porównawczo kontrolnej (Sarfun T 65 DS) wszystkie z badanych biopreparatów wykazały niższe działanie ochronne dla nasion i wschodzących roślin *C. arietinum*.

Analiza wariancji wykazała, iż środki ekologiczne, których związkiem czynnym był ekstrakt z grejpfruta stymulowały wzrost i rozwój *C. arietinum*, natomiast inhibowały stopień porażenia przez grzyby patogeniczne zasiedlające nasiona, wschodzące rośliny i młode pędy ciecierzycy pospolitej. Wyniki te są potwierdzeniem pozytywnego wpływu ekstraktu z grejpfruta na kiełkowanie, wigor i zdrowotność nasion, jakie otrzymała w swoich badaniach Szopińska [16].

Przeprowadzona analiza współzależności statystycznej otrzymanych wyników zdrowotności i żywotności korzeni *C. arietinum* inokulowanych grzybami patogenicznymi

i potraktowanych biopreparatami wykazała, że w większości przypadków zmniejszeniu porażenia korzeni roślin, towarzyszył wzrost ich żywotności. Zależności takie ujawniły się najwyraźniej, po porównaniu porażenia korzeni *C. arietinum* z długością korzeni ($r = -0,971^{**}$) i ich masą ($r = -0,898^{**}$) oraz długością i masą pędów ($r = -0,841^{**}$, $r = -0,864^{**}$). Oddziaływanie biopreparatów na żywotność badanego gatunku, które oceniano w oparciu o części zielone (długość i masę pędów) oraz system korzeniowy (długość i masę korzeni), było istotnie skorelowane. Świadczy to o zgodnym kierunku i sile reakcji roślin *C. arietinum* na zastosowane do zaprawiania nasion środki ekologiczne. Wartości współczynników korelacji dla analizowanych kryteriów wynosiły odpowiednio: długość i masa korzeni $r = 0,940^{**}$, długość korzeni i pędów $r = 0,916^{**}$, długość korzeni i masa pędów $r = 0,911^{**}$, masa korzeni i długość pędów $r = 0,871^{**}$ oraz masa korzeni i pędów $r = 0,878^{**}$, długość i masa korzeni $r = 0,940^{**}$.

4. Wnioski

1. Zastosowanie zapraw ekologicznych do ochrony nasion ciecierzycy pospolitej, których związkiem czynnym jest ekstrakt z grejpfruta może podnieść odporność rośliny na grzyby patogeniczne.

2. Najskuteczniejszym biopreparatem obniżającym porażenie nasion *C. arietinum* przez patogeny był Biosept 33 SL, natomiast wzrost żywotności *C. arietinum* obserwowano po zastosowaniu biopreparatu Grevit 200 SL.

Tab. 2. Zdrowotność i żywotność nasion *C. arietinum* w zależności od zastosowanej zaprawy i użytego patogena (odchylenia od kontroli, %)
 Table 2. Healthiness and vitality of the seeds *C. arietinum* depending on a seed treatment and pathogen fungi (deviation from control, %)

Zaprawa Seed treatment	Patogen Pathogen	Porażenie korzeni Root infection	Masa korzeni Root mass	Długość korzeni Root length	Masa pędów Sprout mass	Długość pędów Sprout length
Biochikol 020 PC	<i>A. alternata</i>	6,83	-98,48	-95,06	-96,72	-93,94
	<i>B. cinerea</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<i>F. avenaceum</i>	1,72	-71,43	-83,75	-52,38	-81,69
	<i>F. culmorum</i>	1,41	-55,56	-75,93	-57,89	-76,79
	<i>F. oxysporum</i>	2,04	-45,88	-84,95	-21,37	-89,74
Bioczoz BR	<i>A. alternata</i>	2,07	9,38	-11,06	7,38	74,28
	<i>B. cinerea</i>	-0,25	25,00	157,14	50,00	113,64
	<i>F. avenaceum</i>	0,31	14,29	55,00	304,76	130,99
	<i>F. culmorum</i>	0,28	77,78	64,81	36,84	39,29
	<i>F. oxysporum</i>	-1,79	105,88	141,94	5090,84	163,79
Biosept 33 SL	<i>A. alternata</i>	-5,04	207,25	97,26	646,72	342,22
	<i>B. cinerea</i>	-0,56	1475,00	2014,29	1550,00	418,18
	<i>F. avenaceum</i>	0,31	28,57	92,50	90,48	60,56
	<i>F. culmorum</i>	1,13	11,11	18,52	-15,79	-21,43
	<i>F. oxysporum</i>	-0,15	82,35	122,58	663,36	106,03
Grevit 200 SL	<i>A. alternata</i>	-7,12	-23,28	9,84	63,93	21,16
	<i>B. cinerea</i>	0,00	675,00	785,71	0,00	40,91
	<i>F. avenaceum</i>	-7,60	564,29	161,25	1126,19	194,37
	<i>F. culmorum</i>	-5,66	555,56	211,11	415,79	107,14
	<i>F. oxysporum</i>	-6,06	488,24	179,57	3617,56	96,55
KPK - Sarfun T 65 DS	<i>A. alternata</i>	-28,20	348,16	391,07	870,49	781,64
	<i>B. cinerea</i>	-46,95	36900,00	52585,71	59900,00	17190,91
	<i>F. avenaceum</i>	-33,54	7400,00	1331,25	13233,33	1197,18
	<i>F. culmorum</i>	-33,09	10122,22	1866,67	11784,21	1575,00
	<i>F. oxysporum</i>	-36,79	3729,41	1095,70	7915,27	944,83
NIR (0,05) LSD (0.05)		4,28	304,72	124,39	1020,38	259,67

5. Literatura

- [1] Dziamba S., Waszczuk M.: Plonowanie odmian ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum* L.) w zróżnicowanych warunkach siedliskowych. Roczn. AR Pozn. Ogrodn. 31(323) cz. 2, s. 259-260. 2000.
- [2] Horoszkiewicz-Janka J., Jajor E.: The effect of seed dressing on healthiness of barley, wheat and rape in early development stages. Journal of Research and Application in Agriculture Engineering, 2006, Vol. 51(2), s. 47-53.
- [3] Kaczmarek-Cichosz R.: Chickpea (*Cicer arietinum* L.) – the possibilities of crop in ecological farms in the region of the Middle Pomeranian. Journal of Research and Application in Agriculture Engineering, 2009, Vol. 54(3), s. 115-117.
- [4] Kuś J., Jończak K.: Development of organic farming in Poland. Journal of Research and Application in Agriculture Engineering, 2009, Vol. 54(3), s. 178-182.
- [5] Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P.: Grzyby (Mycota). Warszawa-Kraków, XXII, s. 32-33. 1991.
- [6] Kwiatkowska E.: Phytoestrogens in the prevention of diseases. Postępy Fitoterapii. 2, s. 107-112. 2009.
- [7] Lenc L.: Efficacy of Biosept 33 SL in limiting of alternariosis on potato (*Alternaria* spp.) grown in organic farm. Journal of Research and Application in Agriculture Engineering, 2007, Vol. 52(3), s. 101-104.
- [8] Mazur S., Nawrocki J., Kućmierz J.: Zwalczenie grzybów porażających nasiona ciecierzycy (*Cicer arietinum* L.). Post.Ochr.Rośl. Vol. 42(2), s.829-831. 2002.
- [9] Mazur S., Nawrocki J., Kućmierz J.: Disease symptoms on chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their causal agents. Fol.Hort. 16(1), s. 47-53. 2004.
- [10] Orlikowski L., Skrzypczak Cz.: Biopreparat z wyciągu z grejpfruta – postęp w biologicznej ochronie roślin przed chorobami. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. EEE, Hort. 9, s. 261-269. 2001.
- [11] Poniedziałek M., Jędrszczyk E., Sękara A., Skowera B., Dzamba S.: The effect of locality and sowing term on chosen morphological features of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Fol.Hort.17(1), s. 37-46. 2005.
- [12] Poniedziałek M., Sękara A., Jędrszczyk E., Dzamba S.: Wpływ terminu siewu i lokalizacji na wysokość i jakość plonu dwóch odmian ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum* L.). Fol.Univ.Agricult.Stetin.Agricult. 95(239), s.319-323. 2004.
- [13] Poniedziałek M., Stokowska E., Sękara A.: Próba prognozowania długości fenofaz u ciecierzycy właściwej (*Cicer arietinum*) na podstawie układu warunków meteorologicznych. Zesz.Nauk. ATR Bydg.Rol. 42(215), s.197-201. 1998.
- [14] Saniewska A.: Oddziaływanie biopreparatu Biosept 33SL na *Phoma narcissi* Aderh. Progress in Plant Protection 42 (2), s. 801-803. 2002.
- [15] Sas-Piotrowska B., Piotrowski W.: Impact of plant extracts on vitality and root healthiness of leguminous plants inoculated by *Fusarium oxysporum* (Schl.). Middle Pomeranian Scientific Society of the Environment Protection. 5, s. 191-202. 2003.
- [16] Szopińska D., Dorna H., Tylkowska K.: The effects of grapefruit extract on germination, vigour and health of cabbage, onion and zinnia seeds. Roczn. AR Pozn. CCCLXXXIII, Ogrodn. 41, s. 631-636. 2007.
- [17] Szymona J.: Plant protection means applied in organic farms. Journal of Research and Application in Agriculture Engineering, 2009, Vol. 54(4), s. 137-139.
- [18] Wagner A.: Fungi colonizing wilting plants of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Hodowla Roślin Ogrodniczych u progu XXI wieku: Materiały VIII Ogólnopolskiego Zjazdu Naukowego Hodowców Roślin Ogrodniczych. T.2, s. 393-396. Lublin 1999.