

REZULTATI PREIZKUŠANJA UČINKOVITOSTI SREDSTEV ZA ZATIRANJE BAKTERIJE *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.* V NASADU HRUŠK

¹Mario LEŠNIK, ²Stanislav VAJS, ³Jože MIKLAVC, ⁴Boštjan MATKO, ⁵Miro MEŠL

^{1,2} Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede
^{3,4,5} KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor

IZVLEČEK

Izveden je bil poljski poskus v katerem smo preučevali biotično učinkovitost različnih formulacij bakrovih pripravkov (fungicidov in listnih gnojil) za zatiranje bakterije *Erwinia amylovora* Burill povzročiteljice bakterijskega ožiga hrušk. V času cvetenja smo 4 krat, vsakič v odmerku 300 g Cu⁺⁺/ha, nanесли pripravke na podlagi Cu-Ca-oksiklorida, Cu-sulfata in spojin bakra vezanega v kompleksnih ali kelatnih oblikah z amino kislinami, peptidi, EDTA, sečnino, oktanojsko kislino in glukonsko kislino. Po cvetenju smo po standardnih metodah določili biotično učinkovitost pripravkov za preprečevanje cvetnih okužb in okužb poganjkov. Doseženo učinkovitost bakrovih pripravkov smo primerjali z učinkovitostjo pripravkov na podlagi kvasovke *Aureobasidium pullulans* (AP) in bakterije *Bacillus subtilis* (BS). Najvišjo učinkovitost za zatiranje cvetnih okužb oz. okužb poganjkov smo ugotovili pri pripravkih na podlagi Cu-glukonata (57,7 % / 63,8 %), Cu-proteinskega kompleksa (50,7 % / 57,0 %) in Cu-Ca-oksiklorid-amino kompleksa (50,6 % / 53,7 %). Učinkovitost pripravka na podlagi AP je bila 43,7 % / 15,4 % in na podlagi BS 47,1 % / 10,8 %. Glede na rezultate našega poskusa imajo nove sistemično delujoče formulacije bakrovih pripravkov višjo učinkovitost od tradicionalnih formulacij bakrovih pripravkov in od mikrobno delujočih AP in BS pripravkov.

Ključne besede: bakrove spojine, hruška, *Erwinia amylovora*, zatiranje bolezni, *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus subtilis*

ABSTRACT

EVALUATION OF PREPARATIONS FOR CONTROL OF PEAR FIRE BLIGHT (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*)

A field trial was carried out in order to determine the biological efficacy of several copper formulations (fungicides or foliar fertilizers) for pear (*Erwinia amylovora* Burill) fire blight control. Formulations based on copper calcium oxychloride, copper sulphate, and complexes or chelates of copper with amino acids, peptides, EDTA, urea, octanoic acid and gluconic acid were applied 4 times during blooming of pears at a rate of 300 g pure copper ions (Cu⁺⁺) per hectare. Standard evaluations of efficacy of formulations for blossom and twig blight control were performed shortly after the end of blooming. The efficacy of copper formulations was compared to the efficacy of two biological preparations based on yeast *Aureobasidium pullulans* (AP) and bacterium *Bacillus subtilis* (BS). The highest control rate of blossom/twig blight was achieved by the application of systemic acting Cu-gluconate (57.7 % / 63.8 %),

¹ izr. prof., dr., univ. dipl. inž. kmet., Pivola 10, SI-2311 Hoče

² mag., univ. dipl. inž. kmet., prav tam

³ mag., univ. dipl. ing. agr., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

⁴ univ. dipl. ing. agr., prav tam

⁵ univ. dipl. ing. agr., prav tam

Cu-protein complex (50.7 % / 57.0 %) and Cu-Ca-oxochloride-amino complex (50.6 % / 53.7 %). The achieved efficacy of AP based product was 43.7 % / 15.4 % and of BS based product was 47.1 % / 10.8 %. New systemic acting copper formulations have, according to our results, higher biological efficacy for pear blossom or twig blight control than traditional copper preparations or microbial AP and BS based preparations.

Key words: copper, pear, *Erwinia amylovora*, control, *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus subtilis*

1 UVOD

Hrušev ožig, ki ga povzroča bakterija (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*) je bolezen pečkatih sadnih vrst in okrasnih rastlin, ki se je v zadnjem desetletju razširila in ustalila skoraj po vsem ozemlju Slovenije. Sadjarji morajo v okviru pridelovalnih aktivnosti izvajati vse možne preventivne in neposredne zatiralne ukrepe, da preprečijo nastanek obsežne gospodarske škode. V svetovnem merilu se za aktivno preprečevanje okužb cvetov in zelenih delov gostiteljskih rastlin uporabljajo antibiotiki, razne kemične snovi z baktericidnim delovanjem in biotični pripravki na podlagi mikroorganizmov. V Sloveniji sadjarji nimajo možnosti uporabljati antibiotike. Varstvo pred okužbami z bakterijo temelji predvsem na uporabi pripravkov na podlagi bakra, Al-fosetila, snovi proheksadion-Ca in biotičnih pripravkov Blossom protect in Serenade. V poljskem poskusu smo želeli narediti primerjavo glede stopnje učinkovitosti nekaterih sredstev, ki jih je možno uporabiti za zatiranje bakterije povzročiteljice hruševega ožiga.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Poskus je bil izveden v nasadu hrušk na poskusnem posestvu UKC Pohorski dvor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor. Poskusne parcelice so bile dolge 25 metrov in široke eno vrsto hrušk (20 dreves) ter razporejene po zasnovi naključnih blokov v štirih ponovitvah. Nanos pripravkov smo izvedli z nahrbtno škropilnico Stihl pri porabi vode 800 l/ha. Pripravke smo nanесли skladno z dinamiko odpiranja cvetov, z analizo vremenske napovedi in glede na prognozo sistema Maryblyt. Če smo predvideli pojav padavin in možnost, da bi povprečna dnevna temperatura nihala v območju med 13 in 16 °C smo nanos pripravkov izvedli en dan pred dežjem. Pregled v poskusu uporabljenih pripravkov je viden v preglednici 1. Nekateri podatki o vremenskih razmerah, dinamiki odpiranja cvetov in ocenah, ki jih je podal sistem Maryblyt so vidni v preglednici 2.

2.1 Sistem ocenjevanja stopnje okužbe socvetij in poganjkov

Vsako drevo znotraj tretiranih parcelic smo natančno opazovali in na njem pregledali vsa socvetja in 40 naključno izbranih poganjkov. V poskusu smo imeli majhna drevesa in cvetni nastavek je bil skromen, tako da smo dejansko lahko pregledali vsa socvetja na drevesih. Pri vsakem izbranem poganjku in socvetju smo dali oceno 0 ali 1 (ocena 0 – okužbe ni, ocena 1 – okužba vidna). Ocen stopnje okuženosti poganjkov glede na delež uničene površine poganjka v tem besedilu ni. Nato smo izračunali delež okuženih socvetij, oziroma poganjkov. Tako smo na primer na drevesu izmed 20 opazovanih socvetij našli 3 okužena, kar predstavlja 15% okužbo ($(3/20) \times 100 = 15\%$). Odstotek okuženih poganjkov ali socvetij na tretiranih parcelicah smo primerjali z odstotkom na kontrolnih parcelicah in izračunali učinkovitost pripravkov $UC (\%) = 100 - ((\% \text{ okuženih tretirano}) / (\% \text{ okuženih kontrolna parcelica})) \times 100$. Tako smo dobili ocene učinkovitost socvetja in učinkovitost poganjkov 1 (glej preglednico 3).

Ob ocenjevanju smo takoj izrezali napadena socvetja in poganjke ter vsako odrezano mesto označili z barvo. Oceno okužbe socvetij smo naredili 11. 5., oceno okužbe poganjkov pa

teden dni pozneje. 21 dni po tem smo naredili še oceno hitrosti prodiranja bakterije skozi tkiva poganjkov in vej in vpliv okužb na propadanje poganjkov, ki v času prvega ocenjevanja niso bili okuženi, so pa propadli pozneje. Z metrom smo izmerili dolžino območja vejic, kjer so bile vidne spremembe na tkivih vejic povzročene od bakterije (dolžina od rezne ploskve do meje zdravega tkiva). Podatek relativna hitrost prodiranja bakterije smo dobili tako, da smo dolžino okužene cone delili s 3, ker smo meritve opravili po treh tednih od izrezovanja okuženih delov. Ocenili smo tudi delež stranskih odgnanih poganjkov in poganjkov, ko so bili v neposredni bližini odrezanega mesta, in ki so kazali znamenja okužbe (sušenje, venenje, rjavenje, rumenenje, ...). Delež poganjkov, ki so bili okuženi za odrezanim mestom pri kontrolnih drevesih smo primerjali z deležem pri tretiranih drevesih. Tako smo po enakem sistemu, kot pri oceni učinkovitost poganjki 1, dobili oceno učinkovitost poganjki 2.

Preglednica 1: Pregled uporabljenih pripravkov in odmerkov. Pri vsakem nanosu smo pri vseh pripravkih vedno nanosili 300 g Cu⁺⁺ / ha.

Ime pripravka:	Kemična oblika bakra: K – kontaktno delovanje S – delno sistemsko delovanje	Vsebnost Cu ++ g / kg:	Odmerek pripravka. g / ha	
Cuprablau Z	Cu-Ca-oksiklorid	K	350	855
Kupro	Cu-okso-sulfat	K	190	1578
Coptrel *	Cu-oksidi-urea kompleks	K	330	915
Labicuper *	Cu-glukonat kompleks	S	68	4400
CoperProtein *	Cu-hidroksid-peptidat kompleks	S	28	10715
Aliette	Al-fosetil	S	800	5000
Atempo ND *	Cu-oktanoat	S	18	16666
Peptiram *	Cu-sulfat-peptidat kompleks	S	50	6000
Gnojilo CC *	Cu-Ca-oksiklorid- amino kompleks	S	27	9375
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	/	/	4000
BlossomProtect	<i>Aureobasidium pullulans</i>	/	/ a 10500 + b 1500	
Cutisan	Kaolinitna glina	K	/	5000

* Pripravki označeni z zvezdico so listna gnojila ali sredstva za krepitev rastlin.

Preglednica 2: Pregled vremenskih in epidemioloških razmer ter obdobja nanosov pripravkov za preprečevanje okužb z bakterijo *E. amylovora*. Cu – nanos bakrovih pripravkov, BIO – nanos pripravkov na podlagi *B. subtilis* in *A. pullulans*, Dpad – količina dnevnih padavin, Dtemp – povprečna dnevna temperatura.

Datum:	Dpad:	Dtemp:	Delež odprtih cvetov:	Komentar po modelu Maryblyt (org. angl. izpis) in splošni komentar:
16. 4.	2 mm	10,4 °C	0,5 %	tik pred začetkom cvetenja, 1 x Cu
17. 4.	1 mm	10,2 °C	1 %	postopno odpiranje cvetov
18. 4.	4 mm	8,0 °C	3 %	postopno odpiranje cvetov
19. 4.	0 mm	11,9 °C	15 %	degree days diseases clock 15
20. 4.	0 mm	14,8 °C	35 %	degree days diseases clock 20
21. 4.	8 mm	13,2 °C	50 %	Polovično cvetenje, 2 x Cu, 1 x BIO
22. 4.	2 mm	7,8 °C	60 %	canker margin symptoms 15 %
23. 4.	0 mm	9,4 °C	80 %	canker margin symptoms 15 %
24. 4.	0 mm	13,7 °C	85 %	canker margin symptoms 20 %
25. 4.	0 mm	16,2 °C	90 %	canker margin symptoms 20 %
26. 4.	0 mm	16,5 °C	90 %	3 x Cu, 2 x BIO, infection risk medium
27. 4.	0 mm	16,3 °C	85 %	blossom infection risk medium
28. 4.	0 mm	15,3 °C	40 %	blossom infection risk medium
29. 4.	0 mm	15,0 °C	30 %	blossom infection risk medium
30. 4.	0 mm	18,8 °C	15 %	4 x Cu, 3 x BIO, infection risk high, treatment recommended

1. 5.	2 mm	18,4 °C	10 %	blossom infection risk high
2. 5.	0 mm	17,0 °C	3 %	blossom infection risk high
3. 5.	0 mm	15,3 °C	3 %	blossom infection 0-1 % done
4. 5.	4 mm	13,4 °C	3 %	blossom infection 1-4 % done
5. 5.	19 mm	12,9 °C	2 %	blossom infection 1-7 % done
6. 5.	6 mm	13,6 °C	2 %	blossom infection risk medium
7. 5.	2 mm	13,6 °C	2 %	blossom infection 1-15 % done
8. 5.	4 mm	11,6 °C	1 %	blossom infection risk low
9. 5.	10 mm	14,0 °C	1 %	blossom infection risk medium
10. 5.	0 mm	15,4 °C	0 %	blossom infection 25 % done
11. 5.	0 mm	15,4 °C	0 %	prva ocena, izrezovanje okuženih socvetij

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

Rezultati poskusa so vidni v preglednici 3. Glede učinkovitosti za preprečevanje okužb cvetov so si bili preizkušani pripravki dokaj enakovredni in med njimi ni bilo večjih razlik. Pri aplikaciji poskusnega standarda (Aliette) smo dosegli nekaj nižjo učinkovitost (42 %), kot smo pričakovali. Učinkovitost bakrovih pripravkov je bila nekaj višja od učinkovitosti biotičnih pripravkov (Blossom (43,7 %) in Serenade (47,1 %)). Razmere za razvoj bolezni so bile srednje ugodne. V kontrolnih parcelicah smo imeli od 5 do 17 % okuženih socvetij.

Podatki glede učinkovitosti preprečevanja okužb poganjkov kažejo na nekoliko večje razlike med pripravki. Učinkovitost obeh biotičnih pripravkov je bila pričakovano nizka, saj vemo, da sta mikroorganizma, ki jih pripravka vsebujeta namenjena predvsem antagonističnemu preprečevanju razvoja bakterij na cvetnih organih in manj na površju poganjkov. Podatki kažejo, da imajo delno sistemsko delujoče formulacije bakrovih gnojil (npr. Labicuper, CoperProtein, Gnojilo CC) nekaj višjo učinkovitost, kot klasične oblike bakrovih pripravkov (Cuprablau in Kupro). To je možno pojasniti s tem, da v komplekse vezani bakrovi ioni v večjem obsegu prodrejo v notranjost poganjkov in delno ovirajo razvoj bakterij v prevodnem sistemu vejic. To je mehanizem delovanja, ki ga pričakujemo tudi pri Al-fosetilu (Aliette). Zaradi omenjenega sistemnega učinka smo pričakovali, da bo relativna hitrost prodiranja bakterije skozi tkiva vejic in poganjkov pri uporabi sistemsko delujočih pripravkov manjša, kot pri ostalih pripravkih. Rezultati kažejo v to smer, vendar razlike med pripravki niso bile statistično značilne.

Pri ocenjevanju stopnje okužbe poganjkov se srečujemo s težavo, kako ločiti poganjke, ki so bili okuženi po poti površinskega prodora bakterije v poganjek, od poganjkov, ki so propadli zaradi notranje sistemske infekcije. Pri poganjkih, ki se razvijajo na latentno okuženih vejah in se okužijo od znotraj ne moremo pričakovati, da bi pripravki, ki se nahajajo zunaj na površju imeli kakršen koli merljiv učinek na bakterije v notranjosti.

Latentne okužbe dreves so v naših razmerah precej podcenjena nevarnost. Iz izkušenj pridobljenih v obdobju od 2003 do 2010 vemo, da imamo v nižinskih nasadih (200 do 500 m n.m.v.) le redko idealne razmere za okužbe cvetov. Vzrok so nizke temperature v času cvetenja (tako pri jablani, kot pri hruški). Opazili pa smo, obsežen pojav bolezni v poletnem času v višjih legah (500 do 800 m n.m.v.). To je povezano z bistveno poznejšim cvetenjem in z obsežnim pocvetanjem. Zaradi pocvetanja se v nižinskih nasadih pojavijo pozne cvetne okužbe, ki jih navadno spregledamo. Razvoj bakterije je počasen in bakterija preide v poganjek, kjer se zelo počasi razvija brez pojavov obsežnega sušenja vejic. Tako se nam v nasadu postopoma, skoraj neopazno, povečuje delež latentno okuženih dreves. V njih bakterija živi več let, do neke sezone, ko se pojavijo idealne razmere za cvetne okužbe. V naših nižinskih nasadih je to enkrat do dvakrat v desetih letih.

Če si pogledamo rezultate dosežene pri drugem ocenjevanju stopnje okužbe poganjkov (desni del preglednice 3) vidimo bolj očitne razlike med delno sistemsko delujočimi in klasičnimi formulacijami bakrovih pripravkov. Morda bi lahko z uporabo sistemskih bakrovih

formulacij v obdobju dva do tri tedne po koncu cvetenja zmanjšali možnosti za pojave poznih poletnih latentnih okužb cvetov in poganjkov.

V literaturi nismo uspeli najti podatkov o uporabnosti nekaterih novejših bakrovih formulacij za zatiranje hruševega ožiga. Podatki o učinkovitosti klasičnih bakrovih formulacij in biotičnih pripravkov, ki smo jih ugotovili v našem poskusu so primerljivi z nivojem učinkovitosti, ki jih običajno dosegajo drugod (Tsiantosi *et al.*, 2003; Adaskaveg *et al.*, 2006; Holtz *et al.*, 2008).

Preglednica 3: Stopnja učinkovitosti pripravkov za preprečevanje okužb cvetov in poganjkov hruške z bakterijo *E. amylovora*

Pripravek:	Učinkovitost socvetja (%):	Učinkovitost poganjki 1 (%):	Relativna hitrost prodiranja bakterije cm / teden	Učinkovitost poganjki 2 (%):
Cuprablau Z	46,6 ab	35,3 b	11,6 a	12,5 abc
Kupro	47,5 ab	36,8 b	11,4 a	14,7 abcd
Coptrel	49,8 ab	30,6 b	13,4 a	15,3 abcd
Labicuper	57,7 b	63,8 d	6,6 a	40,1 f
CoperProtein	50,7 ab	57,0 cd	8,9 a	32,9 def
Aliette	42,0 a	51,7 c	9,0 a	31,2 ef
Atempo	48,2 ab	49,3 c	10,1 a	17,7 bcd
Peptiram	44,6 a	50,3 c	9,4 a	21,3 cde
Gnojilo CC	50,7 ab	53,7 c	9,3 a	24,9 de
Serenade	47,1 ab	15,4 a	14,1 a	8,3 ab
BlossomProtect	43,7 a	10,8 a	13,4 a	4,6 a
Cutisan	38,1 a	19,6 a	11,5 a	3,9 a
Kontrola	/	/	13,1 a	/

Povprečja znotraj posameznega stolpca označena z enakimi črkami se ne razlikujejo statistično značilno glede na rezultate Tukey testa ($\alpha = 0,05$).

4 SKLEPI

- z uporabo bakrovih in biotičnih pripravkov je v srednje ugodnih razmerah za okužbe cvetov hrušk z bakterijo *E. amylovora* možno doseči učinkovitosti okrog 50 %,
- učinkovitost bakrovih in biotičnih pripravkov na podlagi *B. subtilis* in *A. pullulans* za preprečevanje okužb socvetij hruške je primerljiva. Nekateri bakrovi pripravki lahko dosežejo višjo učinkovitost od biotičnih pripravkov,
- učinkovitost bakrovih pripravkov za preprečevanje okužb poganjkov je bistveno višja od učinkovitosti biotičnih pripravkov na podlagi *B. subtilis* in *A. pullulans*,
- bakrovi pripravki, ki imajo sistemične lastnosti dajejo nekaj višje učinkovitosti za preprečevanje okužb poganjkov od klasičnih formulacij pripravkov, ki nimajo sistemičnih lastnosti,
- z izboljšanimi formulacijami bakrovih pripravkov in s pravočasnim večkratnim nanosom 300 g Cu⁺⁺/ha vsaj 24 ur pred začetkom infekcij lahko izvajamo dokaj učinkovito varstvo hrušk pred okužbami z bakterijo *E. amylovora*.

5 ZAHVALA

Poskus je bil izveden v okviru aktivnosti CRP projekta V4-0527, ki ga sofinancirata Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS in Agencija RS za raziskovalno dejavnost. Vsem, ki so omogočili izvedbo projekta se zahvaljujemo.

6 LITERATURA

- Adaskaveg, J., Förster, H., Holtz, B.A., Hoffman, E., Gubler, D., Erickson, E. 2006. Evaluation of bactericides for control of fire blight of pears and apples caused by *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae*, ISHS, 704: 277-282.
- Holtz, B.A., Martin-Duvall, T., Adaskaveg, J.E., Lindow, S.E. 2008. Efficacy of bactericides and biological antagonists for the control of fire blight of apple in the San Joaquin valley of California. *Acta Horticulturae*, ISHS, 793: 445-449.
- Tsiantosi, B.J., Psallidas, P., Chatzaki, A. 2003. Efficacy of alternatives to antibiotic chemicals for the control of fire blight of pears. *Ann. of applied biology*, 143: 319-323.