

Vliv mikrobiologického preparátu na infekci cukrové řepy rizoktoniovou hnilobou *Rhizoctonia solani* Kühn

INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL PREPARATION ON SUGAR BEET INFECTION BY *RHIZOCTONIA SOLANI* KÜHN

Suzana Kristek¹, Ivo Rešić², Renata Bažok³, Jurica Jović¹, Ivana Varga¹

¹ Sveučilište J. J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Chorvatsko

² Sladorana d. d., Šećerana Županja, Chorvatsko

³ Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Chorvatsko

Cukrová řepa je náročná průmyslová plodina, která vyžaduje hluboké půdy s dobrými pedologickými, agrochemickými a mikrobiologickými vlastnostmi i řádnou agrotechniku. I když jsou však všechna agrotechnická opatření řádně prováděna, může mít průběh počasí velký vliv na rozvoj rizoktoniové hniloby cukrové řepy (*Rhizoctonia solani* Kühn).

Houba *Rhizoctonia solani* Kühn je hlavní příčinou rizoktoniové hniloby cukrové řepy. Infikuje řepné rostliny od jejich vzejtí po celou vegetační dobu, je také příčinou ztrát na řepných skládkách do doby zpracování bulev v cukrovaru. Intenzita infekce rizoktoniové hnilobou závisí jak na průběhu počasí během vegetačního období (1), tak i na fyziologických a mikrobiologických vlastnostech půdy. Půdy se špatnou strukturou či vodním a vzdušným režimem spolu s nízkým pH a kvalitativně i kvantitativně omezenou mikrobiální skladbou mají obvykle prokazatelně vyšší počet spor tohoto patogenu; z čehož vyplývá vyšší riziko infekce pro mladé řepné rostlinky (2, 3, 4).

Existuje rostoucí zájem na aplikaci mikrobiologických preparátů obsahujících mikroorganismy s příznivým mikrobicidním efektem na půdní patogeny a vlivem na intenzitu humifikace organické hmoty a mineralizaci humusu v půdě. Mimoto, jak uvádějí někteří autoři (5, 6, 7, 8), je nutné, aby všechny tyto přirozené zdroje byly orientovány na maximální účinek kombinací kmenů mikroorganismů nepůsobících konkurenčně či antagonisticky, ale pozitivně synergicky.

EM Aktiv je mikrobiotický preparát komplexního účinku obsahující bakteriální kmeny fixující vzdušný dusík, bakterie podporující procesy humifikace a mineralizace půdy a kromě toho i užitečné bakterie s mikrobicidním účinkem na půdní

patogen působící rizoktoniovou hnilobu řepy. Tyto vlastnosti nás vedou k hypotéze, že aplikace EM Aktiv může redukovat infekci cukrové řepy patogenní houbou *R. solani* Kühn.

Materiál a metody

Výzkum rizoktoniové hniloby způsobený patogenní houbou *R. solani* Kühn byl prováděn na dvou typech půd, typické hnědozemí a organogenním gleji (tab. I.) v letech 2013 a 2014 v kompletně znárodněném blokovém schématu ve čtyřech opakováních a 12 různých variantách, v nichž byly zařazeny dvě tolerantní odrůdy (Santino od firmy Strube a Jadranka od firmy KWS) a dvě odrůdy k této patogenní houbě citlivé (Fred od firmy Strube a Terranova od firmy KWS).

Byly zvoleny tři rozdílné varianty aplikace mikrobiologického preparátu: kontrola (1), ošetření půdy před výsevem (2) a ošetření před výsevem a na list (3) s biopreparátem EM Aktiv



Rhizoctonia solani s myceliem na bulvě řepy (foto: V. Bittner)

Tab. I. Vlastnosti půd, na kterých probíhal výzkum

Sledovaný parametr (0–30 cm)	Půdní typ	
	typická hnědozem	organogenní glej
pH (H ₂ O)	6,62	7,49
pH (KCl)	5,79	6,65
Obsah humusu (%)	1,88	2,90
P (mg.100 g ⁻¹ půdy)	21,43	25,38
K (mg.100 g ⁻¹ půdy)	20,07	24,76

Tab. II. Průměrný (2013 a 2014) podíl infikovaných a uhynulých rostlin v důsledku infekce *Rhizoctonia solani* Kühn ve fázi 2–4 pravých listů

Odrůda	Var.	Hnědozem		Organogenní glej		Průměr A (%)	Průměr B (%)	
		A (%)	B (%)	A (%)	B (%)			
Tolerantní k <i>R. solani</i>	Santino	1	23,33	15,91	21,56	14,07	22,45	14,99
		2	8,97	6,08	8,40	5,02	8,69	5,55
		3	9,17	6,46	8,11	5,14	8,64	5,80
	Jadranka	1	21,87	15,06	21,02	14,72	21,45	14,89
		2	7,88	5,56	7,56	5,13	7,72	5,35
		3	7,94	5,10**	7,28*	4,73**	7,61	4,92
Citlivá k <i>R. solani</i>	Fred	1	31,15	21,11	29,04	18,95	30,10	20,03
		2	13,73	9,11	10,63	6,81	12,18	7,96
		3	12,90	8,89	10,81	7,11	11,86	8,00
	Terranova	1	26,44	19,58	25,03	16,79	25,74	18,19
		2	10,96	7,44	9,81	6,05	10,39	6,75
		3	11,14	7,50	9,96	6,03	10,55	6,77
LSD _{0,05}			0,27	0,13	0,22	0,11	0,24	0,11
LSD _{0,01}			0,41	0,24	0,37	0,19	0,40	0,21

Varianty: A – infikované rostliny; B – uhynulé rostliny 1 – kontrola; 2 – aplikace na půdu; 3 – aplikace na půdu + rostlinu

(EM Technology, Valpovo, Chorvatsko), který obsahuje užitečné bakterie (*Pseudomonas fluorescens* Migula, *Bacillus megaterium* de Bary, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn a LAB – lactic acid bacteria), které vysoce antagonisticky působí proti patogenní houbě *R. solani* Kühn.

Tab. III. Průměrný (2013 a 2014) výnos kořene

Odrůda	Var.	Hnědozem	Org. glej	Průměr	
		výnos kořene (t.ha ⁻¹)			
Tolerantní k <i>R. solani</i>	Santino	1	66,02	69,56	67,79
		2	71,60	72,83	72,22
		3	71,45	73,25	72,35
	Jadranka	1	68,05	71,32	69,69
		2	72,39	75,16	73,78
		3	71,96	74,56	73,26
Citlivá k <i>R. solani</i>	Fred	1	56,62	61,17	58,90
		2	70,44	72,11	71,28
		3	71,26	72,93	72,10
	Terranova	1	58,03	62,85	60,44
		2	73,10	74,09	73,60
		3	72,03	74,60	73,32
LSD _{0,05}			0,92	0,79	0,83
LSD _{0,01}			1,74	1,58	1,63

Varianty: 1 – kontrola; 2 – aplikace na půdu; 3 – aplikace na půdu + rostlinu

Mikrobiologický přípravek EM Aktiv byl aplikován před setím (povrchová aplikace s následným zavláčením do půdy) v dávce 40 l.ha⁻¹ a před setím v dávce 30 l.ha⁻¹ s následnou aplikací na list v dávce 10 l.ha⁻¹ ve fázi zakrývání řádků cukrové řepy.

Procentický podíl rostlin napadených patogenní houbou *R. solani* Kühn a rostlin uhynulých byl zjišťován ve fázi 2–4 pravých listů. Při sklizni provedené v polovině října byl zjištěn výnos kořene, cukernatost a výnos cukru. Výsledky byly zpracovány moderní statistickou metodou (ANOVA) s využitím programu StatSoft Inc. Statistica, zahrnující softwarovou analýzu dat (9).

Výsledky a diskuze

Infikované a uhynulé rostliny

Nejnižší počet infikovaných a uhynulých rostlin zjišťovaný ve fázi 2–4 pravých listů byl na obou typech půd a v obou letech sledování (tab. II.) získán u variant 2 a 3, i když ve většinou nebyly rozdíly mezi těmito variantami statisticky významné.

Získané výsledky jsou v souladu s poznatky WHIPPSE (8), který uvádí, že pro rostliny inokulované bakterií *P. fluorescens* Migula byl charakteristický velmi rychlý počáteční růst, který umožnil rychlý přechod citlivou fází růstu cukrové řepy, v níž se nejvíce projevovalo poškození patogenem. V důsledku zjevného

Tab. IV. Průměrná (2013 a 2014) cukernatost

Odrůda	Var.	Hnědozem	Org. glej	Průměr	
		cukernatost (%)			
Tolerantní k <i>R. solani</i>	Santino	1	13,68	14,05	13,87
		2	14,76	15,26	15,01
		3	14,01	15,45	14,73
	Jadranka	1	13,95	14,36	14,16
		2	14,90	15,60	15,25
		3	14,74	15,48	15,11
Citlivá k <i>R. solani</i>	Fred	1	12,77	12,96	12,87
		2	14,20	14,55	14,38
		3	14,39	14,78	14,59
	Terranova	1	13,02	13,45	13,24
		2	14,75	15,07	14,91
		3	14,68	14,98	14,83
LSD _{0,05}			0,144	0,180	0,158
LSD _{0,01}			0,250	0,311	0,279

Varianty: 1 – kontrola; 2 – aplikace na půdu; 3 – aplikace na půdu + rostlinu

antagonismu bakterie k původci rizoktoniové hniloby cukrové řepy, houbě *R. solani* Kühn, bylo zjištěno vysoké procento přežití inokulovaných rostlin proti neinokulovaným a nižší poškození infikovaných rostlin, což se odráží ve výnosu cukru

Výnos kořene

Nejvyšší průměrné výnosy kořene, a to v obou půdních typech a obou sledovaných letech, byly získány u variant 2 a 3 (tab. III.), přestože u většiny odrůd nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi těmito dvěma variantami. Nejvyšší výnos kořene ze zkoušených odrůd dosáhla citlivá odrůda Terranova na hnědozemí.

P. fluorescens Migula produkuje cyklické lipopeptidy indukující antibiotické vlastnosti vůči patogenní houbě na kořenech cukrové řepy (10, 11). Tím je redukována možnost infekce, což znamená, že je infikováno méně rostlin a intenzita infekce je slabší. Kromě toho vyvolává produkce antibiotických látek zjevný antagonismus u *P. fluorescens* Migula (12), která je tak přímým konkurentem patogenní houbě jak v souboji o živinu, tak i na infekčních bodech kořenového povrchu (4, 13). *P. fluorescens* Migula ukazuje vynikající biosurfaktantní vlastnosti (10) a obecně zlepšuje pěstební podmínky, což u polních plodin ovlivňuje výnos a kvalitu. DUJFF ET AL. (14) na základě výsledků svých výzkumů uvádí, že *P. fluorescens* Migula stimuluje příjem živin, zvyšuje intenzitu fotosyntézy a rozpustnost anorganických forem fosforu. Kromě toho tato bakterie zlepšuje vitalitu rostlin a zvyšuje výnos o 15–20 % (4).

Cukernatost

Nejvyšších hodnot cukernatosti bylo v obou letech a na obou půdních typech dosaženo u variant 2 a 3 (tab. IV.). Podobné výsledky byly získány i v jiných sledováních (2, 5).

Výnos cukru

Nejvyšší výnos cukru byl v obou letech sledování a na obou půdních typech získány u variant 2 a 3 (tab. V.), avšak ve většině případů mezi nimi nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Obě varianty aplikace mikrobiologického preparátu ve srovnání na kontrolu zvýšily výnos cukru o 1,14 t.ha⁻¹.

Výnos cukru vysoce průkazně pozitivně koreloval s výnosem kořene ($r = 0,944$; $p < 0,01$) a cukernatostí ($r = 0,961$; $p < 0,01$).

Závěr

Na základě provedených sledování vlivu aplikace mikrobiologického preparátu na infekci cukrové řepy rizoktoniovou hnilobou lze učinit tyto závěry:

- Nejlepší výsledky ve všech sledovaných znacích byly zjištěny při aplikaci mikrobiologického preparátu.
- Ve většině případů nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi variantami 2 a 3.
- S ohledem na skutečnost, že patogenní bakterie jsou schopny rychle vyvinout rezistenci vůči chemickým fungicidům, které jsou vystaveny vyplavení různého stupně a způsobují tak zamoření spodních vod, můžeme z ekonomických i ekologických důvodů považovat aplikaci biopřípravků do půdy za akceptovatelnou možnost řešení.

Tab. V. Průměrný (2013 a 2014) výnos cukru

Odrůda	Var.	Hnědozem	Org. glej	Průměr	
		výnos cukru (t.ha ⁻¹)			
Tolerantní k <i>R. solani</i>	Santino	1	8,89	9,51	9,20
		2	9,79	10,58	10,19
		3	9,61	10,89	10,25
	Jadranka	1	9,04	9,98	9,51
		2	9,81	10,75	10,28
		3	9,73	10,56	10,15
Citlivá k <i>R. solani</i>	Fred	1	7,48	8,96	8,22
		2	9,12	10,04	9,58
		3	9,05	10,11	9,58
	Terranova	1	8,01	9,13	8,57
		2	9,63	10,57	10,10
		3	9,49	10,48	9,99
LSD _{0,05}		0,088	0,096	0,091	
LSD _{0,01}		0,142	0,167	0,153	

Varianty: 1 – kontrola; 2 – aplikace na půdu; 3 – aplikace na půdu + rostlinu

Předkládané výsledky jsou částí výzkumného projektu IPA: „Zlepšení spolupráce mezi vědou, průmyslem a zemědělci: Přenos technologie integrované ochrany cukrové řepy ke zvýšení příjmu pěstitelů a snížení použití pesticidů“ (IPA 2007/HR/16IPO/001-040511).

Souhrn

V pěstování cukrové řepy, závislé na klimatických podmínkách, síle napadení půdními patogeny a pěstební technologii, se objevil problém rizoktoniové hniloby. Z patogenů, které tuto chorobu vyvolávají, nejvíce škod vyvolává houba *Rhizoctonia solani* Kühn. S ohledem na chemické a mikrobiologické vlastnosti půdy byl pokus proveden na dvou půdních typech: typické hnědozemí a organogenním gleji.

Pokus byl založen v roce 2013 v kompletně znárodněném pokusném bloku, ve čtyřech opakováních a 12 různých variantách, v nichž byly zařazeny dvě tolerantní odrůdy a dvě odrůdy na tuto patogenní houbu citlivé.

Zvoleny byly tři rozdílné varianty aplikace mikrobiologického preparátu: kontrola (1), ošetření půdy před výsevem (2) a ošetření před výsevem a na list (3) biohnojivem EM Aktiv (Em Technology, Valpovo, Chorvatsko), které obsahuje užitečné bakterie (*Pseudomonas fluorescens* Migula, *Bacillus megaterium* de Bary, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn a LAB – lactic acid bacteria), které vysoce antagonisticky působí proti patogenní houbě *R. solani* Kühn. V 2. variantě byl mikrobiologický přípravek EM Aktiv aplikován před setím (povrchová aplikace s následným zavlačením) v dávce 40 l.ha⁻¹ u 3. varianty byl aplikován před setím v dávce 30 l.ha⁻¹ spolu s následnou aplikací na list v dávce 10 l.ha⁻¹ ve fázi zakrývání řádků.

Podíl rostlin napadených patogenní houbou *R. solani* Kühn a rostlin uhynulých byl stanoven ve fázi 2–4 pravých listů. Při sklizni provedené v polovině října byl dále zjištěn výnos kořene, cukernatost a výnos cukru.

Klíčová slova: cukrová řepa, *Rhizoctonia solani*, mikrobiologický přípravek, výnos, kvalita kořene.

Literatura

- DIRCKS, C.; BEHN, A.; VARRELMANN, M.: *Optimization of sugar beet *Rhizoctonia solani* resistance test in field trials by irrigation and fleece cover*. Institute of Sugar Beet Research, Göttingen, Germany, 2011.
- KRISTEK, S. ET AL.: Influence of bacterium *Pseudomonas fluorescens* on the pathogen of root rot *Rhizoctonia solani*, storage period and elements of sugarbeet yield and quality. *Zuckerind.*, 132, 2007 (7), s. 568–575.
- KÜHN, J.; RIPPEL, R.; SCHMIDHALTER, U.: Abiotic soil properties and the occurrence of *Rhizoctonia crown* and root rot in sugar beet. *J. Plant Nutrition and Soil Sci.*, 172, 2009, s. 661–668.
- SANGHEZ, C.: Symbiosis: Establishing the roots of a relationship. *Nature Rev. Microbiology*, 9, 2011, s. 629–630.
- KRISTEK, S. ET AL.: Influence of Sugar Beet Treatment with *Pseudomonas fluorescens* and Low Fungicide Doses on Infection with *Pythium* and Plant Yield and Quality. *Journal of Phytopathology*, 154, 2006, s. 622–625.
- SORENSEN, D. ET AL.: Cyclic lipoundecapeptide amphisin from *Pseudomonas* sp. Strain Dss73. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 57, 2001, s. 1123–1124.
- THRANE, C. ET AL.: Viscosinamide – producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 33, 2000, s. 139–146.
- WHIPPS, J. M.: Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52, 2001, s. 487–511.
- Dell Statistica*. [online] www.statsoft.com.
- NIELSEN, T. H. ET AL.: Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *J. Appl. Microbiol.* 87, 1999, s. 80–90.
- KOCH, B. ET AL.: Lipopeptide production in *Pseudomonas* spp. strain Dss73 is regulated by components of sugar beet seed exudates via the Gac two – component regulatory system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2002, s. 4509–4516.
- ELAD, Y.; BAKER, R.: Influence of trace amounts of cations and siderophores producing pseudomonads on chlamyospore germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 75, 1985, s. 1047–1052.
- NEU, T. R.: Significance of bacterial surface – active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiol. Rev.* 60, 1996, s. 151–166.
- DUIJFF, B. J. ET AL.: Siderophore mediated competition for iron and induced disease resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Neth. J. Plant Pathol.*, 99, 1993, s. 277–291.

Kristek S., Rešić I., Bažok R., Jović J., Varga I.: Influence of Microbiological Preparation on Sugar Beet Infection by *Rhizoctonia solani* Kühn

In the sugar beet production, dependent on climatic conditions, level of infestation with soil pathogens and on agrotechnology, the problem of sugar beet root rot appeared. Of pathogens which cause sugar beet root rot, most damage is caused by the fungi *Rhizoctonia solani* Kühn. Taking into consideration the chemical and microbiological properties of the soil, the experiment was conducted on two soil types: Eutric brown soil and Humogley.

The experiment was set up in 2013 in a completely randomized block design with four replications and 12 different variants, which included two tolerant and two sensitive hybrids to this pathogenic fungus.

Three different application of microbiological preparation were selected: control (1), the soil was treated pre-sowing (2), and pre-sowing and foliar treatment (3) with the biofertilizer EM Aktiv, which contains beneficial bacteria (*Pseudomonas fluorescens* Migula, *Bacillus megaterium* de Bary, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, lactic acid bacteria) that show extremely antagonistic action against pathogenic fungi *R. solani* Kühn. In the second variant, the microbiological

preparation EM Aktiv was applied pre-sowing (applied to the soil and incorporated by seed harrow) at the dose of 40 l ha⁻¹, and in the third variant it was applied pre-sowing at the dose of 30 l ha⁻¹ with a foliar application of 10 l ha⁻¹ (in the phase of closing of rows).

The percentage of the plants infected with pathogenic fungi *R. solani* Kühn and percentage of decayed plants were determined in 2–4 true leaves phase. After harvest in the middle of October, root yield, sugar content and sugar yield were determined.

Key words: sugar beet, *Rhizoctonia solani*, microbiological preparation, yield, root quality.



Rostlina cukrové řepy po napadení rizoktoniovou hnilobou *Rhizoctonia solani* (foto: V. Bittner)

Kontaktní adresa – Contact address:

Ph.D. Suzana Kristek, full professor, University of J. J. Strossmayer Faculty, of Agriculture, Kralja P. Svačića 1d, 31000 Osijek, Republic of Croatia, e-mail: skristek@pfos.hr