

ORIGINAL PAPER

Химична средства за контрол с *Erwinia amylovora* (Burill) в *in vitro* условия

Дияна Александрова¹ • Петър Чавдаров²

¹Институт по овощарство-Пловдив

²Институт по растителни генетични ресурси-Садово

Автор за кореспонденция:

Дияна Александрова, E-mail: aleksandrova_diyana@abv.bg

Chemical control agents of *Erwinia amylovora* (Burill) in *in vitro* conditions

Diana Alexandrova¹ • Petar Chavdarov²

¹Institute of Fruit Growing – Plovdiv, Bulgaria

²Institute of Plant Genetic Resources – Sadovo, Bulgaria

Corresponding Author:

Diana Alexandrova, Email: aleksandrova_diyana@abv.bg

Received: September 2019 / Accepted: September 2019 /

Published: September 2019 © Author(s)

Abstract

Aleksandrova, D. & Chavdarov, P. (2019). Chemical control agents of Erwinia amylovora (Burill) in in vitro conditions. Field Crops Studies, XII(3), 121-128.

Erwinia amylovora is a polyphagous bacterium causing fire blight on over 130 plant species belonging to the *Rosaceae* family. Although *E. amylovora* is regarded as a very homogenous species, the particular strains can differ in pathogenic ability as far as their host range is concerned as well as by the extent of the disease they cause. Experience shows that the best control results when the grower follows an integrated program of chemical control combined with sanitation, pruning, eradication, tree nutrition, and insect control.

In this research the bactericidal effect of five chemical preparations in “in- vitro” conditions was studied. Petri dishes with water added were used as control. The

best results were obtained with Bordo Mix and Funguran with 13,65% and 10,53 % respectively inhibition of bacterial growth. The lowest percentage of inhibition of *E. amylovora* was recorded when Alfil Duplo was used.

In general, the copper compounds appear to give good blight control when the disease severity is low to moderate in orchards.

Key words: Bacteria, Chemical control

Въведение

Erwinia amylovora е бактерия полифаг, която причинява болестта огнен пригор, при повече от 130 растителни вида принадлежащи към семейство Rosaceae. Въпреки, че *E. amylovora* се счита за хомогенен вид, конкретните различните изолати се различават по патогенна способност, по отношение развитието им по различни гостоприемници, както и по степента на нападение, което причиняват (Puławska and Sobiczewski, 2012).

Употребата на химични средства за контрол с причинителя на огнен пригор *Erwinia amylovora* остава едно от основните направления, което осигурява най-висока ефективност за контрол на заболяването и осигуряване на нормалното развитие на овощните култури.

Медните препарати могат да попречат за развитието на бактерията по време на периода на нарастване и чрез прилагане в критичните фенофази от развитието на гостоприемника. Прилаганите бактерицидни средства за контрол на огнен пригор редуцира презимувалия инокулум през пролетта или намалява размножаването на *Erwinia amylovora* като предпазва от развитието на нови инфекции по време на масов цъфтеж или след него (van der Zwet, 1995). Ефективността на препаратите на базата на медни съединения е била и продължава да бъде изучавана. Те често се използват като препарати с превантивна мярка, но в литературата често се дава информация за фитотоксичност (Psallidas, and Tsiantos, 2000). Препаратите на медна основа показват задоволителни резултати и висока ефективност, но техният фитотоксичен ефект се усилва при висока влажност на въздуха (van der Zwet et al., 2012). Друг недостатък, е че медните съединения инхибират кълняемостта на поленовите зърна. Третирането с медни препарати по време на цъфтеж в комбинация с пролетните слани предизвикват фитотоксичност (Larue.,1993). Проблемът, който възниква във връзка с приложението на медни препарати в овощните градини, е натрупването на мед в почвата. Медта отива в почвата с част от работната разтвор още по време на пръскането, а друга част се измива от повърхността на третираните дървета по време на валежите, така медните препарати оказват влияние на сапрофитни микроорганизми в почвата (Merry et al., 1983).

При растителна защитата на ябълки срещу огнен пригор, в някои страни се използва препарати като Aliette 80 WG, чието активно вещество е алуминиев фосетил. Първоначално препаратът е регистриран за борба с болести по растенията, причинени от рода *Phytophthora* (Psallidas, P. G. and Tsiantos, J., 2000). Проведени са последващи проучвания за способността на алуминиевия фосетил да индуцира устойчивост на болестта при растенията (Farih et al. 1981; Guest, 1984). Някои автори посочват изключителното превантивно действие на алуминиевият фосетил (Paulin., 1990; Laure., 1993). В експериментите, проведени от Paulin et al., (1990) и Clarke et al. (1993) ефикасността на Aliette 80 WG е дори по-висока от тази на стрептомицин или препарат, чиято активна съставка е меден хидроксид.

Целта на настоящото проучване е да се проучи ефективността на системни и контактни фунгициди, в условия *in vitro* за борба с *Erwinia amylovora*

Материал и методи

Изследванията са проведени през 2019 г. в лабораторията по фитопатология към ИО – Пловдив. В изследването са включени два щамове на *Erwinia amylovora*, самостоятелно или в комбинация, както и 5 химични продукта.

Използвани са два изолата на бактерията *Erwinia amylovora* и комбинацията от двата изолата:

- Изолат Ea3325 – изолиран от ябълка на 16.05.2013г. в гр.Петрич
- Изолат Ea3345 – изолиран от круша на 27.06.2013г. в гр. Ботевград.

Бактерийните щамове бяха инкубирана за 24 часа на хранителна среда NAS (nutrient agar + 5% sucrose)

Препаратите, които сме подбрали за това проучване са:

Бордо микс 20 ВП (200 г/кг меднокалциев сулфат) в концентрация 0,6% разтвор. Препаратът е регистриран за борба със заболяването от нарастването на леторастите до разпукване на цветните пъпки в същата концентрация.

Фунгуран 50 ВП (77% меден хидроокис) с концентрация 0,15% разтвор. Препаратът е регистриран за борба с бактериалното заболяване с употреба до разпукване на цветните пъпки.

Дитан М 45 (800г/кг манкоцеб) в концентрация 0,3% разтвор.

Алфил (800 гр/кг фосетил – алуминий), в концентрация 0,3% разтвор.

Алфил Дупло (350 гр/кг манкоцеб, 350г/кг фосетил – алуминий), в концентрация 0,35% разтвор от препаратата.

Ефикасността на проучваните бактерицидни средства беше установена по метода на кладенчетата. За целта върху твърда хранителна среда от NAS бяха направени кладенчета с диаметър 5mm (по 4 броя за петри). Върху хранителната средата беше налята бактерийна суспензия (24h култура)

от двата различни щама комбинация от тях, след което суспензията беше растлана с шпатула. След разстилане във всяко кладенче беше налята по 100µl от работния разтвор. Всеки вариант беше заложен в 5 повторения. При контролния вариант в кладенчетата беша налята стерилна дестилирана вода.

Инкубирането на бактериите протече при 20°C за 48 часа. Наличните зони на инхибиране се измерваха двукратно по диаметър на кръст.

Данните са обработени статистически с дисперсионен анализ, на програма SPSS.

Резултати и обсъждане

Таблица 1. Влияние на химични продукти върху *in vitro* развитието на *Erwinia amylovora*

Table 1. Influence of chemicals preparation on the *in vitro* development of *Erwinia amylovora*

Препарат Chemical	Концентрация Concentration (%)	Изолат/ Зона на инхибиране (%) Isolate/Inhibition zone (%)		
		Ea3325	Ea3345	Ea3325/Ea3345
Бордо Микс 20 ВП Bordo Mix 20 VP	0,6	13,58 a	14 a	13,37 a
Фунгуран ОН 50 ВП Funguran ON 50 VP	0,5	11,08 ab	10,66 b	9,83 b
Дитан М 45 Ditan M 45	0,3	8,29 b	10,45 b	5,47 c
Алфил ВГ Alfil VG	0,3	9,58 b	8,5 bc	1,375 cd
Алфил Дупло Alfil Duplo	0,35	8,5 b	5,95 c	3,25 c
Контрола Check	вода water	0 c	0 d	0 d

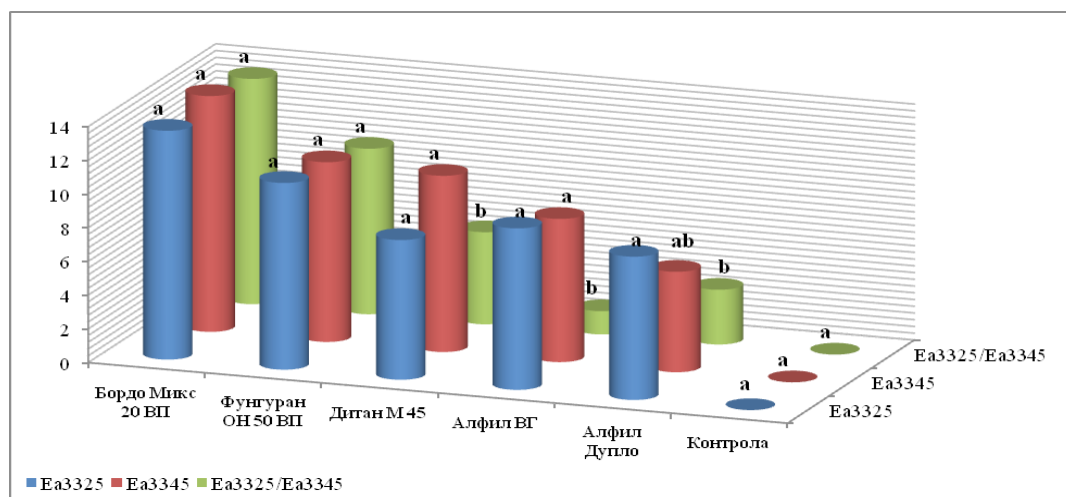
От получените резултати и направения дисперсионен анализ препарата Бордо Микс 20ВП е показал най-големи зони на инхибиране (табл. 1), има доказани разлики при всички останали препарати, изключение прави само екперимента с Фунгуран и изолат Ea3325, зоните на инхибиране са в близки граници и нямат статистически доказани разлики. При изолат Ea3325 с близки зони на инхиране са препаратите ДитамМ45, Алфил ВГ и Алфил Дупло. Контролният вариант е със статистически доказани разлики от всички останали варианти в опита.

При отчетените резултати на изолат Ea3345, препарата Бордо Микс 20ВП

отново е с най-висока стойност и с доказани статистически разлики спрямо другите препарати. С близки стойности на инхибиране върху агарова среда след Бордо Микс по ефективност попадат препаратите Фунгуран, Дитан и Алфил ВГ, като последния няма статистически доказани разлики с Алфил Дупло.

Варианта, в който са поставени комбинация от двете бактерии на агарова среда се повтаря очерталата се по-горе тенденция, препаратата Бордо Микс 20 ВП е реагирал с най- големи зони на инхибиране, разликата е доказана статистически. Препарата Фунгуран ОН 50 ВП в тази вариант е проявил висока бактерицидна активност и е с доказани разлики сред всички останали изолати.

Изпитването на медни препарати с контактното действие е проучено и от други автори у нас (Bobev, 2006) в чужбина (van der Zwet and Keil, 1979; Jones, 1964), получените резултати съответстват на доказаната бактерицидната активност на същите препарати спрямо бактериалното заболяване.



Фигура 1. Зони на инхибиране при различни изолати на *Erwinia amylovora* и комбинация от тях

Figure 1. Zone of inhibition in different isolates of *Erwinia amylovora* and combination

Вътре видовото разнообразие на бактерията *Erwinia amylovora* се характеризира с щамове, които имат различна агресивност. В нашите изследвания при първите два варианта Бордо Микс и Фунгуран, не са наблюдавани различия в реакцията на бактериите. И при двата варианта са отчетени резултати в близки граници, които не доказват статистически различия между тях (Фигура 1).

Статистически доказани са реакциите на бактериите при употребата на Дитам М45 и Алфил ВГ, и при двата варианта отделните изолати на бактериалната болест са групирани като статистически еднакви, при комбинация с двата изолата са отчетени най-ниските стойности относно зоната на инхибиране.

Различните изолати във варианта с препарат Алфил Дупло показват, че зоната на инхибиране на изолатат Еа3325 е с статистически доказана разлика от комбинацията на двата изолата. Докато при изолат Еа 3345 няма доказани разлики в останалите варианти на изпитването.

Изводи

- При всички разработени варианти най-малък процент на инхибиране върху агарова среда са получени при комбинация на двата изолата.
- Бордо Микс, Фунгуран и Дитан М45 потискат развитието на *Erwinia amylovora* в “in vitro” условия.
- Препаратите Алфил и Алфил Дупло показва не задоволителни резултати, относно ограничаване развитието на бактерията.

Литература

References

- Bobev, S. (2006). Studies on the fireblight and the causative agent *Erwinia amylovora* (Winslow et al.). Dissertation thesis, Agricultural University of Plovdiv.
- Clarke, G.G., Hickey, K.D. & Travis, J.W. (1993). Efficacy of fosetyl-aluminum and copper for control of fire blight on blossoms and shoots of apple. *Acta Horticulturae*, 338:281-288.
- Farih, A., Tsao, P.H. & Menge, J.A. (1981). In vitro effects of metalaxyl on growth, sporulation and germination of *Phytophthora parasitica* and *P. citrophthora*. *Plant Disease*, 65:651-654.
- Guest, D.I. (1984). Modification of defence responses in tobacco and capsicum following treatment with fosetyl-Al [aluminium tris (O-ethyl phosphonate)]. *Physiological Plant Pathology*, 25:125-134.
- Jones, A. L. (1964). Bactericidal action of several organic fungicides against *Erwinia amylovora*, and fire blight disease control. *Plant Dis. Rep.*, 48, 182-186.
- Larue, P. & Ardigier, R. (1993). Experiments with the specialty Cuivrol for control of fire blight. *Acta Horticulturae*, 338:341-347.
- Merry, R., Tiller, K.G. & Alston, A.M. 1983. Accumulation of copper, lead and arsenic in some Australian orchard soils. *Australian Journal of Soil Research*, 21:549-561.
- Paulin, J.P., Chartier, R., Lecomte, P., Brisset, M.N., Lachaud, G. & Larue, P.

1990. Experiments with Aliette (phosetyl-aluminium) in fireblight control. *Acta Horticulturae*, 273:383-389
- Psallidas, P.G. & Tsiantos, J. (2000). Chemical control of fire blight. Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*, 199-234.
- Puławska, J. & Sobiczewski, P. (2012). Phenotypic and genetic diversity of *Erwinia amylovora*: the causal agent of fire blight. *Trees*, 26(1), 3-12.
- Van der Zwet, T. (1995). Present worldwide distribution of fire blight. In VII International Workshop on Fire Blight 411 (pp. 7-8).
- Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt, N. & Zeller, W. (2012). Fire blight: history, biology, and management. St. Paul: APS Press/American Phytopathological Society.
- Zwet, T. & Keil, H.L. (1979). Fire blight, a bacterial disease of Rosaceous plants. Fire blight, a bacterial disease of Rosaceous plants., (510)

