

Okolju prijazne metode za obvladovanje črne žilavke na kapusnicah

Uvod

Bakterijske bolezni je na splošno težko obvladovati, tako na njivi kot v skladišču. Eden od razlogov je prepovedana uporaba antibiotikov s sistemskim delovanjem. Drug razlog je omejena uporaba bakrovih pripravkov. Uporaba bakra se bo v prihodnosti dodatno omejila, saj baker povzroča fitotoksičnost, ima negativen vpliv na opraševalce in druge koristne organizme, se akumulira v tleh in v površinskih vodah ter prispeva k zmanjšanju mikrobne biodiverzitete.

V kmetijstvu predstavljajo ksantomonade (skupina bakterij iz rodu *Xanthomonas*) največjo skupino rastlinskih škodljivih bakterij in pogosto povzročajo največ težav na gospodarsko najpomembnejših poljščinah. Črna žilavka kapusnic, ki jo povzroča bakterija *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, je zagotovo ena tistih bolezni, ki jih je izjemno težko obvladovati in povzroča vedno več težav v pridelavi kapusnic. Ob vseh omejitvah se postavlja vprašanje o možnostih učinkovitega obvladovanja bolezni.

Izbira strategije obvladovanja je odvisna od bolezni, ki jo želimo obvladovati (kje in kdaj se pojavlja, kako se prenaša, itn.), zato je poznavanje bolezni same in njenega povzročitelja izjemnega pomena.

Izbiramo lahko med možnostmi:

- Biotično varstvo z uporabo koristnih organizmov ali njihovih produktov;
- Fitokemične snovi, ki jih proizvajajo rastline in delujejo baktericidno ali bakteristatično na škodljive bakterije;
- Uporaba pripravkov na osnovi kovin (npr. baker);
- Agrotehnični ukrepi za zmanjšanje pojava bolezni (npr. uporaba zastrik).

V letu 2021 smo na KIS-OVR pregledali dostopno znanstveno literaturo z omenjenega področja. V tem prispevku predstavljamo okolju prijazne možnosti obvladovanja črne žilavke. Nekaterne metode z večjim uspehom uporabljajo drugod po svetu, druge so še v fazi raziskovanja, a dajejo obetavne rezultate.

Raziskave na področju biotičnega varstva

Biotično varstvo proti vsem rastlinsko-patogenim bakterijam temelji na naslednjih strategijah:

- a) Antibioza, kjer določene skupine mikrobov tvorijo določene spojine, ki delujejo inhibitorno ali toksično na druge mikrobove.
- b) Tekmovanje za hranila, kjer nepatogeni mikrobi tekmujejo s patogenimi za hrano v rastlini.
- c) Motnje v komunikaciji med patogeni, kjer ena skupina nepatogenih bakterij izloča dejavnike, ki oslabijo komunikacijo med drugimi, patogenimi bakterijami.
- d) Hiperparazitizem, kjer ene vrste mikrobov parazitirajo na drugi vrsti bakterij.

Bakterije iz rodu *Bacillus* so znani »koristni« organizmi, ki z uporabo več strategij sočasno, zavirajo rast patogenih bakterij. Zaradi tvorbe stabilnih endospor, so te vrste primerne za uporabo v komercialnih pripravkih. Znano je, da številne vrste *Bacillus* proizvajajo antibiotike, sekundarne metabolite z antagonističnim delovanjem ter so izvrstni kolonizatorji površine korenin, ki predstavljajo vstopno mesto številnim patogenim organizmom. Vrste *B. cereus*, *B. lentimorbus* in *B. pumilus* delujejo protimikrobno na povzročitelja črne žilavke. Ob nanosu na koreninski sistem zelja zmanjšajo napredovanje bolezni na listih, stebli in glavah (Massomo in sod., 2003). Vrste *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* in *B. pumilus* so preprečile napredovanje bolezni tudi na ostalih kapusnicah (zelje, cvetača, repa in brokoli) (Wulff in sod., 2002).

Druga velika skupina biokontrolnih bakterij so pseudomonade (*Pseudomonas* spp.). Večina predstavnikov tega rodu proizvaja številne bioaktivne spojine (antibiotike, siderofore, hlapne snovi) ter tudi rastlinske hormone, ki spodbudijo obrambo rastline.

Črna žilavka ni le bolezen, ki se pojavlja na njivi, pojavlja se tudi med skladiščenjem. Bakterije iz rodu *Lactobacillus* se večinoma uporabljajo za nadzorovanje skladiščnih bolezni, saj kot pseudomonade proizvajajo številne bioaktivne spojine (Trias in sod., 2008).

Ena najbolj obetavnih strategij je uporaba bakteriofagov (fagov). Gre za viruse s specifičnim delovanjem proti bakterijam določene vrste ali določenih patovarjev (Stefani in sod., 2021).

Okolju prijazne metode za obvladovanje črne žilavke

Najpogosteje uporabljene okolju prijazne snovi za obvladovanje rastlinskih bolezni so:

- beljakovine sirotke in surovo mleko,
- žvepleno-apnena in bordojska brozga,
- naravna gnojila,
- eterična olja nekaterih zelišč.

Snovi na osnovi mleka so se izkazale uspešno pri zmanjšanju pojavnosti črne žilavke na kolerabi, in sicer kar 44 %. V enakem poskusu so z uporabo naravnih gnojil pojavnost bolezni zmanjšali za 56 % (Nunez in sod., 2018). Odkritje ne preseneča, saj surovo mleko vsebuje hranila in tudi mikrobe, ki skupaj ojačajo odpornost rastline. Ena od pomembnih učinkovin mleka in sirotke je beljakovina laktoferin, ki deluje protimikrobno.

Naravna gnojila so lahko rastlinskega ali živalskega izvora. Poleg organskih hranil vsebujejo še žive (koristne) mikroorganizme in na ta način a) spodbujajo naravno odpornost rastlin ter b) delujejo kot sredstva za biotično varstvo, kjer koristni organizmi zavirajo rast škodljivim bakterijam (Kowalska in sod., 2020).

Bordojska brozga in žvepleno-apnena brozga (ŽAB) se v poskusu Nunez in sod. (2018) nista izkazali kot učinkoviti sredstva za obvladovanje črne žilavke. Žvepleno-apnena brozga se uporablja predvsem kot fungicid, a v primeru bakterijske bolezni, kot je žilavka, se je uporaba izkazala celo za škodljivo, saj je omogočila napredovanje bolezni. Avtorji raziskave predvidevajo, da ŽAB zmanjša populacijo koristnih mikrobov, kar omogoča namnoževanje škodljivih ali pa zaradi fitotoksičnega učinka zmanjša obrambne funkcije rastline.

Eterična olja imenujemo tudi »zeleni pesticidi«. Gre za kemične snovi, ki jih rastlina proizvaja za svojo kemično obrambo pred napadalci. Njihovo delovanje ima širok spekter. Delujejo lahko proti glivam, bakterijam, drugim rastlinskim vrstam in tudi proti žuželkam. Proti bakterijam iz rodu *Xanthomonas*, kamor uvrščamo tudi povzročiteljico črne žilavke, delujejo eterična olja pridobljena iz rmana (*Achillea*), origana (*Origanum*), timijana (*Thymus*), citrusov (*Citrus* sp.), lupine oreha (*Juglans regia*), poprovca (*Piper*), klinčevca (*Syzygium*), vratiča (*Tanacetum*), šetraja (*Satureja*) (Raveau in sod., 2020). Njihova uporaba na kapusnicah je vprašljiva zaradi močnega vonja in okusa, ki ga eterično olje lahko pusti na jedilnih delih rastline.

Obvladovanje bolezni na semenskem materialu

Črna žilavka kapusnic je bolezen, ki se prenaša s semeni. Njena prisotnost ni omejena zgolj na površino semena, ampak jo najdemo tudi v notranjosti. Bakterija je semenu sposobna preživeti več let, zato je uporaba zdravega, neokuženega semena ključna za obvladovanje bolezni.

Čeprav nobena metoda ni popolnoma učinkovita, pa lahko z različnimi tretmaji na semenu znatno zmanjšamo infekcijski potencial na njivi. V številnih državah se poslužujejo termoterapije na semenih kapusnic. Termoterapija je metoda razkuževanja semen, kjer s temperaturo uničimo patogene, ne pa tudi samega semena.

Ločimo dva tipa termoterapije:

- a) Mokra termoterapija, kjer v vodni kopeli določene temperature uničimo/zmanjšamo mikrobno populacijo na semenu.
- b) Suha termoterapija, kjer z uporabo suhega vročega zraka uničim/zmanjšamo mikrobno populacijo na in deloma znotraj semena.

Poskus: Preliminarni poskus mokre termoterapije

Namen: Preveriti učinkovitost mokre termoterapije za zmanjšanje populacije bakterij na semenu zelja (*Brassica oleracea* var. *capitata*) pri temperaturi 50 °C, 25 min.

Metodologija:

Vzorci: semena zelja domače pridelave (daroval pridelovalec iz okolice Ljubljane) in en vzorec certificiranega semena zelja sorte Varaždinsko.

Termoterapija: mokro termoterapijo smo izvedli po protokolu Miller in Lewis Ivey (2016).

Izolacija bakterij: izvedena po protokolu ISTA 7-019a na vzorcu 1000 semen, in sicer pred in po terapiji. Redčitve suspenzij smo nacepili na gojišče King's B in MT (Milk-Tween), slednje selektivno na ksantomonade.

Ocenjevanje: Po 5-ih dneh smo prešteli kolonije vseh bakterij in izračunali število kolonij (CFU) na semenih.

Kalitveni testi: izvedeni po standardnem protokolu Laboratorija za semenarstvo (KIS-SUP) na vzorcu 400 semen.

Rezultati

Iz Preglednice 1 je razvidno, da s termoterapijo pri 50 °C in časom inkubacije 25 min, v večini primerov vsaj za polovico zmanjšamo populacijo bakterij na semenih zelja. Vrstne strukture populacije bakterij nismo preiskovali, a razlika med populacijami bakterij na semenih domače pridelave in certificiranih semenih je opazna. Kljub začetno enaki gostoti bakterij (Varaždinsko VA2 in certificiran material Varaždinsko, K) smo s termoterapijo dosegli kar 90 % zmanjšanje gostote bakterij na certificiranem semenu.

Preglednica 1: Vpliv mokre termoterapije pri 50 °C na zmanjšanje celokupne populacije bakterij na semenu zelja.

Sorta, oznaka vzorca	Izvor	Leto pridelave	PRED TERAPIJO (cfu/ml)	PO TERAPIJI (cfu/ml)	Zmanjšanje CFU (%)
Ljubljansko okroglo, Lj1	domača pridelava	2016	716	300	58,1
Ljubljansko okroglo, Lj2	domača pridelava	2020	5000	2667	46,7
Varaždinsko, VA2	domača pridelava	2020	2050	1133	44,7
Varaždinsko, K	certificiran semenski material	2020	4267	400	90,6

Iz Preglednice 2 je razvidno, da termoterapija in starost semenskega material vpliva na kalivost semen zelja. Sprejemljivo zmanjšanje kalivosti po termoterapiji je do 5 %. Tej vrednosti sta se najbolj približala vzorca semen sorte Varaždinsko. Sorta Ljubljansko okroglo je najverjetneje bolj občutljiva in zahteva manjšo temperaturo tretmaja. Najbolj občutno znižana kalivost je bila pri semenih pridelanih v letu 2016 (Ljubljansko okroglo Lj1).

Preglednica 2: Vpliv mokre termoterapije pri 50 °C (25 min) na zmanjšanje kalivosti semena zelja.

OZNAKA vzorca	ENERGIJA kalitve		KALIVOST				
	št.dni	normalne klice (%)	št.dni	normalne klice (%)	nenorm. klice (%)	trdo seme (%)	mrtvo seme (%)
Ljubljansko okroglo, Lj1-PRED	3	60	10	78	14	0	8
Ljubljansko okroglo, Lj1-PO	4	20	10	42	20	0	38
				-36			
Ljubljansko okroglo, Lj2-PRED	3	84	10	89	4	0	7
Ljubljansko okroglo, Lj2-PO	3	68	10	74	6	0	20
				-15			
Varaždinsko, VA2 -PRED	3	80	10	87	8	0	5
Varaždinsko, VA2-PO	4	71	10	81	7	0	12
				-6			
Varaždinsko, K -PRED	3	93	10	95	2	0	3
Varaždinsko, K-PO	3	85	10	89	6	0	5
				-6			

Sklepi

Iz pregleda literature je jasno, da ena sama strategija ne bo bistveno omejila širjenje črne žilavke po posevku. Smiselna uporaba več različnih pristopov, uporabljenih ob pravem času bo ključna za zajezitev te gospodarsko izjemno pomembne bolezni.

Izvedli smo manjši poskus mokre termoterapije na semenih zelja pri temperaturi 50 °C. Prvi rezultati kažejo, da tretma občutno zmanjša mikrobno populacijo na površini semena (od 44 do 90 %). Vendar, mokra termoterapija v semenih sproži ireverzibilni proces kalitve. Tako tretirano seme moramo posejati čim prej, saj se pri takem semenu kalivost s časom drastično zmanjša. V prihodnjih letih bomo raziskali še druge okolju prijazne možnosti obvladovanja črne žilavke.

Besedilo: dr. Janja Lamovšek

Datum: januar 2022

Viri

Kowalska in sod. 2020. Field Exploitation of Multiple Functions of Beneficial Microorganisms for Plant Nutrition and Protection: Real Possibility or Just a Hope? *Frontiers in Microbiology* 11: 1904
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32849475/>

Massomo, Said & Mortensen, C. & Mabagala, R. & Newman, Mari-Anne & Hockenhull, J.. 2004. Biological Control of Black Rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) of Cabbage in Tanzania with *Bacillus* strains. *Journal of Phytopathology*. 152. 98 - 105. 10.1111/j.1439-0434.2003.00808.x.

Miller S.A., Lewis Ivey M.L. 2016. Hot water treatment of vegetable seeds to eradicate bacterial plant pathogens in organic production systems. Extension Ohio State University, HYG-3086-05: 3 str.

Nunez in sod. 2018. Bio-based products control black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) and increase the nutraceutical and antioxidant components in kale. *Scientific Reports* 8:10199
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6033922/>

Raveau in sod. 2020. Essential Oils as Potential Alternative Biocontrol Products against Plant Pathogens and Weeds. *Foods* 9(3):365 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7143296/>

Stefani, E. in sod. 2021. Bacteriophage-Mediated Control of Phytopathogenic Xanthomonads: A Promising Green Solution for the Future. *Microorganisms*, 9, 1056.

Trias in sod. 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology* 11: 231-236.